

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université « Dr. Tahar Moulay » Saïda**  
**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



**Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master**  
**Spécialité : Microbiologie appliquée**  
**Présenté par**

**Mr : DJILALI Benekrouf Mohamed**

**M<sup>elle</sup> : BENCHIKH Ikram**

**Sur le thème intitulé :**

**Criblages des bactéries lactiques dotées d'une activité  
antibactérienne vis-à-vis des bactéries d'altération et d'infection.**

Soutenu le : 29 / 09/ 2019

**Devant la commission de jury, composée de :**

- |  |  |
|--|--|
| ➤ <b>Président: Mr Adli DEH.</b>                       | <b>M.C.A à l'université de Saida.</b>  |
| ➤ <b>Examineur : Mr Benreguig M.</b>                   | <b>M.C.A à l'université de Saida .</b> |
| ➤ <b>Encadreur : M<sup>me</sup> Chahrour Bellil W.</b> | <b>M.C.B à l'université de Saida .</b> |

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2018/2019**

# **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance de réaliser ce travail .*

*Nous remercions Mr. **Benreguiég Mokhtar** Maître de conférence A à l'université Dr Moulay Tahar SAIDA qui a accepté d'examiner ce travail, Mr Bellil Yahia maître assistant A à l'université Dr Moulay Tahar **Saida qui** a accepté de presider le jury et sans oublier **Mme Chahrour Wassila** maître de conférence à l'université Dr Moulay Tahar Saida qui a dirigé notre travail.*

*Nous tiendront à remercier les enseignants et l'ensemble du personnel travaillant à l'université De SAIDA qui nous ont accompagnés pendant notre cursus universitaire.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à :*  
*Toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin pour réaliser et terminer ce travail.*

# Dédicace

*C'est grâce à Dieu , le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté  
pour achever ce modeste travail que je le dédie :*

*A/*

*Mes chers parents pour tout ce qu'ils m'ont donné .  
Mes collegues de l'universté de SAIDA et de MASCARA  
Sans oublier mes collegues de travail  
Et à tout les membres de la petite et grande famille*

*Votre frère Moh Yassine*

-----

*A/*

*Mes chers parents pour tout ce qu'ils m'ont donné .  
Mes collegues de l'universté de SAIDA  
Et à tout les membres de la petite et la grande famille .*

***Ikram Benchikh***

## ملخص:

بفضل خصائصها الوظيفية المتعددة ، تعتبر البكتريا اللبنية أكثر استعمالا في مجال الصناعات الغذائية فهي تلعب دورا هاما في عملية التخمر وتخزين المواد الغذائية المصبرة ، بفضل قدرتها على تصنيع مواد مثبطة للنمو مما جعل الباحثين في هذا الميدان يستغلون هذه الميزات والخصائص ليس في الصناعة الغذائية فحسب بل حتى في مجال الصحة عموما ، الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن خاصية النشاط المضاد لأربعة عشر سلالة من البكتريا اللبنية المعزولة مسبقا من حليب الناقة الذي تم جلبه من منطقة بشار وكذا عينة من سيلاج نبات القمح والذرة الرفيعة ( Plante de sorgho ) واختبارها بطريقتين (مباشرة وغير مباشرة) ضد أربع بكتريا ضارة منها صنفين مسؤولين عن التهابات مختلفة (*Pseudomonas aeruginosa et klebsiellaoxytoca*) وصنفين آخرين مسؤولين عن فساد المواد الغذائية (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli*) - معزولة مسبقا ومشفرة من طرف معهد باستور الجزائر -

أما سلالات البكتريا اللبنية المستعملة في هذه الدراسة والتي كانت مشفرة فهي على الترتيب :

• *Leuconostoc sp*:(11,10,H4,34,Y9,R2,Y47,48)

• *Weissellacibaria*(07, 07')

• (*D1,22*)*Lactobacillus manihotivorans*

• *Lactobacillus raffinolactis*(B9)

من خلال النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة التطبيقية فإن جميع سلالات البكتريا اللبنية المستعملة لها تأثير مضاد للبكتريا الضارة بدرجات مختلفة حيث سجلنا مناطق تثبيط يقدر قطرها ما بين عشرة إلى ثلاثين ميليمتر وهذا راجع إلى وجود مواد مفرزة خارج خلايا البكتريا اللبنية والتي لها خاصية تثبيط نمو خلايا البكتريا الضارة وهو ما يسمى عملية التضاد البكتيري، وإتماما لهذه الدراسة لابد من إجراء اختبارات إضافية لتحديد نوع وصنف هذه المواد المثبطة ودرجة تأثيرها ، كما تجدر الإشارة إلى أن المواد الغذائية المخمرة هي مصدر أساسي لسلالات بكتيرية نافعة والتي لها خاصية النشاط الحيوي المضاد لسلالات البكتريا الضارة .

**الكلمات المفتاحية:** بكتريا لبنية، عملية التضاد البكتيري، حليب الناقة، سيلاج، الذرة الرفيعة، القمح، بكتريا ضارة.

## Résumé

Grâce à leur propriétés fonctionnelles multiples, les bactéries lactiques sont principalement très utilisées en industrie agro-alimentaire, elles jouent un rôle primordial dans la fermentation et la conservation des aliments par la production de plusieurs facteurs inhibiteurs ; ce qui permet aux chercheurs en ce domaine de pointer le doigt sur ces bénéfiques et les rendre très utiles non seulement en industries agroalimentaires mais aussi dans le domaine de santé. L'objectif de ce travail consiste à rechercher, cribler et tester l'activité antibactérienne de quatorze souches de bactéries lactiques préalablement isolées à partir des échantillons peu exploitables qui sont le lait de chamelle cru provient de la région de Béchar et de l'ensilage de sorgho et du blé vis-à-vis des souches pathogènes et d'altération alimentaire. Les souches lactiques ont été pré-identifiées comme suit : Les souches **(11,10,H4,34,Y9,R2,Y47,48)** sont des *Leuconostocsp*, les deux souches **(07,07')** sont *Weissellacibaria*, les deux autres souches **(D1,22)** sont *Lactobacillus manihotivorans*, et la souche **(B9)** est *Lactococcus raffinolactis*. Ces dernières ont été testées pour leur effet antibactérien à l'encontre de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *klebsiella oxytoca*. L'interaction de nos souches lactiques avec les bactéries pathogènes était détectée par deux méthodes (directe et indirecte). D'après les résultats on note que toutes les souches lactiques testées ayant une activité antibactérienne vis-à-vis les souches indicatrices. Les diamètres d'inhibition affichent une variabilité entre 10 à 30 mm. Les résultats obtenus indiquent la présence d'un ou de plusieurs substances extracellulaires avec un effet inhibiteur contre les bactéries cibles. Des tests supplémentaires sont nécessaires pour préciser la nature des agents inhibiteurs, alors que les produits fermentés constituent une source de nouvelles souches performantes dotées d'un pouvoir antimicrobien.

**Mots-clés :** Bactérie lactique, activité antibactérienne , lait de chamelle , ensilage, sorgho, blé, bactéries pathogènes.

## Abstract

Due to their multiple functional properties, lactic acid bacteria are mainly used in the food industry, they play a key role in the fermentation and preservation of food by producing several inhibiting factors; This allows researchers in this field to point out these benefits and make them very useful not only in food industries but also in the health field. The objective of this work is to research, screen and test the antibacterial activity of fourteen previously isolated strains of lactic acid bacteria from three samples that are raw camel milk from Béchar region and the silage of sorghum and wheat against pathogenic strains and food spoilage. The lactic strains were pre-identified as follows: Strains (11.10, H4.34, Y9, R2, Y47.48) are *Leuconostoc* sp, both strains (07, 07') are *Weissellacibaria*, both other strains (D1,22) are *Lactobacillus manihotivorans*, and the strain (B9) is *Lactococcus raffinolactis*. These strains have been tested for their antibacterial effect against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella oxytoca*. The interaction of our lactic acid strains with pathogenic bacteria was detected by two methods (direct and indirect). From the results, it is noted that all the lactic strains tested have antibacterial activity against the indicator strains. Inhibition diameters vary between 10 and 30 mm. The results obtained indicate the presence of one or more extracellular substances with an inhibitory effect against the target bacteria. Additional tests are needed to clarify the nature of the inhibitory agents, while fermented products are a source of new high performing strains with antimicrobial potency.

**Key words:** Lactic acid bacteria, antibacterial activity, camel's milk, silage, sorghum, wheat, pathogenic bacteria

## Tables des matières

Remerciements

Dédicace

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

### *Partie I : synthèses bibliographiques*

#### • **Chapitre I : Généralités sur les bactéries lactiques.**

I.1. Définition	03
I.2. Origine et habitat	03
➤ <b>Etude de quelques exemples des habitats des BL :</b>	04
<b>A - Lait de chamelle :</b>	04
• Définition	04
• Caractéristiques du lait camelin	04
• Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques	04
• Caractéristiques microbiologiques	05
• La flore microbienne de lait camelin :	06
a - La flore mésophile aérobie totale	06
b -La flore pathogène	07
c - La flore d'altération	07
d - La flore lactique	07
<b>B- Ensilage de blé et de Sorgho :</b>	08
Définition	08
Ensilage et fermentation lactique	08
Classification botanique	10
Morphologie	10
<b>I.3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques</b>	11
I.3.1. Les caractères morphologiques	11
I.3.2. Les caractères physiologiques et biochimiques	11
I.3.3. Génétique des bactéries lactiques	12
I.3.4. Les différents genres lactiques	14
I.3.4.1. Les coques lactiques	14

I.3.4.1.1. Genres Streptococcus – Enterococcus –Lactococcus	14
I.3.4.1.2. Genre Leuconostoc - Oenococcus	16
I.3.4.2. Les bacilles lactiques	17
I.3.4.2.1. Genre Lactobacillus	17
I.3.4.2.2. Genre Carnobacterium	18
I.3.4.2.3. Bifidobacterium	20
<b>I.5. Croissance des bactéries lactiques</b>	<b>20</b>
I.5.1. Les exigences nutritionnelles	20
I.5.2. Propriétés métaboliques :	21
I.5.2.1.Métabolismes des sucres	21
I.5.2.2.Le métabolisme du citrate	21
I.5.2.3.Métabolismes des protéines	22
I.5.2.4.Métabolisme des lipides	22
I.5.2.5.Catabolisme de l'arginine	22
I.5.2.6.Métabolisme de l'urée	22
I.5.3. Techniques de suivie de croissance des bactéries lactiques	22
I.5.3.1. Dénombrement sur milieu gélosé	22
I.5.3.2. Dénombrement par spectroscopie	22
I.5.3.3. Autres méthodes d'évaluation de la croissance des BL.	23
I.5.4. Déroulement de la croissance des BL ; Cinétique	23
I.5.4.1. Indicateurs de croissance	23
I.5.4.3. facteurs influençant la croissance des BL.	24
<b>I.6. Conservation des ferments lactiques</b>	<b>25</b>

**• Chapitre II : Aptitudes technologiques des BL**

<b>II.1. Rôles des bactéries lactiques:</b>	<b>26</b>
II.1.1 Propriétés fonctionnelles des BL et leurs utilisations	26
II.1.2. Effets des bactéries lactiques sur la santé	27
II.2.Propriétés technologiques des BL :	27
II.2.1.Pouvoir acidifiant	27
II.2.2.Activités enzymatiques	28
II.2.2.1.Activité lipolytique	28
II.2.2.2.Activité protéolytique	28
II.2.2.3. Activité autolytique	29
II.2.3.Production des exopolysaccharides (EPS)	30
II.2.4.Pouvoir aromatisant	31
II .3.Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques	32
II.3.1. Interactions microbiennes :	32



II.3.2. Différents types d'interactions microbiennes:	32
a- Interactions directes	32
b-Interactions indirectes	32
II.3.1. Facteurs inhibiteurs chez les BL	33
✓ Le pH et les acides organiques	34
✓ Le peroxyde d'hydrogène	34
✓ Le dioxyde de carbone	34
✓ Le diacétyl	34
✓ La reutéline	35
✓ Les bactériocines	35
➤ Définition	35
➤ Facteurs influençant l'action des bactériocines des BL	36
➤ Les applications des bactériocines	37
➤ Réglementation	38
II.3.Critères de sécurité des BL en bioconservation	38
II.3.1.Production des amines biogènes	38
II.3.2. Résistance/ sensibilité des BL	40
II.4. Notion du probiotiques	41
• <b>Chapitre III:</b> Généralités sur les Infections bactériennes	
III.1. Les germes bactériens à risques pathogènes	44
III.1.1. Germes provoquant des infections médicales	44
III.1.2. Germes provoquant l'altération des produits alimentaires	44
✓ La flore microbienne des aliments	44
✓ Action des micro-organismes dans les aliments	45
III.2. Etude de quelques infections bactériennes	45
III.2.1.Les infections digestives d'origine bactériennes:	45
III.2.2. Les infections urinaires :	47
III.3. Etudes de quelques genres bactériens pathogènes	48
III.3.1. Le genre Staphylococcus :	48
III.3.2.Le genre Escherichia : (espèce Escherichia coli)	51
III.3. Le genre Pseudomonas	54
III .4. Le genre Klebsiella	56
<b>V- Résistance aux antibiotiques:</b>	58
<b><i>Partie II : Travail expérimental</i></b>	
• <b>I. Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel biologique	60
- Les souches lactiques	60
- Les souches cibles	60

2. Revivification des souches	60
3. Observation macroscopique	60
4. Conservation des souches	61
➤ Identification des souches lactiques	62
✓ Test catalase	62
✓ Test oxydase	62
➤ Pré-identification :	62
✓ Coloration de Gram	62
✓ Test catalase	63
✓ Type fermentaire (Cloche de Durham)	63
✓ Croissance en présence de 6,5% et de 3% de NaCl	63
✓ Croissance à différents PH	63
✓ Croissance à différentes températures	63
✓ Test MRS Amidon	63
✓ <b>Milieu M16BCP</b>	63
✓ <b>Milieu MSE</b>	63
✓ <b>Milieu MRS Rouge Congo</b>	64
➤ <b>Etude de l'activité antibactérienne (Activité Antagoniste)</b>	64
✓ <b>Méthode direct (Spot Agar Test)</b>	64
✓ <b>Méthode indirect (Well Diffusion Assays)</b>	64
• <b>II . Résultats et dicussions</b>	
1. <b>Identification des souches :</b>	65
✓ Examen microscopique	65
✓ Critères physiologiques des souches lactiques	68
✓ Type fermentaire	72
✓ Test des : M16BCP, MSE, MRS R.C et MRS Amidon	73
✓ Antagonisme BL et microorganismes pathogènes	81
➤ Méthode directe	81
➤ Méthode indirecte	84
<b>Conclusion et perspectives</b>	85
<b>Références bibliographiques</b>	86
<b>Annexe</b>	

## Liste des abréviations :

**°C:** Degré Celsius

**µm:** Micromètre

**ADH:** Arginine Dihydrolase

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

**ADNr:** ADN ribosomal

**ADP:** Adenosine 5'diphosphate

**API:** Analytical profile index

**ARNr:** Acide Ribonucléique Ribosomique

**ATP:** Adenosine 5'triphosphate

**BL :** Bactéries lactiques

**BN:** Bouillon nutritif

**CK :** Carbamate kinase

**EPS :** Exopolysaccharides

**G:** Temps de génération

**G+C:** Guanine + Cytosine

**H2O2:** Eau oxygénée

**HCl:** Chlorure d'hydrogène

**Lb:** Lactobacillus

**MH :** MULLER HINTON

**MRS:** Milieu de Man Rogosa et Sharp

**MRS-BCP:** Milieu MRS additionnée de pourpre de Bromocrésol

**MSE :** MAYEUX, SANDINE et ELLIKER.

**NaCl:** Chlorure de sodium

**NAD+:** Nicotinamide adenine dinucléotide

**NADH:** Nicotinamide adenine dinucléotide

**NaOH:** Hydroxyde de sodium

**OTCase :** Ornithine carbamoyl transférase

pH : potentiel d'Hydrogène

## Listes des figures :

<b>Figure 01</b> : Détail d'un champ de sorgho .....	<b>10</b>
<b>Figure 02</b> : Principales phases de croissance d'une culture bactérienne discontinue .....	<b>23</b>
<b>Figure03</b> : Les voies principales de la lipolyse .....	<b>28</b>
<b>Figure 04</b> : Catabolisme des acides aminés par <i>Lc. lactis</i> sp.....	<b>29</b>
<b>Figure 05</b> : Schéma de l'ensemencement, revivification et purification des BL.....	<b>61</b>
<b>Figure 06</b> : Observations microscopiques des bactéries lactiques . .....	<b>66</b>
<b>Figure 07</b> : Test catalase des bactéries lactiques.....	<b>67</b>
<b>Figure 08</b> : Effet de NaCl à concentration de 3% sur la croissance des BL.....	<b>69</b>
<b>Figure 09</b> : Effet de NaCl à concentration de 6,5% sur la croissance des BL Isolées .....	<b>69</b>
<b>Figure 10</b> : Effet de pH à 9,6 sur la croissance des BL isolées.....	<b>70</b>
<b>Figure 11</b> : Effet de température à 45°C sur la croissance des bactéries lactiques isolées.....	<b>71</b>
<b>Figure 12</b> : Effet de température à 15°C sur la croissance des bactéries lactiques isolées.....	<b>71</b>
<b>Figure 13</b> : Production de CO <sub>2</sub> par les BL qui s'accumule dans la cloche de Durham.....	<b>73</b>
<b>Figure 14</b> : Vérification d'utilisation du citrate sur milieu M16BCP.....	<b>75</b>
<b>Figure 15</b> : Recherche des souches productrices d'EPS sur milieu MSE.....	<b>77</b>
<b>Figure 16</b> : Recherche et détection de production d'EPS sur milieu MRS Rouge Congo.....	<b>78</b>
<b>Figure 17</b> : L'activité inhibitrice des souches lactiques envers les souches indicatrices.....	<b>80</b>
<b>Figure 18</b> : Antagonisme - méthode direct- des BL vis-à-vis des souches indicatrices.....	<b>82</b>
<b>Figure 19</b> : Diamètres d'inhibition des souches ( <i>Well diffusion assays</i> ).....	<b>83</b>
<b>Figure 20</b> : Résultat d'antagonisme indirect des BL vis-à-vis les souches indicatrices.....	<b>84</b>

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 01</b> : Composition chimique du lait chamelin comparé avec le lait des autres espèces....	05
<b>Tableau 02</b> : Propriétés générales des genres des bactéries lactiques.....	12
<b>Tableau 03</b> :Caractéristiques des espèces des genres <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> <i>Streptococcus</i> .	15
<b>Tableau 04</b> : Caractéristiques des trois sous genres de <i>Lactobacillus</i> .....	18
<b>Tableau 05</b> : les différents critères d'identification des <i>Lactobacillus</i> et des <i>Carnobacterium</i> .....	19
<b>Tableau 06</b> : Caractéristiques physiologiques des quelques espèces du genre <i>Carnobacterium</i> ..	20
<b>Tableau 07</b> : Températures optimales de croissance des BL.....	24
<b>Tableau 08</b> :Principaux produits issus de la fermentation des BL .....	26
<b>Tableau 09</b> : Récapitulatif de la production d'EPS selon le milieu de croissance utilisé.....	31
<b>Tableau 10</b> : Classification des bactériocines des bactéries lactiques.....	36
<b>Tableau 11</b> : Bactéries lactiques productrices d'amines biogènes dans les aliments.....	39
<b>Tableau 12</b> : Principaux effets bénéfiques sur la santé de l'hôte induits par des probiotiques .....	42
<b>Tableau 13</b> : Principaux critères de choix des BL en fonction de leur application .....	43
<b>Tableau 14</b> : Tableau récapitulatif des principales causes de toxi-infections alimentaires.....	46
<b>Tableau 15</b> : Quelques caractéristiques d' <i>Escherichia coli</i> .....	52
<b>Tableau 16</b> : résultats des tests catalase et aspect microscopique des souches lactiques.....	65
<b>Tableau 17</b> : Caractère physiologiques des souches lactiques.....	68
<b>Tableau 18</b> : Type fermentaire des souches lactiques.....	72
<b>Tableau 19</b> : Tableau récapitulatif des tests biochimique sur milieu M16BCP.....	74
<b>Tableau 20</b> : Tableau récapitulatif des tests biochimique sur MRS Rouge Congo et MSE.....	76
<b>Tableau 21</b> : Tableau récapitulatif des tests biochimique sur milieu MRS Amidon.....	79
<b>Tableau 22</b> : Diamètres d'inhibition - challenge directe- des BL avec les souches indicatrices ...	80
<b>Tableau 23</b> : Diamètres d'inhibition -challenge indirecte- des BL avec les souches indicatrices...	82

**INTRODUCTION  
GENERALE**

## Introduction générale

**D'**après les études qui ont été faites au cours du temps , et selon les spécialistes en sciences biologiques, le groupe des bactéries lactiques constitue un arsenal scientifique pour l'humanité toute entière et pour la recherche scientifique en particulier ; cette richesse permet à ces fameuses bactéries d'être significativement exploitables non seulement dans le domaine alimentaire et agro-alimentaire mais aussi dans le domaine de santé et de l'industrie pharmaceutique, cette spécificité est la conséquence de leur diversité phylogénétique et leurs propriétés fonctionnelles plus précisément le pouvoir d'élaborer des substances dites antimicrobiennes qui sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires; alors qu'elle peuvent remplacer des substances médicales chimiques et synthétiques tel que les antibiotiques surtout avec le retour du monde à tout ce qui est bio.

Ce sont donc les métabolites primaires et secondaires synthétisés par les bactéries lactiques principalement les acides organiques et d'autres composés antimicrobiens, tels que les bactériocines, qui jouent un rôle majeur dans la conservation des produits alimentaires fermentés et contribuent à l'inhibition des germes contaminants ; ainsi on note que cette propriété fonctionnelle a un rôle thérapeutique très important contre les infections qui touchent l'homme par différentes voies , ce qui donne une **nouvelle approche** pour améliorer le secteur de l'industrie pharmaceutique en particulier et le domaine sanitaire tout entier. De ce fait, la problématique pour ce présent travail en posant la question suivante : **Quelle est la possibilité d'exploiter l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques et leurs métabolites comme des inhibiteurs des germes pathogènes?**

Et pour répondre à cette problématique et autres questions on a réalisé un processus expérimental au niveau de laboratoire de l'université de **Saida**.

Dans ce contexte, notre travail pratique consiste à rechercher l'activité antibactérienne de quatorze souches lactiques isolées préalablement à partir des milieux peu exploitables en Algérie qui sont **le lait camelin et l'ensilage de blé et de sorgho** , vis à vis des bactéries pathogènes en touchant les deux principaux axes de toxicité ; l'altération des produits alimentaires et les infections médicales et pour réaliser ce but on s'intéresse aux quatre souches indicatrices en suivant les étapes suivantes :

- ✓ La première partie consiste à revivifier et repiquer les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes dans leurs milieux appropriés.
- ✓ Dans la deuxième partie, on envisage d'effectuer des tests physiologiques et biochimiques sur les bactéries lactiques.
- ✓ Dans la troisième partie, nous réaliserons l'activité antagoniste des souches lactiques vis à vis des bactéries pathogènes par deux méthodes :
  - Directe qui consiste à utiliser les cellules des bactéries lactiques.
  - Indirecte qui consiste à utiliser les métabolites des bactéries lactiques.

Afin que notre travail sera bien organisé et documenté, un plan a été adopté qui s'articule autour de deux grandes parties précédées par une introduction générale, la première partie est une synthèse bibliographique et la seconde est une illustration pour le travail pratique ; la synthèse bibliographique comporte trois chapitres dont le contenu est brièvement résumé ci-dessous :

Le chapitre I présente des généralités et un bref historique sur les bactéries lactiques y compris l'étude des quelques exemples de leur origines qui seront des échantillons pour notre expérimentation ; le chapitre II englobe les aptitudes technologiques des bactéries lactiques et le rôle qu'elles jouent dans le domaine de santé et de l'agro-alimentaire ; en terminant cette partie par un troisième chapitre qui comporte des généralités sur les germes microbiens responsables des infections bactériennes et des altérations alimentaires .

La seconde partie regroupe les différentes étapes de notre travail expérimental débutant par le matériel et les méthodes, les résultats obtenues et la discussion ; terminée par une conclusion générale par la quelle on proposant des perspectives.



***PARTIE I :***

***SYNTHESES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

***CHAPITRE. I :***  
***GENERALITES***  
***SUR***  
***LES***  
***BACTERIES***  
***LACTIQUES***

A cause de leurs métabolismes et sécrétions, certains micro-organismes sont devenus très utiles dans divers domaines et surtout dans le côté de la fermentation, plus précisément le groupe des bactéries lactiques qui constituent un sujet d'étude très vaste.

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Quiberoni et al., 2001**).

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique.

Il est important de noter que le terme « bactérie lactique » n'a pas un statut dans la taxonomie, mais c'est en général une meilleure expression pour décrire l'ensemble des bactéries qui se ressemblent phylogénétiquement. **Alors quelles sont les caractéristiques et les particularités des espèces de ce groupe ?**

### **I.1. Définition :**

La production d'acide lactique est le trait commun associant l'ensemble des espèces hétérogènes appartenant aux cellules vivantes procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**Bruno, 2008**). Ces espèces bactériennes regroupent des cocci et des bâtonnets Gram positif qui sont généralement immobiles, asporulés, anaérobies mais micro aérophiiles et ont des exigences nutritionnelles (**Dellaglio et al., 1994**).

### **I.2. Origine et habitat :**

✓ Les milieux permettant le développement de ces bactéries sont complexes du point de vue nutritionnel ; ils représentent d'une manière générale, soit des substrats de fermentations en industrie laitière, pour la transformation des végétaux et produits carnés, soit des écosystèmes digestifs, comme c'est le cas pour les bactéries lactiques séjournant le tractus intestinal humain ou animal (**Rodriguez et al., 2002**).

Donc les bactéries lactiques sont ubiquistes, elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales ainsi que dans le tractus digestif.

Les bactéries lactiques peuvent vivre en symbiose entre elles et avec un hôte tel que le tractus gastro-intestinal des mammifères (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*). Par ailleurs, l'appareil génital chez la femme est principalement colonisé par des bactéries lactiques, telles que *Lactobacillus*, auxquelles il apporte des nutriments comme le glycogène. En acidifiant le milieu, ces bactéries apportent une protection contre des agents pathogènes responsables d'infections vaginales comme *Trichomonas vaginalis* (*T.vaginalis*), agent pathogène responsable de la trichomonase vaginale (**Björkroth et Holzapfel, 2006, Ruiz et al., 2009**) et/ ou *Candida albicans* à l'origine de la vulvo-vaginite (**Pirotta et al., 2004, Falagas et al., 2006**).

✓ **Etude de quelques exemples des habitats des BL :**

**A - Lait de chamelle :**

Depuis longtemps, le lait camelin constitue la principale ressource alimentaire pour les nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté. Ce lait présente une composition physico-chimique relativement similaire à celle du lait bovin. Il se distingue des autres laits par la présence d'un système protecteur très puissant, lié à des taux relativement élevés en lysozyme, en lactoperoxydase, en lactoferrine et en bactériocines produites par des bactéries lactiques. (Siboukeur, 2007).

➤ **Définition**

Le lait de chamelle, comme celui des autres mammifères, est un milieu de composition chimique et physique complexe qui permet au jeune chamelon de couvrir ses besoins énergétiques et nutritionnels pendant la première étape de son existence (Kamoun et Ramet, 1989).

➤ **Caractéristiques du lait camelin :**

• **Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques :**

Selon Siboukeur, (2007) « des analyses physico-chimiques d'échantillons de lait de chammelles collecté localement à savoir pH, acidité, densité, extrait sec total, teneurs en cendres, en matière grasse, en protéines et en vitamine C. Les résultats obtenus montrent que le pH des échantillons de lait camelin est égal à  $6,65 \pm 0,25$  ». Le pH du lait camelin frais se situe entre 6,5 et 6,7; un léger abaissement du pH à 6,4 et 6,0 est aussi enregistré. Le pH du lait camelin est similaire à celui du lait de brebis, mais un peu acide par rapport à celui du lait bovin, ce dernier se situe entre 6,6 et 6,8 (Souid, 2011), et moins dense ( $d = 1,027 \pm 0,003$ ) que le lait de vache, alors que son acidité Doronic est égale à  $14,5 \pm 1,37$ . Sa densité est relativement plus faible par rapport au lait bovin qui est égale à  $1,023 \pm 0,0047$ . Parallèlement les analyses montrent que le lait collecté présente globalement une composition en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose) très similaire à celle du lait bovin. Cependant, ce lait se singularise par une teneur élevée en Vitamine C (teneur moyenne évaluée à  $41,40 \text{ mg/l} \pm 8,20$ ) (Siboukeur, 2007). La viscosité du lait de chamelle est plus faible que celle du lait de vache.

**Tableau 01** : Composition chimique du lait de chamelle en comparant avec le lait des autres espèces (Siboukeur, 2007).

Origine du lait	Constituants					Références
	Eau	MST	Lactose	Mg	protéines	
Lait de chamelle	90.2	9.8	4.2	3.2	2.7	DESEL et al ,1982
	88.1	11.9	4.4	3.6	2.9	SAWAYA et al, 1984
	87.0	13	5.6	3.3	3.3	GNAN et SHEREHA,1986
	87.4	13.4	4.8	3.2	4.0	ABDEL-RAHIM ,1987
	89.1	10.9	3.9	3.5	3.4	HASSAN et al ,1987
	87.8	12.2	5.2	3.2	3.1	FARAH et REGG,1989
	86.6	13.4	5.5	3.5	3.3	BAYOUMI, 1990
	88.3	10.9	4.1	3.1	2.8	ELAMIN et WILCOX ,1992
	91.3	8.7	4.5	1.1	3.2	MEHAIA,1992
	88.0	11.9	4.7	3.9	2.5	MEHAIA,1993a
	87.8	12.1	4.9	3.2	3.2	ABU-LEHIA,1994
	87.3	12.6	4.5	3.4	3.3	KAMOUN,1994
	86.9	13.1	4.9	4.6	3.0	LARSSON-RAZNIKIEWICZ MOHAMED,1994
	90.5	9.5	3.7	3.0	2.7	ZIA-UR-RAHMAN et STRATEN,1994
	90.0	10.0	2.5	3.3	3.3	GORBAN et IZZELDIN, 1997
Lait de vache	87-87.50	12.5-13	4.8-5	3.4-4.4	2.9-3.5	MIETTON et al ,1994
	87	-	4.7	3.3	3.3	MILLER et al (2000)
Lait de femme	88.00	-	6.9	4.4	1.0	MILLER et al (2000)
Lait de chèvre	87	-	4.4	4.1	3.6	MILLER et al (2000)

- **Caractéristiques microbiologiques:**

Le lait est un produit naturellement périssable du fait de sa teneur élevée en eau, son pH voisin de la neutralité, et de sa composition en éléments nutritifs. Le lait referme inévitablement une microflore dont la nature et l'importance sont conditionnées par l'état sanitaire de l'animal, les conditions de traite, la température, la durée de conservation... etc. Sous des conditions rigoureuses de collecte, sa charge ne dépasse cependant pas **5.103 germes /ml (Larpen et Gourgau, 1997)**. Si la microflore du lait bovin a fait l'objet de nombreuses études, cela est loin d'être le cas du lait camelin où quelques travaux seulement lui sont consacrés. L'une des raisons principales de cette carence est la relative absence des moyens matériels et humains (**laboratoires, chercheurs...**) tout près des lieux de collecte ce qui éviterait à recourir à la congélation ou à l'utilisation d'agents antimicrobiens, comme c'est généralement le cas des études physico-chimiques. L'étude réalisée par **Barbour et al (1984)** met en évidence l'inhibition des bactéries pathogènes par le lait camelin. En

s'appuyant sur la numération de quatre groupes de micro-organismes (la flore aérobie totale, les psychrotrophes, les coliformes et bactéries sporulantes) déduisent que la qualité hygiénique du lait camelin est satisfaisante (Yagil et al., 1994) soutiennent que la pasteurisation du lait de chamelle n'est pas indispensable si tous les dromadaires du troupeau sont en bonne santé. L'activité antimicrobienne du lait de chamelle, due à la présence des protéines protectrices citées précédemment (Lysozyme, lactopéroxydase, lactoferrine...), serait responsable de cet état (Barbour et al., 1984). Dans ce contexte, d'autres auteurs ont montré l'effet inhibiteur du lysozyme extrait et purifié à partir du lait camelin, sur *Escherichia coli* et *Micrococcus lysodeikticus* en le comparant à celui de l'ovalbumine (Durhaiman, 1988).

Dans le même ordre d'idée, l'efficacité de l'activité des protéines protectrices du lait de chamelle contre *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et rotavirus, a été également signalée.

Par ailleurs, on reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antagonistes tels que les acides organiques (acide lactique et acide citrique), le peroxyde d'hydrogène et des protéines antimicrobiennes (Klaenhammer, 1994).

Il est important de signaler que les acides aminés libres et les autres composés azotés non protéiques (NPN) dont le taux est plus élevé que dans le lait bovin, sont facilement dégradés par les microorganismes, particulièrement la flore bifidogène connue pour ses exigences en matière de facteurs de croissance. En effet, des travaux portant sur quatre espèces (*Bifidobacterium breve*; *B. bifidum*; *B. longum* et *B. angulatum*), rapportent que le lait camelin est un excellent milieu de culture, naturel, pour les bifidobactéries. En outre, le stockage de ce lait à 4°C n'affecte pas leur viabilité et leur activité protéolytique est plus forte que dans le lait bovin. A cet effet, ces mêmes auteurs préconisent, l'utilisation de la poudre de lait camelin comme milieu de pré culture de cette flore à haut potentiel nutritionnel et thérapeutique (Abu-Tarboush et al., 1998).

## ➤ La flore microbienne de lait camelin :

### a - La flore mésophile aérobie totale :

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans le lait camelin cru révèle une quantité de  $9,5 \times 10^6$  UFC. Ces résultats indiquent que les échantillons du lait de chamelle analysés sont chargés en micro-organismes que le lait de vache ( $9 \times 10^4$  UFC/ml) au jour du conditionnement et  $3 \times 10^5$  UFC/ml à la date limite de consommation. Selon de nombreux auteurs, comme Faye (1997), le lait de chamelle a des propriétés antibactériennes élevées qui lui assurent une bonne conservation au frais sans fermentation immédiate. Ce constat s'oppose à la charge microbienne anormalement élevée dans les échantillons analysés. Le lait est collecté sous des conditions hygiéniques convenables, sa flore totale ne dépasse pas  $10^3$  à  $10^4$  UFC/ml. Cette charge microbienne élevée dans le lait de chamelle serait due à plusieurs facteurs: les mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite ou de la conservation qui entraînent une contamination du lait et les fortes températures dans les zones arides et semi-arides favorables à la croissance des microorganismes. Par contre les échantillons du lait camelin pasteurisé présentent des valeurs acceptables, ce qui a montré la nécessité de pasteurisation du lait camelin cru. La pasteurisation à (63°C /20min) et à (65°C/30min) a toutefois donné des résultats peu intéressants puisque le taux de la FMAT est resté élevé ( $3,6 \times 10^5$ ) et ( $9,5 \times 10^4$ ) respectivement. Donc pour assurer une bonne pasteurisation du lait de chamelle, il faut lui appliquer un couple de température/temps plus important que celui-ci.

### **b -La flore pathogène :**

La flore pathogène du lait, parmi laquelle, les coliformes, les entérobactéries, les bactéries halotolérantes et les Staphylocoques est complètement détruite, après la pasteurisation quelque soit le barème utilisé. Ces bactéries étant sensibles à la chaleur, constituent un bon témoin de l'efficacité des traitements thermiques et/ou d'une recontamination (**Guiraud, 1998**). Signalons que cette flore pose des problèmes divers sur la santé humaine :

-Les entérocoques, tels que (*Salmonella, Esherichia coli, Shigella, Yarsinia*) sont responsables de nombreuses toxi-infections et troubles intestinaux, les bactéries halotolérantes sont des micro-organismes qui peuvent se reproduire en absence de sel et tolèrent une concentration jusqu'à 15% tel que (les Staphylocoques halotolérants), elles provoquent par leur production des toxines thermostables, des intoxications de gravité variable, une fermentation lactique suffisamment active, les inhibes. Mais le risque subsiste 'il ya eu accumulation préalable de toxines en quantité suffisante. Les coliformes totaux absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux.

### **c - La flore d'altération :**

Cette flore regroupant les bactéries thermorésistantes, les psychotropes. la flore thermorésistante est capable de résister aux traitements thermiques usuels comme la pasteurisation. Dans ce sens a indiqué que le nombre de thermorésistant du lait cru conditionne, non seulement la teneur en germes du lait pasteurisé mais aussi sa durée de conservation dans le cas où il n'y a pas une recontamination après la pasteurisation.

D'ailleurs, La flore thermorésistante est notamment apportée dans le lait par le sol les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection du matériel en contact avec le lait. Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, peut parfois, être dangereux pour la santé. Les composantes de cette flore sont: *Micrococcus, Microbactérium et Bacillus* dont l'espèce *cereus* produit une entérotoxine stable après pasteurisation.

### **d - La flore lactique :**

La flore lactique a une grande importance en laiterie. Sa principale propriété est de produire de l'acide lactique par fermentation du lactose; certaines produisent en outre du gaz carbonique et divers composés, dont certains contribuent à l'arôme des produits laitiers.

La flore lactique qui regroupe les bactéries lactiques mésophiles et thermophiles et les lactobacilles représente une sensibilité différente à la pasteurisation selon les espèces, par exemple, les bactéries lactiques mésophiles tel que le genre *Lactococcus* a montré une sensibilité très importante à la pasteurisation avec un taux de réduction de 100% pour tous les barèmes de pasteurisation utilisés au cours de cette étude. Ces bactéries sont utilisées pour la production de lait fermenté présentent des caractéristiques organoleptiques spécifiques (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Par contre, les bactéries lactiques thermophiles tels que l'espèce (*Streptococcus thermophilus*) présente une résistance à la pasteurisation avec des taux de réduction est égale 2,54% , 2,98%, 3,69%, 19,24% pour des couple température/temps 63°C/20min, 65°C/30min,

72°C/15sec et min,85°C/2min respectivement .Ces bactéries sont utilisées pour la fabrication des fromage à pate pressée cuite (**Bourgeois et Larpent,1996**).

Par ailleurs, le taux de réduction des lactobacilles est 55,6%, 63,80%, 66,59%, 69,97% pour un couple température/temps égales 63°C/ 20min, 65°C/30min, 72°C/15sec et 85°C/2min respectivement. Il semble que cette flore représente une certaine résistance à la pasteurisation.

On peut expliquer cette constatation par la présence probablement d'espèce thermophile telle que *Lactobacillus delbruecki* subsp *lactis*, cette espèce est absente dans le lait camelin.

Enfin, on peut dire que la pasteurisation permet d'améliorer la qualité hygiénique du lait. Cependant, il faut prendre les mesures de prévention contre la présence et le développement des germes pathogènes et/ou d'altération (**thermorésistants et psychotrophes**)

## **B- Ensilage de blé et de Sorgho :**

➤ **Définition:** L'ensilage est le résultat d'une fermentation des plantes fourragères induites par les bactéries lactiques qui convertissent les sucres solubles présentes dans les cellules végétales en acide organiques. cette production d'acides organiques entraine une baisse de pH, ce qui permet la conservation des plantes fourragères tout en préservant leur valeur nutritive.

Le terme "ensilage" désigne tout à la fois :

- Technique de conservation par voie humide, faisant appel à l'anaérobiose et à une fermentation acidifiante à dominante lactique afin de minimiser les pertes de matière sèche, de valeur alimentaire et d'éviter le développement de micro-organismes indésirables.
- Le produit fini, stabilisé grâce à un pH acide et variablement conditionné (silo taupinière, silo couloir, silo boudin ou balles enrubannées) (**AFSSA, 2004**).

### ➤ **Ensilage et fermentation lactique :**

L'acidification progressive favorise la multiplication des ferments lactiques et cela d'autant plus que l'anaérobiose est respectée. Ces micro-organismes micro-aérophiles sont généralement peu abondants dans la flore épiphyte. Leur nombre peut varier cependant très largement (de  $10^3$  à  $10^7$  ufc par gramme de fourrage) selon les conditions d'environnement, le type de fourrage et la localisation géographique. Ce nombre est d'importance dans la mesure où la conservation du fourrage par ensilage ne repose que sur cette seule présence de bactéries lactiques indigènes sur le substrat. Cela donne par contre la possibilité de recourir à des agents d'ensilage qui compléteront l'action les bactéries lactiques épiphytes afin de maîtriser la microflore de l'ensilage

Si les conditions du milieu sont favorables, à savoir : anaérobiose, température comprise entre 10 et 40°C, quantité suffisante de sucres fermentescibles, pH inférieur à 6..., leur développement va être explosif et l'acidification rapide qui va en résulter (pH rapidement inférieur à 4) va bloquer le développement des autres espèces et stabiliser l'ensilage.

La vocation première de ces ferments est la formation d'acide lactique à partir des glucides solubles. Mais le rendement de cette transformation varie selon qu'il s'agit de :



Bactéries homofermentaires, c'est-à-dire qui ne produisent que de l'acide lactique à partir du glucose et du fructose avec une efficacité supérieure à 90 %. C'est le cas notamment de *Lactobacillus plantarum* et de *Lactobacillus casei*. De façon accessoire, *Lactobacillus plantarum* semble avoir la capacité de réduire les nitrates en nitrites puis en ammoniac ce qui n'est pas sans importance lors de la récolte de fourrages en période très sèche, condition reconnue comme favorable à un taux élevé de nitrates.

Bactéries hétérofermentaires qui, avec les mêmes substrats, produisent à côté de l'acide lactique (rendement inférieur à 45 %) de l'acide acétique, de l'éthanol, de l'hydrogène et du gaz carbonique. Cela concerne essentiellement des germes du genre *Leuconostoc*, mais aussi certains lactobacilles (*Lactobacillus brevis*).

Cette capacité différente, selon le type de flore dominante, rend difficile la prévision de la quantité de sucres disponibles nécessaires à l'acidification, ainsi que le temps nécessaire à la stabilisation de l'ensilage (pH inférieur à 4). Dans les conditions optimales, avec des fourrages naturellement riches en glucides solubles, le taux d'acide lactique atteint 4 % de la matière sèche en 5 jours et se stabilise entre 6 et 7 % en moins de 2 mois.

Si les conditions ne sont pas favorables (pauvreté en glucides, aérobiose résiduelle importante, acidification initiale faible, flore lactique épiphyte hétérofermentaire), l'acidification ne se fait que lentement (par exemple 4 % d'acide lactique après un mois) ce qui laisse la porte ouverte à une déviation fermentaire. En effet, si le pH n'atteint pas 4 très rapidement, la conservation va suivre un cours différent. (AFSSA, 2004).

- **Le blé :**

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Gramineae ou Poaceae (Branlard, 2010). Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) mais il existe de nombreuses autres espèces de *Triticum* qui se différencient par leur degré de ploïdie et par leur nombre de chromosomes (14, 28 ou 42). Le blé dur contient deux génomes AA et BB et 28 chromosomes (Feillet, 2000).

- **Le sorgho:**

Le sorgho [*Sorghum bicolor*] est une plante d'origine tropicale de la famille des Graminées. Le rôle de ses grains est important dans l'alimentation des habitants de ces régions, voire primordial en conditions semi-arides. Le sorgho est également cultivé dans beaucoup d'autres régions du Monde, pour être distribué sous forme de grains ou de fourrage dans l'alimentation des animaux domestiques. Les prédispositions naturelles de la plante, à supporter les conditions de culture difficiles, peuvent être mises à profit pour réduire la consommation d'eau liée à l'irrigation, ainsi que les charges qui y sont associées. Comme toutes les plantes cultivées, il est possible de caractériser le sorgho par son appartenance et ses propriétés botaniques, par des données économiques et agronomiques. (Nicolas, 2007).

- **Classification botanique:**

Il n'existe pas un, mais des sorghos. Ils ne forment pourtant qu'un petit groupe : *Sorghum sp.*, au sein de la vaste famille à laquelle ils appartiennent : les Graminées. Parmi ces Graminées, certaines, dont le sorgho, sont d'intérêts tout particulier, car leurs fruits fournissent 50% de l'apport énergétique dans l'alimentation humaine : il s'agit des céréales.

Les grains des céréales sont des fruits au sens botanique du terme, puisqu'ils sont constitués d'une graine enveloppée par un péricarpe sec, adhérent et indéhiscent. Cette graine est constituée d'un embryon : une gemmule et une radicule, associées à un unique cotylédon très modifié en position latérale. Le tout est accompagné d'un organe de réserve, l'albumen, qui constitue l'essentiel du volume de la graine et qui motive la culture des céréales. Sa consistance est en partie vitreuse et en partie farineuse. La proportion de ces deux parties influe sur l'utilisation alimentaire que l'on peut en faire.

Phylogénétiquement, ce sont la canne à sucre et le maïs qui sont les plus proches parents du sorgho.

➤ **Morphologie :**

L'ensemble des espèces du genre *sorghum* sont des plantes herbacées, comme la majorité des graminées. Elles se composent de tiges robustes et dressées, garnies de feuilles plates et se terminent par une grande inflorescence rameuse (**Figure 1**). Les plus grandes variétés s'élèvent jusqu'à 5 m de haut, avec une tige de 4 cm de diamètre, alors que les plus petites atteignent 50 cm à maturité. Elles possèdent un système racinaire puissant, capable de descendre rapidement à une grande profondeur du sol (jusqu'à 2 m) pour y extraire l'eau et les éléments minéraux. Cette particularité leur procure des qualités de rusticité et de grande résistance à la sécheresse (**Nicolas, 2007**).



**Figure 01 : Détail d'un champ de sorgho**

### **I.3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques :**

Un système taxinomique permet de décrire un organisme inconnu puis de le classer avec d'autres organismes présentant des caractéristiques similaires.

La taxinomie moderne constitue un champ d'étude fascinant et dynamique en se basant sur des techniques récentes, reliées à la biologie moléculaire et à la génétique, permettant d'aborder la classification et l'évolution sous des nouvelles perspectives (**Gérard J. 2003**).

### **I.3.1. Les caractères morphologiques :**

Ils représentent essentiellement la forme qui regroupe les coques et les bacilles puis le mode d'association en deuxième ordre ainsi que le diamètre cellulaire et l'absence de flagelles et des spores.

### **I.3.2. Les caractères physiologiques et biochimiques :**

Les bactéries lactiques sont donc des bactéries à Gram positif qui convertissent le pyruvate en acide lactique pour régénérer le NAD<sup>+</sup> utilisé dans la glycolyse. A quelques exceptions près, elles partagent les caractéristiques suivantes : elles sont généralement immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes. Pour se développer, elles ont besoin de sources de carbone organique (glucides fermentescibles) et de nombreuses BL ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés ou les peptides, les vitamines et les acides gras (**Robert et al., 2006**).

Les bactéries lactiques peuvent avoir un métabolisme homofermentaire (plus de 90% des produits de fermentation est de l'acide lactique), hétéro fermentaire facultatif (elles produisent de l'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique) ou hétérofermentaire strict (elles produisent, en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO<sub>2</sub>) (**Vandamme et al., 1996**).

En plus des propriétés précédemment décrites, chaque BL se définit par une température de croissance minimale, optimale et maximale, une tolérance à l'O<sub>2</sub> et à toutes valeurs de pH et par une croissance en présence de différentes concentrations de NaCl, de sels biliaires et au tellurite de potassium. D'autres caractères sont liés à l'habitat tel que l'hydrolyse de l'esculine et de l'arginine.

Cette classification doit être complétée par la taxonomie moléculaire c'est-à-dire l'analyse d'homologie (ADN/ADN, ADN/ARN), le séquençage des ARN<sub>r</sub> 16s et l'analyse des protéines cellulaires totales par électrophorèse (**Bruno, 2008**).

En basant sur les différents modèles de fermentation du glucose on distingue trois groupes des bactéries lactiques. (**McLeod et al., 2008**)

- **Le groupe I :** renferme les bactéries réalisant exclusivement l'homofermentation. Ce groupe comporte majoritairement des *Lactobacillus*.
- **Le groupe II :** inclut les bactéries réalisant l'hétérofermentation et regroupe les *Leuconostoc*, les *Oenococcus*, les *Weissella* et quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus*.
- **Le groupe III :** regroupe quant à lui quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus* et la majorité des espèces appartenant au genre *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*. Ce groupe présente une position intermédiaire entre le groupe I et II réalisant ainsi l'homofermentation ou l'hétérofermentation selon les conditions environnementales (**McLeod et al., 2008**).

**Tableau 02 : Propriétés générales des genres des bactéries lactiques (Axelsson, 2004)**

Genres	Morphologie cellulaire	Type fermentaire	Croissance à température :		Croissance en présence d'NaCl		Croissance à pH :		Isomère d'acide lactique
			10° C	45° C	6,5 %	18%	4, 4	9,6	
<i>Lactobacillus</i>	<b>Bâtonnet</b>	<b>Homo/Hétéro<sup>(1)</sup></b>	+/- <sup>(2)</sup>	+/-	+/-	-	+/-	-	<b>D, L, DL<sup>(3)</sup></b>
<i>Lactococcus</i>	<b>Cocci</b>	<b>Homo</b>	+	-	-	-	+/-	-	<b>L</b>
<i>Leuconostoc</i>	<b>Cocci</b>	<b>Hétéro</b>	+	-	+/-	-	+/-	-	<b>D</b>
<i>Oenococcus</i>	<b>Cocci</b>	<b>Hétéro</b>	+	+	+/-	-	+/-	-	<b>D</b>
<i>Pediococcus</i>	<b>Cocci (tétrade)</b>	<b>Homo</b>	+/-	+/-	+/-	-	+	-	<b>D, L, DL</b>
<i>Streptococcus</i>	<b>Cocci</b>	<b>Homo</b>	-	+	-	-	-	-	<b>L</b>
<i>Tetragenococcus</i>	<b>Cocci (tétrade)</b>	<b>Homo</b>	+	-	+	+	-	+	<b>L</b>
<i>Aerococcus</i>	<b>Cocci (tétrade)</b>	<b>Homo</b>	+	-	+	-	-	+	<b>L</b>
<i>Carnobactérium</i>	<b>Bâtonnet</b>	<b>Hétéro</b>	+	-	-	-	-	-	<b>L</b>
<i>Enterococcus</i>	<b>Cocci</b>	<b>Homo</b>	+	+	+	-	+	+	<b>L</b>
<i>Vagococcus</i>	<b>Cocci</b>	<b>Homo</b>	+	-	-	-	+/-	-	<b>L</b>
<i>Weissella</i>	<b>Cocci</b>	<b>Hétéro</b>	+	-	+/-	-	+/-	-	<b>D, L, DL</b>

Les espèces de *Lactobacillus* peuvent être homofermentaire, hétérofermentaire, ou les deux  
 Ce phénotype est variable, selon les espèces.  
 Certains espèces produits D-, L-, ou une mixture de D- et L-acide lactique.  
 NB : tous les genres ne possèdent ni catalase, ni nitrate –réductase (-) sauf : le genre *Tetragenococcus* possèdent le nitrate réductase ainsi certaines espèces du genre *Pediococcus* produisent des pseudocatalases.

### I.3.3. Génétique des bactéries lactiques :

En plus des épreuves biochimiques et des caractères morphologiques et physiologiques qui permettent d'étudier les bactéries lactiques, il existe des méthodes récentes basées sur la biologie moléculaire qui servent à approfondir cette étude (**Gérard J, 2003**).

Parmi ces techniques, on cite celles qui sont utilisées pour l'analyse de la diversité des espèces telles que la PCR quantitative, l'inventaire des ARN 16s. D'autres méthodes pour le séquençage des génomes.

Le chromosome des bactéries lactiques a une taille modeste entre 1,8 et 3,4 méga base (**Davidson et al., 1996**) qui est en relation avec le nombre des gènes, donc aux capacités métaboliques.

Il existe des éléments génétiques mobiles qui servent à échanger des informations génétiques par des phénomènes de conjugaison, transduction et de transformation, ce sont les phages, les transposons conjugatifs, les séquences d'insertion et les plus importants sont les plasmides. Ces derniers sont des molécules d'ADN circulaire extra chromosomique répliquatifs, portant des gènes codant des caractères technologiques tels que l'utilisation du lactose, du citrate, production de nisine et résistance à des sels minéraux lourds (*L. lactis*), résistance aux ATB (*Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*) et la résistance aux chocs thermiques (*S. thermophilus*).

Ces caractères physiologiques et métaboliques sont instables pour les bactéries lactiques du fait de la variation du nombre et de la taille des plasmides, des conditions défavorables peuvent provoquer la perte des plasmides (**Adams et Moss, 2007**).

D'après le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>e</sup> éd., 5vol., 2000, (**Gérard J. 2003**), les bactéries lactiques sont classées comme suivant :

Domaine : Bactéria

Embranchement XIII : Firmicutes

Classe III : Bacilli

Ordre II : Lactoacillales

Famille I : Lactobacillaceæ

Genre I : *Lactobacillus* 100 ssp.

*Pediococcus* 8 ssp.

Famille II: Aerococcaceæ

Genre II : *Aerococcus* 2 ssp.

Famille IV : Enterococcaceæ

Genre I : *Enterococcus* 20 ssp.

Famille V : Leuconostocaceæ

Genre I : *Leuconostoc* 15 ssp.

Famille VI : Streptococcaceæ

Genre I : *Lactococcus* 7 ssp.

Genre II: *Streptococcus* 68 ssp.

Embranchement XIV : Actinobacteria

Classe I: Actinobacteria

Ordre IV: Bifidobacteriales

Famille I: Bifidobacteriaceae

Genre I: *Bifidobacterium* 33 ssp.

### **I.3.4. Les différents genres lactiques :**

Suite aux caractères précédemment décrits, on distingue plusieurs genres qui sont divisés à leur tour en espèces pouvant être subdivisées en sous espèces, variétés et souches. Leurs cellules sont soit des coques soit des bacilles.

#### **I.3.4.1. Les coques lactiques :**

Ont une forme sphérique ou ovoïde c'est le cas de *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Entérocooccus* et *Leuconostoc* , *Oenococcus* qui se regroupent en paires ou en chainettes et les genres *Pediococcus* et *Aerococcus* déposés en tétrades.

##### **I.3.4.1.1. Genres : *Enterococcus* - *Lactococcus* - *Streptococcus* :**

Ces germes sont anaérobies facultatifs, généralement micro aérophiles se développent bien à 37°C sauf *Lactococcus* à 30°C, leur fermentation est homolactique. Ces organismes ont un contenu en GC de 35 à 46% en produisant de l'acide lactique L (+). La classification de Lancefield a permis de séparer entre les espèces de ces germes selon leurs types sérologiques et suivants ainsi leurs caractères hémolytiques. **Le tableau 03** résume cette classification.

**Tableau 03:** Caractéristiques des quelques espèces des genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* (Guiraud, 2003)

Caractères		<i>Enterococcus</i>		<i>Lactococcus</i>			<i>Streptococcus</i>		
		<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Lc lactis subsp cremoris</i>	<i>Lc lactis subsp lactis</i>	<i>Lc diacetylactis</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>St. dysgalactiae</i>	<i>St. thermophilus</i>
Hémolyse		Aβ	B	γ	Γ	Γ	β	α	A
Croissance à	10°C	v	+	+	+	+	v	-	-
	45°C	+	+	-	-	-	-	-	+
	pH9,6	+	+	+	-	+	-	-	-
	NaCl 6,5%	+	+	-	-	-	v	-	-
Croissance sur milieu bilié		+	+	-	-	-	v	-	-
Résistance 30min/63°C		v	+	v	V	V	-	-	-
Croissance sur lait au bleu de sherham		v	+	+	V	+	-	-	-
Résistance au tellurite		+	+	-	-	-	-	-	-
Esculine		+	+	v	V	V	-	-	-
Acétoine(VP)		v	V	+	-	-	-	-	V
Gélatinase		-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate		v	+	+	-	+	-	-	V
ADH		+		+	-	+	+	+	V
Hydrolyse de l'amidon		-	-	-	-	-	-	-	+
Lactose		+	+	+	+	+	v	+	+
Maltose		+	+	+	-	+	+	+	-
Mannitol		-	+	-	-	-	-	-	-
Melibiose		-	+	-	-	-	-	-	-
V : variable, (-) : non déterminé									

**a. *Streptococcus* :**

Ce genre comprend la majorité des espèces de Streptocoques lactiques qui forment un groupe distinct des autres espèces par leur pouvoir hémolytique ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) donnant l'exemple de *Streptococcus pyogenes* qui est pathogène pour l'homme ou *Streptococcus agalactiae* pour les animaux, tandis que *Streptococcus mutans* est saprophyte de la cavité orale et *Streptococcus faecalis* de l'intestin.

La seule espèce utilisée en industrie alimentaire, non pathogène est *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* qui se caractérise par l'absence de l'antigène D, par un pouvoir hémolytique  $\alpha$ , par sa croissance à un optimum de 42 – 43°C, sa résistance à un chauffage à 60°C pendant 30 minutes et par sa sensibilité à une concentration de 6,5% de NaCl et à pH 9,5 (Novel G., 1993; Larpent J.P., 1994 ; Guiraud, 2003).

**b. *Enterococcus* :**

Les espèces de ce genre sont les Streptocoque fécaux ou Entérocoques ou encore nommés Streptocoques D. elles sont des témoins de contamination fécale (Naoele AIT, 2001).

Contrairement aux genres précédents, ce genre est capable de croître à une température entre 10 et 40°C, à un pH 9,6 et en présence de 40% de bile (De Roissart, 1994). Il résiste ainsi à un chauffage de 60°C pendant 30 minutes et à un taux de NaCl 6,5% (Guiraud, 2003).

**c. *Lactococcus* :**

Le *Lactococcus* peut être clairement séparé des Streptocoques pathogènes par l'absence de tout caractère hémolytique, il appartient au groupe sérologique N (Larpent J.P., 1994).

Il regroupe les streptocoques mésophiles pouvant se développer à une température minimale avoisine de 10°C et thermosensibles (Leveau et Bouix M., 1993).

Ce genre contient cinq espèces dont les plus connues sont *Lactococcus lactis* avec ses sous espèces : *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris* et *Lactococcus lactis ssp. hordniae* qui sont très utilisées en production de lait et dérivés : lait fermenté, fromage...etc (Bruno, 2008).

**I.3.4.1.2. Genre *Leuconostoc* - *Oenococcus* :**

**a : *Leuconostoc* :**

Règne : *Bacteria*

Division : *Firmicute*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Lactobacillale*

Famille : *Leuconostocaceae*



### Genre : *Leuconostoc*

Ce genre a la particularité des autres coques lactiques d'avoir un métabolisme hétéro fermentaire par la production non seulement de l'acide lactique D (-), mais aussi de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> (Gravie, 1986 ; Leveau et Bouix M, 1993; Claude Flanzky, 2003). Les espèces de ce genre sont mésophiles (20 - 30°C) et leur classification est difficile.

Les bactéries de ce genre sont employées dans la production de produits alimentaires fermentés (saucisse, yaourt, fromage) en leurs donnant la saveur (*Leuconostoc lactis*) et de l'arome (*Leuconostoc cremoris*).

*Leuconostoc dextranicum* et *Leuconostoc mesenteroïdes* sont utilisés dans la production du requefort.

Il existe d'autres espèces qui sont dernièrement décrites telles que *Leuconostoc durionis* décrite par Leisner *et al.*, (2005) et *Leuconostoc pseudoficuhreum* en 2006 par Chambe *et al.*

**b- *Oenococcus*** : Ce genre contient deux espèces : *Oenococcus oeni* anciennement *Leuconostoc oeni* et *Oenococcus kitariae* décrite en 2006 par Endo et Okada. Elles sont utilisées en œnologie (Bruno, 2008).

#### I.3.4.1.3. *Pediococcus* :

Les cellules de ces bactéries se regroupent en tétrades, elles sont caractérisées par un métabolisme homofermentaire et une température de croissance entre 20 - 40°C (Bruno, 2008). Leur pourcentage en GC est de 34 – 42% (Leveau et Bouix, 1993).

Parmi les espèces de ce genre on a : *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus cellicola*. *Pediococcus ethanolidurans* est l'espèce la plus récente, elle est décrite par Liu *et al.*, 2006 (Bruno, 2008).

#### I.3.4.1.4. *Aerococcus* :

Les cellules des ces bactéries se présentent sous forme de sphères immobiles qui ont une tendance à former des tétrades, leur métabolisme est homofermentaire.

Biochimiquement et physiologiquement, les Aerocoques sont similaires avec les Pediocoques, les Entérocoques, les Lactocoques et les Streptocoques.

*Aerococcus viridans* est la première espèce décrite en 1953 par William *et al.*, mais ce genre comprend d'autres espèces dont le contenu en GC varie entre 35 et 44%, on prend l'exemple de *Aerococcus urinaeequi* qui est décrite par Garvie comme *Pediococcus* en 1986, 1988 et transférées récemment en *Aerococcus* par Felis *et al.*, (2005).

### I.3.4.2. Les bacilles lactiques

Caractérisent *Lactobacillus* et *Carnobacterium* qui sont des bactéries Gram positif, immobiles, asporogènes, catalase négatif et gélatine négatif. Leurs aspects varient de coccobacilles aux bacilles longs et s'organisent généralement en paires ou en chaînes (Larpent., 1993 ; Bruno Pot, 2008).

#### I.3.4.2.1. Genre *Lactobacillus*

**Règne :** *Bacteria*, **division :** *Firmicutes*, **classe :** *Bacilli*, **ordre :** *Lactobacillales*, **famille :** *Lactobacillaceae*, **ordre :** *Lactobacillus* selon la classification de Beijerinck en 1901

Les espèces de ce genre ont une exigence en facteurs de croissance, elles sont acidifiantes, pouvant résister au pH acide jusqu'au 3,5, leur pourcentage en GC est de 32 – 55% (Leveau et Bouix., 1993). Ce genre est subdivisé en trois groupes selon le type de fermentation, le tableau suivant représente les principales caractéristiques des trois sous genres des *Lactobacillus*.

**Tableau 04 :** Caractéristiques des trois sous genres de *Lactobacillus* (Tankovic, 2007).

Caractéristiques	Sous genres		
	<i>Thermobacterim</i>	<i>Streptobacterium</i>	<i>Betabacterium</i>
Voie fermentaire	Homofermentaire stricte	Hétérofermentaire facultative	Hétérofermentaire stricte
Voie de fermentation de glucose	Homofermentation	Hétérofermentation	Hétérofermentation
Voie de fermentation de pentose	Non fermenté	Hétérofermentation	Hétérofermentation
Production de gaz carbonique	Non	Oui pour les pentoses	Oui
Culture à 45 °C	+	-	-
Culture à 15°C	-	+	+
Resistance naturelle aux glucopeptides	Non	Oui	Oui
Principales espèces	<i>L.acidophilus</i> <i>L.delbrueckii</i> <i>L.gasseri</i> <i>L.helveticus</i> <i>L.jensenii</i> <i>L.salivarius</i>	<i>L.casei</i> <i>L.curvatus</i> <i>L.paracasei</i> <i>L.plantarum</i> <i>L.rhamnosus</i>	<i>L.brevis</i> <i>L.cellobiosus</i> <i>L.confusus</i> <i>L.fermentum</i> <i>L.reuteri</i>

Il existe d'autres espèces dernièrement découvertes telles que *Lactobacillus vini* décrite par Rodas *et al.*, 2006 et *Lactobacillus nantensis* décrite par Valcheva *et al.*, 2006. *Lactobacillus siliginis* est l'espèce la plus récemment décrite par Aslam *et al.*, 2006 (Bruno, 2008).

### I.3.4.2.2. Genre *Carnobacterium* (Leveau et Bouix, 1993 ; Larpent, 1993)

Le genre *Carnobactérium* (famille : *Carnobactériaceae*) a été créé par **Collins et al.**

(en 1987) afin de regrouper des lactobacilles atypiques isolés de différents produits alimentaires carnés (*Lactobacillus carnis*, *Lb. divergens* et *Lb. piscicola*). En utilisant l'analyse de la séquence de l'ARNr 16S, **Wallbanks et al. (1990)** ont montré que ces espèces possèdent un haut degré de similitude (96-98%).

Ce genre présente des cellules en forme de bâtonnets assez courts, isolés ou en paire, parfois en courtes chaînes, mobiles ou non. Ces bactéries sont catalase, oxydase et nitrate réductase négatives. La température optimale de croissance des *Carnobactérium* varie de 23 à 30°C, elles peuvent se multiplier à des températures proches de 0°C et sont inhibées à partir de 45°C. Ce sont donc des bactéries psychrotrophes. Seule l'espèce *Carnobactérium divergens* arrive à se développer à 40°C. Leur pH optimum de croissance varie selon les espèces de 6,0 à 7,4. Leur comportement vis-à-vis de l'oxygène est anaérobie aéro-tolérant.

La plupart des espèces sont inhibées à partir de 7% de NaCl. En présence de sucre, leur métabolisme n'est que très faiblement hétérofermentaire, avec une large production d'acide lactique L(+) (avec un peu de D pour *Carnobactérium piscicola*). Contrairement aux *Lactobacillus*, les *Carnobactérium* sont peu acidifiants. Par ailleurs, trois caractères les distinguent de *Lactobacillus* (**Tableau.05**) : l'absence de croissance sur gélose à l'acétate (milieu Rogosa contenant 15 g/L acétate de sodium), la composition en acides gras de la membrane (acide oléique (C18:1 Δ9, 10) au lieu de l'acide cis-vaccénique (C18:1 Δ11, 12)) et la présence majoritaire de l'acide méso-diaminopimélique dans le peptidoglycane de la paroi des *Carnobactérium* (**Naghmouchi , 2007 ; Edima , 2007 ; Casaburi et al., 2011**).

**Tableau 05:** Les différents critères d'identification des *Lactobacillus* et des *Carnobacterium* (**Gournier-Château et al., 1994**).

Caractéristiques	<i>Lactobacillus</i>	<i>Carnobacterium</i>
croissance sur gélose acétate (pH 5,4)	+	-
croissance à pH 4,5	+	-
Croissance à pH 9 (MRS+ saccharose 2%)	-	+
Acide lactique	L(+), D(-), DL	L(+)
Peptidoglycane	Lys, mDAP, Orn	mDAP
Acide gras principal C18 :1	Acide cis-vaccénique	Acide oléique
Fermentation du glucose	Homofermentaire ou hétérofermentaire	Homofermentaire avec production retardée de CO <sub>2</sub>
%C+G	32-55	33-37,2

On retrouve ces bactéries essentiellement dans les produits carnés, dans les produits de la mer mais aussi dans les produits laitiers (**Brillet, 2005**).

Actuellement, ce genre regroupe : *Carnobacterium alterfunditum*, *Cb. divergens*, *Cb. funditum*, *Cb. gallinarum*, *Cb. inhibens*, *Cb. maltaromaticum*, *Cb. mobile*, *Cb. viridans*, *Cb. pleistocenium* (**Edima, 2007**) et *Cb. jeotgali* ; une nouvelle espèce isolées à partir d'un aliment fermenté traditionnel (**Casaburi et al., 2011**).

Ces espèces étant difficiles à distinguer par les techniques classiques d'identification (**Tableau.05**), des outils moléculaires spécifiques ont été mis au point pour les identifier (**Brillet, 2005**).

**Tableau 06** : Caractéristiques physiologiques des quelques espèces du genre *Carnobacterium* (**De Roissart et Luquet, 1994 ;Bourgeois et Larpent., 1996**).

Espèces	G+C (%)	Isomère acide lactique	Mobilité	Croissance à						Production							
				0°C	10°C	30°C	35°C	40°C	T optimum	pH optimum	ADH	H <sub>2</sub> S	Esculine	B-galactosidase	Gaz à partir du glucose	Voges-Proskauer	
<i>Cb.alterfunditum</i>	33-36	L(+)	+	+	+	-			22-23	7-7,4							
<i>Cb. divergens</i>	33-36	L(+)	-	+	+			+			+	-	±				+
<i>Cb. gallinarum</i>	34-36	L(+)	-	+		+		-			+	-	+	+	-		+
<i>Cb. funditum</i>	32-34	L(+)	-	+	+	-			22-23	7-7,4					-		
<i>Cb. mobile</i>	34-37	L(+)	-			+		-			+	-	+	+	v(+)		-
<i>Cb. piscicola</i>	33-36	DL	-	+	+	+		-	30	6-7	+	-	+		-		+

#### I.3.4.2.3. *Bifidobacterium* :

L'histoire des bifidobactéries a déclenché en 1900 avec la découverte de *Bacillus bifidus communis* dans les selles d'enfants. Le genre *Bifidobacterium* est décrit en 1924. Ce sont chez l'homme, commensales de la bouche et du tube digestif distal.

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G +C. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate

phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (**Hadef, 2012**).

L'espèce la plus récemment décrite dans ce genre est *Bifidobacterium longum ssp.* suis par **Matteuzi et al., 1971** ; **Lauer et Kandler, 1983** ; **Mattarelli et al., 2007** (**Elisabeth, 2008** ; **Sgorbati. et al., 1995** ; **Bruno, 2008**).

## **I.5. Croissance des bactéries lactiques :**

Chez les bactéries lactiques, la croissance se rapporte au nombre des cellules et non à la taille. Cette croissance se résulte grâce à la division des bactéries par scissiparité en présence d'un milieu et environnement favorables (la bactérie atteint un volume critique, puis elle se divise en deux cellules filles) (**Guiraud, 2003**).

### **I.5.1. Les exigences nutritionnelles :**

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont, en principe, incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de l'environnement (**De Roissart et Luquet, 1994**).

Les besoins vitaminiques des lactobacilles sont plus complexes. Toutes les espèces ont un besoin absolu en pantothénate de calcium (vitamine B5) et en niacine (vitamine B3) et des exigences différentes pour les autres vitamines.

En plus les ions de magnésium interviennent dans la nutrition des lactocoque et lactobacille et à la stabilisation des acides nucléiques. Généralement ces bactéries montrent des exigences nutritionnelles complexes en glucides fermentescibles, en acides gras, en acides aminés, en peptides, en vitamines et en sels (**Edima, 2007**).

### **I.5.2. Propriétés métaboliques :**

#### **I.5.2.1. Métabolismes des sucres :**

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés.

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (**Atlan et al., 2008**)

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

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres.

L'homofémentation regroupe la voie de la glycolyse, aussi connue sous le nom de voie d'Embden-Meyerhof, suivie de la conversion de 2 molécules de pyruvate en 2 molécules de lactate. Elle est surtout utilisée par les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* et à certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*), *Lactobacillus casei* (*Lb. casei*),

*Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus lactis* (*Lb. lactis*) et *Lb. plantarum* et de *Thermobacterium* comme *Thermobacterium yoghurtii*. Au cours de cette voie de fermentation, ces bactéries dégradent le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le saccharose ou le lactose.

L'hétérofermentation, communément appelée voie des pentoses phosphate (transcétolases) se produit chez des espèces appartenant à *Lactobacillus*, telles que *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti* et à *Leuconostoc*, telles que *Leuconostoc mesenteroides* (*Ln. mesenteroides*) et *Leuconostoc pentosaceus*. Au cours de l'hétérofermentation, les bactéries dégradent les hexoses avec formation quasi stœchiométrique d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule de CO<sub>2</sub> et d'une molécule d'éthanol (Kandler, 1983).

### **I.5.2.2.Le métabolisme du citrate**

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. Lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*), *Enterococcus* (*Ec. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (Leveau et Bouix, 1993).

Le citrate est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase, où il est scindé en acétate (en majeure partie excrétés) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate-lyase. L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO<sub>2</sub> par une oxaloacétate décarboxylase.

Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylène-glycol.

### **I.5.2.3.Métabolismes des protéines :**

La croissance des bactéries lactiques repose sur leur système protéolytique. Ces systèmes comportent des protéases intracellulaires, des systèmes de transport spécifiques pour les peptides et une multitude de peptidases intracellulaires. Les systèmes protéiques des lactocoques et des lactobacilles sont remarquablement similaires, en ce qui concerne leurs composants et leurs modes d'action (Hadeif, 2012).

### **I.5.2.4.Métabolisme des lipides :**

Certaines souches de bactéries lactiques possèdent des lipases capables d'hydrolyser les lipides, présents dans le lait, en acides gras à courtes chaînes. Ces acides gras constituent les précurseurs de composés aromatiques tels que le méthyl-cétone, les thioesters et les lactones.

### **I.5.2.5.Catabolisme de l'arginine :**

Ce système est en fait formé de trois enzymes agissant successivement : l'arginine désaminase (ADI), l'ornithine carbamoyl transférase (OTCase) et la carbamate kinase (CK). L'activité de ce système est productrice d'une molécule d'ATP par molécule d'arginine consommée (Leveau et Bouix, 1993).

### **I.5.2.6.Métabolisme de l'urée :**

*Streptococcus thermophilus* est capable de dégrader l'urée présente dans le lait en CO<sub>2</sub> et NH<sub>2</sub>, cette réaction a lieu en phase exponentielle de croissance et tend à antagoniser l'acidité produite par le métabolisme du lactose (**Leveau et Bouix, 1993**).

### **I.5.3. Techniques de suivie de croissance des bactéries lactiques :**

Pour évaluer la croissance des BL, nombreuses méthodes sont mises en évidence. Le choix d'une technique se base en particulier sur la nature de l'échantillon, la simplicité de mise en œuvre, sur le coût, la rapidité et la précision souhaitée. Parmi les méthodes les plus utilisés au laboratoire :

#### **I.5.3.1. Dénombrement sur milieu gélosé :**

Pour l'analyse de cultures pures, on peut se contenter à ensemencer la gélose MRS ou la gélose d'Elliker par exemple, qui sont des milieux convenables pour la majorité des BL, par des suspensions cellulaire et les incubent. Cette méthode permet le comptage direct des colonies sur les boîtes, donc une bonne indication au nombre des cellules viables, le résultat est exprimé en UFC / ml. Cette technique est lourde puisqu'elle nécessite une longue durée d'incubation.

#### **I.5.3.2. Dénombrement par spectroscopie :**

Dans ce cas, la mesure de la turbidité détermine la quantité en biomasse. La croissance ici représente le nombre des cellules et leurs métabolites. Cette méthode est rapide, tandis qu'elle permet de mieux suivre la croissance en temps réel des cultures microbiennes. Cependant, cette méthode ne permet pas de différencier les cellules viables des cellules mortes.

#### **I.5.3.3. Autres méthodes d'évaluation de la croissance des bactéries lactiques :**

D'autres méthodes sont utilisées pour le dénombrement des BL qui sont basées sur l'analyse des acides nucléiques telles que la technique de PCR en temps réel et l'hybridation *in situ* en fluorescence quoique ces méthodes sont très coûteuses (**Gerard, 2003**).

Autrement, la croissance des BL peut être appréciée de façon indirecte, grâce à la mesure du substrat consommé ou de composés intra- ou extra- cellulaires produits.

Pour les lactocoques, **Cogan (1978)** a observé une bonne corrélation entre l'acide lactique produit à certains stades de la culture et la croissance. Ceci peut être utilisé pour calculer le taux de croissance d'une BL (**Cogan, 1978 ; Olivares et al., 1993**).

## I.5.4. Déroulement de la croissance des bactéries lactiques ; Cinétique :

### I.5.4.1. Indicateurs de croissance :

Ce sont le  $T_g$  : temps nécessaire au déroulement d'une population et le  $\mu$  qui représente le nombre des cellules produites par heure (Guirard, 2003). En présence d'une culture discontinue dont le milieu n'est pas renouvelé, on peut distinguer six phases de croissance.

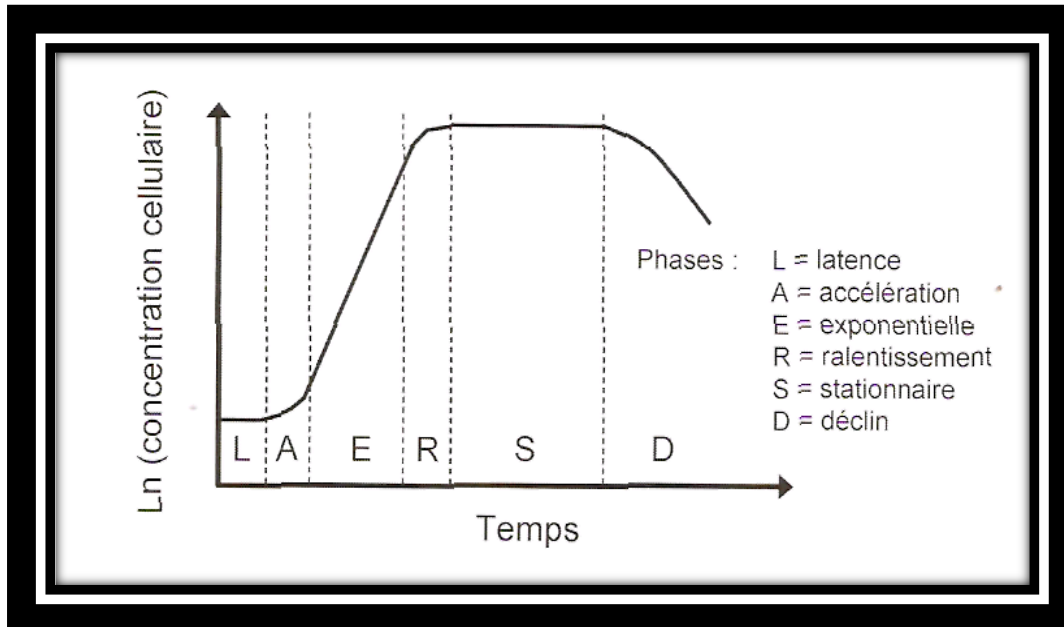


Figure. 02 : Représentation schématique des principales phases de croissance d'une culture bactérienne discontinue.

#### a. Phase de latence : $\mu = 0$

Généralement les cellules ne se divisent pas ou très peu juste après leur introduction dans un nouveau milieu. C'est la période d'adaptation au milieu de culture, où l'activité métabolique est intense du fait de la synthèse d'ADN et des enzymes nécessaires. Sa durée est en corrélation avec l'état physiologique de la bactérie, ses exigences nutritionnelles, les conditions de culture et le taux d'inoculum (De Roissart, 1994).

#### b. Phase d'accélération : $\mu$ croît

C'est là où la croissance débute ; les cellules commencent à se diviser, le matériel génétique et enzymatique se dédoublent sans avoir à se séparer.

#### c. Phase de croissance exponentielle : $\mu = \max$

Durant cette période, la reproduction cellulaire est plus intense ; tandis que pour l'activité métabolique. Le taux de croissance atteint est constant et a la plus courte durée.



#### d. Phase de ralentissement : $\mu$ diminue

La plus part des cellules vont chuter du fait de l'épuisement d'un ou plusieurs substrats, ou bien de l'accumulation de produits toxiques tels que l'acide lactique.

#### e. Phase stationnaire : $\mu = 0$

Arrivant à cette phase d'équilibre, toutes les cellules sont divisées, donc c'est l'arrêt de croissance, le nombre de cellules mortes est égal au nombre des nouvelles cellules (De Roissart, 1994).

#### f. Phase de déclin : $\mu$ négatif

C'est la mort cellulaire ; l'épuisement du milieu de culture et les produits toxiques libérés deviennent néfastes.

### I.5.4.3. facteurs influençant la croissance des bactéries lactiques :

#### a. La température et le pH :

Ces deux facteurs agissent sur le développement des bactéries ainsi que leurs réactions enzymatique, chaque bactérie nécessite une température et un pH optimaux pour une croissance importante.

Les valeurs de pH optimal de croissance sont généralement comprises entre 6 et 6,5 pour les lactocoques, *Leuconostoc* et *Streptococcus thermophilus*, et entre 5,5 et 6 pour les lactobacilles.

Tableau.07 : Températures optimales de croissance des BL.

Bactéries lactiques	Températures optimales
<i>Carnobacterium</i>	20 – 32 °C
<i>Leuconostoc</i>	18 – 30 °C
<i>Lactococcus</i>	27 – 32 °C
<i>Pediococcus</i>	25 – 40 °C
<i>Lactobacillus</i> (mésophiles)	30 – 35 °C
<i>Enterococcus</i>	30 – 40°C
<i>Streptococcus</i> (thermophiles)	42 – 43 °C
<i>Lactobacillus</i> (thermophiles)	40 – 45 °C

#### b. L'oxygène

La plupart des bactéries lactiques sont des anaérobies, leur tolérance à l'O<sub>2</sub> est variable par exemple, les souches de *Lb. bulgaricus* sont moins résistantes à l'O<sub>2</sub> que *St. thermophilus* et les Lactocoques.

#### c. Le milieu de culture

Les bactéries lactiques doivent être cultivées dans des milieux convenables qui répondent à leurs exigences nutritionnelles : une source de carbone, une source d'azote et certaines vitamines.

Exemple : *St. thermophilus* est moins exigeante en acides aminés que les autres BL, elle est capable de se développer dans un milieu chimiquement défini dépourvu de cystéine ou de méthionine mais pas en cas d'absence simultanée des deux composés.

## I.6. Conservation des ferments lactiques :

La conservation des souches lactiques pendant un court laps de temps est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée et après 18heurs d'incubation à 28°C, les tubes peuvent être conservés pour plusieurs semaines par une réfrigération à + 4°C.

Les deux méthodes les plus perpétuellement utilisées pour stocker des isolats lactiques pour un long terme sont la surgélation et la lyophilisation.

- **La surgélation** : les cultures pures sont maintenues en suspension dans un milieu contenant 10% de lait (enrichie par 0.05% d'extrait de levure) et 30% de glycérol et déposée à une T. de -20°C. ce traitement permet de décongeler la culture et de la faire croître même après plusieurs années.

- **La lyophilisation** ou encore dite **cryodéshydratation** : consiste à congeler rapidement une suspension de microbes à des températures allant de -54 à -72°C tout en éliminant l'eau. Le produit qui contient les ferments ayant survécu est entreposé sous forme de poudre, et il peut être conservé durant des années. Il est possible en tout temps de réanimer les souches bactériennes par hydratation avec un milieu nutritif approprié (**Samelis et al., 1994 ; Gérard, 2003**).

D'après ce chapitre on a présenté d'une façon claire et facile, les caractéristiques générales des bactéries lactiques en indiquant quels sont les genres appartenant à ce groupe et les particularités caractérisant chaque genre et son modèle de croissance.

Il est nécessaire de noter que le monde des bactéries lactique est un domaine très vaste tandis leurs utilisations, **c'est pour cela** que la sélection des BL ne se base pas uniquement sur leur caractère morphologique et génétique, leur propriété technologique et leur croissance ou encore la résistance aux bactériophages, mais aussi sur leur effets bénéfiques. **C'est pourquoi** de nombreuses études visent à sélectionner des souches capables de tolérer l'acide gastrique et les sels biliaries, d'adhérer in vitro aux cellules épithéliales et de produire plusieurs substances antimicrobiennes. Par conséquence, de nombreux programmes de recherches s'intéressent à l'utilisation des BL en tant que souches modifiées génétiquement dans le but de délivrer de nouvelles molécules d'intérêt médical.

Le chapitre suivant nous permet de détailler les propriétés technologiques des BL tel que le pouvoir antimicrobien qui est notre but principal d'après cette étude.

***CHAPITRE. II :***  
***LES***  
***APTITUDES***  
***TECHNOLOGIQUES***  
***DES***  
***BACTERIES***  
***LACTIQUES***

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur. Ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leur performance et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée (Béal et al, 2008).

## II.1. Rôles des bactéries lactiques:

### II.1.1 Propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques et leurs utilisations dans l'industrie agroalimentaire :

Les bactéries lactiques sont très utilisées dans l'industrie agroalimentaire. Elles peuvent fermenter une grande variété de substrats, prenant l'exemple des deux espèces de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) qui sont présentes dans le yaourt à  $10^8$ – $10^9$  germes par gramme (Sophie et Gérard, 2001).

Les BL ont plusieurs rôles dans la production et la conservation des produits fermentés. Tout d'abord, les BL vont permettre de changer la saveur de l'aliment, sa texture et sa couleur (Montel et al, 1996 ; Talon et al, 2002). Ces changements sont dus notamment à l'acide lactique produit au cours de la croissance. D'autre part, les BL produisent des peptides et des molécules comme l'acétone, l'acétaldéhyde, le diacétyl ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliments (Elisabeth, 2008). Les BL jouent un autre rôle positif sur les qualités hygiéniques des aliments par inhibition du développement de la flore bactérienne indésirable qu'elle soit pathogène ou d'altération. Cette inhibition passe par deux aspects : l'acidification qui inhibe la croissance des bactéries peu résistantes à un bas pH, et la synthèse de bactériocines ; molécules bactéricides dont les spectres d'action sont variables .

**Tableau 08** : Principaux produits issus de la fermentation des BL (Sophie et Gérard, 2001).

Genre	Substrat	Exemples de produits
<i>Bifidobacterium</i>	Lait	Laits fermentés
<i>Lactobacillus</i>	Lait Viande Végétaux Céréales	Yaourts, laits fermentés, kéfirs, fromages saucissons secs, jambons secs choucroute, olives, "yaourts" au lait de soja pain au levain, bières
<i>Lactococcus</i>	Lait	Fromages, kéfirs
<i>Leuconostoc</i>	Végétaux Lait	Choucroute, olives, vin fromages, kéfirs
<i>Pediococcus</i>	Végétaux Viande	Choucroute saucisses semi-séchées
<i>Oenococcus</i>	Végétaux	Vin
<i>Streptococcus</i>	Lait	Yaourts, laits fermentés, fromages

### II.1.2. Effets des bactéries lactiques sur la santé :

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en **1907**, par le russe **Metchnikoff**. Selon lui, les lactobacilles peuvent modifier la microflore intestinale et par suite réduire sa dégradation, et ainsi prolonger la vie. Plus récemment, des études de type pharmaceutique ont été menées à grande échelle dans plusieurs laboratoires afin de démontrer l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé. Seul un petit nombre de bactéries lactiques dont les genres bactériens sont *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *E. faecium* ainsi que les bifidobactéries a été ainsi étudié. Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs. Les bactéries lactiques pour lesquelles ces effets sont décrits sont appelées probiotiques (**Sophie et Gérard, 2001**). la définition d'un probiotique, proposée par **Guarner et al., (1998)**, est la suivante : "tout microorganisme vivant qui, une fois ingéré en certaine quantité, exerce des effets bénéfiques sur la santé au-delà des fonctions nutritionnelles de base (**Bouزيد, 2008**)

## **II.2. Propriétés technologiques des BL :**

### **II.2.1. Pouvoir acidifiant :**

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (**Hadef, 2012**).

Cette acidification entraîne des modifications physicochimiques au niveau des protéines, ce qui mène à la formation d'un réseau (**Thivierge, 1999**).

La fermentation lactique a plusieurs conséquences dans la production et la maturation du fromage en affectant directement ou indirectement son arôme.

Ces conséquences sont les suivantes :

- ✓ La fermentation et la réduction de la teneur en sucres fermentescibles qui contrôlent la croissance et la composition des flores secondaires;
- ✓ la création d'un bas potentiel d'oxydation-réduction au début des stades de maturation du fromage;
- ✓ la compétition et la synergie avec les flores secondaires pendant la fabrication et au début des stades de maturation;
- ✓ la protéolyse.
- ✓ l'humidité et la texture (**Baharak, 1999**).

Les *Lactobacillus* possèdent un métabolisme strictement homofermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie Embden Meyerhof., Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt.

Selon **Edima (2007)**, les *Carnobacterium* en particulier *Cb. maltaromaticum* ne possèderaient peut être une activité acidifiante plus rapide et leur capacité aromatiques pourrait être perturbée.

### **II.2.2. Activités enzymatiques :**

### II.2.2.1. Activité lipolytique :

L'hydrolyse des triglycérides est la transformation biochimique principale du gras fromager pendant la maturation et conduit à la formation des acides gras, mono et diglycérides et probablement du glycérol.

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et diglycérides. Alors que les estérases permettent la libération des acides volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l'affinage, seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâte pressée cuite. Ils sont également des précurseurs pour la formation des arômes (McSweeney et Sousa, 2000).

Les lactocoques auraient une activité estérasique plus importante que les Lactobacilles. Les souches de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (*Lb. casei* ...) possèdent un système estérasique plus actif que les hétérofermentaires strictes (*Lb. brevis*...).

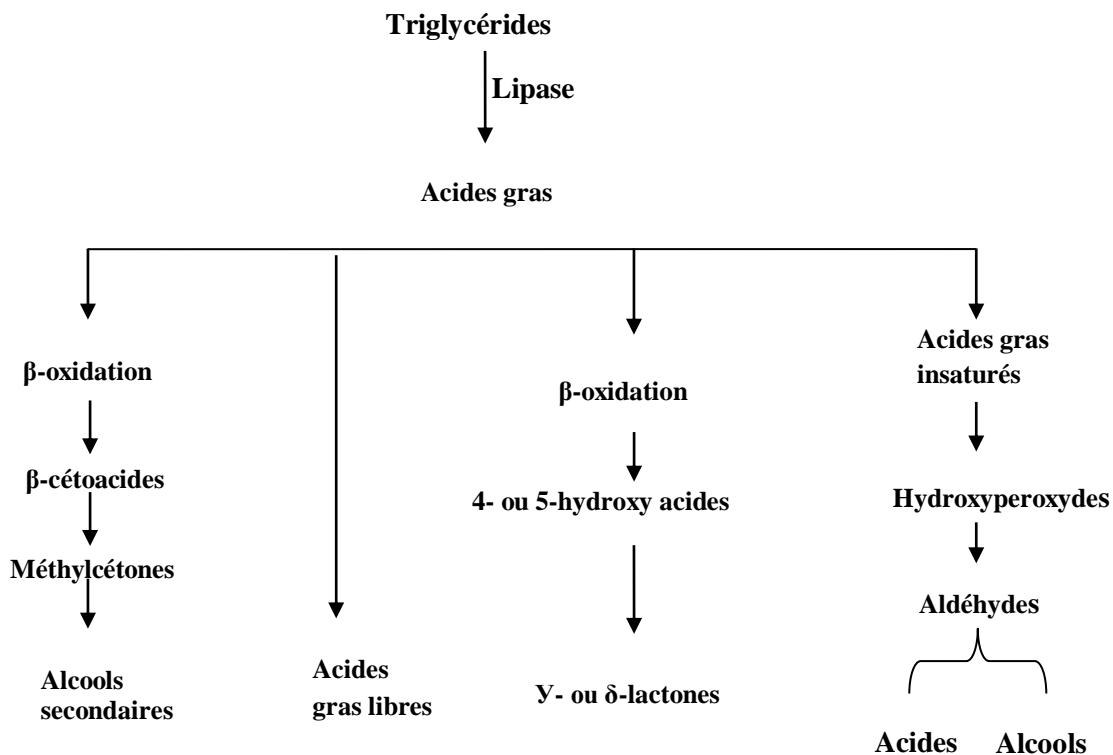


Figure 03 : Les voies principales de la lipolyse (McSweeney et Sousa, 2000).

### II.2.2.2. Activité protéolytique :

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Hadeif, 2012). Ce système comprend des protéases situées à la surface cellulaire et une large gamme de peptidases intracellulaires (Lortal, 1995). Ces enzymes peuvent être libérées dans le milieu extracellulaire par l'autolyse bactérienne liée à l'âge de la cellule ou aux conditions physiologiques défavorables qui activent les auto lysines capables d'hydrolyser les peptidoglycanes de la paroi.

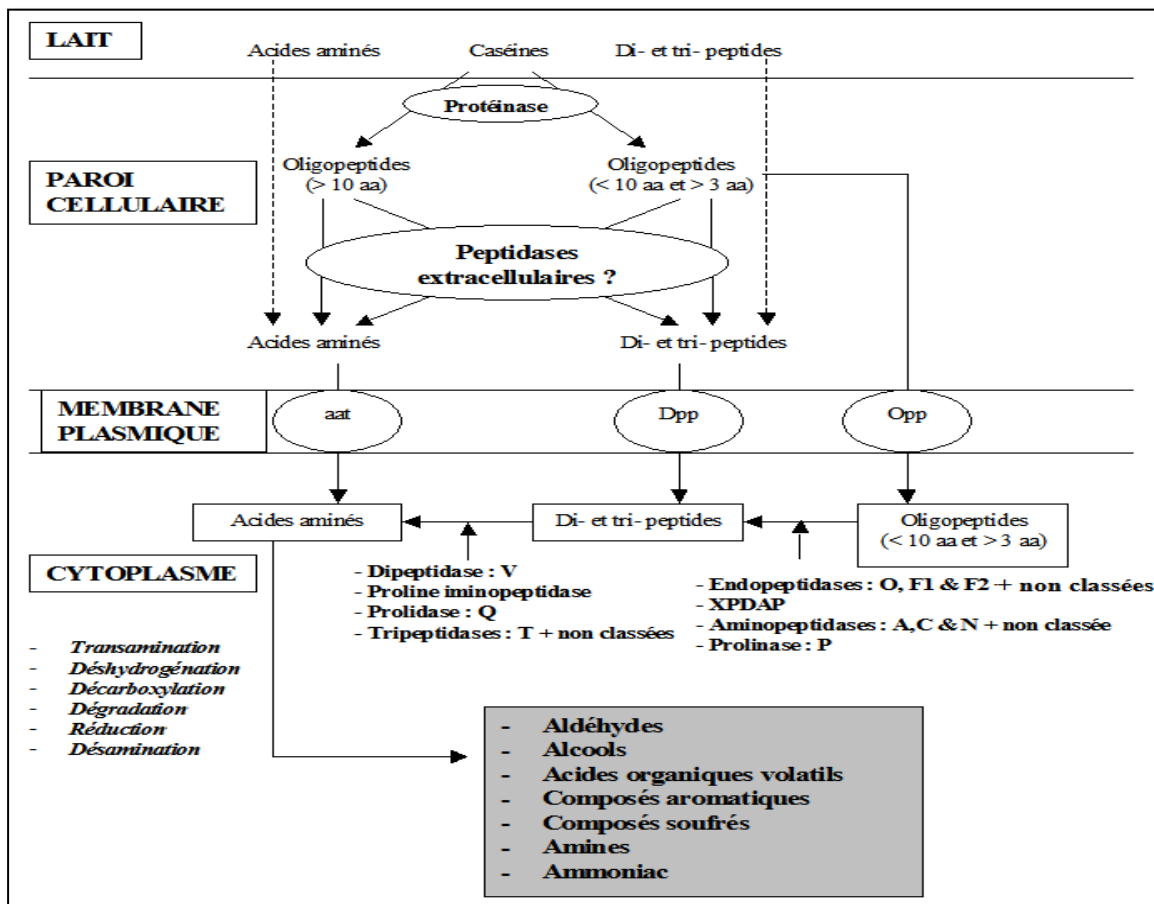


Figure 04 : Catabolisme des acides aminés par *Lc. lactis* sp.

Dpp, Opp et aat représentent respectivement les systèmes de transport des di- et tri- peptides, oligopeptides et acides aminés (Grattepanche, 2005).

Ce processus permet d'améliorer la digestibilité de lait et la qualité organoleptique des produits laitiers fermentés car les acides aminés résultant de la protéolyse sont les précurseurs principaux de composés aromatiques tels que de divers alcools, d'aldéhydes... (Smit et al., 2005).

### II.2.2.3. Activité autolytique :

La phase de déclin où le nombre de cellules viables diminue rapidement correspond à l'autolyse spontanée des cellules. Les cellules perdent leur intégrité, s'ouvrent et libèrent leurs enzymes dans le milieu.

L'autolyse survient grâce à des enzymes bactériennes appelées autolysines ou hydrolases. Ces enzymes sont localisées dans la paroi même des bactéries. Elles jouent habituellement un rôle positif au sein de la bactérie en lui permettant de s'allonger et de se diviser en deux cellules filles *en* effectuant des coupures limitées en certains sites du peptidoglycane. Cependant, lorsque le milieu devient défavorable ou à l'occasion d'un choc (thermique, osmotique ...) les auto lysines hydrolyseraient de manière excessive ou inadéquate le peptidoglycane, ce qui mène à l'autolyse de la cellule (Lortal., 1995).

➤ **Application :**

Selon **Crowet et al., (1995)**, on a observé un niveau plus élevé d'acides aminés libres produits lorsqu'une souche très auto lytique est utilisée. Les peptidases des ferments sont également plus stables suite à l'autolyse. Finalement, des fromages non amers sont souvent associés à une augmentation de l'autolyse du ferment. En effet, l'autolyse permet de relâcher les enzymes intracellulaires dans le caillé à un stage plus précoce. Les enzymes responsables de la maturation du fromage comme les peptidases, les lipases et les estérases peuvent accélérer le développement de la saveur ou la qualité du fromage.

Le développement des connaissances concernant le système auto lytique des bactéries lactiques, la caractérisation moléculaire des enzymes et l'étude de la régulation de leur expression devrait fournir les outils nécessaires à l'obtention de souches qui se lysent précocement au cours de l'affinage (**Chapot-Chartier, 1996**).

### **II.2.3. Production des exopolysaccharides (EPS) :**

Un grand nombre de souches bactériennes ont la capacité de produire des polysaccharides extracellulaires (**Tableau09**). Ces souches sont considérées comme probiotiques : ce qui est une qualité de plus en plus recherchée par les consommateurs.

Chez les bactéries lactiques, deux types de polysaccharides sont produits et excrétés dans le milieu environnant soit : les homopolymères (tel que les dextrans produits par *Leuconostoc mesenteroides*) et les hétéropolymères.

En général, les bactéries lactiques produisent des polysaccharides hétérogènes neutres dont la composition en monomères varie peu et se résume souvent au glucose et au galactose. Souvent, le galactose est majoritaire probablement parce qu'il n'est pas métabolisé comme le glucose et serait donc disponible pour la synthèse du polymère (**Marshall, 1987**).

➤ **Application :**

Le principal intérêt de l'utilisation de bactéries lactiques productrices d'EPS dans des ferments lactiques lors de la production de laits fermentés est l'amélioration de la texture et la diminution de la synérèse. En effet, les polymères produits permettent d'augmenter la viscosité et l'onctuosité du produit et ont la capacité de retenir les molécules d'eau, diminuant ainsi la séparation du lactosérum et des caséines coagulées du lait. Dans le cas des yogourts brassés additionnés de fruits, la présence de polysaccharides empêche que ceux-ci ne se déposent au fond. En général, la présence de polysaccharides produits par des souches de bactéries lactiques dans des produits fermentés, tels les yogourts, permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable.

La production d'exopolysaccharides par des souches de bactéries lactiques dans les laits fermentés est certes intéressante, mais peut aussi être défavorable. Une forte production de polysaccharides masque la saveur et les arômes et peut produire un yogourt filamenteux (**Desmazeaud, 1996**).

Dans certains cas, les souches produisant des polysaccharides envahissent les autres souches acidifiantes mais non productrices d'EPS, ce qui peut compromettre la fermentation puisque généralement les souches productrices ne démontrent qu'une faible production d'acides en début de croissance.

Le kéfir est un lait fermenté fait à base de grains de kéfir contenant les bactéries lactiques et les levures responsables de la fermentation. Un polysaccharide appelé **kéfiran** est produit par une souche de



*Lactobacillus kéfir* au cours de la fermentation. Le kéfiran enveloppe les microorganismes sur les grains de kéfir, mais n'influence pas la texture du produit (Dupont I, 1998).

**Tableau 09** : Récapitulatif de la production d'EPS selon le milieu de croissance utilisé (Dupont I, 1998)

Souche	Milieu de croissance	Production d'EPS viscosité	Références
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.cremoris</i>	Milieu synthétique	25 mg / L	Marshal et al 1995
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp. cremoris</i>	Perméat de lactosérum	150 mg/ L	Nakajima et al.,1990
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> C83	Milieu synthétique sans contrôle de pH	6à132 mg/ L	Gamar et al., 1997
<i>Lactobacillus casei</i> CG 11	Milieu synthétique e sans contrôle de pH	130 mg / L	Ceming et al.,1994
<i>Lactobacillus casei</i> CRL 87	Milieu synthétique avec contrôle de pH	231à 488 mg / L	Mozzi et al., 1996
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Milieu synthétique	114à 445 mg / L	Lubdrook ., 1997
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> CNRZ 1187	Lait écrémé	70à 130 mg /L 285 mg / L	Bouzar et al., 1995
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> CNRZ416	Lait écrémé	424 mg / L	Ceming et al.,1986
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus</i> NCFB2772	Milieu synthétique avec contrôle de pH	270 mg / L 354 mg/ L	Grobbs et al., 1998

#### II.2.4.Pouvoir aromatisant :

Le métabolisme du citrate (voire le chapitre I ; paragraphe I.5.2.2) génère des arômes tel que l'acétoïne et le diacétyl (surtout chez les *Lc. diacetylactis*) particulièrement recherché dans certains produits laitiers tels que le beurre et les fromages frais.

Deux autres mécanismes sont également impliqués dans la production d'arômes par *Lc. lactis* sp. Certaines souches de lactocoques possèdent des lipases capables d'hydrolyser les lipides, présents dans le lait, en acides gras à courtes chaînes. Ces acides gras constituent les précurseurs de composés aromatiques tels que le méthyl-cétone, les thioesters et les lactones.

Le deuxième mécanisme de formation des arômes, plus documenté que la lipolyse, fait appel à l'activité protéolytique des lactocoques. Le catabolisme des acides aminés, issus de la dégradation des caséines du lait, conduit à la production d'une large gamme de composés aromatiques (Grattepanche, 2005).

## **II.3. Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques:**

### **II.3.1. Interactions microbiennes :**

**Definition :** L'évolution des conditions physico-chimiques et la disponibilité en nutriments sont des éléments importants pour le développement des micro-organismes. Ils peuvent ainsi générer des phénomènes d'interaction de différente nature. Tout au long du processus de fabrication, on observe une dynamique au sein des populations. Certains micro-organismes se multiplient activement, alors que d'autres tendent à disparaître (*Nissen et al., 2003*).

Lorsque deux populations différentes de micro-organismes partagent le même environnement, des interactions peuvent s'établir entre elles. Ces phénomènes sont relativement fréquents en oenologie en raison de la non-stérilité des milieux de fermentation (*Nissen et al., 2003*).

### **II.3.2. Différents types d'interactions microbiennes:**

#### **a- Interactions directes :**

Impliquent un contact entre deux micro-organismes et comprennent la prédation, le parasitisme, la symbiose et l'inhibition par contact direct entre les cellules ou « cell-cell contact mécanisme » (*Nissen et al., 2003*).

#### ➤ **Prédation et parasitisme :**

Dans ce type de relation, l'une des espèces vit totalement au dépend de l'autre. La victime devient un substrat et est totalement digérée dans le cas de la prédation ou bien une partie de ses tissus est consommée comme dans le cas du parasitisme (*Nehem, 2008*).

#### ➤ **Inhibition par contact direct entre les cellules :**

Dans ce type d'interaction, une population de micro-organismes est inhibée par une autre et ceci par contact direct entre les cellules des deux populations lors de leur culture mixte. L'inhibition dans ce cas ne résulte ni d'une limitation en nutriments ni de la présence de métabolites extracellulaires inhibiteurs mais plutôt d'un contact direct avec les cellules de la population inhibitrice qui doit présenter une concentration élevée de cellules viables (*Nissen et al., 2003*).

#### **b- Interactions indirectes :**

Elles sont dues à des métabolites extracellulaires et comprennent le neutralisme, le mutualisme, le commensalisme, l'amensalisme, la compétition et le « quorum sensing » (*Bailey et Ollis, 1986, Kleerebezem et al., 1997 ; Nissen et al. 2003*).

➤ **Mutualisme:** On distingue deux phénomènes : le mutualisme (symbiose) et le synergisme (proto coopération) durant lesquels chaque micro-organisme est stimulé par la présence de l'autre. Dans le mutualisme, la présence de chaque micro-organisme est indispensable pour la survie de l'autre alors que dans la proto-coopération l'interaction n'est pas nécessaire à la survie des populations mais la présence des deux micro-organismes ensemble entraîne une amélioration de leur développement (*Nehem, 2008*).

- **Neutralisme:** La présence d'une population n'affecte pas l'autre (*Nehem, 2008*).
- **Commensalisme:** Le commensalisme est une interaction où un micro-organisme bénéficie de la présence d'un autre, sans que ce dernier en tire profit (*Siewerts et al, 2008*).
- **Compétition:** Dans le cas de la compétition, les deux populations se développent sur le même substrat et consomment toutes les deux un ou plusieurs nutriments communs nécessaires à leur croissance ce qui aura un effet négatif sur leur vitesse de croissance et celle dont la vitesse de croissance est la plus affectée sera la plus désavantagée (*Nehem, 2008*).
- **Quorum sensing:** Chez les bactéries Gram positives et Gram négatives, la capacité d'une population bactérienne entière d'exprimer un phénotype spécifique en réponse à de petites molécules signales solubles et dont l'expression dépend de la densité cellulaire (ex : lactones homosérines, phéromones) est définie comme étant le phénomène de « quorum sensing » (*Fuqua et al. 1996, Kleerebezem et al. 1997*).
- **Antagonisme:** L'amensalisme est une interaction inter-espèces où la présence d'un ou de plusieurs micro-organismes a un effet inhibiteur sur le développement d'autres micro-organismes présents dans le même environnement, sans que le micro-organisme inhibiteur en tire le moindre profit. Certains métabolites tel que les acides carboxyliques, le lactate, le peroxyde d'hydrogène ou encore les bactériocines participent à ce phénomène (*Caplice et Fitzgerald, 1999 ; Van de Guchte et al., 2001 ; Siewerts et al., 2008*).

Les effets inhibiteurs agissent sur la croissance des micro-organismes pathogènes, indigènes ou inoculés (*Siewerts et al., 2008*).

### II.3.1. Facteurs inhibiteurs chez les BL:

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide / bactériostatique comme les **acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde), le diacétyle, l'acétaldéhyde et les bactériocines**. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments.

Plusieurs revues et travaux de recherche rapportent le potentiel des bactéries lactiques utilisées comme cultures ajoutées pour inhiber des microorganismes pathogènes présents dans les aliments, notamment l'inhibition de *L. monocytogenes* en présence de bactéries lactiques dans le saumon fumé (*Brillet et al., 2005 ; Tahiri, 2007 ; Azuma et al., 2007; Matamoros, 2008*).

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques.

### ➤ **Le pH et les acides organiques :**

Les produits principaux du métabolisme des bactéries lactiques sont les acides organiques qui sont produits soit par la voie homofermentaire, soit par la voie hétérofermentaire. Le métabolisme du pyruvate conduit à la formation uniquement d'acide lactique chez les homofermentaires tandis qu'il conduit à la formation d'acide lactique, acétique et formique, d'éthanol et de dioxyde de carbone chez les hétérofermentaires (**Liu, 2003**). 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.

Les acides organiques sont un des agents classiques de préservation des aliments (**Brul et Coote, 1999**) et sont reconnus comme des additifs alimentaires. Les acides couramment utilisés sont les acides benzoïque, sorbique, acétique, fumarique, propénoïque et lactique. Ils sont utilisés pour prévenir ou retarder la croissance des bactéries dégradant la nourriture (**Hsiao et Siebert, 1999**).

Le principal problème consécutif à leur utilisation est la haute concentration nécessaire pour inhiber les bactéries pathogènes ou indésirables et qui est parfois inacceptable pour le consommateur (**Kobilinsky et al., 2007**).

Les bactéries pathogènes peuvent développer certains mécanismes de résistance appelés «acide tolérance réponse» vis-à-vis de l'exposition à des pH acides. Ceux-ci leur sont également utiles pour survivre au transit intestinal (**Brul et Coote, 1999 ; Cotter et Hill, 2003**).

### ➤ **Le peroxyde d'hydrogène:**

Les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase typique contenant un noyau hème pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents microorganismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires (**Zalan et al., 2005**). Certaines bactéries lactiques peuvent néanmoins se protéger contre le peroxyde d'hydrogène qu'elles produisent par la synthèse de catalase hexamérique ou tétramérique contenant du manganèse et qui est parfois décrit comme étant des pseudo catalases (**Strus et al., 2005**). Son action se manifesterait aussi bien sur les germes indésirables que sur ceux qui sont indispensables au bon déroulement de la fermentation. Il est donc rarement utilisé pour son activité inhibitrice. D'autre part, son action oxydante peut avoir un effet néfaste sur la santé humaine (**Zalan et al., 2005**).

### ➤ **Le dioxyde de carbone:**

Celui-ci est formé pendant la fermentation hétérolactique et crée un environnement anaérobie qui inhibe les microorganismes aérobies. L'accumulation de dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité (**Ammor et al., 2006**).

### ➤ **Le diacétyl:**

Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus* sp, *Leuconostoc* sp, *Lactobacillus* sp et *Pediococcus* sp. Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) est un des composants aromatiques essentiels du beurre. Il a des propriétés antimicrobiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négatifs et les bactéries Gram positifs non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (**El Ziney et al., 1998**).

### ➤ La reutérine:

La reutérine (ou 3-hydroxypropionaldehyde) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* (El Ziney *et al.*, 1998). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une

« glycérol déshydratase » pour former de la reutérine qui sera ensuite réduite en 1,3- propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutérine s'accumule alors dans le microorganisme producteur. À haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes (Vollenweider, 2004).

### ➤ Les bactériocines:

• **Définition:** Les bactériocines sont des substances antimicrobiennes de nature protéique (Tagg *et al.*, 1976). La détection des bactériocines remonte à 1925 par André Gratia qui a observé que la croissance de certaines souches d'*Escherichia coli* a été inhibée en présence d'un composé antibactérien, dont il a donné le nom de colicine V. Cette substance a été caractérisée comme composé peptidique thermostable. Tagg *et al.*, (1976) suggéraient qu'un composé antimicrobien doit être considéré comme une bactériocine que lorsqu'il satisfait aux critères suivants:

- L'activité des bactériocines doit disparaître sous l'action des protéases.
- Un spectre d'inhibition étroit dirigé contre les espèces apparentées à la souche productrice.
- La présence d'une fraction protéique biologiquement active.
- Un mode d'action bactéricide.
- Un site d'attachement (récepteurs) spécifique sur les cellules sensibles.
- La bactérie productrice synthétise une molécule qui la protège contre sa propre bactériocine.
- Les bactériocines sont codées par des plasmides.

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice (Gram +) ; celle-ci possède un moyen de protection spécifiques vis-à-vis de sa propre bactéries, par production de protéine d'immunité (Edima, 2007). Leur spectre d'action est généralement étroit. Cependant, la plupart ont une activité contre des pathogènes alimentaires tels que *Listeria monocytogenes* (Dortu et Thonart, 2008).

Elles sont généralement produites à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire de croissance. Dans leur grande majorité, les bactériocines peptidiques de bactéries lactiques sont thermorésistantes (120°C pendant 10 minutes), stables dans des zones de pH de 3 à 8 et sensibles à l'action d'enzymes protéolytiques (présentes dans le tractus intestinal). De plus, contrairement à certains autres peptides antimicrobiens d'invertébrés et vertébrés, elles ne montrent pas d'activité hémolytique vis à vis des cellules eucaryotes. Elles peuvent ensuite être dégradées par les protéases produites par la bactérie lactique productrice ou être adsorbées à sa surface ce qui mène à la baisse de la concentration de bactériocines dans la culture (Souid, 2011).

➤ **Facteurs influençant l'action des bactériocines des bactéries lactiques :**

Les facteurs influençant la production de bactériocines sont principalement la souche productrice, la température, le pH, la composition du milieu (Dortu et Thonart, 2008). Il a déjà été montré que l'augmentation des concentrations en extrait de levure, extrait de viande ou peptone peut permettre une augmentation de la production de bactériocines (Souid, 2011).

Tandis que les potentiels d'application des bactériocines dans l'alimentation humaine sont limités par des propriétés propres à chaque bactériocine (spectre d'inhibition, stabilité thermique, solubilité, propriétés physico-chimiques, etc.). La baisse de leur efficacité dans les matrices alimentaires a de même été démontrée et serait due à leur attachement probable avec certains composés organiques du produit, ou encore leur inactivation par les protéases contenues dans l'aliment et/ou celles d'origine microbienne (Nilsson et al., 1999). Par ailleurs, les facteurs intrinsèques des aliments tels le pH, le contenu en lipides, ou la présence d'enzymes protéolytiques et les facteurs extrinsèques comme la température, le type de microorganisme à contrôler ainsi que sa concentration initiale exercent tous une influence sur l'efficacité des bactériocines. Aussi, leur stabilité est différente suivant le type de matrice alimentaire et la forme sous laquelle elles sont ajoutées (purifiées, semi-purifiées, lyophilisées, etc.). Par exemple, l'activité de la nisine ou de l'acidocine CH5 est considérablement réduite dans des aliments ayant une teneur élevée en gras (Davies et al., 1999; Chumchalova et al., 1998).

Les bactériocines peuvent aussi s'adsorber aux protéines de la matrice alimentaire par des ponts ioniques ou hydrophobes. Par exemple, l'addition de caséine a réduit l'activité de la sakacine P, de la curvacine et de la nisine dans des milieux synthétiques. Les bactériocines sont amphiphiles, chargées positivement et ont un contenu élevé en acides aminés hydrophobes. Leur attachement aux macromolécules chargées ou hydrophobes des aliments peut donc être envisagé. Ainsi, des travaux ont rapporté que l'activité de la sakacine P avait diminué durant la conservation du saumon fumé. Etant donné que l'addition d'urée a permis un recouvrement total de son activité, les auteurs ont attribué cette perte d'activité à une activité protéolytique mais aussi à l'adhérence de la sakacine à l'interface entre le gras et l'eau (Tahiri, 2007).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en 03 classes:

**Tableau 10 : Classification des bactériocines des bactéries lactiques (Naghmouchi, 2007)**

Classe de bactériocines	sous classe de bactériocines	Bactériocines	Références
<b>Classe I : lantibiotiques contenant des lanthionines ou <math>\beta</math>-lanthionines à faible poids moléculaires</b>	-Type A elongated shaped molecules -Type B molécules globulaires (1,8 à 2,1 KDa )	Nisine A Nisine Z Subtiline Actagardine Mutacin II	Gross et morell. (19710) mulders et al. (1991) Michener. (1953)  Kettenring et al.(1990) Woodruff et al.(1998)
<b>Classe II : bactériocines à faible poids moléculaires (&lt;10 KDa) thermostables</b>	- Sous classe IIa : pediocin like anti-listeria  -Sous classe IIb : bactériocines à	Pédiocine PA-1 Leucocine Sakacine A  Plantaricine JK Plantaricine EF	Maruge .(1992) Hastings.(1991) Holek.(1992) Anderssen rt al.(1998) Diep et al.(1996) Martinez et al .(1999)

	2 peptides -sous classe IIc : autres bactériocines	Lactococcine 972	
<b>Classe III : bactériocines de haut poids moléculaires (&gt;30 KDa ) non thermostables</b>		Helvétieine J Millerieine B	Joerger et al. (1986)

Une étude a été faite en **1993** par **Klaenhammer** montre qu'il existe quatre classes des bactériocines produites par les bactéries lactiques, la quatrième classe selon cette étude regroupe des peptides requérant une partie carbohydratée ou lipidique pour avoir une activité ; aucune bactériocine de cette classe n'a été décrite (**Dortu et Thonart, 2009**).

### ➤ *Les applications des bactériocines*

Les domaines d'utilisation des bactériocines sont multiples à savoir :

- ☑ Dans le domaine agronomique où l'utilisation est avantageuse parce que les bactériocines sont non toxiques, facilement dégradables par les enzymes digestives et du fait qu'elles sont des substances naturelles, leur emploi permettrait d'avoir des produits plus sains et réduirait l'utilisation des agents chimiques de conservation par exemple.
- ☑ Dans le domaine agricole où l'exploitation des bactériocines en agriculture, pour la protection des plantes contre les microorganismes phytopathogènes, connaît un essor qui intéresse de plus en plus les chercheurs.
- ☑ Dans les domaines de la médecine humaine et vétérinaire et bien que cette utilisation ne soit pas encore répandue, mais plusieurs études s'orientent actuellement vers cet axe de recherche pour résoudre les problèmes de résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques :
  - ✓ Traitements d'infections cutanées ;
  - ✓ Traitements de la gingivite (Depuis lors, la nisine a été introduite dans des bains de bouche) ;
  - ✓ Traitements de la mastite (La mastite est une infection bactérienne des glandes mammaires causée par des bactéries pathogènes telles que *Sta. aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus uberis* et survenant pendant la période d'allaitement donc la nisine A inhibe la prolifération ces souches) (**Makhloufi, 2011**) ;
  - ✓ la nisine a fait l'objet d'un brevet quant à son utilisation dans la prévention et le traitement d'ulcère causé par *Helicobacter pylori* (**Souid, 2011**) ;
  - ✓ Traitements d'infections urogénitales et contraception (*Lb. rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus fermentum* (*Lb. fermentum*) inhibent la prolifération d'*E. coli* à l'origine d'infections urinaires et de champignons responsables de vaginose) (**Makhloufi, 2011**).

### ➤ Réglementation d'utilisation de bactéries productrices de bactériocine dans les aliments :

L'utilisation industrielle de bactériocines ou de souches productrices de ces substances se heurte à la démonstration de l'innocuité pour l'homme. En effet, afin de garantir la sécurité du consommateur, l'efficacité et l'innocuité de la souche doivent être démontrées. Les microorganismes entrant dans la chaîne alimentaire par l'intermédiaire de l'alimentation pour animaux sont régulés en Europe (Directive 93/113/EC, 1993). Il n'existe cependant pas de réglementation nationale ou communautaire concernant les microorganismes utilisés directement pour l'alimentation humaine. De fait, en **France**, l'**AFSSA (2002)** a émis un avis concernant les « recommandations pour la présentation des données permettant l'évaluation de l'innocuité des microorganismes utilisés dans le secteur agroalimentaire (souches nouvelles ou modifiées, application différente de souches déjà utilisées) » (**Luquet et Corrieu, 2005**).

De manière générale, la sélection de souches productrices de bactériocines pour une application alimentaire doit obéir à un certain nombre de critères législatifs et technologiques. Ces dernières doivent être reconnues **QPS** (qualification de sûreté présumée) mis en place par l'**EFSA** en **2007**, proche du statut **GRAS** (generally recognized as safe) qui existe aux USA, elles doivent produire activement leurs bactériocines aux conditions de conservation appliquées, produire des arômes neutres qui n'affecteront pas les caractéristiques sensorielles du produit et respecter les normes microbiologiques (**Tahiri, 2007**).

L'utilisation de bactéries lactiques pour préserver les aliments réfrigérés a fait l'objet de différents brevets ou publications. Par exemple, l'équipe du Dr Hall de l'Université de Loughborough (2000) a testé différentes souches de bactéries lactiques isolées de produits marins pour préserver de la chair hachée de merlan. L'apport de ferment (souches de *Lactococcus* ou de *Carnobacterium*) n'avait pas d'incidence sur les qualités organoleptiques des produits ni sur l'inhibition de la flore d'altération (**Daniel et al., 2007**).

Si l'addition de préparation purifiées ou semi-purifiées contenant des bactériocines semble relever directement des règlements européens sur les additifs alimentaires (« Novel Food » n°258/97), la réglementation régissant l'incorporation de bactéries vivantes dans un but de biopréservation est actuellement en discussion au niveau européen (**Pilet et al., 2009**).

## II.3. Critères de sécurité des BL utilisées dans la bioconservation des denrées alimentaires :

### II.3.1. Production des amines biogènes :

Certains métabolites issus de l'activité bactérienne peuvent être corrélés à l'altération d'un produit alimentaire, sans qu'ils soient eux-mêmes détectables au niveau sensoriel. Les amines biogènes en sont des exemples, certaines sont fréquemment retrouvées dans les produits de la mer.

Les amines biogènes sont des composés azotés de faible poids moléculaire répandus dans l'environnement chez les animaux les végétaux (**Tableau 11**). Ces amines sont dites « biogènes » car elles sont formées par l'action d'organismes vivants. Elles sont principalement produites soit par décarboxylation microbiennes d'acides aminés (**Bonnin-Jusserand, 2011**), soit par des décarboxylases tissulaires (**Brillet, 2005**).



**Tableau 11 : Bactéries lactiques productrices d'amines biogènes dans les aliments (Brillet, 2005)**

Bactéries lactiques	Amines biogènes	Références bibliographiques
<i>Lactobacillus curvatus, farciminis</i> <i>Lactobacillus brevis, sakei</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	Tyramine	Produits carnés fermentés (Suzzi and Gardini, 2003) Produits carnés fermentés (Ansorena <i>et al.</i> , 2002)
<i>Carnobactérium divergens</i> <i>Carnobactérium piscicola</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>	Tyramine	Saumon frais (Emborg <i>et al.</i> , 2002) Saumon fumé (Jorgensen <i>et al.</i> , 2000b ; Connil <i>et al.</i> , 2002c)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	Histamine	images (Stratton <i>et al.</i> , 1991) ; Joosten and Northolt, 1989 ; Sumner <i>et al.</i> , 1985)
<i>Tetragenococcus muriaticus</i>	Histamine	Sauce de poisson (Kimura <i>et al.</i> , 2001)

➤ **L'importance des amines biogènes :**

Certaines amines biogènes jouent un rôle physiologique important chez l'homme et les animaux, elles interviennent notamment dans la régulation de la température corporelle, du volume et du pH de l'estomac, ainsi que dans la régulation du système nerveux central et de la pression sanguine. Elles servent également de précurseurs à la synthèse des hormones. La putrescine, la spermine et la spermidine sont impliquées dans de multiples réactions biologiques telles que la synthèse des acides nucléiques (ADN / ARN) et des protéines (Brillet, 2005).

➤ **Utilisation des amines biogènes comme indicateurs d'altération :**

En parallèle des préoccupations sanitaires, l'intérêt du dosage des amines biogènes est de mettre en évidence la présence de contaminants microbiens dans les aliments, les amines biogènes pouvant être utilisées comme des indicateurs de la qualité organoleptique des produits alimentaires et en particulier des produits de la mer. En effet l'histamine et la tyramine ne sont produites à partir des acides aminés libres précurseurs que par le système enzymatique des microorganismes présents alors que la putrescine et la cadavérine sont produites à la fois par les enzymes endogènes de l'aliment (viande, poisson...) et celles des microorganismes. Les amines biogènes n'ont pas d'odeur, mais sont indicatrices de la présence de bactéries altérantes qui produisent d'autres métabolites comme l'H<sub>2</sub>S, la TMA, l'ammoniac... (Brillet, 2005).

➤ **Toxicité des amines biogènes et réglementation :**

Les mammifères possèdent un système de détoxification dans la paroi intestinale permettant de réguler la quantité d'amines biogènes dans l'organisme. Ainsi, une teneur en amines biogènes trop élevée dans l'organisme pourra être diminuée sous l'action de plusieurs enzymes : la monoamine oxydase (MAO) et la diamine oxydase (DAO).

Les taux à partir desquels les amines deviennent toxiques sont difficiles à établir car ils dépendent des caractéristiques de chacun mais aussi de la présence d'autres amines. Par exemple, la putrescine, la cadavérine et l'agmatine peuvent augmenter l'effet toxique de l'histamine en inhibant le système de détoxification présent chez l'homme (**Brillet, 2005**). Pour l'histamine : une directive européenne établit un seuil maximum à 100 mg/kg pour la vente et la consommation de la plupart des poissons. Ce seuil est de 50 mg/kg aux Etats Unis (L'équipe de chercheurs de LAREAL).

De plus, la putrescine, la cadavérine, la spermine et la spermidine sont des précurseurs potentiels pour la formation de nitrosamines, composés nitreux carcinogènes (**Halasz et al., 1994**) et leur formation est favorisée dans les produits où des nitrates et des nitrites sont ajoutés.

### **II.3.2. Résistance/ sensibilité des bactéries lactiques :**

#### ➤ **La résistance aux antibiotiques :**

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de **Temmerman et al., (2003)** ont montré que 68.4% des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la kanamycine (81%), à la tétracycline (29.5%), à l'érythromycine (12%) et au chloramphénicol (8.5%). 38% des isolats de *Enterococcus faecium* ont été trouvés résistants à la vancomycine.

D'après **Cannon et al., (2005)**, Les lactobacilles sont sensibles à la pénicilline, à l'ampicilline et aux aminosides (généralement la gentamicine).

Des renseignements sur la sensibilité aux antibiotiques ont été fournis par le déclarant et montrent que *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 est relativement résistant à la gentamicine comme à la tobramycine, mais est sensible aux antibiotiques suivants : amoxicilline + acide clavulanique, chloramphénicol, érythromycine, rifampicine, tétracycline et vancomycine. Dans l'éventualité peu probable où *C. maltaromaticum* CB1 causerait une infection chez les humains, il existe actuellement des traitements antibiotiques (**Griffith Laboratories Ltd, 2007**).

Dans la plus part des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autres espèces et genre. C'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance (**Denohue, 2004**).

Les autorités européennes ont récemment conclu que quelques bactéries utilisées pour la production d'aliment pourraient poser un risque à la santé humaine et animale en raison d'héberger des souches avec les gènes de résistance transmissibles [la présence de gènes d'antibio résistances acquises et potentiellement transférables (ABR)]. Tout d'abord il semble important d'indiquer que , pour l'instant, la résistance aux antibiotiques chez les lactobacilles n'est un problème de sécurité qu'en fonction du principe de précaution (**Hayes et al., 2006**).

Par conséquent, avant de lancer une culture probiotique, il est important de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne comportent pas de gènes transmissibles de résistance aux antibiotiques (**Ammor et Mayo, 2007**).

➤ **La résistance aux phages :**

Les souches lactiques peuvent être attaquées par des phages spécifiques. A ce titre, les bactériophages (ou les phages) constituent une cause de difficultés pour les industries de fermentation, qui peut perturber souvent gravement, voire même arrêter complètement le processus de fermentation (De Roissart et Luquet, 1994).

Lorsqu'une souche est attaquée par un phage spécifique, on s'efforce de la remplacer par une autre souche (parfois par un mutant spontané résistant, dérivé de la souche attaquée) non sensible au phage et qui présente grosso modo des propriétés technologiques équivalentes à celles de souche phagée.

La lutte préventive contre les phages comprend toute une série de mesures devenues classiques, intéressant la conception de l'usine, le nettoyage et la désinfection.

**II.4. Notion du probiotiques :**

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (FAO, 2001).

☑ **Critères de sélection d'une bactérie d'intérêt probiotique :**

L'efficacité des probiotiques (Tableau 12) est soutenue par plusieurs études cliniques, principalement celles concernant le traitement de la diarrhée aiguë chez l'enfant et la prévention des troubles associés aux antibiotiques. Actuellement, les probiotiques et leurs composés bioactifs constituent des médicaments de substitution qui peuvent aider à réduire l'utilisation des antibiotiques, améliorant ainsi les thérapies pharmacologiques classiques (Saad, 2010).

Ouwehand et al., (2001) ont proposé certaines propriétés essentielles pour la sélection de nouvelles souches probiotiques : (I) ces bactéries ne sont ni pathogènes, ni toxiques, (II) être résistantes au passage des voies gastriques, aux enzymes pancréatiques, aux sels biliaires et à l'acidité, (III) avoir de bonnes propriétés technologiques (antimicrobienne...). Enfin, (IV) être capable d'adhérer aux muqueuses intestinales afin d'exercer leur effet immuno modulateur, participer à l'exclusion de pathogènes ou encore, améliorer la guérison de la muqueuse

Ainsi ; l'aptitude de la bactérie lactique à modifier les conditions de son microenvironnement dans le tractus (ex : acidification grâce à la production d'acides gras à courtes chaînes... etc), et sa capacité à entrer en compétition avec les bactéries pathogènes vis-à-vis des éléments nutritifs et des sites d'adhésion et par conséquent à survivre et à se multiplier pendant son transit dans le tractus.

**Tableau 12 :** Quelques exemples des principaux effets bénéfiques sur la santé de l'hôte induits par des probiotiques (Saad, 2010)

Souche de probiotique	Effet sur la santé	Références
Lactobacillus plantarum 299 v	Soulagement des inflammations du syndrome de l'intestin irrité Réduction de cholestérol – LDL Réduction de la récurrence des diarrhées à Clostridium difficile Sous-régulation de IL 6 et INF-y Modulation de l'immunité	Niedzielin et al., 2001  Bukowska et al., 1998 Wullt et al., 2003  Matsumoto et al., 2005 Tien et al., 2006 Basu et al., 2008
L. casei shirota L. casei DN114001 L. rhamnosus GG	Traitement des diarrhées aiguës à rotavirus ou associées aux antibiotiques Modulation de l'immunité Réduction des inflammations intestinales Traitement et prévention des allergies Prévention après intervention contre des pouchites	Zhang et al., 2005 Gosselink et al., 2004 Kalliomaki et al., 2001 Kuisma et al., 2003  Sugita et Togawa., 1994 Ohman et al., 2009
L. acidophilus La5	Réduction des diarrhées à rotavirus ou associées aux antibiotiques Activation du système immunitaire chez les patients présentant le syndrome de l'intestin irrité	Kos., 2001 Mattila-sandholm et al., 1999; Dunne et al., 2001
L. acidophilus M92 L. salivarius UCC118	Diminution du cholestérol sérique Soulagement des maladies inflammatoires intestinales et modulation de microflore intestinale	Shomikova et al., 1997 ; Rosenfeldt et al., 2002 ; Lin et al., 2008
L. reteri	Réduction des diarrhées à rotavirus et modulation de l'immunité	

☑ Le choix des souches utilisées comme ferment (**Tableau 13**) est donc important.

La caractérisation de la souche est également nécessaire à des fins réglementaires et sécuritaires. Elle constitue de plus une protection des intérêts industriels et commerciaux. Ainsi l'établissement des caractères biochimiques, le profil fermentaire et la caractérisation de la sensibilité aux antibiotiques de la souche sont nécessaires ainsi le choix de souches non productrices d'amines ou bien capables de dégrader les amines biogènes est à privilégier (**Brillet, 2005**).

D'autres caractéristiques complémentaires telles que l'analyse de la composition de la paroi bactérienne, aident à définir les spécificités de la souche. L'établissement d'un profil plasmidique ou le séquençage de tout ou partie du génome constituent également autant d'informations utiles, relatives à la spécificité de la souche et à sa sécurité d'emploi (**Luquet et Corrieu, 2005**).

**Tableau 13 : Principaux critères de choix des bactéries lactiques en fonction de leur application**

Produits laitiers Fermentés	Critères de sélection et principales espèces bactériennes
Tous produits	<p>Température optimale et minimale de croissance.  Vitesse d'acidification (temps de latence et pente de la courbe).  Acidification finale (pH).  Aptitude sensorielle (absence de mauvais goûts, production d'arômes).  Aptitude texturante (fermenté du coagulant, substances filantes)  Aptitude gazogène (CO<sub>2</sub>).  Compatibilité en association de souches.  Résistance aux bactériophages.</p>
Laits fermentés	<p>Espèces : <i>Lc. lactis</i>, <i>Ln. mesenteroides</i>, <i>Sc. thermophilus</i>  <i>Lb. delbruckii ssp. bulgaricus</i> et/ou <i>lactis</i>,  <i>Lb. acidophilus</i>, <i>Lb. rhamnosus</i>,  <i>Lb. helveticus var. jugurti</i>, <i>Lb. plantarum</i>,  <i>Lb. hilgardii</i>, <i>Lb. brevis</i>, <i>Lb. kefir</i>.  <i>Befidobacterium</i>...</p> <p>Critères: production de diacétyl, acetaldehyde, éthanol, acétate...</p> <p>Propriétés probiotiques , Production de polysaccharides  Aérotolérance (bifidobacterium)</p>
Beurre, crème acide	<p>Espèces : <i>Lc. lactis</i>, <i>Ln. mesenteroides</i>  Critères : croissance à 8-18°C  Production de diacétyl.</p>
Fromage frais	<p>Espèces : <i>Lc. lactis</i>, <i>Ln. mesenteroides</i>, <i>Lb. rhamnosus</i>  Critères : croissance à 18-28°C  Production de diacétyl.  Production de polysaccharides</p>
<p>Fromages affinés ;  Pâtes molles, Pâtes persillées  Pâtes pressées non cuites</p> <p>Pâtes molles solubilisées</p> <p>Pâtes persillées</p> <p>Pâtes presses cuites</p>	<p>Espèces : <i>Lc. lactis</i> ; Critères : croissance à 27-34°C,  Activité protéolytique</p> <p>Espèces : <i>Sc. thermophilus</i>  Critères : croissance rapide à 35-40°C</p> <p>Espèces : <i>Ln. mesenteroides</i>  Critères : production de CO<sub>2</sub></p> <p>Espèces : <i>Sc. thermophilus</i>  <i>Lb. delbruckii ssp. lactis</i> et/ou <i>Lb. helveticus</i>  Critères : températures limites de croissance.  Activité protéolytique, Résistance aux lysozymes.</p>

***CHAPITRE. III :***  
***GENERALITES***  
***SUR***  
***LES***  
***INFECTIONS***  
***BACTERIENNES***

### **III.1. Les germes bactériens à risques pathogènes :**

#### **III.1.1. Les germes bactériens provoquant des infections médicales:**

Chez l'homme sain, la très grande diversité d'espèces bactériennes et une certaine coopération métabolique permettent la stabilité écologique et l'homéostasie de la flore digestive. Dans leur état d'équilibre optimal les colonies bactériennes intestinales constituent une barrière efficace contre les invasions pathogènes.

Il est communément admis qu'un certain nombre de fonctions biologiques associées à la flore intestinale en relation avec son environnement jouent un rôle dans la protection contre la colonisation de l'intestin par des microorganismes pathogènes. Parmi ces fonctions on peut citer la compétition pour les nutriments et pour les sites d'adhésion à la muqueuse intestinale, la production de substances antimicrobiennes (bactériocines ou antibiotiques), l'abaissement du pH par production de métabolites acides gras à chaînes courtes et enfin la stimulation du système immunitaire. Certaines de ces activités peuvent avoir un effet direct sur la santé de l'hôte (**Choukri, 2007**).

La microflore intestinale exerce un rôle protecteur contre les germes pathogènes, ce rôle est appelé: effet de barrière (**Lievin et al., 2000**). La muqueuse intestinale joue un rôle fondamental dans la constitution d'une barrière physique entre le milieu externe (aliments, antigènes, bactéries...) et le milieu interne (**Lievin et al., 2000 ; Mullie et al., 2003**), elle assure deux fonctions de base qui sont opposées, la première c'est permettre le passage des nutriments, la deuxième, bloquer le passage des composés toxiques et de la flore nuisible (**Catto-Smith, 1996**).

Le bon fonctionnement de cette barrière assure le contrôle de la perméabilité intestinale dont les altérations, dans certains cas, peuvent être délétères. Par exemple, des études ont montrées que des bactéries comme *Salmonelles* sont capables de perturber le fonctionnement de cette barrière et par conséquent d'induire l'augmentation de la perméabilité intestinale (**Sable et al., 2000**).

Souvent l'antagonisme est observé par des effets bactéricides, bactériostatiques, ou bactériolytiques. Les mécanismes d'interactions diffèrent et dépendent des propriétés et de l'activité des bactéries, leur nombre de population, et les conditions environnementales (**Fuller, 1989**).

#### **III.1.2. Les germes provoquant l'altération des produits alimentaires:**

Les microorganismes sont présents dans les écosystèmes naturels comme l'air, le sol et l'eau. Ils sont également présents sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants animaux et végétaux. De ce fait, tous les produits alimentaires transformés ou non peuvent être contaminés par des microorganismes. La contamination des denrées alimentaires peut avoir un effet plus ou moins grave sur la qualité du produit et sur la santé du consommateur. Elle peut être à l'origine d'une altération du produit, lui faisant perdre ses caractéristiques organoleptiques et ou commerciales et parfois la cause d'intoxications ou toxi-infections graves.

##### **➤ La flore microbienne des aliments :**

Les aliments sont d'origine végétale ou animale. La flore normalement associée aux plantes et aux animaux est donc potentiellement présente. De plus, un apport microbien exogène est souvent inévitable (environnement, contact, manipulations, etc...). Les animaux possèdent trois types de flores commensales : la flore de surface (microcoques, *listéria*, bactéries sporulés aérobie etc...),

la flore intestinale (entérocoque, bactérie sporulées anaérobies etc....) et la flore issue des plantes et dérivés. La manipulation des aliments est l'étape la plus marquée de la chaîne industrielle au cours de laquelle l'aliment est plus exposé au microorganisme, on parle donc des contaminations de contact, essentiellement par les mains, dont les germes plus fréquemment incriminés sont *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella* etc.... surtout véhiculées par la peau saine ou par des plaies, abcès ou furoncles, en citant aussi des contaminations aéroportées (toux éternuement) et des contaminations par les vêtements des préparateurs de ces aliments. (Guiraud et Galz 1998).

➤ **Action des micro-organismes dans les aliments :**

Le développement des micro-organismes dans un aliment peut avoir des actions néfastes et variées sur sa qualité intrinsèque sa valeur commerciale ce qui provoque un danger majeur sur la santé humaine par des toxi-infections dues à la formation de substances toxiques (amines), ou même d'infections ou intestinales bénignes. Il existe donc non seulement des altérations microbiennes mais aussi des altérations physiques tel que (le choc, blessures, changements d'état, variation de la teneur en eau, changement de couleur), chimiques ou biochimiques (brunissement enzymatique, lyses, destruction des vitamines et de certains nutriments) et des altérations. (Christiane et Joffin, 2003).

### **III.2. Etude des quelques infections bactériennes fréquentes chez l'homme :**

#### **III.2.1 - Les infections digestives d'origine bactériennes:**

➤ **Définition :**

Différentes espèces bactériennes sont capables de provoquer des dysfonctionnements digestifs et surtout des dysfonctionnements intestinaux dont l'intensité dépend d'une part, de la pathogénicité de ces bactéries, et d'autre part de la réaction de l'hôte à l'infection (Choukri, 2007). Ces modifications digestives sont classées en trois grands types :

- ✓ Les affections touchant essentiellement l'intestin grêle proximal.
- ✓ Les affections touchant principalement la zone iléo-caeco-colique.
- ✓ Les affections résultant d'une diminution de la résistance à la colonisation.

Les affections de type 2 correspondent à des atteintes inflammatoires du segment iléocaeco-colique, dues à des bactéries invasives capables de pénétrer dans les entérocytes, puis dans les ganglions lymphatiques mésentériques et ensuite éventuellement dans le foie, la rate, la circulation générale (Choukri, 2007). Cette translocation est donc responsable d'infections systémiques. Parmi les bactéries responsables de ces phénomènes invasifs (**tableau 14**), ont été décrites sérovars de *Salmonella* (Contrepois *et al.*, 1986 ; De Rycke *et al.*, 1988). L'abondance de ces bactéries est en relation directe avec l'hygiène, dans la plupart des cas c'est à l'origine d'intoxication alimentaire, en fait il existe deux catégories: l'infection alimentaire et l'intoxication alimentaire. Elles se différencient par la manière dont la maladie se manifeste (Collard *et al.*, 2005 ; Humphrey *et al.*, 2007 ; Swaminathan et Gerner-Smidt, 2007 ; Kérouanton *et al.*, 2007 ; Bettelheim, 2007 ; De Schrijver *et al.*, 2007).



**Tableau 14** : Tableau récapitulatif des principales causes de toxi-infections alimentaires (Humphrey *et al.*, 2007).

M.O ou toxine	Temps 'incubation	Symptômes	Produits à risqué
<i>Salmonella</i>	5-48 heures à 72 heures (généralement 24)	Diarrhée, fortes fièvres, frissons, maux de tête, maux de ventre, vomissements. Les symptômes durent 2 à 3 jours, parfois plus.	<b>Volaille, préparations à base d'œufs crus, viande de porc, produits laitiers, chocolat.</b>
<i>Campylobacter jejuni et coli</i>	1 à 5 jours	Crampes d'estomac, selles liquides et abondantes (parfois sanguinolentes), douleurs musculaires, maux de tête, fièvre, nausées; durée : 7 à 10 jours.	<b>Volaille, viande de porc, lait cru.</b>
<i>Listeria monocytogenes</i>	3 à 70 jours	Etat grippal (fièvre et maux de tête), diarrhée, empoisonnement du sang, méningite, avortement spontané.	<b>Fromage au lait cru, saumon cru et fumé, charcuterie : pâté, salami, jambon, crèmes glacées, beurre.</b>
<i>E.coli</i> Vérotoxinogène (VTEC)	3 à 9 jours	Symptômes qui peuvent persister plus d'une semaine; CH : colite hémorragique : d'abord une diarrhée très aqueuse, et ensuite diarrhée sanguinolente SHU : syndrome hémolytique urémique : diarrhée avec présence de sang, insuffisance rénale, mort.	<b>Haché de bœuf, lait cru, fromage au lait cru.</b>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3 à 7 jours	Syndromes de gastro entérocolite, diarrhée aqueuse sévère, fièvre, maux de tête, pseudo- appendicite, inflammation articulaire.	<b>Viande de porc, haché de porc, lait, eau.</b>
<b>Histamine</b>	Quelques minutes à quelques heures	Rougeurs faciales, œdème du visage, nausées, vomissements, diarrhée, maux de tête, vertiges, goût de poivre dans la bouche, sensation de brûlure dans la gorge, démangeaisons, picotements de la peau, palpitations cardiaques.	<b>Thon, anchois, maquereau, hareng, sardines.</b>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	12 heures	Inflammation gastro-intestinale caractérisée par des diarrhées et des maux de ventre, parfois accompagnées de nausées, vomissements, fièvre et maux de tête.	<b>Poissons crus ou insuffisamment cuits et produits de la mer.</b>
<i>Shigella</i>	12-50 heures	Crampes au ventre, diarrhée sanguinolente, purulente ou glaireuse.	<b>Crustacés, légumes, eau (produits de consommation manipulés par des hommes)</b>
<b>Toxines de Staphylococcus aureus</b>	2-4 heures	Nausées, vomissements violents, pas de fièvre, maux de ventre, diarrhée, chute de tension.	<b>Lait, fromage, crèmes glacées, viande, volaille, charcuterie, poisson, plats préparés, pâtisseries (aliments manipulés par des hommes).</b>

<b>Toxine émétique de <i>Bacillus cereus</i></b>	1-5 heures	Vomissements.	<b>Céréales, riz, pâtes alimentaires (produits riches en amidon), plats préparés à base de pommes de terre</b>
<b>Toxine de diarrhée de <i>Bacillus cereus</i></b>	8-16 heures	Diarrhée et crampes au ventre.	<b>Produits laitiers, poudre de lait, plats étuvés, épices et produits alimentaires fortement épicés (aliments riches en protéine).</b>
<b>Toxines de <i>Clostridium perfringens</i></b>	8-24 heures	Affections intestinales marquées par des coliques soudaines et Diarrhée, ensuite; généralement pas de nausées, de vomissements ni de fièvre; affection bénigne de courte durée.	<b>Aliments refroidis trop lentement après cuisson, plats préparés, principalement à base de viande.</b>
<b>Toxines de <i>Clostridium botulinum</i></b>	<b>8 à 24 heures</b>	<b>Vision double (diplopie), soif, constipation, étourdissements, difficulté de déglutition et d'élocution, problèmes respiratoires, paralysie, mort.</b>	<b>Conserves maison mal stérilisées, poisson, miel, charcuterie fine sans nitrites.</b>

### III. 2.2. Les infections urinaires :

#### ➤ Généralités :

L'infection urinaire est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes, en médecine générale, après les infections respiratoires, et la plus souvent rencontrée aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier avec un taux de 40%. Elle se rencontre chez l'adulte, comme chez l'enfant. Elle est souvent associée à une anomalie fonctionnelle ou anatomique des voies urinaires (Riegel, 2003 ; Afssaps, 2007 ; Mohammedi, 2013). Les fréquences des germes uropathogènes les plus courants dans les infections urinaires sont les suivantes : *E. coli* 75-80%, *Proteus mirabilis* 8-10% (30 % chez le jeune garçon), *Staphylococcus saprophyticus* 3-7%, *Klebsiella* 3%, *Enterobacter* 2%, *Pseudomonas* 3% , les autres staphylocoques 3% ; les entérocoques 2% ( Brunet et al., 2006).

#### ➤ Définition :

L'infection urinaire se définit par la présence dans l'urine d'un germe à une concentration supérieure à  $10^5$  UFC /ml .Elle est généralement causée par un seul microorganisme, cette bactériurie est souvent, accompagnée d'une augmentation de la leucocyturie et parfois, associée à des signes cliniques d'infection urinaire (Zomahoun, 2004).

La flore digestive normale est habituellement le réservoir des bactéries retrouvées dans les infections urinaires. L'infection est favorisée par la présence d'une anomalie fonctionnelle ou organique responsable de la colonisation de l'urine vésicale. Les infections urinaires peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) (François et al., 2013).

Ce sont les infections bactériennes les plus communes chez la femme (50%) ; Les infections urinaires surviennent dans 20% des cas chez l'homme. L'infection urinaire chez

l'enfant, au même titre que chez l'adulte, elle concerne plus fréquemment la fille que le garçon. L'infection urinaire est une des infections les plus fréquentes en pédiatrie) (François *et al.*, 2013).

➤ **Facteurs favorisant l'infection urinaire:**

➤ **Facteurs liés à la bactérie :**

La présence des facteurs d'adhésion et de virulence développés par les bactéries uropathogènes et la présence d'un inoculum bactérien en quantité importante dans le tractus urinaire sont considérés comme des facteurs favorisant l'IU (Djennane *et al.*, 2009).

➤ **Facteurs liés à l'hôte:**

Une grande variété de malformation congénitale des voies urinaires peuvent provoquer des IU grâce à l'obstruction (la stase urinaire). Les causes les plus banales, mais significative de l'IU comprennent l'adhérence labiale et la constipation chronique (Grabe *et al.*, 2009). Les enfants ayant une anomalie fonctionnelle de l'appareil urinaire sont exposés à un risque plus élevé de développer une IU. L'incapacité de vider la vessie, comme dans le cas des vessies neurologiques géniques, donne souvent lieu à une rétention urinaire, la stase urinaire et la clairance de sous-optimale des bactéries de l'appareil urinaire (Steven et Linda, 2006). Chez le nouveau-né, les infections bactériennes résultent d'une anomalie de la colonisation bactérienne néonatale et d'une immaturité de l'immunité (Mohammedi, 2013).

➤ **Facteurs liés au sexe et l'âge:**

Le sexe et l'âge sont des facteurs de risque importants pour contracter une infection urinaire. Dans la population pédiatrique, les garçons de moins de 3 mois ont un risque plus élevé mais, chez les enfants plus âgés, le risque chez les filles est plus important. Pour les garçons, la circoncision semble réduire le risque d'IU (Daniel et Williamson, 2003). La petite taille de l'urètre et son emplacement proche de la région péri-anale chez la fille favorise l'infection urinaire à répétition (Bourdat, 2003).

### **III.3. Etudes des quelques genres bactériens à risque pathogènes :**

#### **III.3.1. Le genre *Staphylococcus* :**

➤ **Généralités :**

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*, il présente un portage sain, principalement au niveau des cavités nasales. Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques » (Wylie *et al.*, 2005).

➤ **Origine et habitat :**

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhino-pharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, volailles) et en particulier chez l'homme. Les staphylocoques ont également été isolés de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme

(cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaires et à partir de denrées alimentaires. La peau et les muqueuses de l'homme et des animaux constituant l'habitat primaire de *S. aureus*, la présence de ce germe dans l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'homme ou les animaux (**Bergdoll, 1979**).

➤ **Taxonomie et classification (Delarras, 2007)**

✓ **Classification de Bergey (1994) :**

Selon la deuxième édition de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, la classification phylogénétique du genre *Staphylococcus* est la suivante:

- Domaine : *Bacteria*
- Phylum XIII: *Firmicutes*

Classe: *Bacilli*

- Ordre: *Bacillales*
- Famille: *Staphylococcaceae*
- Genre: *Staphylococcus* avec 38 espèces et des sous-espèces.

Plusieurs espèces sont retrouvées chez l'homme. D'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (**Aouati, 2009**), parmi celles retrouvées chez l'homme, trois espèces occupent une place privilégiée essentiellement dans la pathologie humaine: *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S. saprophyticus*. Les autres sont rarement impliquées (**Avril et al., 2003**). *S.epidermidis*, que l'on retrouve sur la peau est une bactérie commensale qui provoque rarement des maladies cutanées. *S. aureus* est moins fréquemment retrouvé mais il est généralement pathogène opportuniste. Une troisième espèce, *S. saprophyticus*, est unique en ce sens qu'elle n'est responsable que d'infections urinaires (**Figarella, 2004**).

➤ **Caractères phénotypiques et culturels :**

La coloration de Gram, la morphologie des colonies sur milieux gélosés et différents tests biochimiques permettent d'identifier le genre *Staphylococcus* et l'espèce *S. aureus*. Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, catalase-positif et oxydase-négatif. La production d'une coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulase négative (SCN), dont le représentant principal est *S. epidermidis* (**El Kour, 2003**).

➤ **Pathogénicité et virulence :**

Les infections par les staphylocoques sont caractérisées d'une part par les caractères destructifs, profonds et des foyers métastatiques, la rapide dissémination des métastases septiques et l'existence de signes généraux marqués, et d'autre part, la possibilité d'une persistance prolongée en plusieurs dizaines d'années (**Proctor et al., 1998**) ; Les constituants de la paroi des

staphylocoques, les substances enzymatiques et toxiques produites, hydrolysant les différents constituants cellulaires contribuent à sa pathogénie (**Arvidson, 2000 ; Fauchere, 2002**).

*S. aureus* possède un grand nombre de protéines de surface appelées adhésines, qui ont la capacité de se fixer sur les molécules de l'hôte (ou à des surfaces inertes type cathéters) La grande majorité de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule) (**Foster et Hook, 1998**). Parmi les mieux caractérisées on peut citer notamment la protéine de liaison au collagène CNA, les protéines de liaison à la fibronectine FnBPA et FnBPB, les protéines de liaison au fibrinogène (Clumping factor) ClfA et ClfB et la protéine A (ou SpA) qui possède également une activité super antigénique (**Clarke et Foster, 2006**).

### ➤ **Toxines et facteurs de virulence chez les *Staphylococcus* :**

Les principales toxines sont les hémolysines, la leucocidine, exfoliatines, et la toxine de choc toxique TSST-1 (**Arvidson, 2000**). Les staphylolysines ont un effet cytotoxique ils sont mis en évidence sur les hématies (**Fauchere, 2002**). La leucocidine est cytotoxique, agissant sur les polynucléaires et les macrophages chez lesquels elle provoque la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire (**Figarella, 2004**). La toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique ou TSST-1 est un super-antigène retrouvé chez plus de 90% des souches responsables de ce syndrome (**Fauchere, 2002**).

La pathogénie des infections à staphylocoque coagulase négative (SCN), bien qu'encore mal connue, diffère sensiblement de celle des infections à *S. aureus*. Les infections à *S. epidermidis* sont caractérisées par deux éléments : elles sont souvent associées à un corps étranger, et comme pour la plupart des infections à SCN, elles évoluent sur un mode indolent, subaigu. *S. epidermidis* produit en effet beaucoup moins d'enzymes et de toxines que *S. aureus* (**Von Eiff et al., 2002**).

Les capacités d'adhésion des staphylocoques aux cellules humaines, aux matrices extracellulaires et aux corps étrangers sont des facteurs essentiels des processus de colonisation et d'infection, aboutissant à la formation de ces communautés structurées de cellules bactériennes entourées d'une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante, que sont les biofilms (**Costerton et al., 1999**).

Par la diversité de ses facteurs de virulence , lui permettant entre autres de former des biofilms au contact des corps étrangers et de survivre au sein de cellules eucaryotes, les espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sont les germes les plus fréquemment responsables d'infections à corps étrangers, tels que les cathéters intra-vasculaires, les valves cardiaques prothétiques et les prothèses ostéo-articulaires (**Peters, 1982 ; Pittet et Wenzel, 1995 ;Tattevin et al., 1999**).

### ➤ Définition de biofilme :

Le biofilm est une communauté structurée de micro-organismes, se fixant à une surface inerte ou vivante et réunis au sein d'une matrice d'exo-polysaccharides (**Jain et al., 2011**) adhésive et protectrice qu'ils secrètent. C'est une structure vivante en perpétuel remaniement. Il constitue le mode de vie majoritaire des micro-organismes, par opposition à l'état planctonique, libre et isolé dans l'environnement (**Espinasse et al., 2010**). Un biofilm peut être constitué d'une ou plusieurs espèces de microorganismes (**Behlau et Gilmore, 2008**).

### III.3.2. Le genre *Escherichia* : (espèce *Escherichia coli*) :

#### ➤ Généralités :

La bactérie est désormais connue sous le nom *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois par un pédiatre allemand, Theodore Escherich, à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle (**Escherich, 1885**), l'espèce *Bacterium coli* commune, isolée de selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel (**Delphine, 2008 ; Ari et Sezonov, 2008**)

On sait aujourd'hui que cette entérobactérie s'installe dans l'intestin des nouveau-nés rapidement après la naissance ; pendant un certain temps, elle constitue l'élément dominant de leur flore intestinale et elle reste présente chez l'adulte, après le décès de Theodore Escherich en 1911 et en son honneur, *Bacterium Commune* a été renommée *Escherichia coli* en 1919 (**Ari et Sezonov, 2008 ; Haouzi, 2013**).

*Escherichia coli* << colibacille >> est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, est une entérobactérie mobile, commensale du tube digestif, capable de fermenter le glucose et le lactose. Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où il participe à la <<barrière>> intestinale. La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division *d'E. coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toutes les 20 min à 37 °C et en conditions favorables. Cependant, certaines souches *d'Escherichia coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastroentérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies (**Cristian, 2008**).

#### ➤ Origine et habitat :

*Escherichia coli* est un hôte normal du tube digestif de l'Homme. L'appellation commune "coli bacille" est une contraction de << bacille du côlon >> rappelant son caractère de bactérie commensale du tube digestif. Chez l'Homme, elle constitue l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie. Chaque personne porte dans son tractus intestinal une population *d'E.coli*. Par conséquent, cette bactérie se trouve fatalement dans les égouts. Cette niche, Si elle permet de répandre nombre de bactéries dans l'environnement puis vers d'autres animaux hôtes, ne semble pas propice à la propagation *d'E.coli*. Cela fait de cette bactérie un excellent indicateur de la présence de matière fécale dans les eaux. Cette bactérie est également présente au niveau du revêtement cutanéomuqueux, à proximité des orifices naturels (**Prodhomme, 2008**).

➤ **Classification :** La classification d'*Escherichia coli* selon le Bergey's manual 2012 est comme suite (Soumaila, 2012).

**Règne :** *Prokaryotae*

**Domaine:** *Bacteria*

**Phylum:** *Proteobacteria*

**Classe:** *Gammaproteobacteria*

**Ordre:** *Enterobacteriales*

**Famille:** *Enterobacteriaceae*

**Genre:** *Escherichia*

➤ **Caractères morphologiques:**

Bacille à bout arrondi, Gram-, mesure approximativement 2 à 4µm de longueur sur 0.6µm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chaînettes, et en quelques cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée. (Hart et Shears, 1999 ; Bey, 2009).

➤ **Caractères culturaux :**

Elle se développe en 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées Sur gélose au sang. Les colonies de *E. coli* sont lisses, gris terne, et de 2 à 3 mm de diamètre. Sur milieu **Mac Conkey**, Les colonies d'*Escherichia coli* Lactose-positives, sont de couleur rose à rouge, plates, sèches et de 2 à 3 mm de diamètre, elles sont généralement entourées d'une zone rose plus foncée des sels biliaires précipités. Les colonies d'*Escherichia coli* Lactose-négatives produisent des colonies incolores sur **Mac Conkey** qui sont de 2 à 3 mm de diamètre. (Hart et Shears, 1999 ; Haouzi, 2013; Benabdallah-Khodja et Hamlaoui ,2016).

➤ **Caractères biochimiques :**

Quelques-uns des tests biochimiques les plus communément utilisés sont le type de fermentation formique, l'utilisation du lactose et du citrate, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène, pour identifier le genre *Escherichia*. **Tableau 15** représente les principales caractéristiques d'*E.coli*. (Haouzi, 2013)

**Tableau 15 :** Quelques caractéristiques d'*Escherichia coli* ( Haouzi, 2013)

Caractéristiques	<i>Escherichia coli</i>
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+

Voges-Proskauer	-
Production d'indole	+ (généralement présent)
Utilisation du citrate	-
Production de H <sub>2</sub> S	-
Uréase	-
β-galactosidase	+ (généralement présent)
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	+ (généralement présent)
Ornithine décarboxylase	+ (généralement présent)
Mobilité	Péritriches simobiles
Liquéfaction de la gélatine (22°C)	-
% de GC	48-59

➤ **Caractères antigéniques :**

L'étude de cette structure antigénique est très utile car certains sérotypes ont un pouvoir pathogène particulier. KAUFMAN a distingué trois variétés d'antigène O, H, K (Dembel, 2006)

- ✓ L'antigène O, somatique, thermostable.
- ✓ L'antigène H, flagellaire présent chez les *Escherichia coli* mobile.
- ✓ L'antigène K, qui groupe trois variétés d'antigène de surface :
  - L'antigène L, d'enveloppe thermolabile, qui possède une activité hémolytique et névrotique.
  - L'antigène A, capsulaire thermostable.
  - L'antigène B, d'enveloppe ou de surface, thermolabile. Ces travaux ont permis de préciser que le pouvoir pathogène d'une souche *d'E. coli* dépend en partie de sa structure antigénique.

➤ **Pouvoir pathogène (Les infections):**

● **Infection urinaire :**

*Escherichia coli* est la bactérie le plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires quelles soit basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite) l'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravidité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite. Elle est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales.



- **Infection intestinale :**

*Escherichia coli* peut être responsable de gastro-entérite ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique.

- **Les septicémies méningites néo-natales :**

Les nouveau-nés se contaminent la plus part du temps au moment de l'accouchement par passage à travers les voies génitales ou à la suite d'une infection ascendante du liquide amniotique par rupture prématurée des membranes. Si la colonisation des nouveau-nés est fréquente à partir de la flore vaginale, seul 1 % des enfants contaminés avec des souches potentiellement virulentes vont présenter une infection disséminée.

### **III.2.3. Le genre *Pseudomonas* :**

➤ **Généralité :**

Le genre *Pseudomonas* est le groupe le plus hétérogène écologiquement significatif de bactéries connues, et comprend des bâtonnets aérobies Gram-négatives qui sont largement répandues dans la nature et caractérisées par une polyvalence élevée du métabolisme, grâce à la présence d'un système enzymatique complexe. Les exigences nutritionnelles de *Pseudomonas sp* sont très simples, et le genre se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, le de mer, etc. Mais il a également été isolé des sujets cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (**Franzetti et Scarpellini, 2007**). Certains membres du genre *Pseudomonas* appartiennent aux Gamma- Protéobactéries. Ce groupe en globela la majorité des espèces de bactéries phyto-pathogènes importants et des agents porteurs d'infections humaines, autres souches et espèces sont responsables des activités de bioremédiation et de contrôle biologique (**Tripathy et al., 2006**).

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des *Pseudomonaceae*, il comprend une soixantaine d'espèces. Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *Pseudomonas fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différentes biovars. Le groupe de *Pseudomonas* se compose de bactéries sous forme de bâtonnets, Gram négatifs, mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*), non sporulant, elles sont aérobies obligatoires. Les *Pseudomonas* ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe, peu exigeantes, et incapable de fermenter le glucose, se caractérisent par la pluralité des substances hydrocarbonées utilisées comme source de carbone et d'énergie, produisant des pigments, la plupart étant saprophytes et pouvant coloniser les cellules corticales mortes des racines (**Cook et al., 1996**). Les membres de ce genre présentent une polyvalence métabolique et physiologique remarquable. Les *Pseudomonas* ont un grand intérêt en raison de leur rôle dans les maladies végétales et humaines et de leur potentiel croissant dans les applications biotechnologiques (**Mena et al., 2009**).

## ➤ Origine et habitat :

Le genre de *Pseudomonas* se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, les eaux marines etc., mais il a également été isolé des instruments cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (**Franzetti et Scarpellini, 2007**).

## ➤ Classification :

Les *Pseudomonas* sont classé selon la hiérarchie suivante (**Palleroni, 1984 ; Krieg et al., 1984**) :

- Règne : *Bacteria*
- Embranchement : *Prokaryota*
- Division : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Pseudomonadales*
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Pseudomonas*

Dans l'édition de **1974** du **Bergey's Manual**, ces bactéries sont incluses dans la famille des *Pseudomonadaceae*. Leur classification repose sur des caractéristiques phénotypiques, seules la composition **en G+C** fussent rajoutées comme caractéristique génétique. Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène **codant l'ARNr 16S**, fût entreprise par (**Anzai et al., 2000**).

En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient aux groupe des *P. sensu stricto*; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 groupes:

- Le groupe des *P. syringae*.
- Le groupe des *P. chlororaphis*.
- Le groupe des *P. fluorescens*.
- Le groupe des *P. putida*.
- Le groupe des *P. stutzeri*.
- Le groupe des *P. aeruginosa*.
- Le groupe des *P. pertucinogena*.

Depuis l'an 2000, la reclassification continue toujours d'être améliorée. Plusieurs espèces étant mal classées comme *P. aureofaciens* et *P. aurantiaca* qui sont désormais des sous espèces du groupe *P. chlororaphis* (**Johnson et Palleroni, 1989; Peix et al., 2007**), qui compte actuellement trois sous espèces: *P. chlororaphis* subsp. *chlororaphis* subsp. nov; *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* subsp. nov. comb. nov. et *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* subsp. nov. comb. nov. (**Peix et al., 2007**).

## ➤ **Caractères morphologiques et culturels :**

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur, non sporulés. Ces bactéries sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (**Garrity, 2005**). La culture de ces bactéries est facile avec ou sans production de pigments, sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de triméthopime que l'on peut additionner d'acide nalidixique. Les colonies de *P.aeruginosa* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (oeufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes. (**Avril et al., 2000**).

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes produisant des pigments spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture. Les espèces pigmentées sont par exemple : *P. aeruginosa* produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P.putida*, *P.syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine et *P.aureofaciens* : produit un pigment jaune orange ou pourpre. Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes* et *P. stutzeri*. (**Martin, 2007**).

## ➤ **Pathogénicité :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste qui est important dans l'étiologie de nombreuses maladies infectieuses humaines (**Silby et al., 2011**). Les infections avec cette bactérie sont souvent accompagnées par un pus bleu, et la bactérie est communément isolée des spécimens cliniques (plaies, brûlures et infections des voies urinaires) (**Miyada et Lory, 2003**).

## ➤ **L'importance du genre *Pseudomonas* :**

Les bactéries de ce genre occupent la plupart des environnements naturels. Elles sont isolées de l'eau, du sol et des végétaux. Elles présentent un fort potentiel d'adaptation physiologique et génétique et sont capables d'utiliser une grande variété de nutriments. D'un point de vue écologique, les *Pseudomonas* regroupent des espèces bénéfiques pour l'environnement et des espèces pathogènes (**Talon et al., 2006**).

Au niveau de la rhizosphère les *Pseudomonas* peuvent avoir un effet bénéfique en mobilisant certains nutriments nécessaires à la croissance de la plante. Elles peuvent aussi la protéger contre des micro-organismes pathogènes en stimulant les mécanismes de résistance intrinsèques de la plante par la sécrétion des composés antibactériens et antifongiques et/ou par la compétition vis-à-vis de certains nutriments. C'est notamment le cas de souches de *P. fluorescens*, décrites comme des bactéries phytoprotectrices jouant un rôle prépondérant dans le biocontrôle de la rhizosphère (**Walsh et al., 2001**). D'autres espèces sont des pathogènes pour les plantes, comme l'espèce *P. syringae* qui compte au moins 37 pathovars capables d'infecter de nombreuses espèces de végétaux (**Sawada et al., 2002**).

Les *Pseudomonas spp.* Sont capables de dégrader de nombreux composés organiques, tels des composés halogénés, des hydrocarbures aromatiques et des herbicides. elles peuvent ainsi être utilisées dans les processus de décontamination des sols « bioremédiation » (Stallwood et al., 2005).

Les *Pseudomonas spp.* Peuvent également se comporter comme des agents opportunistes et être à l'origine d'infections iatrogènes et/ou nosocomiales. En raison de la richesse de leurs voies métaboliques, souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques. Ceci explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier, où elles peuvent être isolées de l'environnement humide, des denrées alimentaires, des réactifs biologiques, des solutés injectables, du sang ou des dérivés sanguins conservés au froid.

### III .3.4. Le genre *Klebsiella* :

#### ➤ Généralité :

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des entérobactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*. Elles sont responsables d'infections urinaires au 2<sup>ème</sup> rang après *E. coli*, d'infections respiratoires (*Klebsiella pneumoniae* est "appelée pneumobacille de Friedlander"), de bactériémies et d'infections neuro-méningées post traumatiques ou post-chirurgicales. Les isollements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital, et particulièrement dans les services de réanimation, qu'en ville (Khayar, 2011).

#### ➤ Origine et habitat:

*K. pneumoniae* est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire de l'homme et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures (Mendaci et Mihoubi, 2015).

#### ➤ Classification:(Bergey's manuel, 2012).

- Règne : *Bacteria*,
- Embranchement : *Proteobacteria*,
- Classe : *Gamma-proteobacteria*,
- Ordre : *Enterobacteriale*,
- Famille: *Enterobacteriaceae*,
- Genre : *Klebsiella*.
- Espèce: *K. pneumoniae*; *K. oxytoca* ; *K. ornithinolytica* ; *K. terrigena* et *K. planticola* .

L'espèce *K. pneumoniae* est subdivisée en 3 sous espèces :

- *K. pneumoniae* subsp *pneumoniae* .
- *K. pneumoniae* subsp *ozaenae* .
- *K. pneumoniae* subsp *Rhinoscleromatis*.

### ➤ **Caractères morphologiques et culturels :**

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, de dimensions comparables à celles d'*E.coli*. En général ils ont une culture très facile sur tous les milieux usuels. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactéries. Les colonies de *Klebsiella pneumoniae* sont lactose positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm ( **Sougakoff et Trystam, 2003**). Le genre *Klebsiella* est naturellement sécréteur d'une pénicillinase chromosomique de bas niveau ce qui la rend naturellement résistante aux pénicillines A (amoxicilline et ticarcilline) et aux carboxypénicillines (**Guessoum et Yakhlef, 2017**). Résistance aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases : des  $\beta$ -lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique.

#### ✓ *Klebsiella oxytoca* :

Les caractères généraux de cette bactérie sont identiques à ceux de *Klebsiella pneumoniae* ; à l'exception du métabolisme du tryptophane en indole qui est positif chez *K. oxytoca* ; cette bactérie est la cause des infections urinaires , septicémie et elle est moins rencontrée à l'hôpital que *k. pneumoniae* ; elle est naturellement résistante aux pénicillines (amoxicilline et ticarcilline) par la production de beta lactamase de classe A chromosomique inhibée par l'acide clavulanique , cette beta lactamase qui est appelée K1 est génétiquement différente de beta lactamase K2 produite par *Klebsiella pneumoniae*

## **III.4. Résistance aux antibiotiques:**

**III.4.1. Définition** : Un antibiotique se définit comme une substance naturelle ou synthétique possédant une toxicité sélective et capable d'inhiber la croissance d'une bactérie ou de la tuer. On parlera de bactériostase dans le premier cas, et de bactéricide dans le second. Un antibiotique peut avoir une activité bactériostatique à faible dose et une activité bactéricide à forte dose Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte une concentration plus élevée que celle qui inhibe le développement des autres souches de la même espèce (**Jason, 2017**).

✓ **Résistance naturelle:** La résistance naturelle (représente 10%) est un caractère présent chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique. Elle est donc transmissible à la descendance. Ce type de résistance définit le phénotype sauvage des espèces bactériennes.

✓ **Résistance acquise:** Ce type de résistance (représente 90%) n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée naturellement sensible à un antibiotique. Elle résulte de la modification de son patrimoine génétique soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de gènes portés par des plasmides ou des transposons qui rendent la bactérie insensible à l'antibiotique. La résistance acquise est transmissible horizontalement et verticalement, elle est responsable de la majorité des résistances observées (**Benmedakhen et al., 2016**).

### III.4.2. classification et mode d'action:

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de se lier à sa cible.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité :

- Bactériostatique, s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne
- Bactéricide, s'il y a la mort de la bactérie.

Les quatre cibles principales sont :

✓ **La paroi** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne ( $\beta$ -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).

La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpéptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, le polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes à Gram positif. Les micro-organismes vivant généralement dans un environnement osmotiquement hostile, et ceux qui auront une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclater ou se lyser. Les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule.

✓ **La membrane cytoplasmique** : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines non actifs sur les Gram +).

La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires. Les deux sont produites par des bactéries du genre *Bacillus*. La tyrocidine est un ionophore, qui perturbe la perméabilité sélective en formant des canaux à travers la membrane cellulaire, entraînant la perte de cations monovalents. Par conséquent, le microorganisme ne peut établir de force proton motrice, et le transport vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule est altéré. La polymyxine provoque des dommages similaires à la membrane cytoplasmique. Les antibiotiques peptidiques ne sont pas ingérés mais sont appliqués par voie externe pour traiter des infections de la peau. Les enzymes présentes dans le tractus intestinal sont capables de dégrader ce type d'antibiotiques.

✓ **Le chromosome** : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones). Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN.

✓ **Le ribosome**: inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides).

Les antibiotiques antibactériens qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien. Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité. Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes (**Sedrati, 2014**).

***PARTIE II.***

***TRAVAIL***

***EXPERIMENTAL***



**I.MATERIEL**

**ET**

**METHODES**

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie du département de biologie et faculté des sciences sous la direction de Mme Chahrour Bellil dans une période allant de février au juin 2019 dans le but de cribler des souches de bactéries lactique dotées d'une activité antibactérienne pour lutter contre les bactéries d'altération alimentaire et les bactéries pathogènes.

## 5. Matériel biologique :

- **Les souches lactiques :** Notre étude a été faite sur neuf souches de *Leuconostoc sp*, isolées à partir du lait de chamelle provenant de la région de Béchar, et deux souches de *Weissela cibaria* isolées de l'ensilage du blé, et deux souches de *Lactobacillus manihotivorans* et une souche *Lactococcus raffinolactis* isolées de l'ensilage du **Sorgho**. Dont l'objectif était la mise en évidence de l'effet antagoniste contre des souches d'altération alimentaire et d'infection médicale *in vitro*. Les cellules bactériennes conservées dans le lait écrémé à une température de -20°C en présence de 30 % de glycérol.

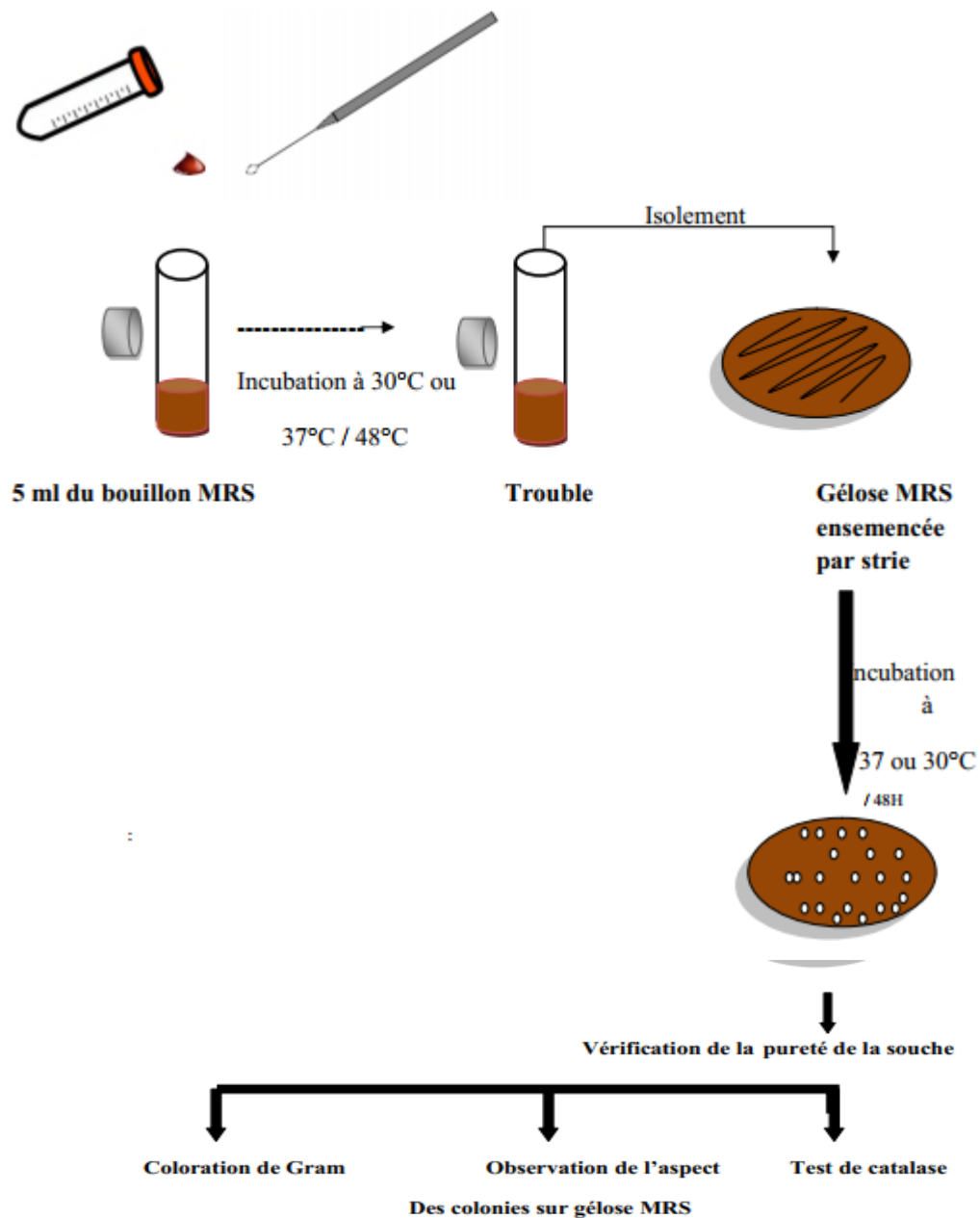
- **Les souches cibles :** Quatre souches indicatrices ont été utilisées. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*. Ces dernières considérées comme des souches de référence ont été fourni par l'institut Pasteur d'Alger.

## 6. Revivification des souches :

- **Vérification de la pureté des souches utilisées :** Avant toute utilisation des souches, une vérification de leurs puretés est indispensable. Après le repiquage, la pureté a été vérifiée en réalisant quelques tests rapides et simples. Observation de l'aspect des colonies après isolement sur gélose MRS pour les souches lactiques à 37°C ou à 30°C (selon la souche) pendant 48 h et sur gélose nutritive pour les souches pathogènes à 37°C pendant 24h. aussi la **Coloration de Gram**.

## 7. Observation macroscopique :

Pour les souches lactiques, l'examen macroscopique sur gélose MRS montre des colonies circulaires bombées et de couleur blanche – crémeuse. En anaérobiose après 48h d'incubation à 37°C et à 30°C sur gélose MRS les souches apparaissent sous forme de colonies blanches, lisses et rondes avec un diamètre de 2-3mm (**Tabasco et al., 2007**). Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (**Badis et al., 2006**).



**Figure 05** : Schéma de l'ensemencement, revivification et purification des BL.

## 8. Conservation des souches :

- **Conservation de courte durée** : Le maintien des isolats purs à court terme pour un usage journalier ou hebdomadaire a été effectué sur gélose MRS inclinée à une température de +4 C° après elles ont été incubées à 30 °C pendant 16 h. Des cultures ainsi conservées ont été repiquées toutes les deux semaines (Saidi et *al.*, 2002).

- **Conservation de longue durée :** A partir des cultures jeunes (16-18 h) sur milieu liquide qui ont été centrifugées à 8000 tours pendant 10 minutes. Une fois le surnageant éliminé, le milieu de culture de conservation a été ajouté (le lait écrémé, 0,2% d'extrait de levure additionnée de 30% de glycérol stérile) au culot. Les cultures ont été conservées en suspension dense et en tubes ependorfs à -20 °C. **Accolas et al, (1977)** indiquent que des suspensions plus concentrées résistent mieux à la congélation. En cas de besoin, les cultures ont été repiquées dans du lait écrémé à 0,5% d'extrait de levure, avant utilisation. (**Bellil, 2013**).

## 9. Identification des souches lactiques :

- **Test catalase :**

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène.

L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS et dissocié dans une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygéné (**Ahmed et Irène, 2007**).

- **Test oxydase :**

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

- **Pré-identification :**

a) **Coloration de Gram :** La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension physiologique à partir d'une culture jeunes (sur milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine puis on a étalé 1à 2 cm par un mouvement circulaire en portant de centre de lame. La deuxième étape c'est le séchage et la fixation par chaleur (pour tuer les bactéries, fixer la structure cytologique, et les faire adhérer à la lame. La coloration commence par quelque goutte le violet de gentiane sur le frotti fixe pendant 1min, on rince soigneusement avec de l'eau, on ajoute de lugol pendant 1 min. Quatrième étape consiste à rincer la lame avec de alcool de 90° (qui va traverser la paroi de certains bactéries (les gram-) et leur cytoplasme et décoloré), puis on rince avec l'eau distillée. Finalement, quelque goutte de fushines versé sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lave à l'eau distillée. Après on passe à l'observation microscopique.

- Généralement les *leuconostoc* des gram+, cocci ovoïde et se regroupe en paire et chainette (**Rodolphe et al 2002**).

**b) Test catalase :** Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède le catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène. L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). L'apparition de bulles d'air révèlent le dégagement d'oxygène, la souche est dite catalase positif.

**c) Type fermentaire (Cloche de Durham) :** Ce test permet de classer les bactéries en hétérofermentaires ou homofermentaires. On ensemence abondamment un tube de 10 ml de bouillon MRS par la souche étudiée, dans le milieu on introduit une cloche de Durham, le CO<sub>2</sub> dégagé par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche après l'incubation de 30 °C pendant 3 à 5 jours.

**d) Croissance en présence de 6,5% et de 3% de NaCl :** Dans deux tubes de 10ml de MRS on ajoute au premier 6,5% de NaCl et au deuxième 3% de NaCl, on les ensemence la culture bactérienne et on les incube à 30°C pendant 2 à 3 jours. La croissance bactérienne se traduit par la formation des troubles.

**e) Croissance à différents PH :** Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries acidophiles des bactéries lactiques basophiles. L'aptitude à la culture est testée à 4 et 9,6 de PH pour les 14 souches sur milieu MRS liquide à 37°C pendant 2 à 3 jours. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

**f) Croissance à différentes températures :** Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles. L'aptitude à la culture est testée à 15°C et 45°C pour les 14 souches sur milieu MRS liquide pendant 2 à 3 jours. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

**g) Test MRS Amidon :** Ce test permet de rechercher l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase, afin de voir si la bactérie est capable ou non de dégrader l'amidon, une boîte de MRS amidon a été ensemencer par strie et incubé 48 heures à 37°C. Après l'incubation l'ajout de di-iodé (I<sub>2</sub>), contenu dans le lugol, sur la gélose à l'amidon permet de mettre en évidence autour des colonies la présence d'amylase et donc la dégradation d'amidon.

**h) Milieu M16BCP :** Ce teste permet de vérifier l'utilisation de lactose par les bactéries lactiques par fermentation. On ensemence par quelques gouttes de la culture jeune sur le milieu gélosé et on les incube à 30°C pendant 2 à 3 jours qui se traduit par un virage de couleur (indicateur de pH) suite à la présence d'acide lactique après la dégradation du lactose.

**i) Milieu MSE :** Milieu sélectif permettant la recherche et le dénombrement des Leuconostoc dans les produits laitiers. On ensemence par quelque gouttes de la culture jeune sur le milieu gélosé saccharosé MSE et on les incube à 30°C pendant 24h à 48h. La dégradation du

saccharose et la production du dextrane comme polysaccharides se traduit par l'apparition des colonies incolores, visqueuses et gélatineuses.

**j) Milieu MRS Rouge Congo :** On ajoute au milieu MRS gélosé 0,8% de Rouge Congo dans 1 litre, permettant la détection et la production des EPS, elle se traduit par l'apparition des colonies noires, marron ou rouges.

➤ **Etude de l'activité antibactérienne des souches bactériennes isolées : (Activité Antagoniste)**

➤ **Cette étude a été réalisée par deux méthodes :**

**A. Méthode directe (*Spot Agar Test*) :**

Pour réaliser le test d'antagonisme, il faut avoir des pré-cultures des souches lactiques et la pré-culture des souches indicatrices (pathogène).

A partir des tubes inclinés des géloses MRS, nous avonsensemencé chacune des 14 souches lactiques isolées dans un tube à essais contenant 5ml du bouillon approprié (bouillon MRS). Le tube est incubé à 30°C pendant 18-24h. Tandis que les 04 souches indicatrices ont étéensemencées dans des tubes de bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 18h. Après l'incubation on verse le milieu MH semi-solide dans les tubes de 8ml qui contient 300µl de la pré-culture des souches indicatrices sur la gélose MRS avec précaution pour éviter le déplacement des spots dans ce milieu, après l'inondation des boîtes et les mettre dans l'incubateur à 37°C pendant 24h. L'activité se révèle par la présence d'une zone d'inhibition autour des colonies lactiques.

**B. Méthode indirecte (*Well Diffusion Assays*) :**

Méthode des puits préconisée par BAREFOOT et al. (1983). Cette méthode consiste à mettre le surnageant de la souche lactique en contact avec la souche indicatrice pathogène. Les souches lactiques produisent des substances pouvant diffuser dans le milieu de culture solide. Les bactéries lactiques sont repiquées dans le milieu MRS liquide et incubées pendant 18h à 30°C. Après incubation une centrifugation est réalisée à 4000 tr /min pendant 12 mn. Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide des cloches de Durham sur les 2 géloses superposées de MRS solide et de MH semi-solide inoculé par la souche indicatrice (pathogène). Les puits ont été rempli par 100µl du surnageant de la culture lactique. Les boîtes de pétri sont mises à une température de +4°C /4h pour permettre la bonne diffusion de la substance antimicrobienne. Les boîtes ont été incubées à 37°C. La présence de zone inhibition formées autour des puits est examinée après 24h à 48h d'incubation.

**II. RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSIONS**

## 1) Identification des souches :

### a. Examen microscopique :

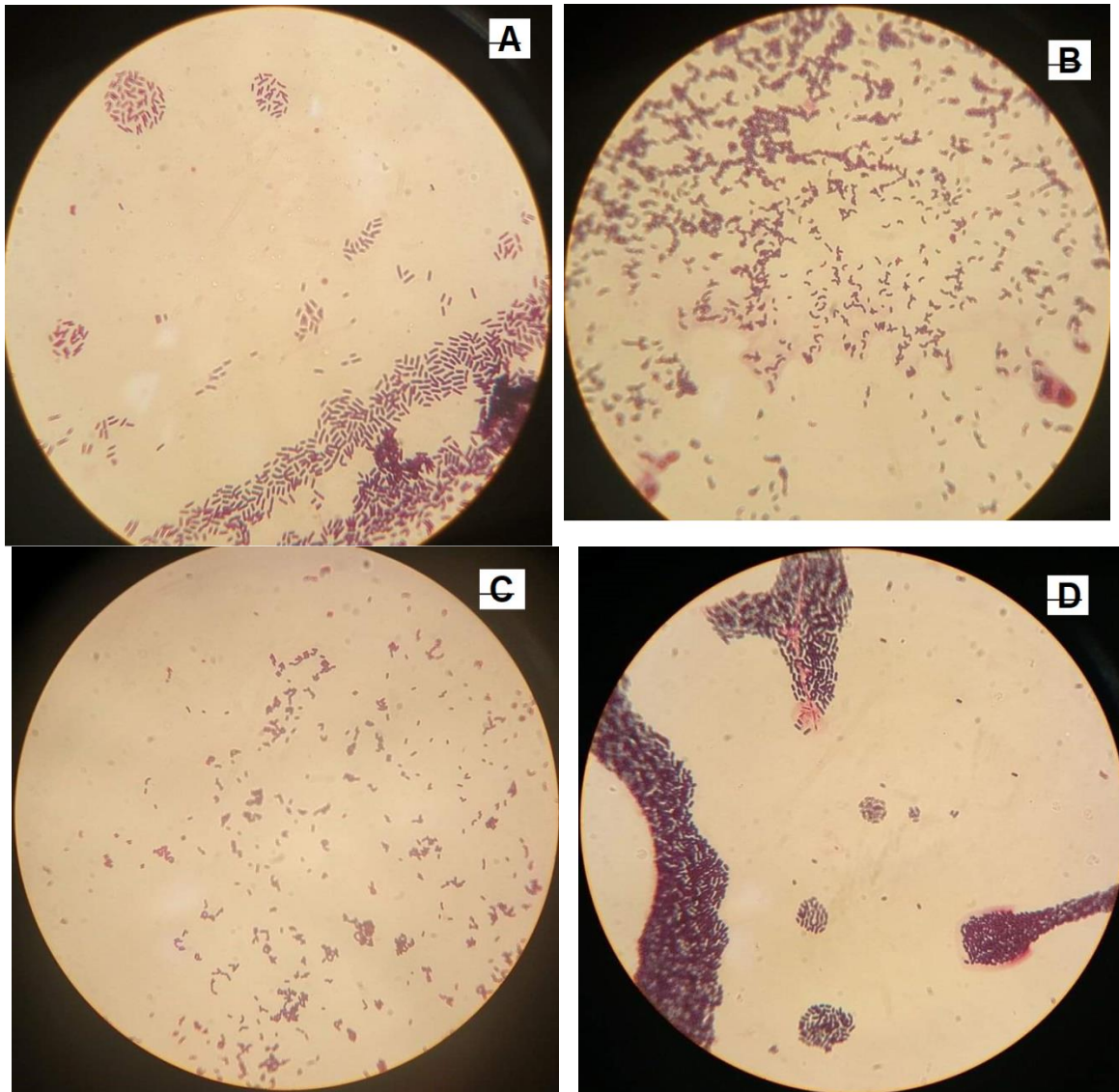
Après la coloration de Gram, on a passé à l'observation microscopique au (G×100) avec l'huile à immersion, où on a pu observer que les bactéries étaient tous Gram positive et catalase négatif apparaissant généralement sous formes de coques ou des bacilles, avec différents modes d'associations généralement en chaînette sous forme de diplocoques, tétrades, isolées ou bien en amas. Toutes les souches testées ont un catalase négatif.

**Tableau 16** : résultats des tests catalase et aspect microscopique des souches lactiques.

Souche	Code	Gram	Catalase	Forme et regroupement
01	<b>11</b>	+	-	<b>Diplococci</b>
02	<b>10</b>	+	-	<b>Ovoïde en diplo</b>
03	<b>07</b>	+	-	<b>bacille en diplo+cocci</b>
04	<b>H4</b>	+	-	<b>Cocci ovoïde en diplo</b>
05	<b>34</b>	+	-	<b>Ovoïde en diplo</b>
06	<b>Y9</b>	+	-	<b>Cocci en diplo</b>
07	<b>49</b>	+	-	<b>Cocci en chaînette courte, en amas (grappe de raisin)</b>
08	<b>R2</b>	+	-	<b>Diplococci</b>
09	<b>D1</b>	+	-	<b>Diplococci</b>
10	<b>Y47</b>	+	-	<b>Coque en diplo, en chaînette et en amas</b>
11	<b>B9</b>	+	-	<b>Coque en diplo+chaînette</b>
12	<b>48</b>	+	-	<b>Cocci en diplo, en chaînette et en amas</b>
13	<b>22</b>	+	-	<b>Cocci en diplo+chaînette</b>
14	<b>07'</b>	+	-	<b>Cocci en diplo</b>

+ : Positif ; - : Négatif





**Figure 06 :** Observations microscopiques des bactéries lactiques (grossissement X 100) après coloration de Gram.

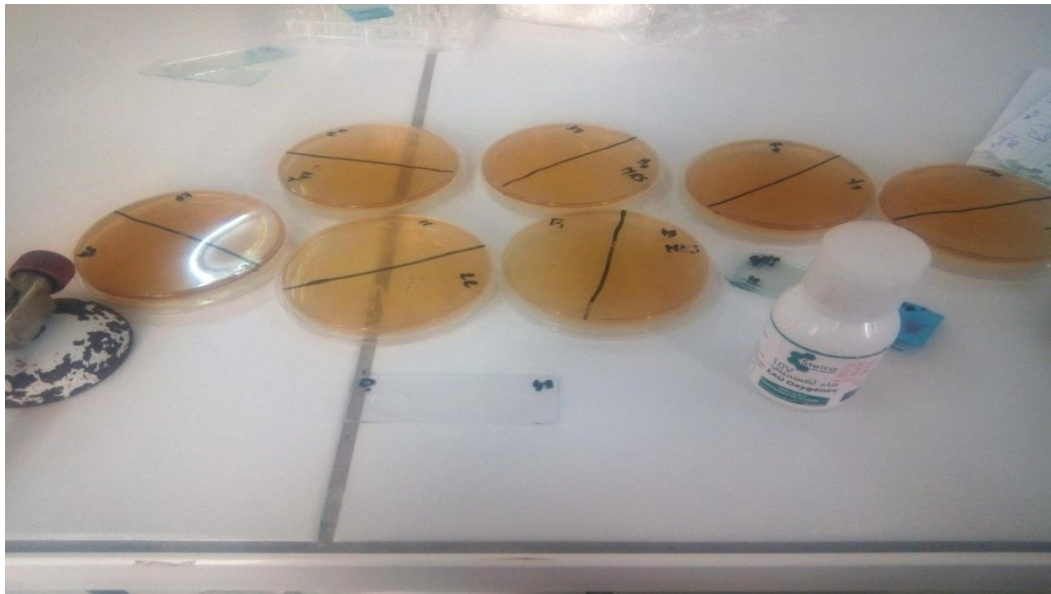
[ A ] *Weissella cibaria* ; [ B ] *Leuconostoc sp* ;  
 [ C ] *Lactobacillus manihotivorans* ; [ D ] *Lactococcus raffinolactis*.

Pour les souches lactiques après la coloration de Gram, l'observation microscopique montre que la plupart des souches lactiques isolées et purifiées sont des Gram positives.

L'épreuve du catalase a été utilisée pour distinguer si les bactéries sont capables de produire l'enzyme catalase qui dégrade l'eau oxygénée, elle est absente chez les bactéries anaérobies strictes.

Les micro-organismes capables de vivre dans les environnements oxygénés produisent des enzymes qui neutralisent des formes toxiques d'oxygène (les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène), l'une des enzymes est la catalase, qui casse le peroxyde de l'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène moléculaire.

Les organismes qui produisent la catalase quand sont placés dans le peroxyde de l'hydrogène produisent des bulles d'air et l'absence de bulles indique que cette bactérie n'a pas la catalase.



**Figure 07** : Test catalase des bactéries lactiques.

*b. Critères physiologiques des souches lactiques*

**Tableau 17** : Caractère physiologiques des souches lactiques.

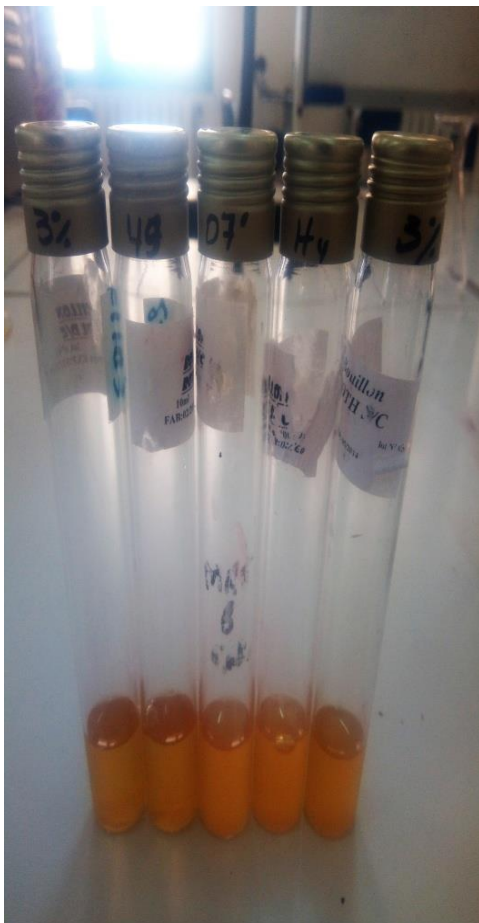
Souche	Température [°C]		pH		NaCl (%)	
	15°C	45°C	4	9,6	3%	6,5%
11	+	-	-	+	+	-
10	-	-	-	+	+	-
07	-	-	-	+	+	-
H4	-	-	-	+	+	-
34	+	-	-	+	+	-
Y9	-	-	-	+	-	-
49	-	-	-	+	+	-
R2	-	-	+	+	+	-

D1	-	-	+	+	+	-
Y47	+	-	-	+	+	-
B9	+	-	-	+	+	-
48	+	-	-	+	+	-
22	-	-	-	+	+	-
07'	-	-	-	+	+	-

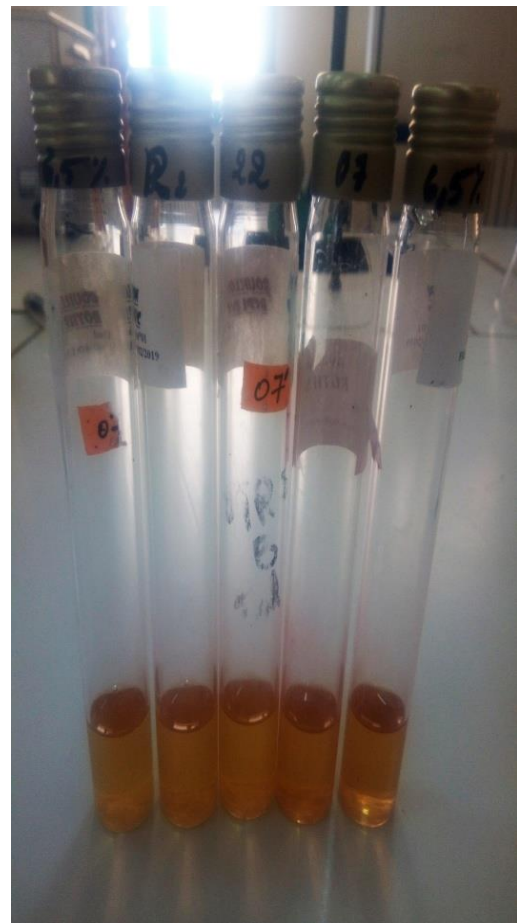
+ : présence du trouble ; - : absence du trouble

- Toutes les souches isolées ont été incapable de se croître sur le bouillon MRS avec une concentration de 6,5% de NaCl.

Il y a un nombre limité de souches de bactéries lactiques qui n'ont pas pu croître sur le milieu avec 3% de NaCl; c'est le cas des souches Y9 et 48.



**Figure 08** : Effet de NaCl à concentration de 3% sur la croissance des BL isolées.



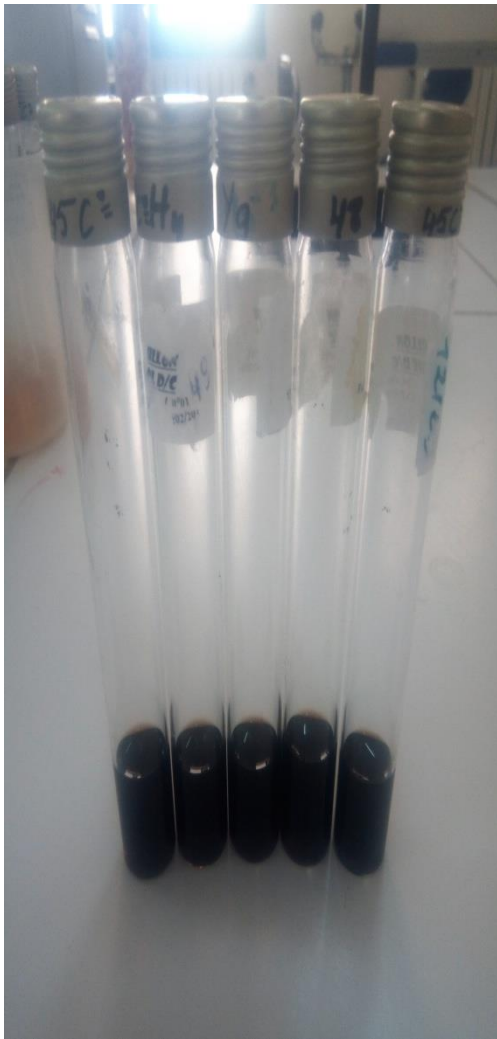
**Figure 09**: Effet de NaCl à concentration de 6.5% sur la croissance des BL isolées.

- Une croissance de toutes les souches de bactéries sur le bouillon MRS à pH 9,6 a été observée. Par contre, seulement deux souches (R2 et D1) qui possèdent la capacité de se croître à pH 4.

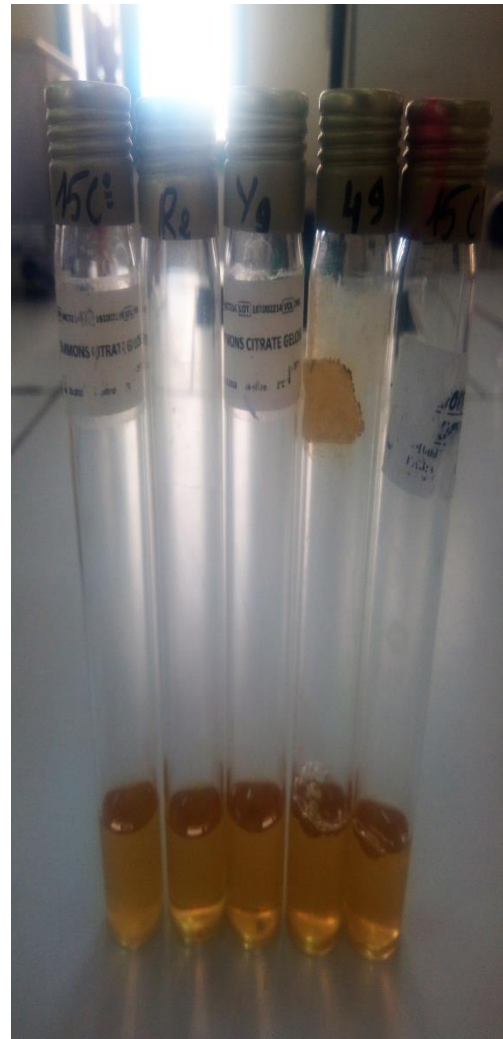


**Figure 10** : Effet de pH à 9,6 sur la croissance des BL isolées.

- Absence de croissance de toutes les souches lactiques à la température de 45°C. Par contre à 15°C nous avons signalé le développement de seulement cinq souches qui sont : (11, 34, 48, Y4, B9).



**Figure 11** : Effet de température à 45°C sur la croissance des BL isolées.



**Figure 12** : Effet de température à 15°C sur la croissance des BL isolées.

c. Type fermentaire :

**Tableau 18** : Type fermentaire des souches lactiques.

souche	code	Dégagement de CO <sub>2</sub>
01	<b>11</b>	-
02	<b>10</b>	-
03	<b>07</b>	-
04	<b>H4</b>	+ légèrement
05	<b>34</b>	+ légèrement
06	<b>Y9</b>	-
07	<b>49</b>	-
08	<b>R2</b>	+ légèrement
09	<b>D1</b>	-
10	<b>Y47</b>	+ légèrement
11	<b>B9</b>	-
12	<b>48</b>	-
13	<b>22</b>	-
14	<b>07'</b>	-

+ : dégagement de CO<sub>2</sub> ; - : absence de gaz

- Une accumulation du gaz CO<sub>2</sub> dans la cloche a été observée par les bactéries hétérofermentaires, c'est le cas des souches : **H4, 34, R2, Y47**. Tandis que, les autres souches sont des **homofermentaires**.



**Figure 13** : Production de CO<sub>2</sub> par les BL qui s'accumule dans la Cloche de Durham.

*d. Test des milieux : M<sub>16</sub>BCP , MSE , MRS R.C et MRS Amidon.*

**Tableau 19** : Tableau récapitulatif des tests biochimique sur milieu M<sub>16</sub>BCP

Souche	Code	M <sub>16</sub> BCP
01	<b>11</b>	+ (virage de couleur)
02	<b>10</b>	+ (virage de couleur)
03	<b>07</b>	+ (virage de couleur)
04	<b>H<sub>4</sub></b>	+ (virage de couleur)
05	<b>34</b>	+ (virage de couleur)
06	<b>Y<sub>9</sub></b>	-
07	<b>49</b>	+ (virage de couleur)
08	<b>R<sub>2</sub></b>	-
09	<b>D<sub>1</sub></b>	+ (virage de couleur)
10	<b>Y<sub>47</sub></b>	+ (virage de couleur)
11	<b>B<sub>9</sub></b>	-
12	<b>48</b>	+ (virage de couleur)
13	<b>22</b>	-
14	<b>07'</b>	+ (virage de couleur)

+ :présence d'utilisation de citrate; - : absence d'utilisation de citrate

- Pour le milieu **M<sub>16</sub>BCP**, les souches (**11, 10, 07, H<sub>4</sub>, 34, 49, D<sub>1</sub>, Y<sub>47</sub>, 48, 07'**) utilisent de citrate et produisent des substances aromatiques et ça se traduit par le virage de violet (pourpre) au jaune.

Par contre aux autres bactéries qui n'utilisent plus de lactose, c'est le cas des souches ( **Y<sub>9</sub>, R<sub>2</sub>, B<sub>9</sub>, 22** )





**Figure 14 :** Vérification d'utilisation du citrate sur milieu M<sub>16</sub>BCP.

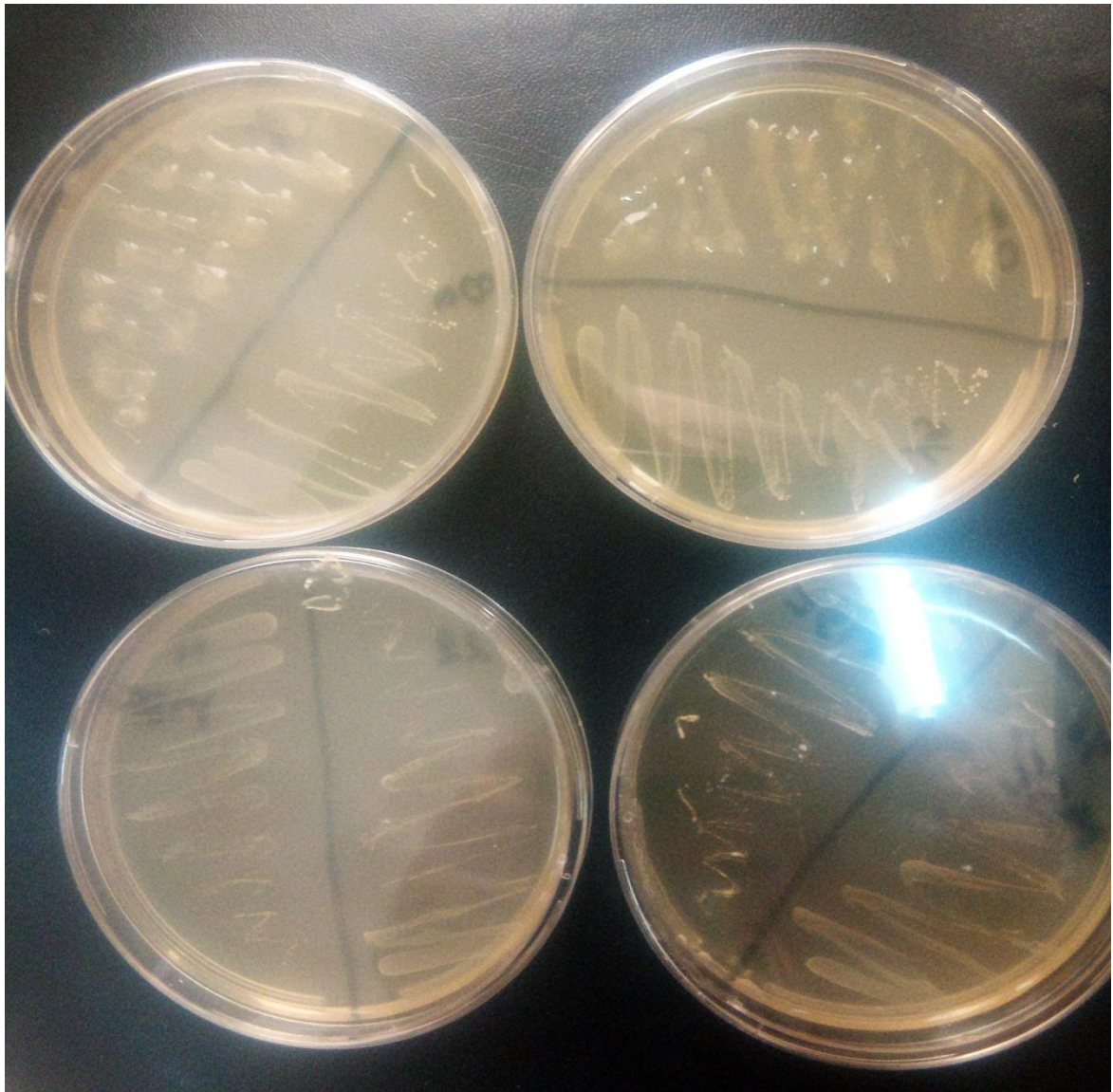
**Tableau 20 :** Tableau récapitulatif des tests biochimique sur milieux MRS Rouge Congo et MSE.

Souche	Code	MSE	MRS Rouge Congo
01	<b>11</b>	-	+ (marron)
02	<b>10</b>	+ (colonies gélatineuses)	+ (rouge)
03	<b>07</b>	-	+ (marron)
04	<b>H4</b>	+ (colonies gélatineuses)	+ (marron)

05	<b>34</b>	<b>+ (colonies gélatineuses)</b>	<b>+ (marron)</b>
06	<b>Y9</b>	-	<b>+ (marron)</b>
07	<b>49</b>	-	<b>+ (marron)</b>
08	<b>R2</b>	<b>+ (colonies gélatineuses)</b>	<b>+ (marron)</b>
09	<b>D1</b>	-	<b>+ (marron)</b>
10	<b>Y47</b>	<b>+ (colonies gélatineuses)</b>	<b>+ (marron)</b>
11	<b>B9</b>	-	<b>+ (marron)</b>
12	<b>48</b>	-	<b>+ (marron)</b>
13	<b>22</b>	-	<b>+ (marron)</b>
14	<b>07'</b>	-	<b>+ (marron)</b>

**+ :présence de production des EPS ; - :absence de production**

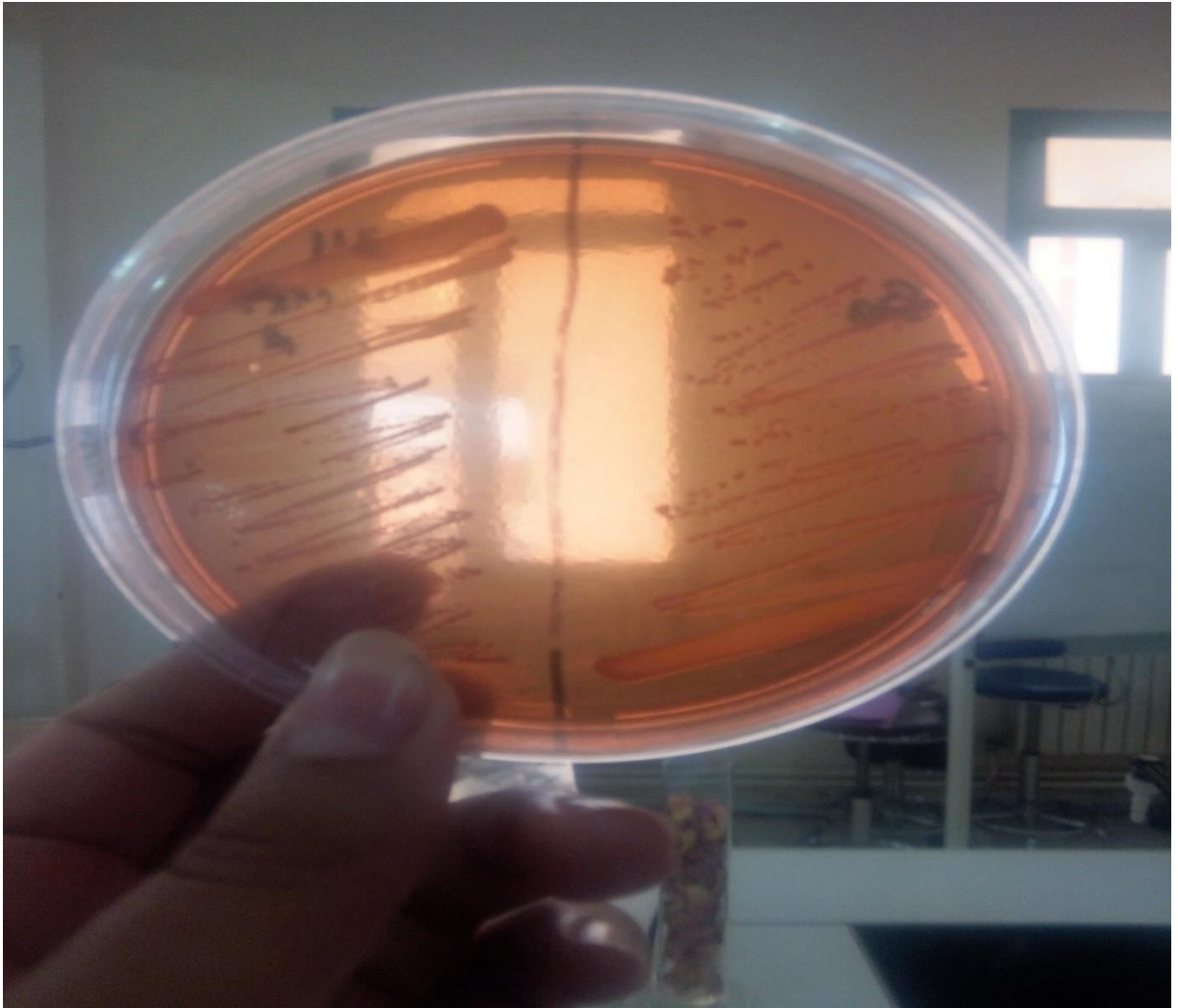
- Pour le milieu MSE , les souches (**10, H4, 34, R2, Y47**) synthétisent des polysaccharides (dextranes) qui donnent aux colonies un aspect gélatineux , incolore et muqueux.  
Par contre aux autres souches (**11, 07, Y9, 49, D1, B9, 48, 22, 07'**)



**Figure 15 :** Recherche des souches productrices d'EPS sur milieu MSE.

- Pour le milieu **MRS Rouge Congo** , toutes les cellules des souches sont colorées (marron) et ça signifie que ces souches sont moyennement productrices de EPS.

Sauf la souche **10** dans laquelle les cellules ont pris une couleur rouge donc signifie que ces souches sont non productrices.



**Figure 16 :** Recherche et détection de production d'EPS sur milieu MRS Rouge Congo.

**Tableau 21** : Tableau récapitulatif des tests biochimique sur milieu MRS Amidon.

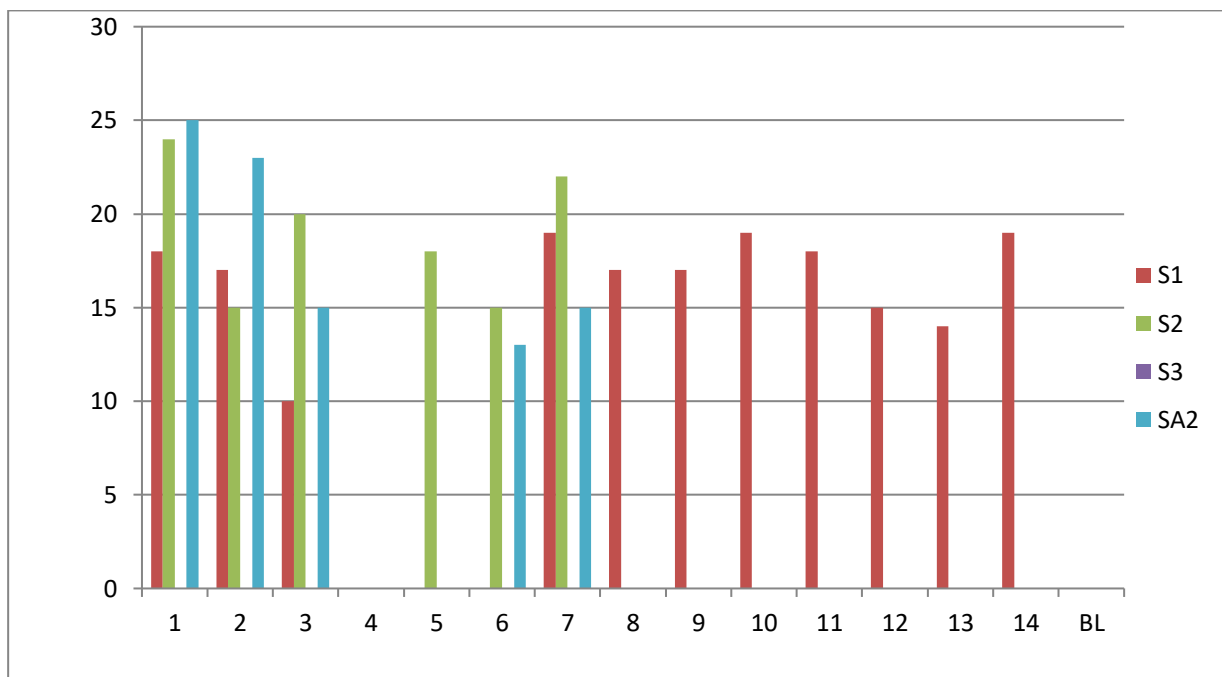
Souche	Code	MRS Amidon
01	<b>11</b>	-
02	<b>10</b>	-
03	<b>07</b>	-
04	<b>H4</b>	-
05	<b>34</b>	-
06	<b>Y9</b>	-
07	<b>49</b>	-
08	<b>R2</b>	-
09	<b>D1</b>	-
10	<b>Y47</b>	-
11	<b>B9</b>	-
12	<b>48</b>	-
13	<b>22</b>	-
14	<b>07'</b>	-

+ : présence d'amylase ; - :absence d'amylase

- Pour le milieu **MRS Amidon** , résultats négative pour toutes les souches donc il n'ya aucune activité amylolytique.

**Tableau 22:** Diamètres d'inhibition- challenge directe- des BL contre les souches indicatrices

N°	Souches lactiques	Les souches indicatrices		
		S1	S2	SA2
//	//			
1	11	18	24	25
2	10	17	15	23
3	7	10	20	15
4	H4	(-)	(-)	(-)
5	34	(-)	18	(-)
6	Y9	(-)	15	13
7	49	19	22	15
8	R2	17	(-)	(-)
9	D1	17	(-)	(-)
10	Y47	19	(-)	(-)
11	B9	18	(-)	(-)
12	48	15	(-)	(-)
13	22	14	(-)	(-)
14	07'	19	(-)	(-)



**Figure 17 :** L'activité inhibitrice des BL envers les souches indicatrices

**S1 :** *S. aureus*

**S2 :** *P. aeruginosa*

**S3 :** *K. oxycota*

**SA2:** *E. coli*

➤ **Antagonisme bactéries lactiques et microorganismes pathogènes :**

✓ **Méthode directe :**

La capacité de compétition de bactéries lactiques résulte de leurs activités fermentaires associées à la production de divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération de microorganismes. De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (**Rodriguez et al., 2002**).

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl et les bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009**).

L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 1 mm .

D'après cette étude, les diamètres de zones d'inhibition varient de 1 à 33 mm alors les inhibitions sont notés positifs.

- **Pour la souche S1 (*Staphylococcus aureus*) :**

D'après les résultats obtenues, la figure montre que les 3 souches isolées de «lait de chamelle »et de « sorgho » de la région de « Béchar » ( **H4, 34 et Y9**) ne présentent pas une zone d'inhibition vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Alors n'a aucun effet antagoniste vis-à-vis cette souches.

Par contre, pour les autres souches (**11, 10, 07, 49, R2, D1, Y47, B9, 48, 22, 07'**) affichent des diamètres d'inhibition qui varient entre **10 à 19 mm**.

- **Pour la souche S2 (*Pseudomonas aeruginosa*) :**

On remarque que les sept derniers souches (**R2, D1, Y47, B9, 48, 22, 07'**) et la souche **H4** ne présentent aucune zone d'inhibition vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*. Alors n'ont aucun effet antagoniste vis-à-vis cette souche.

Par contre, pour les souches (**11, 10, 07, 34, Y9, 49**) ont un diamètre d'inhibition du *Pseudomonas aeruginosa* qui varient entre **15 à 24 mm**.

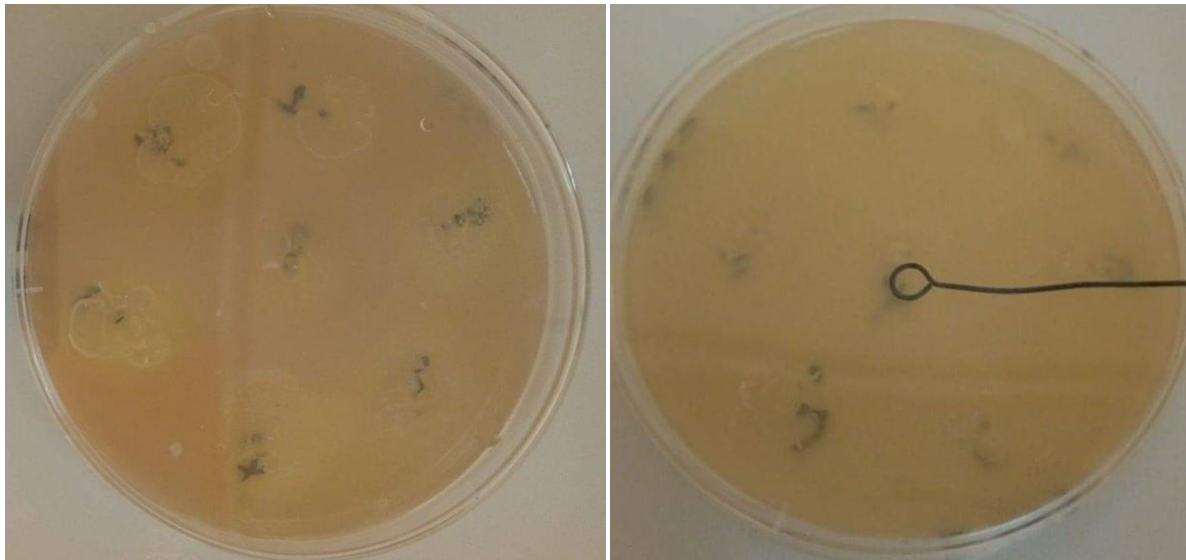
- **Pour la souche SA2 (*Escherichia coli*) :**

On note que huit souches (**R2, D1, Y47, B9, 48, 22, 07', H4 et 34**) ne présentent aucune zone d'inhibition vis-à-vis *Escherichia coli*. Alors ils n'ont aucun effet antagoniste vis-à-vis cette souche.

Par contre, pour les autres souches (**11, 10, 07, Y9 et 49**) affichent des diamètres d'inhibition qui varient entre **13 à 25 mm**.

- **Pour la souche S3 (*Klebsiella oxytoca*) :**

On remarque que toutes les quatorse souches une absence totale d'un halo d'inhibition vis-à-vis *Klebsiella oxytoca*. Alors ils n'ont aucun effet antagoniste vis-à-vis cette souche.

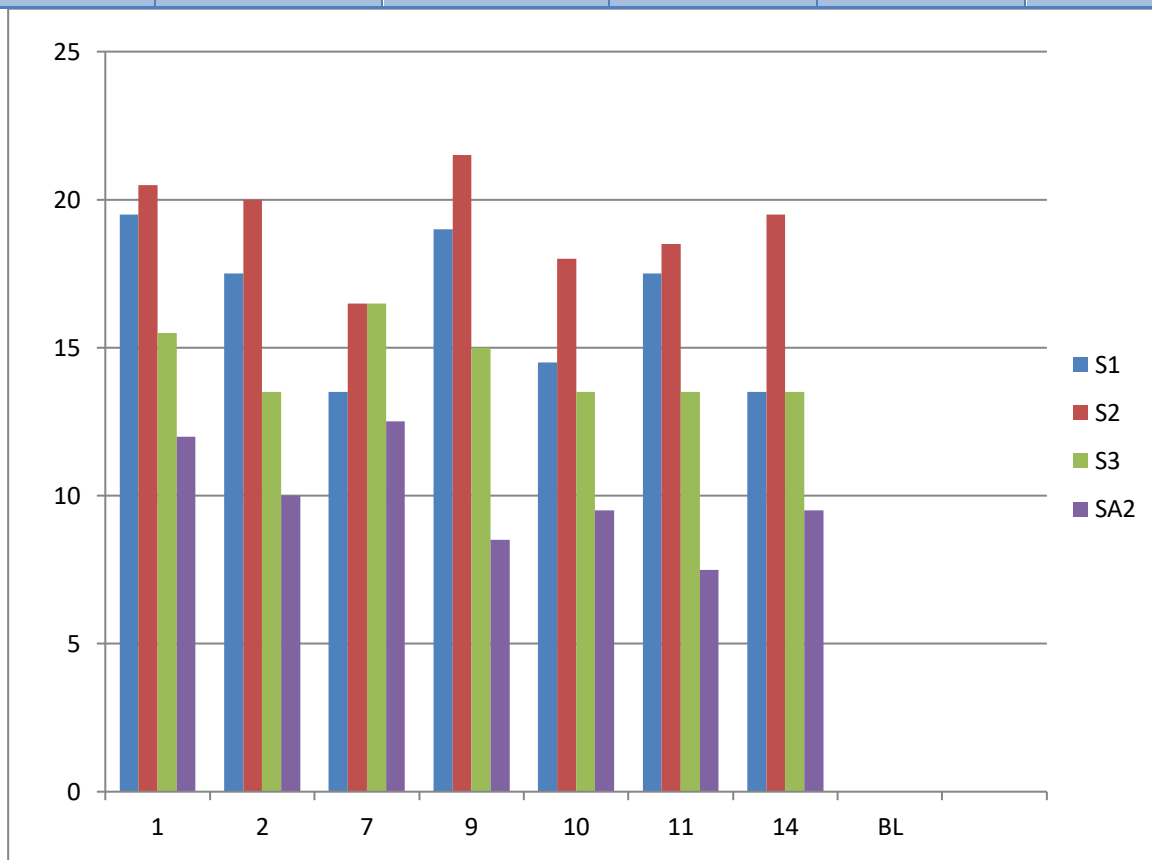


**Figure 18 :** Antagonisme par la méthode directe des BL vis-à-vis les souches indicatrices.



**Tableau 23:**Diamètres d'inhibition- challenge indirecte-des BL contre les souches indicatrices

Méthode indirecte					
N°	code	S1	S2	S3	SA2
1	11	19,5	20,5	15,5	12
2	10	17,5	20	13,5	10
7	49	13,5	16,5	16,5	12,5
9	D1	19	21,5	15	8,5
10	Y47	14,5	18	13,5	9,5
11	B9	17,5	18,5	13,5	7,5
14	07'	13,5	19,5	13,5	9,5



**Figure 19 :** Diamètres d'inhibition des BL envers les souches indicatrices.  
(Well diffusion assays)

**S1 :** *S. aureus*

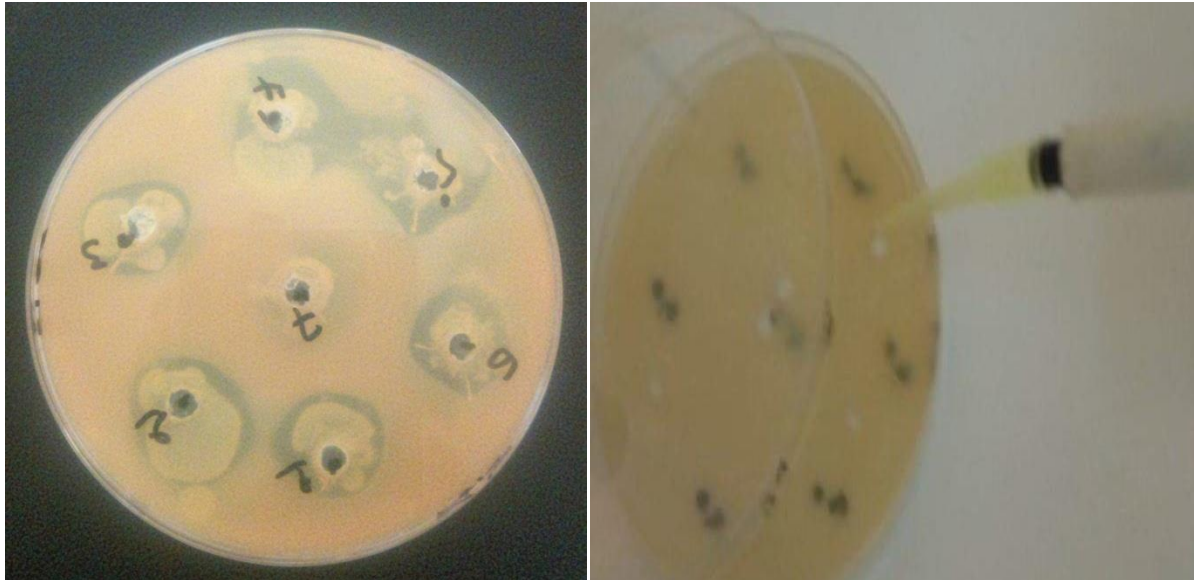
**S2 :** *P. aeruginosa*

**S3 :** *K. oxycota*

**SA2:** *E. coli*

- ✓ **Méthode indirecte** : On élimine les souches (H4, 34, Y9, R2, 48, 07, 22) car elle n'a pas le même fort effet que les autres souches (11, 10, 49, D1, Y47, B9, 07').

Selon l'histogramme de la figure 02, nous remarquons que toutes les souches testées (11, 10, 49, D1, Y47, B9, 07') affichent des diamètres d'inhibition qui varient entre 13 à 20 mm pour *Staphylococcus aureus*, 16 à 22 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*, 13 à 16 mm pour *Klebsiella oxytoca* et entre 07 jusqu'à 13 mm pour la souche *Escherichia coli*.



**Figure 20** : Résultat d'antagonisme indirect des BL vis-à-vis les souches indicatrices.

La capacité de compétition de bactéries lactiques résulte de leurs activités fermentaires associées à la production de divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération de microorganismes. De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (**Rodriguez et al ; 2002**).

Enfin nous avons trouvés que nos résultats d'antagonisme concordent avec celles de **Boudjani (2009)**, les diamètres des zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées du lait de chamelle et d'ensilage de sorgho peuvent atteindre environ **20 mm**.

Ces valeurs affichés peuvent coïncident avec les travaux de **Bouزيد (2008)**, où les diamètres des zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées du lait de chamelle sont de l'ordre de **11mm** jusqu'au **17 mm**.

Elles se diffèrent des travaux de **Savado et al., (2004)**, où les diamètres des zones d'inhibition des bactéries lactiques isolées du lait fermenté sont de l'ordre de **9 à 10 mm** vis-à-vis de *S. aureus* et de **8 à 9 mm** vis-à-vis d'*E.coli*.

En comparaison avec les travaux de **Benmammer et Hamsi (2003)**, qui ont trouvé des zones inhibition des souches de *Leuconostoc sp* de lait cru de brebis sur *L. monocytogenes* (**4 à 10mm**), *S. aureus* (**6 à 10 mm**), *E. coli* (**2 à 4mm**).

Donc nos souches sont plus actives par rapport aux autres souches testées de différents sources et différentes régions.



## Conclusion et perspectives:

D'après notre travail qui est qu'un petit aperçu parmi des multiples études scientifiques qui s'intéressent aux bactéries lactiques et ses aptitudes technologiques, on note qu'elles jouent un rôle crucial dans différents domaines y compris notre vie quotidienne car elles sont des précurseurs de grand nombre des processus fermentaires par la synthèse des substances dites anti-microbiennes qui inhibent la croissance des germes responsables des altérations des produits alimentaires le cas d'*Escherichia coli* et des germes provoquant des infections médicales c'est le cas de *Pseudomonas sp*; ces données théoriques ont été confirmées par les résultats positifs obtenus au cours de notre travail expérimental qui se résume par l'apparition des zones d'inhibitions bien claires des diamètres varient entre dix à trente millimètres. Ce qui confirme l'effet antibactérien des bactéries lactiques testées (sept souches de *Leuconostoc sp*, deux souches de *Weissella cibaria*, deux souches de *Lactobacillus manihotivorans*, et une souche de *Lactococcus raffinolactis*) vis-à-vis des souches pathogènes, l'une à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et les autres à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella oxytoca*).

D'autre part et au retour à notre synthèse bibliographique on a pu constater que l'Algérie dispose des produits quelque soit ses origines qui sont des sources riches en bactéries lactiques c'est le cas de nos échantillons (**Lait de chamelle et l'ensilage de blé et de sorgho**); ces sources doivent être largement exploitées en industries agro-alimentaires et pharmaceutiques ce qui donne des nouvelles alternatives des sources traditionnelles et peut booster la croissance économique nationale surtout avec les changements qui connaît notre pays récemment dans des différents domaines et à tout les niveaux.

Finalement, et puisque la recherche scientifique ne cesse pas à s'avancer notre étude reste qu'un premier pas et nécessite des travaux supplémentaires dans le but d'évaluer et exploiter les effets bénéfiques des bactéries lactiques qui consistent à :

- Etudier la qualité et la quantité des échantillons et la capacité d'isoler des souches hautement performantes.
- Etudier spécifiquement les souches lactiques en impliquant la biotechnologie moderne.
- Etudier et compléter l'identification génotypique des souches lactiques isolées en impliquant la biologie moléculaire et le génie génétique.
- Etudier et identifier les substances antimicrobiennes par la précision de leur nature, la quantité produite, le potentiel d'activité, le spectre d'action et les effets indésirables sur le produit alimentaire et sur la santé humaine.

Et pour atteindre le maximum de ces objectifs, reste la volonté et les moyens physiques et techniques extrêmement obligatoires.

# **Références bibliographiques:**

## Références bibliographiques:

### « A »

- 1) **Abu-Taraboush. H. M., AL-Dagal M. M., AL-Royli M. A.** (1998) .Growth,viability ,and photolytic Bifid bacteria activity in whole camel milk .Journal of Dairy Science.361-354 ,81.
- 2) **Adams MR., M.O Moss,**(2007). Food microbiology, New age international (P) Ltd, publishers,
- 3) **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.** (2007). Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant, Saint-Denis Cedex, p143-147.
- 4) **Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments** (2004) . Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maitrise des risques sanitaires , p 07,11.
- 5) **Ammor M.S., Mayo B.** (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science.* 76 : 138-146.
- 6) **Ammor S., Tauveron G., Dufour E., Chevallier I.**(2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogens bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control* 17: 454-468.
- 7) and *Micrococcus lysodeikticus*. *Comp. Biochem. Phys.*, 91, 793-796.
- 8) **Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H.,** (2000). Phylogenetic affiliation of the *pseudomonads* based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1563–1589.
- 9) **Aouati, H.** (2009). Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* resistances à la méthecillines:etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algerie: thèse N° : 006 / SN / 2009.
- 10) **Ari R., Sezonov G.** (2008) .Les organismes modèles : biologie et génétique d'Escherichia coli. Belin. Paris P11.
- 11) **Arvidson S.** (2000).Extracellular enzymes. Gram-positive pathogens, ed. by Fischetti .
- 12) **Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn-Bousquet M., Deghorain M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., GuzzoJ., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., MonnetV., Rul F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M.** (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. *In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 271-447
- 13) **Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H.** (2003).Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup>édition. Ellipses, Paris. 8-28.
- 14) **Avril, J. M., Dabernat, H., et Monteil, D. H.** (2000). Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup> Ed. EdEllepses. Paris. 602 P.

- 15) **Axelsson L.**(2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects. .Eds: Salminen S., von Wright and Ouwehand A.C. 3ème edition. Marcel Dekker, New York. 1-66.
- 16) **Azuma T., Bagenda D.K., Yamamoto T., Kawai Y. and Yamazaki K. (2007).** Inhibition of *Listeria monocytogenes* by freeze-dried piscicocin CS526 fermentate in food. Laboratory of Food Safety, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate 041-8611, Japan. *Lett Appl Microbiol.* Feb; 44(2):138-44.

## « B »

- 17) **Baharak A. (1999).** Effet de la température sur la croissance bactérienne et la production de composés d'arôme dans du lait supplémenté de citrate par des bactéries lactiques mésophiles aromatisantes en culture mixte. Thèse présentée à l'école de nutrition et d'études familiales en vue de l'obtention de la maîtrise en sciences nutrition-alimentation (m. sc.).106 : 13-24.
- 18) **Barbour E.K., Nabbut N.H., Frerichs W.N. , AL Nakhli.H.M. (1984).**Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk ; relation to whey lysozyme and stage of lactation. *J. Food Protect.*, 47, 838-840.
- 19) **Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 661-765.* *In Hadeff S. (2012).* Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire présenté à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla pour l'obtention du Diplôme de Magister.
- 20) **Behlou, I. et Gilmore, M. S. (2008).** Microbiol biofilms in ophthalmologie and infectious diseases. *Arch Ophthalmol.* 126, 1572-1581.
- 21) **Benmedakhen, A. et Benzine, N E H. et Gharbi, T E. (2016).** Les bactéries responsables de bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistance aux antibiotiques. Obtention du diplôme de docteur en Pharmacie. Constantine : Faculté de médecine département de Pharmacie. p 3-4-5-43-44.
- 22) **Bergdoll, M. (1979).** staphylococcal intoxications. In H. Riemann. et F.L. Bryan (EDS) food-borne infection and intoxications (p.443-494). New York. Academic press. al. Chap.39: 379-385.
- 23) **Bergey's manuel 1994.**
- 24) **Bergey's manuel 2012.**
- 25) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (1986).**
- 26) **Bettelheim K.A. (2007).** The non-O157 Shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens. *Crit Rev Microbiol.* 33(1): 67-87.
- 27) **Bey F. (2009).** Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus* sp et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire. Université d'Oran Es-Senia. P 109.
- 28) **Björkroth J., Holzapfel W. (2006).** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., and Stackebrandt, E. (Eds). *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community (3rd edition)*. Springer Verlag. New York, USA. 267-319.
- 29) **Bonnin-Jusserand M. (2011).** Etude du métabolisme des amines biogènes chez les bactéries lactiques du vin. Thèse présenté pour obtenir le titre de Docteur de l'Université de Bourgogne

institut Universitaire de la Vigne et du Vin Jules Guyot Laboratoire de Recherche en Vigne et Vin (ReVV). Spécialité : Science alimentaire.194 :18-21.

- 30) **Bourdat Michel G.** (2003) Infection urinaire de l'enfant. Corpus Médical-Faculté de Médecine de Grenoble, p 160.
- 31) **Bourgeois,C. M et Larpent J, P.** (1996) : Microbiologie alimentaire, Tome 2, Aliments fermentés et fermentation alimentaires, 2ème édition. Technique et Documentation. Lavoisier Paris, P523.
- 32) **Bouزيد W.( 2008).** Effets inhibiteurs des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chamelle, mémoire d'ingénieur en Génie Microbiologie, Université d'Oran
- 33) **Brillet A. (2005).** Sélection et caractérisation de souches de *Carnobacterium* pour la biopréservation du saumon fumé. Thèse de doctorat en Biotechnologies Agroalimentaires, Sciences de l'Aliment. Faculté des Sciences et des Techniques. Nantes.
- 34) **Brillet A., Pilet M., Prevost H., Cardinal M. & Leroi F.** (2005). Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological and sensory quality of cold-smoked salmon. International Journal of Food Microbiology, 104, 309-324.
- 35) **Brul S., Coote P.(1999).** Preservative agents in foods: Mode of action and microbial
- 36) **Brunet P., Tsimaratos M., Guys J-M. et Lechevallier E.** (2006). Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte. Leucocyturie (93). Faculté de Médecine de Marseille, DCEM2 - Module n° 7 Santé et Environnement - Maladies Transmissibles. p16.
- 37) **Bruno Pot.(2008).** The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Corrieu G., and Luquet F.M. (Eds). Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments. Lavoisier. Paris, France pp 1– 152.

## « C »

- 38) **Caplice, E., Fitzgerald, G. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food
- 39) **Casaburi A., Nasi A., Ferrocino I., Di Monaco R., Mauriello G., Villani F. and Ercolin D.** (2011). Spoilage-related activity of *Carnobacterium maltaromaticum* strains in air-stored and vacuum-packed meat. Appl. Environ. Microbiol. doi:10.1128/AEM.05304-11. American Society for Microbiology and/or the Listed Authors/Institutions. All Rights Reserved. Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli Federico II, via Università 100, 80055 Portici (NA) Italy. 41: 3-9.
- 40) **Catto-Smith A.G.(1996).**Gut flora and mucosal function. Asia Pacific J. Clin. Nutr; 5: 36- 39
- 41) **Chapot-Chartier M.P. (1996).** Les autolysines des bactéries lactiques. Issue :lait ; Volume 76, Number 1-2, 1996 ,7<sup>th</sup> Meeting of the " Club des Bactéries Lactiques, Unité de recherches de biochimie et structure des protéines, Inra, domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France. 91 – 109.
- 42) **Choukri T. (2007).** Antagonisme de quelques souches de bifidobactéries vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Mémoire de magister. Université de Mostaganem. Page 16-30.
- 43) **Christian J. et Joffin J, N 2003**« Microbiologie alimentaire
- 44) **Chumchalova J., Josephsen J. and Plockova M. (1998).** The antimicrobial activity of acidocin CH5 in MRS broth and milk with added NaCl, NaN<sub>3</sub> and lysozyme. *Int. J. Food Microbiol.* 43: 33-38.
- 45) **Clarke S.R, Foster S.J. (2006).**Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. Adv Microb.



- 46) **Claude Flanzy.**(2003). Fundamentos científicos y tecnológicos, 2eme édition, AMV, pp:323-325.
- 47) **Cogan T. M.**(1978). Determination of growth rates of lactic starter cultures. *Irich Journal of Food Science and Technology*, 2: 105-115.
- 48) **Collard J.M., Bertrand S., Dierick K., Godard C., Wildemauwe C., Vermeersch K., Duculot J., Van Immerseel F., Pasmans F., Imberechts H., Quinet C.**(2005). Drastic decrease of *Salmonella enteritidis* isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. *Epidemiol Infect.* Jul 24; 1-11.
- 49) **Contrepois M., Dubourguier H.C., Parodi A.L., Girardeau J.P., Ollier J.L.**(1986). Septicaemic *Escherichia coli* and experimental infection of calves. *Vet. Microbiol.* 12(2): 109-118.
- 50) **Cook, R., Bruckart, W., Coulson, J., Goettel, M., Lumsden, R., Maddox, J., McManus, M., Moore, L., Meyer, S., Quimby, P., Stack, J et Vaughn, J.** (1996). Sécurité des micro-organismes destinés à la lutte antiparasitaire et de lutte contre les maladies des plantes: un cadre pour l'évaluation scientifique. *Biol. Contrôle.* 14-24p.
- 51) **Costerton P.S, Stewart E.P, Greenberg E.P.** (1999). Bacterial biofilms: a common cause
- 52) **Cotter P.D., Hill C.**( 2003). Surviving the acid test: response of Gram-Positive bacteria to low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67(3): 429-453.
- 53) **Cristian C.** (2008). Microbiologie hygiène Bases microbiologiques de la diététique. Lavoisier. Paris. P 79.

## « D »

- 54) **Daniel J et Williamson D.** (2003). Les infections urinaires. Une approche Clinique. *Pharmactuel.* 5 Suppl36. p .246-255.
- 55) **Daniel, Patrice, Lorre , Sylvie.** (2007). Lactic acid bacteria of the genus *Lactococcus lactis* and use thereof for preserving food products. EP1456350.
- 56) **Davidson B.E., Kordias N., Dobos M., Hillier A.J.**(1996). Genomic organization of lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 161-183.
- 57) **Davies E. A., Milne CF., Bevis H. E., Potter R.W., Harris J. M., Williams G. C., Thomas, L.V. and Delves-Broughton J.**(1999). Effective use of nisin to control lactic acid bacterial spoilage in vacuum-packed Bologna-type sausage. *J. FoodProt.* 62: 1394-1403.
- 58) **De Roissart, H. et Luquet, F.M.** (1994). Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286.
- 59) **De Rycke J., Guillot J.F., Boivin R.**(1988). An *in vivo* assay for the detection of cytotoxic strains of *Escherichia coli*. *Ann Rech Vet.* 20(1): 39-46.
- 60) **De Schrijver K., Buvens G., Possé B., Van den Branden D., Oosterlynck C., De Zutter L., Eilers K., Piérard D., Dierick K., Van Damme-Lombaerts R., Lauwers C., Jacobs R.**( 2007). Outbreak of verocytotoxin-producing *E. coli* O145 and O26 infections associated with the consumption of ice cream produced at a farm, Belgium, *Euro Surveill* 2008; 13(7).
- 61) **Delarras, C.** (2007). *microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire.* Paris: Lavoisier
- 62) **Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M.C., Janssens D.**(1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques Dans : Bactéries Lactiques, Volume 1, De Roissart H. et Luquet F., Lorica Uriage, pp. 25- 116.

- 63) **Delphine D.** (2008). Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l'adaptation d'une souche d'*Escherichia coli* à la mamelle bovine. Thèse de doctorat. Nancy-Université Institut Nationale Polytechnique de Lorraine .251 P.
- 64) **Dembel M.** (2006). Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* au laboratoire de L'HGT de février 2002 à décembre 2004. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de pharmacie et d'Odontostomatologie. 76 P.
- 65) **Dembele, NA.** (2008). Etude des septicémies au cours du SIDA en milieu hospitalier de Bamako. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Mali.
- 66) **Denohue D.C.** (2004). Safety of novel probiotic bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc.* New York. 531-546. Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales.
- 67) **Desmazeaud, M.** (1996). Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, **5**, pp: 331-343.
- 68) **Djennane F., Marzouk M., Ben Moussa F. et Boukadida J.** (2009) Examen Cytobactériologique des Urines, Institut Pasteur, Algérie Techniques Microbiologique, p11-12.
- 69) **Dortu C. et Thonart P.** (2008). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Vol 13-- numéro 1.
- 70) **Duhaiman A.S** (1988). Purification of camel milk lysozyme and its lytic effect on *Escherichia coli*
- 71) **Dupont I.** (1998). Identification moléculaire de souches de lactobacilles productrices d'exopolysaccharides et comparaison de la production d'exopolysaccharides par trois de ces souches. Mémoire de maître ès sciences (M.Sc). *Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation*. Université Laval.

## « E »

- 72) **Edima H.C.** (2007). *Carnobacterium maltoromaicum* : caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Université de Nancy et université de N'Gaoundéré. Cameroun. 57-66.
- 73) **Edima H.C.** (2007). *Carnobacterium maltoromaicum* : caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Université de Nancy et université de N'Gaoundéré. Cameroun. 57-66.
- 74) **Elisabeth V.** (2008). Aliments et boissons : filières et produits, édition 3, CRDP d'Aquitaine, 36.
- 75) **Elisabeth V.** (2008). Aliments et boissons: filières et produits, Edition 3, CRDP d'Aquitaine, p:36.
- 76) **El-Ziney M.G., Uyttendaele M., Debevere J., Jakobsen M.** (1998). Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnol. Lett.* 20 (10): 913-916.
- 77) **Espinasse, f., Page, B. et Cottard-Bouelle, B.** (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone des Laboratoires* 426, 51-63.

## « F »

- 78) **Falagas M. E., Betsi G. I. and Athanasiou S.** (2006). Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J Antimicrob Chemother.* 58: 266-272.
- 79) **FAO, T. W. H. O.** (2001). Probiotic definition..
- 80) **Fauchere, J. L.** (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Paris: ellipses.

- 81) **Faye. B.**( 1997). Le guide de l'élevage du dromadaire. Ed. Sanofi, Libourne.
- 82) **Feillet.P.**(2000). Le grain de blé, composition et utilisation. Edition INRA, Paris, 308 p.
- 83) **Figarella, J. L.** (2004).*Microbiologie générale et appliquée*. Paris: DELAGRAVE.
- 84) **Foster T.J, Hook M.** (1998).Surface proteinadhesins of *Staphylococcus aureus*.Trends
- 85) **François A, Brandstätter H, Bréchet A-C, Huttner A.** (2013).Infections urinaires, Service de médecine de premier recours. Genève, 7-10.
- 86) **Franzetti L and Scarpellini M** (2007). Characterisation of *Pseudomonas spp.* isolated from foods. *Annals of Microbiology*. 57(1): 39-47.*Immunol*, 322: 249- 289Interface•, *Microbes and Microbial Technology*, Springer, New York, pp. 59-85.
- 87) **Fuller R.**(1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol*; 66: 365-378.
- 88) **Fuqua, C., Winans, S.C., and Greenberg, E.P.** (1996). « Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators ». *Annu Rev Microbiol* 50: 727-751.

## « G »

- 89) **Garrity, G.M.** (2005). The Proteobacteria - Part B: The Gammaproteobacteria. In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'. (Springer: New York).
- 90) **Garvie EL.**(1986) a. Genus *Leuconostoc* van Teighem 1878 198AL emend mut. Char. Hucker and **Paderson** (1930) 66AL. In Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2. ed. P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. Pp. 1071-1075.
- 91) **Gérard J. Tortora** (2003). Introduction à la microbiologie, édition Renouveau pédagogique Inc , pp. 39-126-133-148.
- 92) **Gournier-Château N., Larpent J.P., Castellanos M.I. et Larpent J.L.** (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Ed : *Tec & Doc. France*. Pp : 74, 87, 90, 91, 92
- 93) **Grabe M., Bishop M.C., Bjerklund Johansen T.E., Botto H., Cek M., Lobel B., Naber K.G., Palou J., Tenke P. et Wagenlehner F.** (2009). Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology. p. 39.
- 94) **Grattepanche F.**(2005).Chapitre 1. Revue de littérature :Etude d'un système de préfermentation en continu du lait par culture mixte immobilisée fonctionnelle. Université LAVAL. Collection Mémoires et thèses électroniques.
- 95) **Griffith Laboratories Ltd.** (2007). Fabrication d'un micro-organisme destiné à être introduit sur le territoire canadien : *Identification de l'organisme* : Souche CB1 de *Carnobacterium maltaromaticum*. *Utilisation proposée* : Additif alimentaire pour des viandes prêtes à manger emballées sous vide ou en atmosphère modifiée et des viandes transformées, hachées In Résumé de l'évaluation des risques effectuée conformément au Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes) (RRSN [O]) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement.
- 96) **Guessoum R. , Yakhlef. I.** (2017). Isolement et étude de *Klebsiella sp* et *Proteus sp* bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires. Diplôme de Master: Microbiologies générale et Biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 10-09 p.
- 97) **Guiraud J P.** (2003) Microbiologie Alimentaire.
- 98) **Guiraud J P. , Galzy** (1998). « Microbiologie alimentaire »
- 99) **Guiraud J P.**(1998). Microbiologie alimentaire, DUNOD, Paris. P: 80, 84, 116, 282,283,291.

## « H »

- 100) **Hadef S.** (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire présenté à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, département des Sciences de la Nature et de la Vie pour l'obtention du Diplôme de Magister, option : Microbiologie Appliquée.
- 101) **Halasz A., Barath A., Simon-Sarkadi L. et Holzapfel W. H.** (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*. 5, 42-49.
- 102) **Haouzi R.** (2013). Etude biologique des effets des microondes sur *Escherichia coli*. Mémoire. Université des sciences et de la technologie d'Oron Mohamed Boudiaf. 60 P.
- 103) **Hart T., Shears P.** (1999). Atlas de poche de microbiologie. Flammarion Médecine- Science. Paris. P 118.
- 104) **Hayes M., Rose RP., Fitzgerald G.F., Hill C., Stanton C.** (2006). Casein- Derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026. *Appl Environ Microbiol*. 72 (03) : 2260-2264.
- 105) **Hsiao C., Siebert K.**(1999). Modeling the inhibitory effects of organic acids on bacteria. *Int. J. Food Microbiol*. 47 (3): 189-201.
- 106) **Humphrey T., O'Brien S., Madsen M.**( 2007). Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int J Food Microbiol*. Jul 15;117 (3): 237-57.

## « J »

- 107) **Jain, A., Marsili, E. and Bhosle, N. B.** (2011). The Biofilm Returns: Microbial Life.
- 108) **Jason, T.** (2017). Apport de l'antibiofilmogramme et de la mesure de capacité de formation du biofilm dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus*. Thèse de doctorat : Microbiologie. Lyon : Université Claude Bernard Lyon 1, 58 p.
- 109) **Johnson, J. L. et N. J. Palleroni.** (1989). Deoxyribonucleic acid similarities among *Pseudomonas* species, *International Journal of Systematic Bacteriology* 39:230-235.

## « K »

- 110) **Kamoun.M. et Ramet J.P.** (1989). Conservation et transformation du lait de dromadaire. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires – n°: 6 , 229-231*
- 111) **Kandler O.**(1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*.49: 209-224.
- 112) **Kérouanton A., Hennekinne J.A., Letertre C., Petit L., Chesneau O., Brisabois A., De Buyser M.L.**(2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *Int J Food Microbiol.*; Apr 20; 115 (3):369-75.
- 113) **Khayar, Y.** (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'Amoxicilline – acide Clavulanique imipénème et Ertapenem. Thèse de doctorat : Pharmacie. RABAT : Université Mohammed V, 15 p.
- 114) **Klaenhammer T.R.** (1994). Activité antimicrobienne des bactéries lactiques, in «Bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques» De Roissart H., Luquet F.M. Editeurs Loriga. Uriage. 245-280.

- 115) **Kleerebezem M, Quadri LEN, Kuipers OP, de Vos WM. (1997).** Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Mol Microbiol.* 24 : 895-904.
- 116) **Kobilinsky A., Nazer A.I., Dubois-Brissonnet F.(2007).** Modeling the inhibition of *Salmonella typhimurium* growth by combination of food antimicrobials. *Int. J. Food Microbiol.* 115: 95-109.
- 117) **Krieg, N.R., Holt, J.G., (1984).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. I, 9th Edition. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.

## « L »

- 118) **Larpent J.P. et Gourgaud M.L. (1997).** *Mémento* technique de microbiologie, 3<sup>ème</sup> édition. Ed : *Lavoisier*. Paris. Pp : 71-240.
- 119) **Larpent J.P.(1994).** Les probiotiques en alimentation humaine, Tec et Doc Lavoisier.
- 120) **Larpent J.P., 1993.** Sensibilité aux bactériophages et Biologie moléculaire des ferments lactiques, Apria, Paris.
- 121) **Leveau J.Y., Bouix M.(1993)** Microbiologie Industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel, Lavoisier. France.
- 122) **Lievin V., Peiffer I., Hudault S., Rochar F., Neeser J.R., Servin A. (2000).** Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut.* 47: 646-652.
- 123) **Liu S.(2003).** Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* 83 (2): 115-131.
- 124) **Lortal S. (1995).** L'autolyse des bactéries, phénomène de L'affinage 2, Process Rennes, 1111,61-62.
- 125) **Luquet F. M. et Corrieu G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Lavoisier.TEC & DOC.307 :24-173.

## « M »

- 126) **Makhloufi K.M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat en Microbiologie, Biochimie. Université Pierre et Marie Curie.
- 127) **Marshall V.M. (1987).** Lactic acid bacteria: starters for flavour. *FEMS Microbiological Review.* 46: 327-336
- 128) **Martin, C. (2007).** Bacilles à Gram négatif non fermentaires. *In* : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles.* Ed Elsevier Masson. Paris. P : 330-343.
- 129) **Matamoros S. (2008).** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse présentée devant université de Nantes ; Faculté des Sciences et Techniques ; École doctorale chimie-biologie en vue de l'obtention du doctorat ; Discipline : Biotechnologies agroalimentaires, sciences de l'aliment ; Spécialité : Microbiologie.189 :30-47

- 130) **McLeod A., Nyquist O. L., Snipen L., Naterstad K., and Axelsson L.**(2008) Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods. *Syst Appl Microbiol.*31: 393-403.
- 131) **Mcsweeney P.L.H., Sousa M.J.** (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. *A Review. Lait*, 80: 293-324.
- 132) **Mena, K.D., and Gerba, C.P.**, (2009). Risk Assessment o *Pseudomonas aeruginosa* in Water, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201, 71-115.
- 133) **Mendaci, A. et Mihoubi, S.** (2015). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries Uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Pneumoniae*).Mémoire de master : Microbiologie Générale et biologie Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 23-25-26-27-28-29p.
- 134) **Miyada, C.G., Lory, S.**, (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *PNAS*, 100 (14) 8484–8489.
- 135) **Mohammedi S.**(2013). L'infection urinaire chez l'enfant. *Santé-MAG*. **15**, p10-11.
- 136) **Montel M.,Rettz J.,Talon R.,Berdagné J.L.,Rosset-Akims,(1996).**Biochemical activities of Micrococcaceae and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbial.*,13, pp. 489- 499.
- 137) **Mullie C., Odou M.F., Singer E., Romond M.B., Izard D.**(2003). Multiplex PCR using 16S r RNA gene-targeted primers for the identification of bifidobacteria from human origin. *FEMS Microbiol. Lett.* 222 (1): 36-129.

## « N »

- 138) **Naghmouchi K.** (2007). Divergicine M35, une nouvelle bactériocine produite par *Carnobacterium divergens* M35 : Caractérisation moléculaire du mécanisme d'action antimicrobien et du phénomène de résistance. Thèse de doctorat en Sciences et Technologie des aliments. Faculté des études supérieures de l'Université Laval , Canada.
- 139) **Nehem Nancy.** (2008). Etude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni* impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes. THÈSE pour obtenir le titre de Docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse. Spécialité : Génie des procédés et Environnement.
- 140) **Nicolas Dhaynin,**(2007). Utilisation du sorgho en alimentation animale. THÈSE pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. **Ecole Nationale Vétérinaire de l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I** (Médecine - Pharmacie).15,17,18.
- 141) **Nilsson, L, Gram, L., Huss, H.H.** (1999). Growth control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using a compétitive lactic acid bacteria flora. *J. FoodProt.* 62: 336342.
- 142) **Nissen P, Nielsen D, Arneborg N.** (2003). « Viable *Saccharomyces cerevisiae* cells at high concentrations cause early growth arrest of non-Saccharomyces yeasts in mixed cultures by a cell-cell contact-mediated mechanism. *Yeast* ». 20: 331-341.
- 143) **Novel, G.** (1993). Les bactéries lactiques. Dans : *Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel*. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris, pp:170-374.

## « O »

- 144) **Olivares J. C., Rua B., Susaeta I., Aldamiz-Echevarria P.**(1993).Growth kinetics of several lactic bacteria useful as starter for ewe's cheese production. *Biotechnology letters*, 15: 1071-1076.

« P »

- 145) **Palleroni, N.J.**(1984) .Genus I. *Pseudomonas*Migula 237 AL (n. m. cons. opin. 5).
- 146) **Peix, A., Valverde, A., Rivas, R., Igual, J.M., Ramirez Bahena, M.H., Mateos, P.F., Santa Regina, I., Rodriguez Barrueco, C., Martinez Molina, E. and Velazquez, E.**(2007). Reclassification of *Pseudomonas aurantiaca* into *Pseudomonas chlororaphis* and proposal of three subspecies, *P. chlororaphis* subsp. *chlororaphis* subsp. nov., *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* subsp. nov. and *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiacas* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 1286–1290.
- 147) **Peters, G. L.** (1982). Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *J Infect Dis* , 146: 479-482.
- 148) **Pilet M.F., Calvez S., Brillet A., Prévost H.** (2009). Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Chapitre V. Applications Alimentaires : Produits Fermentés, p. 421-439 - ISBN : 978-2-7178-5676-7. Notice n° 2010-5076 : Bibliomer n° : 49 - Janvier 2010 : La biopréservation
- 149) **Pilet M.F., Calvez S., Brillet A., Prévost H.** (2009). Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Chapitre V. Applications Alimentaires : Produits Fermentés, p. 421-439 - ISBN : 978-2-7178-5676-7. Notice n° 2010-5076 : Bibliomer n° : 49 - Janvier 2010 : La biopréservation.
- 150) **Pittet D, Wenzel R.P.** (1995). Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, pp. 260-261.
- 152) **Proctor, RA.; Kahl, B.; von Eiff, C.; Vaudaux, PE.; Lew, DP. Et Peters, G.** (1998). Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. *Clin Infect Dis*, Vol.27 Suppl 1, pp. S68-74, ISSN: 1058-4838
- 153) **Prodhomme A.** (2008). Sensibilité diminuée d'*Escherichia coli* aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : étude génétique et corrélation avec l'utilisation des  $\beta$ -lactamines en thérapeutique. Thèse de doctorat. Université de Nantes faculté de pharmacie. 90 P.

« Q »

- 154) **Quiberoni A., Rezaiki L., El Karoui M., Biswas I., Tailliez P., and Gruss A.** (2001). Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. *Res Microbiol.* 152: 131-139.

« R »

- 155) **Riegel P.** (2003). Aspect bactériologique des infections urinaire nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses.* 33, 255-265.
- 156) **Robert, H., V. Gabriel, D. Lefebvre, P. Rabier, Y. Vayssier and C. Fontagné-Faucher,** (2006). Study of the behaviour of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT Food Sci. Technol*, 39, 256-265.
- 157) **Rodriguez J.M., Martinez M.I., Kok J.** (2002). Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit. Rev. Food Sci. Nul*, 42: 91-121.

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

**« S »**

- 159) **Saad N. (2010).** Caractérisation d'entités moléculaires de surface impliquées dans la relation de la bactérie probiotique *Lactobacillus plantarum* 299v avec l'hôte : approche in vitro. Thèse pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Limoges. Discipline : Biologie-Santé. 266 :46-61.
- 160) **Sable S., Pons A.N., Gendron-Gaillard S., Cottenceau G. (2000).** Antibacterial activity evaluation of microcin J25 against diarrheagenic *Escherichia coli*. *Environ. Microbiol.* 66(10): 4595-4597.
- 161) **Samelis J., Maurogenakis F. , Metaxopoulos J. (1994).** Characterization of Lactic Acid Bacteria isolated from naturally fermented greek dry salami. *Int. J. Food Microbiol.* 23 : 179-196.
- 162) **Sawada H., Kanaya S., Tsuda M., Suzuki F., Azegami K., Saitou N. (2002).** A phylogenomic study of the OCTase genes in *Pseudomonas syringae* pathovars : the horizontal transfer of the argK-tox cluster and the evolutionary history of OCTase genes on their genomes. *J Mol Evol* 54: 437-457.
- 163) **Sedrati, A. (2014).** Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire Master académique : Microbiologie appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 16-17-28-29 p.
- 164) **Sgorbati B. et al., (1995).** Genera of Lactic Acid Bacteria, Vol 2, Chapman et Hall.
- 165) **Siboukeur. O .K., (2007):** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. thèse de doctorat en Sciences Agronomiques université INA ELHarrach-Alger
- 166) **Siewerts, S., de Bok, F. A. M., Hugenholtz, J. et van Hylckama Vlieg, J. E. T. (2008).**
- 167) **Silby, M.W., Winstanley, C., Godfrey, S.A.C., Levy, S.B., Jackson, R.W., (2011).** *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable, *FEMS Microbiol Rev.*, 35, 652– 680.
- 168) **Smit G., Smit B.A. and Engels W. J. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews.* 29, 3, 591-610.
- 169) **Sophie Drouault, Gérard Corthier,(2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé, INRA, EDP Sciences, pp : 102-104.
- 170) **Sougakoff, W. et Trystam, D. (2003).** Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine Pitie-Salpetrière, 26-27-40-41-55-56 p.
- 171) **Souid W. (2011).** Effet des bactériocines (type nisine) produites par une souche lactique isolée à partir du fromage camelin, sur une souche psychrotrophe. Mémoire de magister en microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah. Ouargla.
- 172) **Soumaila G.A. (2012).** Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacillose aviaires au Sénégal. Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de Dakar. 79 P.
- 173) **Stallwood B., Shears J., Williams P.A., Hughes K.A. (2005).** Low temperature bio remediation of oil-contaminated and bioaugmentation with a *Pseudomonas* sp. from maritime Antarctica. *J Appl Microbiol* 99: 794-802.
- 174) **Steven L. Chang et Linda D Shortliffe, (2006).** Pediatric Urinary Tract Infections in *Pediatr Clin N Am* 53, Edition: Elsevier Inc, p. 379-385-386-400.



- 175) **Strus M., Cosiewski T., Kochan P., Heczko P.B.( 2005).** The *in vitro* effect of Hydrogen peroxide on vaginal microbial. 48: 56-63.
- 176) **Swaminathan B., Gerner-Smidt P. (2007).** The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* Aug; 9(10):1236-43.

« T »

- 177) **Tagg J.R., Da jani A.S., Wannamaker L.W.(1976).** Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* 40: 722-756.
- 178) **Tahiri I. (2007).** Isolement, caractérisation et étude du potentiel de la divergicine M35, pour la bio-conservation des produits marins prêts à consommer. Thèse de doctorat. Université Laval. Québec.
- 179) **Talon D., Thouverez M., Bertrand X. (2006).** Role des *Pseudomonas* et apparentés dans les infections nosocomiales. XVIIe Congrès national de la SFHH. 22-24.
- 180) **Talon R., Walter., Viallon C., Berdague JL., 2002.** Prediction of *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* populations in yoghurt by Curie point pyrolysis-mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, **48**: 271-279.
- 181) **Tankovic J.( 2007).** *Lactobacillus*, Dans François Denis, Marie-Cécile Ploy, 2007. *Bactériologie médicale: techniques usuelles*, Elsevier Masson, p. 417.
- 182) **Tattevin P, Cremieux A.C, Pottier P, Hutten D, Carbon C. (1999).** Prosthetic joint infection: when can prosthesis salvage be considered? *Clin Infect Dis* 29:292-295.
- 183) **Temmerman R., Bruno Pot., Huys G. et Swings J. (2003).** Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 81: 1-10.
- 184) **Thivierge N. (1999).** Caractérisation de souches de *Lactococcus lactis ssp cremoris* pour le développement de ferments mésophiles à aptitudes fromagères élevées (Cheddar). Mémoire pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.). Université Laval. CANADA.
- 185) **Trautner, B.W., Darouiche, R.O. (2004).** catheter-associated infection. pathogenesis affects prevention. *Arch Intern Med* 164-842-850
- 186) **Tripathy S, Kumar N, Mohanty S, Samanta M, Mandal RN, Maiti NK. (2006).** Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated. from freshwater culture systems. *Microbiol. Res.* 162:391-396." Unraveling Microbial Interactions in Food Fermentations: from Classical to Genomics Approaches". *Applied and environmental microbiology* 74, 4997-5007. August 15, 2008.

« V »

- 187) **Van de Guchte, M., Ehrlich, S. D. et Maguin, E. (2001).** « Production of growth-inhibiting factors by *Lactobacillus delbrueckii* » *Journal of Applied Microbiology* 91, 147-153.
- 188) **Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K., Swings J. (1996)** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, 60: 407- 438.
- 189) **Vollenweider. S. (2004).** 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Appl. Microbiol. Biotech.* 64: 16-27.
- 190) **Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. (2002).** Pathogenesis of infections due to coagulase.

« W »

- 191) **Walsh U.F., Morrissey J.P., and O'Gara F.** (2001). Pseudomonas for biocontrol of phytopathogens :fromfunctionalgenomics to commercial exploitation. *CurrOpinBiotechnol* 12: 289-295.
- 192) **Wylie JL, Deborah L, NowickiL**(2005). Molecular epidemiology of community-and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *J Clin Microbiol* 2005;43:2830-2836.

« **Y** »

- 193) **Yagil R., Zagorski O. , Van Creveld C.** (1994). Science and Camel's Milk Production. Actes du Colloque:"Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26- octobre, Nouakchott, Mauritanie.

« **Z** »

- 194) **Zalan Z., Barath A., Halasz A.**(2005).Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of Lactobacillus strains. *Food Technol. Biotech.* 43(3): 219- 225.
- 195) **Zomahoun C.** (2004). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire – Hubert Koutoukou Maga de Cotonou(BENIN)Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Mali, Faculté de médecine,pharmacie et d'odonto-stomatologie, 107p.

# ANNEX

• **ANNEX 01 : Composition des milieux de cultures (g/l)**

❖ **Milieu MRS : FORMULE-TYPE : ( Pour 1 litre de milieu)**

- ✓ Polypeptone.....10,00g
- ✓ Extrait de viande.....10,00g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Glucose.....20,00g
- ✓ Tween 80.....01,08g
- ✓ Phosphate dipotassique.....02,00g
- ✓ Acétate de sodium.....05,00g
- ✓ Citrate d'ammonium.....02,00g
- ✓ Sulfat de magnésium.....0,20g
- ✓ Sulfat de manganèse.....0,05g
- ✓ Agar agar bactériologique.....18,00g
- ✓ PH=6,8

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu MSE : FORMULE-TYPE : ( Pour 1 litre de milieu)**

- ✓ Tryptone.....10,00g
- ✓ Gélatine.....02,50g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Saccharose.....100,0g
- ✓ Glucose.....05,00g
- ✓ Citrate de sodium.....01,00g
- ✓ Azide de sodium.....75,00mg
- ✓ Agar agar bactériologique.....18,00g
- ✓ PH=6,9

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu MRS Rouge Congo : FORMULE-TYPE : ( Pour 1 litre de milieu)**

- ✓ Polypeptone.....10,00g

- ✓ Extrait de viande.....10,00g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Glucose.....20,00g
- ✓ Tween 80.....01,08g
- ✓ Phosphate dipotassique.....02,00g
- ✓ Acétate de sodium.....05,00g
- ✓ Citrate d'ammonium.....02,00g
- ✓ Sulfat de magnésium.....0,20g
- ✓ Sulfat de manganèse.....0,05g
- ✓ Agar agar bactériologique.....18,00g
- ✓ Saccharose.....50,00g
- ✓ Rouge Congo.....0,08g
- ✓ PH=6,8

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu MRS Amidon : FORMULE-TYPE : ( Pour 1 litre de milieu)**

- ✓ Polypeptone.....10,00g
- ✓ Extrait de viande.....10,00g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Amidon.....20,00g
- ✓ Tween 80.....01,08g
- ✓ Phosphate dipotassique.....02,00g
- ✓ Acétate de sodium.....05,00g
- ✓ Citrate d'ammonium.....02,00g
- ✓ Sulfat de magnésium.....0,20g
- ✓ Sulfat de manganèse.....0,05g
- ✓ Agar agar bactériologique.....18,00g
- ✓ PH=6,8

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu M16BCP : FORMULE-TYPE : ( Dans un volume final d'un litre)**

- ✓ Peptone.....05,00g
- ✓ Extrait de viande de bœuf.....03,00g
- ✓ Lactose.....10,00g
- ✓ Pourpre de bromocrésol.....25,00mg
- ✓ Agar agar bactériologique.....18,00g

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Mueller Hinton semi solide : FORMULE-TYPE :** ( Dans un volume final d'un litre)

- ✓ Infusion de viande de boeuf .....02 g
- ✓ Amidon..... 15 g
- ✓ Hydrolysate de caséine .....17g
- ✓ Agar .....09 g
- ✓ Eau distillée..... 1000 mL
- ✓ pH =7,3

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu MRS bouillon : FORMULE-TYPE :** ( Pour 1 litre de milieu)

- ✓ Polypeptone.....10,00g
- ✓ Extrait de viande.....10,00g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Glucose.....20,00g
- ✓ Tween 80.....01,08g
- ✓ Phosphate dipotassique.....02,00g
- ✓ Acétate de sodium.....05,00g
- ✓ Citrate d'ammonium.....02,00g
- ✓ Sulfate de magnésium.....0,20g
- ✓ Sulfate de manganèse.....0,05g
- ✓ PH=6,8

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Milieu MRS bouillon sans extrait de viande : FORMULE-TYPE :** ( Pour 1 litre )

- ✓ Polypeptone.....10,00g
- ✓ Extrait autolytique de levure.....05,00g
- ✓ Glucose.....20,00g
- ✓ Tween 80.....01,08g
- ✓ Phosphate dipotassique.....02,00g
- ✓ Acétate de sodium.....05,00g
- ✓ Citrate d'ammonium.....02,00g
- ✓ Sulfate de magnésium.....0,20g
- ✓ Sulfate de manganèse.....0,05g
- ✓ PH=6,8

**Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 20 minutes.**

❖ **Bouillon nutritif : FORMULE-TYPE :** ( Pour 1 litre de milieu)

- ✓ Tryptone.....10,00g
- ✓ Extrait de viande.....05,00g
- ✓ Chlorure de sodium.....05,00g
- ✓ PH=7,2

❖ **Eau physiologie : FORMULE-TYPE :** ( Pour 1 litre de milieu)

- ✓ NaCl ..... 9g
- ✓ Eau distillée ..... 1000 ml

● **Annex 02 : la composition des colorants utilisés**

❖ **Violet de gentiane au cristal :**

- ✓ Violet de gentiane ..... 10g (ou 5g)
- ✓ Phénol ..... 20g
- ✓ Ethanol à 0.95 ..... 100 cm<sup>3</sup>
- ✓ Eau distillée ..... 1 dm<sup>3</sup>

Les 3 premiers composants sont dans un premier temps dissous ensemble d'eau est ajoutée ensuite.

❖ **Lugol :**

- ✓ Iode ..... 5g
- ✓ IO dure de potassium ..... 10g
- ✓ Eau distillée qsp ..... 1g

Flacon brun

❖ **Fuchsine de Ziehl :**

- ✓ Fuchsine bosique ..... 10g
- ✓ Phénol ..... 50g
- ✓ Ethanol à 0.5 ..... 10cm<sup>3</sup>
- ✓ Eau distillée ..... 1dm<sup>3</sup>

