

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO).



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques



Département de Biochimie et de Microbiologie

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Microbiologie appliqué

Mémoire de fin d'Etudes

Thème :

**Etude et identification des souches de
Lactobacillus et *Lactococcus* productrices de
bactériocines isolées du lait cru.**

Réaliser par :

M^{elle} LACHI Sara

M^{elle} KELLAS Celia

Devant la commission d'examen :

Président : Mr HOUALI. K

Professeur à l'UMMTO

Promoteur : Mr BARIZ. K

Maitre assistant à l'UMMTO

Examinatrice : Mme HELLAL. Z

Professeur à l'UMMTO

2018 2019

Remerciement :

Après avoir rendu grâce **au seigneur le tout puissant**, de nous avoir prêté la force, le courage et la bonne volonté, nous tenons à remercier vivement tous ceux ou celles qui ont participé à la réalisation de ce modeste travail :

Nos remerciements s'adressent particulièrement à notre président **HOUALI KARIM Professeur à l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou**, qui malgré ses nombreuses activités nous a toujours réservé un accueil chaleureux, en nous donnant l'avantage de bénéficier de son esprit élevé de sagesse et de compréhension, de ses conseils et son encouragement. Nous sommes honoré d'avoir été ces étudiantes, c'est un vrai modèle de sagesse, de modestie et générosité, un grand homme de valeurs inestimables. Nous lui témoignons toute notre gratitude, et notre profond respect.

Nous le remercions infiniment pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de ce modeste travail.

Notre promoteur, **Monsieur BARIZ KARIM maitre assistant classe A à l'UMMTO**, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Notre examinatrice, **Madame HELLAL ZOHRA, Professeur à l'UMMTO** pour le grand honneur quelle nous fait en acceptant d'examiner notre modeste travail ; Quelle trouve ici l'expression de notre profond respect et le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Nous les remercions pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant de participer au jury, d'avoir contribué par leurs nombreuses remarques et suggestions à améliorer la qualité de ce mémoire et à enrichir son contenu.

Nous témoignons toute notre gratitude au docteur **CHERIFI** et Mr **TITTOUCHE** de nous avoir rapporté les souches pathogènes... merci.

Nous tenant également à remercier notre camarade **LAZOUL BRAHIM**, pour son encouragement et son aide précieuse, nous lui sommes redevables.

Liste des abréviations

ADN : Adénosine Di-Phosphate

ADNr : Acide Désoxyribonucléique ribosomal

AMPS: Antimicrobiens peptides

ARNr : Acid Ribonucléique ribosomique

ADP: Adenosin diphosphat

ATP: Adenosin triphosphat

AU/ ml : Unité Arbitraire (concentration en bactériocine) par millilitre

BV: Bacterien vaginales

°C : Degré Celsius

C. sakazakii: *Cronobacter sakazakii*

CLBS: Colicin-like bacteriocins

CO₂ : Dioxyde de carbone

CHU : Centre hospitalier Universitaire

CMI : Concentration minimale d'inhibition

Dha : Déshydroalanine

Dhb : Déshydrobutyrine

E. coli : *Escherichia coli*

Ec: *Enterococcus*

EMPP: Embden Meyerhof Parnas Pathway

FAO: Food and Drug Administration

FLAB: Fructifilles Lactic Acid Bacteria

FPM : Force proton-motrice

FRT : L'appareil reproducteur femelle (inférieur)

GC: Guanine-Cytosine

HGT: Horizontal gene transfer.

HNF: Human newborn fibroblasts

HSV-1: Herpès simple virus -1

HSV-2 : Herpès simple virus -2

INRA : L'institut national de la recherche agronomique

KDa : Kilo dalton

L: *Lactobacillus*

LAB : Lactic Acid Bacteria

L'ABC transporteur : ATP-bending cassette transporteur

Lc : *Lactococcus*

Leuc : *Leuconostoc*

Li : *Listeria*

MCV : Maladies cardiovasculaires

MRS : Man, Rogosa et Sharpe

MTX : Methotrexate (méthotrexate)

NAD⁺ : Le nicotinamide adénine dinucléotide

NADH : Le nicotinamide adénine dinucléotide forme réduite

O. oeni : *Oenococcus oeni*

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAP: Pancreatitis-Associated Protein

PDLA-PEO: Poly (L- or D-lactide) and poly (ethylene oxide)

PDHc : Pyruvate Déshydrogénase complexe

pH : Potentiel hydrogène

PLA : Poly (lactic acid)

Pi: Phosphate inorganique

PP: Pentose Phosphate

PVA: poly (vinyl alcohol)

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SEC : Voie de sécrétion de protéines

SP: Species

TGI: Tractus gastro-intestinal

TLR : Toll -like receptors

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VVC : Vulvovaginal candidiasis

5-FU : 5-Fluoro-Uracile (anticancéreux)

W: *Weissella*

Fe²⁺ : Ions ferreux

Mn²⁺ : Ions de manganèse

Cu²⁺ : Ions de cuivre

K⁺ : Ions de potassium

Ca²⁺ : Ions de calcium

Liste des tableaux et figures

Tableau I : Quelques exemples de bactériocines avec leur classe d'appartenance	25
Tableau II : Représente le spectre d'activité de quelques bactériocines (de classe I et II) .	34
Tableau III : Année et mois de collecte des échantillons de lait de vache.	44
Tableau IV : souches pathogène cible et leur caractéristiques générales.	47
Tableau V : Résultats de l'aspect des colonies.....	59
Tableau VI : Résultat de l'antagonisme vis-à-vis des pathogènes testés : diamètres des zones d'inhibition en Millimètre	62
Tableau VII : résultats des caractères physiologiques et biochimiques.....	64
Tableau VIII : Résultats de la fermentation des glucides	65
Figure 01 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques (B), bacilles arrondis (C)	3
Figure 02 : Voie de glycolyse : (voie d'Embden Meyerhof Parnas) et (voie des hexoses monophosphates).	4
Figure 03 : Arbre phylogénétique décrivant la relation entre les familles d'ordre Lactobacillales basée sur la séquence du gène 16S de l'ARNr.	10
Figure 04 : Classification universelle des bactériocines.	22
Figure 05 : Système de classification des bactériocines baser sur les travaux d'ALVAREZ-SIEIRO <i>et al.</i> , (2016).	23
Figure 06 : Schéma de la modification post-traductionnelles de la pré-nisine.	30
Figure 07 : Mécanisme du Quorum Sensing : Model nisine de <i>Lactococcus lactis</i>	31
Figure 08 : Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives.	33
Figure 09 : Les souches productrices de bactériocines, les bactériocines purifiées peuvent être ajoutés aux aliments, aux animaux et aux médicaments.	36

Liste des annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés.

Annexe 2 : Réactifs et colorants utilisés.

Annexe 3 : les résultats de l'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* sur boîte de petri.

Annexe 4 : photos montrant le résultat de la mobilité.

Annexe 5 : photos montrant le résultat test nitrate-réductase.

Annexe 6 : photos montrant le résultat du test à l'ADH.

Annexe 7 : photos montrant le résultat de l'hydrolyse de la gélatine.

Annexe 8 : photos montrant le résultat de la thermorésistance.

Annexe 9 : photos montrant la fermentation des sucres.

Annexe 10 : photos montrant le résultat de la croissance à 45°C.

Annexe 11 : photos montrant le résultat de croissance à différentes concentrations de NaCl.

Annexe 12 : photos montrant le résultat du test sur lait Sherman.

Annexe 13 : photos montrant l'aspect macro et microscopique des isolats lactiques.

Sommaire

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction 01

Chapitre I : bactéries lactiques

1. Définitions des bactéries lactiques.....	2
2. Historique des bactéries lactiques.....	2
3. Caractéristiques générales des bactéries lactiques.....	3
4. Milieux écologique des bactéries lactiques.....	5
5. Méthodes d'indentification et de classification des bactéries lactiques.....	7
5.1 Méthodes phénotypiques.....	7
5.2 Méthodes analyse sérologiques.....	8
5.3 Méthodes génotypiques.....	8
5.3.1 Composition en bases guanine cytosine de l'ADN : G+C %.....	8
5.3.2 Les hybridations ADN-ADN ADN-ARN.....	8
5.3.3 Séquençage de l'ARNr 16S.....	8
5.3.4 Méthodes protéomiques.....	9
6. Systématiques (taxonomie et classification).....	9
7. Applications des bactéries lactiques.....	14
7.1 Application thérapeutique.....	14
7.2 Application comme probiotiques.....	16
7.3 Application agroalimentaire.....	17
7.4 Application industrielle.....	18

CHAPITRE II : Bactériocines

1. Définition des bactériocines.....	20
2. Classifications des bactériocines.....	20
3. Différents types des bactériocines.....	25

3.1	Bactériocines de classe I.....	26
3.2	Bactériocines de classe II	27
3.3	Bactériocines de classe III	28
3.4	Bactériocines de classe IV	28
4.	Mécanismes de synthèse des bactériocines propres aux LAB.....	29
4.1	Synthèse des lantibiotiques.....	29
4.2	Synthèse des bactériocines de classe II :	30
5.	Mécanismes de régulation des bactériocines	31
6.	Mode d'action des bactériocines.....	32
6.1	Classe I (les lantibiotiques).....	32
6.2	Classe II	32
6.3	Classe III.....	33
7.	Applications potentielles des bactériocines	36
7.1	Application agroalimentaire	36
7.2	Application thérapeutique et pharmaceutique	37
8.	Les facteurs influençant l'activité et la biosynthèse des bactériocines.....	39
9.	Les éventuels risques liés à l'application des LAB et leur bactériocines	39

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes

I.	Matériels.....	41
I.1	Matériels biologiques	41
I.1.1	Lait cru	41
I.1.2	Les souches de références	41
I.2	Milieux de culture.....	41
I.2.1	Milieux pour l'isolement et purification.....	41
I.2.2	Milieux pour identification	42
I.2.3	Milieux pour l'étude de l'antagonisme	42
I.3	Réactifs, colorants et autres	42
I.4	Appareillages	43
I.5	Verrerie et autres matériels.....	43
II.	Méthodes	43
II.1	Prélèvement (collecte du lait).....	43

II.2	Isolement des bactéries lactique	44
II.2.1	Préparation de la solution mère	44
II.2.2	Préparation des dilutions décimales	44
II.3	Purification	44
□	Protocole de la coloration de Gram.....	45
□	Test de la catalase	45
□	Tests de l'oxydase.....	46
II.4	Conservation.....	46
II.5	Screening de Bactéries lactiques bactériocinogènes	46
II.5.1	Mise en évidence de la production de bactériocines	47
II.5.1.1	Préparation du surnageant de l'isolat lactique	48
II.5.1.2	Préparation de l'inoculum de la souche indicatrice.....	48
II.5.1.3	Réalisation du test d'inhibition.....	48
II.6	Identification.....	49
II.6.1	Testes communs aux bactéries lactiques	49
II.6.1.1	Mobilité : (LEVEAU <i>et al.</i> , 1991 ; GUIRAUD, 2003).....	49
II.6.1.2	Type respiratoire : (BOUIX et LEVEAU, 1991 ; HOGG, 2005).....	50
II.6.1.3	Type fermentaire : (LEVEAU <i>et al.</i> , 1991).....	50
II.6.1.4	Test nitrate réductase : (GUIRAUD, 2003 ; DELARRAS, 2007).....	50
II.6.1.5	Recherche de l'acétoïne : (LEVEAU <i>et al.</i> , 1991 ; DELARRAS, 2007).....	51
II.6.1.6	Test à l'arginine (ADH).....	52
II.6.1.7	Hydrolyse de la gélatine : (BOUIX et LEVEAU, 1991).....	52
II.6.1.8	Thermorésistante à 63°C pendant 30 minutes : (GUIRAUD, 2003).....	53
II.6.1.9	Métabolisme des sucres : (LEVEAU <i>et al.</i> , 1991 ; DELARRAS, 2007).....	53
II.6.2	Testes spécifiques.....	54
II.6.2.1	Genre <i>Streptococcus</i>	54
II.6.2.2	Genre <i>Lactobacillus</i>	56

Résultats et discussion

1.	Résultats d'isolement des bactéries lactiques	57
1.1	Caractère morphologique et culturaux	57
2.	Résultats de l'antagonisme bactérien.....	60
3.	Caractères biochimiques et physiologiques	62
4.	Interprétation des résultats de l'identification	65
4.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	66
4.2	<i>Lactobacillus reuteri</i>	67

4.3	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	68
5.	Interprétation des résultats de l'antagonisme.....	69
5.1	Antagonisme de <i>Lactobacillus fermentum</i>	69
5.2	Antagonisme de <i>Lactobacillus reuteri</i>	70
5.3	Antagonisme de <i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	71
	Conclusion	72
	Références bibliographiques	74
	Liste des annexes	

Introduction

Ces dernières années, la fréquence des bactéries résistantes aux antibiotiques est en train d'accroître, causant de graves problèmes de santé pour l'homme les animaux et l'environnement. La recherche d'alternatives infaillibles et sûres outre que les antibiotiques qui s'avèrent inefficaces à susciter l'intérêt de plusieurs chercheurs. En effet les bactéries lactiques productrices de bactériocines constituent un exemple typique et prometteur pour l'élimination des bactéries pathogènes d'origines alimentaires et cliniques et venir à bout de la menace majeure de l'antibiorésistance sur la santé et la vie humaine.

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif constituent un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme dont la taxonomie est régulièrement remise à jour avec la progression des données moléculaires. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale.

Il est bien connu que les bactéries lactiques occupent une place importante dans les technologies laitières. D'ailleurs beaucoup de travaux ont été entrepris en Algérie pour la préparation de ferments locaux à partir de bactéries lactiques indigènes isolées de plusieurs produits alimentaires traditionnels et lait cru de différentes espèces animales (vache, chèvre, brebis et chamelle).

En plus de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe), les bactéries lactiques disposent de plusieurs propriétés pertinentes à savoir les effets probiotiques remarquables, la production de composants inhérents au microbiote humain notamment les bactériocines.

Les bactériocines sont des peptides ou des protéines à synthèse ribosomique, présentant une activité bactéricide ou bactériostatique à l'encontre d'un grand nombre de germes. Leur spectre d'activité peut être plus ou moins large, quelque fois limité aux espèces proches phylogénétiquement des bactéries productrices, cependant elles présentent des potentiels thérapeutiques très attrayants et prometteurs dans le biocontrôle des pathogènes multirésistants.

A cet égard, nous nous sommes intéressés aux espèces de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* et *Streptococcus* et nous nous sommes attribués les objectifs suivants :

- L'isolement et l'identification des souches *Lactobacillus* et *Streptococcus* lactiques à partir du lait cru de la région de Tizi Ouzou ;
- L'étude de l'antagonisme de ces souches vis-à-vis des souches cliniques (BLSE *Staphylococcus aureus* (SARM) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

1. Définitions des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (LAB) sont des microorganismes unicellulaires procaryotes hétérotrophes et chimio-organotrophes formant un group hétérogène constitué de cocci et de bacilli (BADIS *et al.*, 2005).

D'après (SALMINEN *et al.*, 2004 ; KÖNIG et FRÖHLICH, 2009 ; PRINGSULAKA *et al.*, 2011), les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%, capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4.0 à 4.5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique comme produit majeur du métabolisme. Leur division se déroule sur un seul plan à l'exception des genres : *Pediococcus*, *Aerococcus*, et *Tetragenococcus*.

2. Historique des bactéries lactiques

Apparus il y'a environ trois (03) milliards d'années bien avant les cyanobactéries, les bactéries lactiques ont permis à l'homme de subvenir à ces besoins tant au niveau nutritionnel (fabrication, amélioration, conservation des aliments), qu'au niveau de santé et de bien-être.

L'essor des bactéries lactiques a bénéficié de celui des grands mammifères, producteurs de lait, commencé il y a soixante-cinq (65) millions d'années.

Il s'est accentué lorsque l'homme est passé du statut de chasseur-cueilleur à celui d'éleveur, il y a quelques huit-mille (8 000) ans avant J.-C.

Trois-mille (3 000) ans avant J.-C, en Egypte, à Sumer ou en Macédoine, l'homme sait contrôler le phénomène de caillage du lait.

Très rapidement, ces bactéries s'avèrent utiles à l'homme et contribuent à la production de nombreux produits alimentaires fermentés comme le fromage, le pain, le vin, la choucroute dans nos régions tempérées et des produits à base de céréales, de tubercules, de poisson et de viande dans les régions intertropicales (PATRICK, 2001).

L'usage des ferments si universellement répandu sur notre planète est un procédé extrêmement ancien. Les hommes savent en fait tirer profit des microorganismes depuis l'antiquité ; ils ont rapidement observé que les aliments ne demeuraient pas intact très longtemps, qu'ils moisissaient, qu'ils pourrissaient qu'ils fermentaient.

Ce qui leur a permis d'ailleurs de tirer d'avantages de certaines de ces transformations naturelles en fabriquant des aliments qui n'aurait jamais existés sans la fermentation microbienne.

Finalement, la connaissance des microorganismes impliqués dans le processus de fermentation est apparue bien plus tard avec la découverte de von leeuwenhoek et hooke en 1665. Puis, John Lister démontra, en 1877, le rôle d'une bactérie *Bacterium lactis* (appelé aujourd'hui *Lactococcus lactis*) dans les laits fermentés. Par la suite, la fermentation a été définie par Louis Pasteur comme « La vie sans l'air ».

3. Caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (LAB) sont un groupe très diversifié de bactéries fermentatives et acido-tolérantes, présentent sous forme de coques, de bacilles ou de bacilles arrondis (**Figure 01**) Gram-positifs, généralement non sporulant, caractérisées par l'absence du système de cytochrome (**LIU *et al.*, 2014**). Il est intéressant de noter que lorsque de l'hème ou de l'hème plus de la ménaquinone sont présents dans le milieu, certaines espèces peuvent respirer par voie aérobie en utilisant de l'oxygène comme accepteur final d'électrons. La respiration a un effet positif sur la croissance cellulaire car la biomasse bactérienne augmente avec la résistance à l'oxygène (**LUCIANA *et al.*, 2017**).

(A) *Lactococcus bulgaricus* (B) *Lactococcus lactis* (C) *Streptococcus thermophilus*

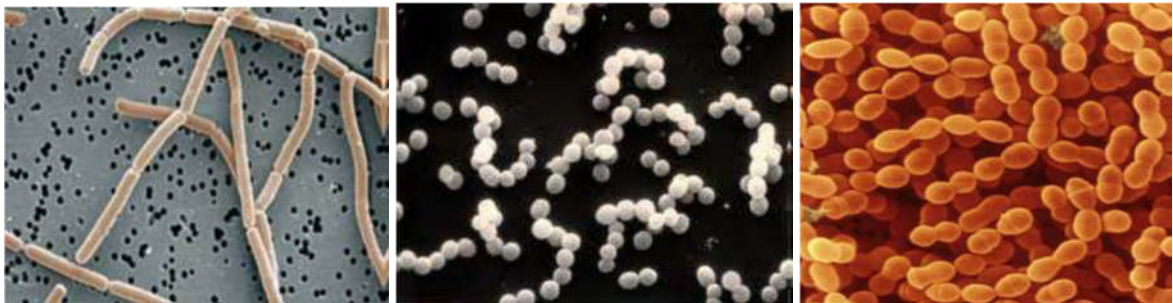


Figure 01 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques (B), bacilles arrondis (C) (FESSARD, 2017).

Elles sont généralement catalase négative, mais certaines possèdent une pseudo-catalase. Elles requièrent la présence d'acides aminés, d'acides gras, de vitamines et de minéraux pour leur croissance. Elles fermentent différents types de substrats : lait, fruits, légumes, céréales, poisson, viandes, etc. Elles peuvent être retrouvées dans l'estomac et les intestins d'animaux et des êtres humains ou dans l'environnement. Leur capacité d'adaptation et de survie à une grande variété d'environnement est sans doute à l'origine de leur grande diversité de métabolismes (**FESSARD, 2017**).

Les bactéries lactiques dont le nom lui-même est évocateur de caractéristiques emblématiques du métabolisme de ce groupe bactérien, à savoir la production d'acide lactique, souvent associés aux fermentations alimentaires. Leur capacité d'utiliser plusieurs sources carbonées conduit soit à la formation d'acide lactique comme seul produit final si elles sont homofermentaires (voie d'Embden Meyerhof Parnas), ou à la synthèse de CO₂, d'acide acétique et de l'éthanol en plus de l'acide lactique dans le cas où elles sont hétérofermentaires ou hétérolactique la voie du 6-phosphogluconate ou encore connue comme la voie des hexoses monophosphates (LIU *et al.*, 2014) (Figure 02).

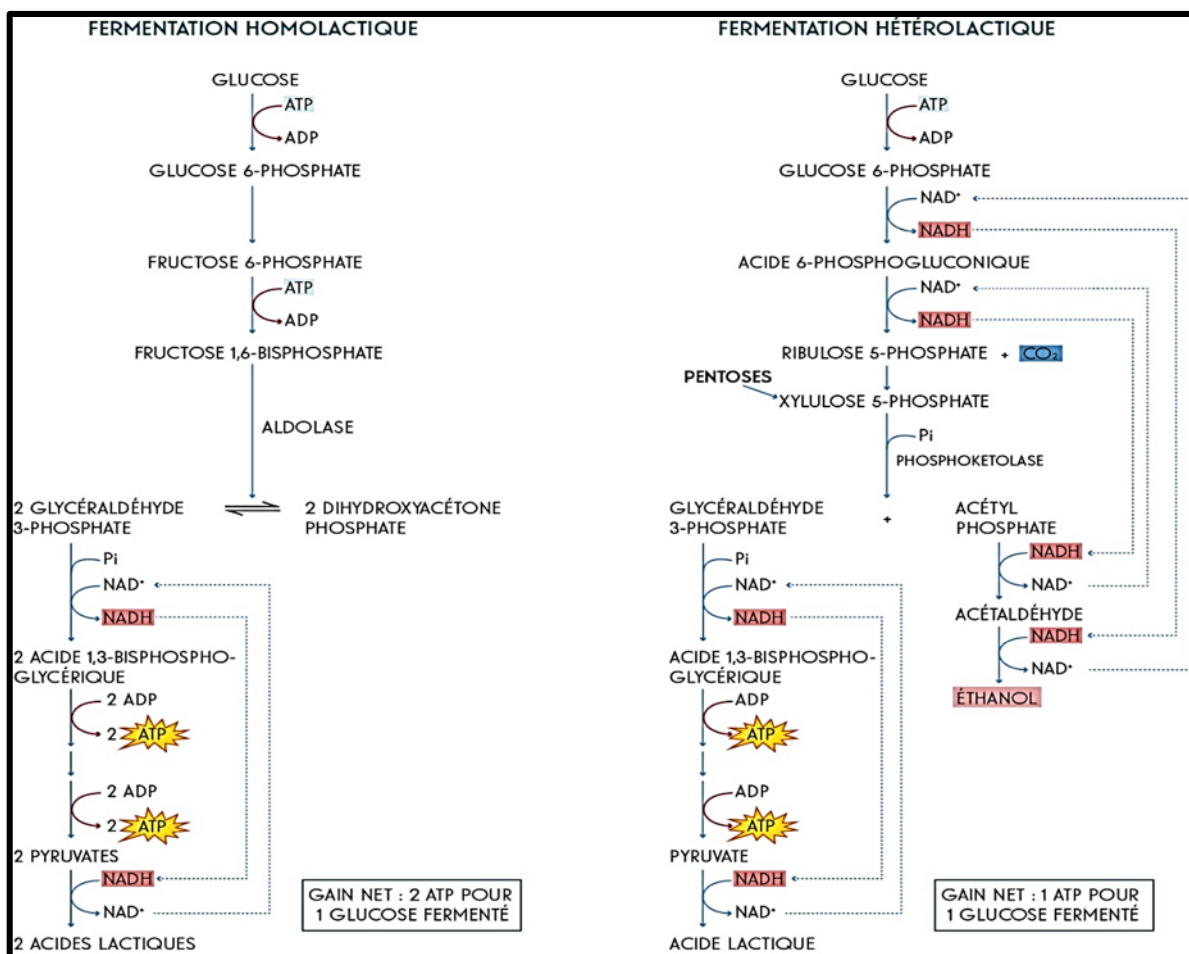


Figure 02 : Voie de glycolyse : (voie d'Embden Meyerhof Parnas) et (voie des hexoses monophosphates).

4. Milieu écologique des bactéries lactiques

Les LAB constituent un groupe bactérien omniprésent qui est largement répandu dans les niches de produits laitiers, de viande (fermentée), de produits d'origine végétale, du tractus

gastro-intestinale et urogénitale des humains et des animaux, ainsi que du sol et de l'eau (LIU *et al.*, 2014).

Les études sur la diversité microbienne des niches et d'environnements inexplorés ont conduit à l'isolement d'un nombre infini de nouvelles espèces bactériennes, qui peuvent présenter des propriétés technologiques et/ou sanitaires spéciales ou uniques (Di CAGNO *et al.*, 2009 ; Di CAGNO *et al.*, 2013 ; ENDO et SALMINEN, 2013 ; OLOFSSON *et al.*, 2014).

Les espèces du groupe *L. plantarum* et le groupe *L. casei* sont nomades ; se trouve de manière viable dans une grande variété de niches. Tant dis que, les groupes *L. sakei*, *L. vaccinostercus*, *L. collinoides*, *L. brevis* et *L. buchneri*, sont susceptibles de vivre en liberté (DUAR *et al.*, 2017).

Les *Leuconostoc* colonisent différents habitats ; *Leuc. citreuma* été isolé à partir de sources cliniques et de la nourriture, comme les levains de kimchi et du blé ; *Leuc. dextranicum* et *Leuc. mesenteroides* isolés des matières premières végétales fermentescibles, des fruits, des légumes et Purées (de choucroute) et jus de fruits. *Weissella cibaria* a été détecté dans les aliments fermentés d'origine végétale, ainsi que *W. fabalis*, qui a été isolé à partir de la fermentation de fèves de cacao ; *W. mineure* a été trouvé à partir des boues issues des machines de la traite des fruits et légumes fermentés et salami sec fermenté (FESSARD et REMIZE, 2017).

Cependant, les espèces *Lactococcus* ont été trouvées sur la surface des plantes et des animaux et des produits de ces origines, mais les habitats mieux reconnus sont le lait cru, le fromage et autres produits laitiers (HOLZAPFEL et WOOD, 2014).

(ASKARI *et al.*, 2012) ont rapporté que *Lactobacillus* et *Leuconostoc* étaient les plus abondants genres dans les raisins secs et les figues, suivie par *Streptocoque* et dans une moindre mesure, *Pediococcus* ; tandis que, (LINJORDET, 2016) a rapporté l'isolement de *W. viridescens* et *W. ceti, lactis, garvieae, et Fructobacillus fructosus* du jus de raisin frais.

Les bactéries lactiques ont toutefois la capacité de vivre en symbiose entre elles ainsi qu'avec un hôte. La symbiose est une association intime et durable entre deux organismes hétérospécifiques (espèces différentes), parfois plus, comme telle, le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par les bactéries lactiques (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weissella*). De plus, l'appareil génital chez la femme est principalement colonisé par *Lactobacillus*, auxquelles il apporte des nutriments comme le glycogène, et empêche l'invasion par *Candida albicans* (ZERGOUG, 2018).

Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, les LAB peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physicochimique et biologique (BOULLOUF, 2016), ainsi certains peuvent se retrouver dans des endroits inhabituels, tel que l'isolement de *L. rossiae* d'ananas bien que ce soit une espèce souvent isolée de levain (Di CAGNO *et al.*, 2010). Ou le cas de l'espèce associée à la viande *L. curvatus* qui a été isolé à partir de poivre (Di CAGNO *et al.*, 2009).

Parmi les sources peu explorées de LAB, les fleurs, les fruits et les légumes crus constituent une niche remarquable. Ces matières premières ont une teneur élevée en glucides mais faible en protéines et un pH légèrement acide, ce qui en fait une niche appropriée pour plusieurs micro-organismes (NAEEM *et al.*, 2012). Les souches isolées de fruits et de fleurs appartiennent à six genres de LAB, à savoir *Enterococcus*, *Fructobacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella*, et 21 autres espèces différentes (LUCIANA *et al.*, 2019).

Par ailleurs, FILANNINO et ses collaborateurs (2018) ont déclaré que même si les rapports sur les populations d'endophytes de LAB dans les plantes sont rares, les progrès sur les interactions plantes-microbes ont mis en évidence leur importance en tant que nouvelle classe de microbes favorisant la croissance des plantes. Jusqu'à présent, *L. plantarum* était la seule LAB endophyte identifiée, tout au long du cycle de vie des plantes d'origan et de blé (PONTONIO *et al.*, 2018).

De plus, *F. fructosus*, *L. kunkeei*, et *Ec. faecium*, ont été isolées à partir du pollinisateur *Apis mellifera* (AUDISIO *et al.*, 2011, PACHLA *et al.*, 2018). Ceci dit, florale nectare qui été considérée comme une simple sécrétion aqueuse sucrée offerte par les plantes à fleurs attire les pollinisateurs ; Ces derniers agissent non seulement comme des vecteurs de pollen, mais aussi peuvent transporter des micro-organismes de fleur en fleur Contribuant ainsi à leurs diffusions (ALVAREZ-PEREZ *et al.*, 2012).

Enfin, Cent seize (116) bactéries lactiques ont été isolées de poissons et de fruits de mer testées pour la production bactériocines (PATRIZIA *et al.*, 2019).

5. Méthodes d'indentification et de classification des bactéries lactiques

Parmi les méthodes d'identification et de classification des LAB on trouve :

5.1 Méthodes phénotypiques

Selon (POT, 2008), les tests phénotypiques, sont les bases clefs de l'identification et la différenciation des bactéries lactiques, a s'avoir la morphologie des colonies bactériennes

(forme, dimension, pigmentation), aussi la morphologie observée sous microscope (forme, réaction de Gram, l'agencement et flagellation). En outre, les tests physiologiques (croissance en différentes températures, différents pH et concentration sel), les tests métaboliques/biochimiques (profil de fermentation de sucre, recherche d'enzymes particulières, etc.) y sont également inclus.

Les tests chimiotaxonomiques reposent sur la composition de la paroi cellulaire notamment la détection de l'acide meso-diaminopimelique (mDpm) dans le peptidoglycane.

L'analyse du profil protéique de la cellule par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE-SDS) est une méthode très sensible qui permet de différencier les bactéries à un niveau taxonomique délicat (espèce et/ou sous-espèce).

5.2 Méthodes analyse sérologiques

Ce sont des techniques qui se base sur la capacité des antigènes bactériens a suscité la production d'anticorps spécifiques chez des animaux cobayes. Dans le cas des bactéries lactiques on utilise principalement la méthode de lancefield qui utilise les polysaccharides de l'enveloppe cellulaire comme antigène. Cette technique joue un rôle important de la classification et l'identification des Streptocoque (POT, 2008 et YUCEF, 2008).

5.3 Méthodes génotypiques

5.3.1 Composition en bases guanine cytosine de l'ADN : G+C %

Selon (AXELSSON, 2004 et POT, 2008), le contenu G+C des bactéries lactiques est connu comme l'une des caractéristiques essentielles pour la description de nouvelles espèces. Généralement le pourcentage G+C est inférieur à 50%.

La variation intra espèces ne dépasse pas 5%, elle est de 10% entre genres. Toutefois, une amplitude deux fois plus grande que le seuil proposé pour l'identification du genre est observée pour le genre *Lactobacillus* (32% à 55%).

5.3.2 Les hybridations ADN-ADN ADN-ARN

L'identité totale de deux souches bactériennes correspond à une identité de structure de leurs molécules d'ADN. C'est pourquoi on cherche à déterminer le pourcentage d'hybridation entre deux brins d'ADN de deux souches dont on veut établir le degré de similitude (BOUIX et LEVEAU, 1991).

D'après (POT, 2008), les deux souches ainsi comparées appartiennent à la même espèce si le degré d'homologie est supérieur à 70%, ou à deux espèces différentes si ce dernier inférieur à 70%

On peut aussi chercher à évaluer le degré d'homologie entre un fragment d'ADN et un ARN (ARN de transfert ou ARN ribosomal).

Mais l'homologie entre un fragment d'ADN et un ARN messager reste moins importante par rapport à l'homologie ADN-ADN étant donné le lien qui existe entre ces deux types de molécules (BOUIX et LEVEAU, 1991), cette méthode est maintenant remplacée par l'analyse de la séquence ARNr.

5.3.3 Séquençage de l'ARNr 16S

Aujourd'hui, avec la disponibilité de la technologie de séquençage rapide et automatique de l'ADN, le séquençage direct de l'ARNr 16s a émergé comme la méthode la plus puissante et la plus facile pour la classification bactérienne (AXELSSON, 2004).

En effet, la séquence ribosomique 16s constitue un bon marqueur pour l'étude phylogéniques des bactéries lactiques et l'établissement de leur degré de parenté du fait qu'elle est présente et bien conservée chez toutes les espèces (JAY *et al.*, 2005 ; POT, 2008).

5.3.4 Méthodes protéomiques

Il est possible aujourd'hui d'identifier les microorganismes en analysant directement leurs macromolécules, notamment les protéines (MIMOUN, 2015).

Les différentes études menées par plusieurs équipes de recherche, ont permis de mettre au point plusieurs techniques. Parmi lesquelles figure la spectrométrie de masse MALDI-TOF, utile dans l'analyse des biomolécules et où les protéines qui font l'objet des plus grandes attentions pour ce type d'application (LOUARDI, 2013).

Le principe de la méthode pour la séparation des molécules, consiste à utiliser une source d'ionisation laser assistée par une matrice pour obtenir une image protéique unique à temps de vol.

6. Systématiques (taxonomie et classification)

Suivant (FELIS *et al.*, 2015) ; du point de vu taxonomique, les bactéries lactiques sont un vaste ensemble de microorganismes procaryotes qui se rattache au phylum des *Clostridium*. Elles appartiennent à la lignée des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales* (GARRITY *et al.*, 2007).

Il est largement reconnu que la capacité de produire de l'acide lactique à partir de glucides est une caractéristique commune à un ensemble de bactéries Gram (+) et n'a aucune signification phylogénétique. D'autre part, les arbres phylogénétiques constituent l'épine dorsale

de la systématique bactérienne moderne, de sorte que, les bactéries formant l'acide lactique sont réparties en différentes lignées :

Famille des *Bacillaceae* (genre *Bacillus*), (ZHOU *et al.*, 2013), famille des *Sporolactobacillaceae* (genre *Sporolactobacillus*), (FRITZE et CLAUS, 1995), famille des *Bifidobacteriaceae* (genres *Aeriscardovia*, *Alloiscardovia*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Metascardovia*, *Parascardovia*, et *Scardovia*), (MATTARELLI *et al.*, 2014) et l'ordre : *Lactobacillales* sont traditionnellement considérées comme de véritables bactéries lactiques (SCHLEIFER et LUDWIG, 1995).

Ce groupe phylogénétique est composé d'environ 500 espèces valablement décrites, appartenant à six familles de bactéries Gram (+) à faible teneur en GC, en particulier :

- 1- *Aerococcaceae*, avec les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.
- 2- *Carnobacteriaceae*, avec les genres *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus* et *Trichococcus*.
- 3- *Enterococcaceae*, avec les genres *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.
- 4- *Lactobacillaceae*, avec les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*.
- 5- *Leuconostocaceae*, avec les genres *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- 6- *Streptococcaceae*, avec les genres *Lactococcus*, *Lactovum* et *Streptococcus*.

(FELIS *et al.*, 2015) rajoutent qu'il est intéressant de noter que les genres *Agitococcus* et *Sharpea* font partie des familles *Carnobacteriaceae* et *Lactobacillaceae*, respectivement, de la liste des noms procaryotes permanents dans la nomenclature (LPNS, www. bacterio. net), mais pas selon (MATTARELLI *et al.*, 2014). De plus, au cours des dernières années, la description continue de nouvelles espèces a profondément modifié la structure phylogénétique de l'ordre, et en particulier, les familles *Carnobacteriaceae* et *Enterococcaceae* semblent être paraphylétiques par rapport aux autres familles de l'ordre (Figure 03).

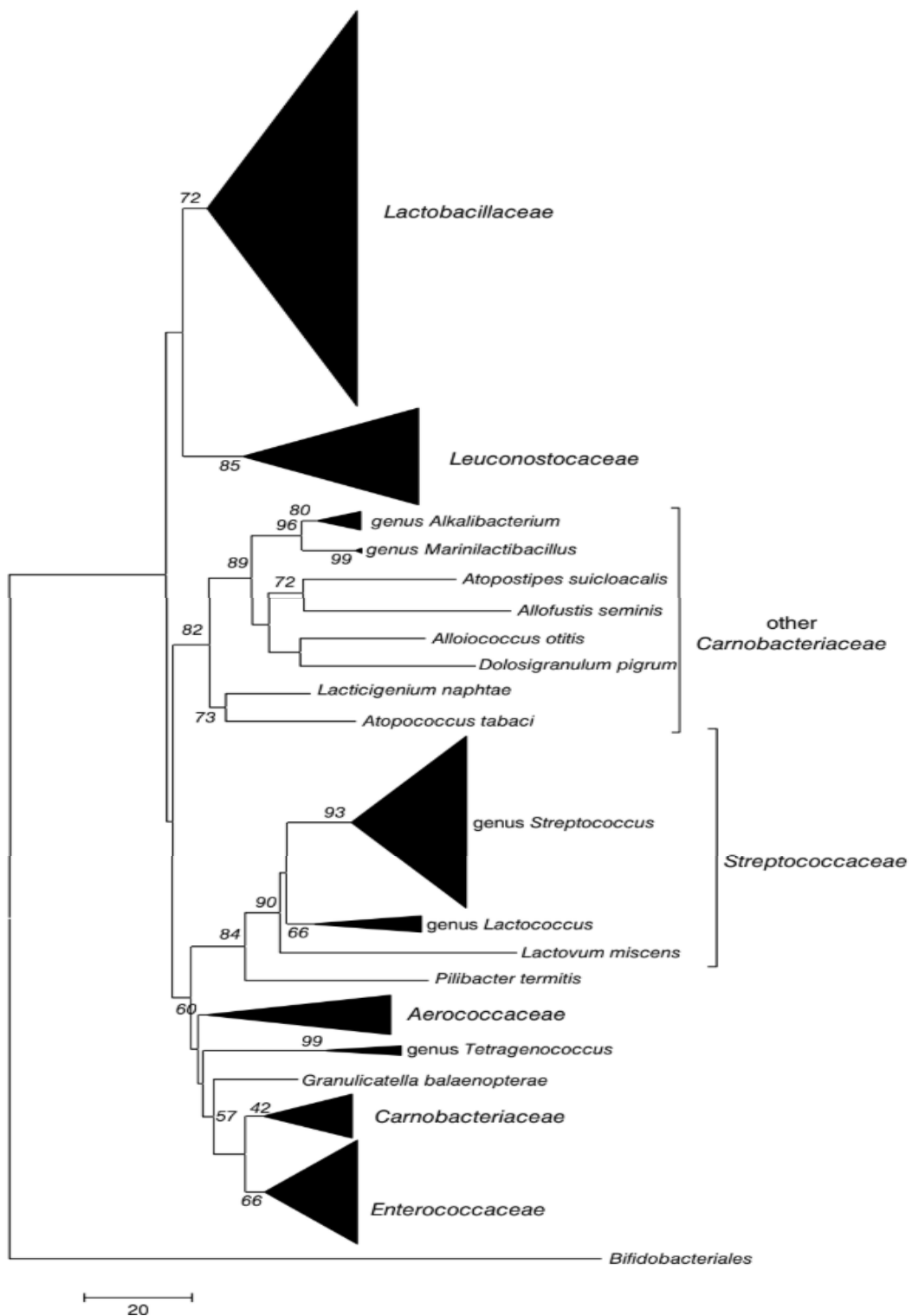


Figure 3 : Arbre phylogénétique décrivant la relation entre les familles d’ordre Lactobacillales basé sur la séquence du gène 16S de l’ARNr (FELIS *et al.*, 2015).

Comme caractéristiques générales, les *Aerococcaceae* comprennent généralement des cocci anaérobies facultatives, non mobiles, catalase négative, associés aux infections humaines et animales.

Phylogénétiquement, deux paraphylétiques sont reconnus (MATTARELLI *et al.*, 2014).

Les *carnobacterium* de la famille des *carnobacteriaceae* comprennent habituellement des cocci ou des bâtonnets catalase négative, généralement anaérobies ou microaérophiles, à mobilité variable, et présentant des caractéristiques chimiotaxonomiques particulières (LUDWIG *et al.*, 2009). De plus, il est intéressant de noter que ces bactéries peuvent effectuer la respiration dans des conditions aérobies avec l'implication des cytochromes b et d (MATTARELLI *et al.*, 2014).

Les entérocoques de la famille des *enterococcaceae* comprennent les cocci catalase négative, les agents non sporogènes, facultativement anaérobies, anaérobies ou microaérophiles, d'un intérêt majeur en raison d'un rôle possible dans la propagation de l'antibiotique (HOLLENBECK et RICE, 2012).

Les *Lactobacillaceae* sont la famille la plus nombreuse et la plus hétérogène, avec environ 180 espèces reconnues, bien que de nouvelles espèces soient décrites sur une base quasi mensuelle. Il s'agit de bâtonnets non sporulés ou coccobacilles (capables de se diviser en tétrades du genre *Pediococcus*), qui peuvent être mobiles, généralement tolérants à l'oxygène, souvent acidophiles et obligatoirement saccharolytiques, avec différents produits finaux de fermentation mais aussi avec la capacité de respiration, au moins pour certaines espèces (BROOIJMANS *et al.*, 2009).

D'après (ENDO et OKADA, 2008), les *Leuconostocaceae* sont des bâtonnets ou cocci non endosporeux et facultativement anaérobies, habituellement caractérisés par la production de quantités équimolaires d'acide lactique, d'éthanol et de dioxyde de carbone à partir du glucose (métabolisme nécessairement hétérofermentaire). Les membres du genre *Fructobacillus*, qui produisent de l'acide acétique au lieu de l'éthanol, font exception.

Selon (HENICK-KLING, 1993), certaines espèces du genre *Leuconostoc* possèdent la capacité respiratoire dépendante de l'hème. Le genre *Oenococcus*, en particulier l'espèce *O. oeni*, est considérée comme importante grâce à la capacité de convertir l'acide L-malique en acide L-lactique dans le vin. Les *Streptococcaceae* se composent de cellules sphériques ou ovoïdes homofermentaires, non sporulants, et facultativement anaérobies, généralement disposées en chaînes ou en paires (FELIS, 2015).

La majorité des espèces appartenant au genre *Streptococcus* sont parasites chez l'homme et d'autres animaux et l'association entre certains streptocoques et diverses maladies humaines et animales sont établies (**HARDIE et WHILEY, 1995**).

Toutes les autres caractéristiques habituellement considérées dans les études taxonomiques, comme les plages de température et de pH pour la croissance, les isomères d'acide lactique produits, le type de peptidoglycane dans la paroi cellulaire, sont très variables (**SALVETTI et al., 2012**).

Cela dit, d'un point de vue appliqué, les familles *Lactobacillaceae* et *Streptococcaceae* représentent les deux lignées les plus importantes puisqu'elles comprennent le plus grand nombre de LAB commercialisés (*lactobacilles*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactococcus lactis*) (**FELIS, 2015**).

Les *Lactobacillaceae* présentent le plus grand nombre d'espèces GRAS (Generally Recognized As Safe) et de nombreuses souches sont parmi les bactéries les plus importantes en microbiologie alimentaire et en nutrition humaine en raison de leur contribution à la production d'aliments fermentés ou à leur utilisation comme probiotiques. En réalité, la description massive d'espèces nouvelles au cours des 20 dernières années a conduit à une révision progressive du genre avec la reconnaissance d'un nombre croissant de groupes phylogénétiques variables (**FELIS, 2015**).

Cela dit, le genre *Lactobacillus* comprend plus de 200 espèces qui sont largement utilisées dans la conservation des aliments fermentés et la biotechnologie ou qui sont explorés pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Nommer, classer et comparer les lactobacilles a été un défi en raison de la grande diversité phénotypique et génotypique qu'ils présentent et du degré incertain de parenté entre eux et les lactobacilles associés (**SALVETTI et al., 2018**).

D'un point de vue taxonomique, la principale distinction entre les membres du genre *Lactobacillus* a toujours été basée sur les caractéristiques physiologiques, jusqu'à la première proposition d'introduction de l'analyse de la séquence de l'ARNr 16S en 1991. Jusqu'à présent, l'analyse de la similarité du gène de l'ARNr 16S est combinée avec l'analyse du profil de fermentation des glucides, selon laquelle les lactobacilles sont divisés en homofermentatifs (utilisation de l'hexose et production d'acide lactique), hétérofermentatifs facultatifs (utilisation du pentose/hexose et production d'acide lactique et autres produits) et nécessairement hétérofermentatifs (utilisation du pento/hexoses et production d'acide lactique, produits secondaires et CO₂) (**SALVETTI et al., 2018**).

Après les dernières mises à jour taxonomiques de (**SALVETTI et al., 2012 ; SALVETTI et al., 2018**), un certain nombre d'espèces nouvelles ont été décrites, à savoir *L.*

backii, *L. curiae*, *L. faecis*, *L. ginsenosidimutans*, *L. heilongjiangensis*, *L. iwatensis*, *L. mudanjangensis*, *L. nenjiangensis*, *L. okkaidonensis*, *L. oryzae*, *L. silagei*, *L. songhuajiangensis*, *L. yonginensis*, *L. apis* et *L. rodentium* (KILLER *et al.*, 2014a), (KILLER *et al.*, 2014b).

Ces espèces ont été attribuées à différents groupes phylogénétiques et confondent davantage la structure phylogénétique déjà complexe de la famille. Néanmoins, certains groupes phylogénétiques sont reconnaissables et devraient devenir, à l'avenir, des genres nouveaux lorsque la communauté scientifique se sera mise d'accord sur des critères pour leur délimitation.

7. Applications des bactéries lactiques

D'après (WANG *et al.*, 2017), la vie humaine est étroitement liée à divers microorganismes. Certains d'entre eux représentent des microbiotes normaux habitant le corps humain. La communauté microbienne intestinale est l'une des principales cibles de recherche. Les données actuelles suggèrent que la dysbiose est corrélée à de nombreuses maladies. Le microbiote influence le développement des maladies infectieuses, des tumeurs malignes gastro-intestinales, de l'obésité, du diabète, des maladies du foie, des allergies, etc.

Selon (BERMUDEZ *et al.*, 2012), l'application d'espèces bénéfiques comme les bactéries lactiques et les bifidobactéries peut atténuer les symptômes des pathogènes par action directe ou indirecte. En outre, les bactéries produisent un certain nombre de composés qui possèdent des propriétés précieuses et ont un effet favorable sur la santé de l'hôte.

7.1 Application thérapeutique

Les recherches en cours révèlent constamment de nouvelles propriétés précieuses des LAB, d'ailleurs LORIS et ces collègues (2019), ont mis en revue, les effets bénéfiques des *Lactobacillus*, notamment par la production de l'acide lactique. Comme exemples, la contribution dans la santé vaginal (FRT) en diminuant la sensibilité de l'hôte vis-à-vis des pathogènes urogénitaux ; l'activité virucide qui consiste d'une part à la réduction de l'excrétion virale dans le FRT chez les femmes atteintes de VIH, et l'inactivation irréversible de ce dernier protégeant ainsi contre la transmission sexuelle du VIH à leurs partenaires masculins et aux nouveau-nés livrés par voie vaginale. D'autre part, les lymphocytes, monocytes et les macrophages, permissives à l'infection par le VIH, sont rapidement immobilisés par un pH inférieur à 5,8 et tués lorsque le pH descend en dessous de 5,5. De

même, l'activité inhibitrice de l'acide lactique sur l'HSV-1 et HSV-2 dans le (FRT) a été démontrée.

Des études *in vitro* montrent que certaines souches de lactobacilles atténuent les réponses pro-inflammatoires provoquées par les agonistes des récepteurs de type Toll (TLR) des cellules épithéliales cervico vaginales (**GORSKI *et al.*, 2016 ; LAROCCA *et al.*, 1999**).

Récemment, le *L. plantarum* a été appliqué dans des domaines médicaux pour guérir différentes maladies chroniques et MCV (Exemples : Alzheimer, Parkinson, diabète, obésité, cancer, hypertension, complications urinaires et troubles hépatiques) (**ARASU *et al.*, 2016**).

A cet égard, des études *in vitro* portant sur diverses lignées cellulaires ont indiqué que les souches de *L. plantarum* ont un effet thérapeutique. De plus, des analyses cliniques ont démontré l'efficacité des souches de *L. plantarum* dans la guérison ou le traitement des troubles gastro-intestinaux, ainsi que du syndrome du côlon irritable et de la colite ulcéreuse, y compris les maladies diarrhéiques (exemples : diarrhée associée aux antibiotiques et diarrhées associées à *Clostridium difficile*) (**SUDHANSHU *et al.*, 2018**).

De plus, la souche *Lactobacillus curvatus* HY7601 ou une combinaison de cette souche et de *L. plantarum* KY1032 a réduit significativement l'accumulation de graisse dans le tissu adipeux et le foie ainsi que la teneur en cholestérol du plasma et du foie murin. Il convient de noter que la combinaison de souches s'est avérée plus efficace pour inhiber l'expression génique de diverses enzymes de synthèse d'acides gras dans le foie, parallèlement à la baisse des activités enzymatiques liées à l'oxydation des acides gras et leur expression génétique (**YOO SR *et al.*, 2013**).

Lc. lactis NZ9000 lui-même a été en mesure de prévenir les dommages histologiques et réduire l'infiltration des neutrophiles et des éosinophiles chez les souris injectées avec 5-FU. En outre, les lactocoques recombinants qui produisent des PAP ont améliorés l'architecture des villosités et augmenté l'activité des cellules de Paneth en réponse à l'inflammation 5-FU ; d'autre part, BREYNER et ses collaborateurs ont démontré que l'utilisation de *Lc. lactis* exprimant le PAP humain pourrait prévenir la colite (**CARVALHO *et al.*, 2017**).

L. brevis DF01 et *P. acidilactici* K10 isolé à partir d'un aliment fermenté non-laitier en tant que producteur bactériocine peut survivre au passage à travers le tractus gastro-intestinal simulé humain, et a provoqué une forte capacité d'adhérence ainsi que de puissants effets inhibiteurs sur l'adhérence des bactéries entéropathogènes dans les cellules épithéliales intestinales humaines (**SEOUNG HYUK KIM *et al.*, 2019**).

Certaines études ont révélé les effets des LAB probiotiques en contrecarrent l'évolution de la maladie d'Alzheimer. Comme exemple, la transformation microbienne de la carotte noire (de Corée), s'est avérée plus efficace en termes de récupération des fonctions cognitives que la consommation de légumes non traités. Car, celle-ci fermentée avec *Aspergillus oryzae* et *L. plantarum* a supprimé le dépôt d'amyloïde- β dans l'hippocampe et a potentialisé la signalisation de l'insuline (NOVIK et SAVICH, 2019).

Une étude similaire démontre que *L. plantarum* MTCC1325 a atténué la gravité de la maladie d'Alzheimer induite par le D-galactose (MEHTA *et al.*, 2017).

Une autre souche *L. Plantarum* NDC 75017 a été capable de récupérer les lésions d'apprentissage et de mémoire associées en réduisant le dysfonctionnement mitochondriale induite par le D-galactose chez le rat (PENG *et al.*, 2014).

Enfin, (SOBOL et BELOSTOTSKAYA, 2016) ont constatés que les produits métaboliques des lactobacilles augmentent le taux de Ca^{2+} , stimulant les mécanismes de signalisation intracellulaire dans les neurones cervicales de rat, permettant ainsi l'amélioration des paramètres psychologiques, des fonctions cognitives du cerveau, et la prophylaxie des maladies neurodégénératives.

Des études récentes ont indiqué que certains produits de LAB modifient la virulence en perturbant les voies de signalisation et de détection du quorum des pathogènes (KIYMACI *et al.*, 2018 ; ZHAO *et al.*, 2018). D'autres, ont démontré que les préparations tuées de souches probiotiques peuvent protéger contre la liaison de pathogènes (KRISTIN *et al.*, 2019) ou les dommages épithéliaux induits par des pathogènes (POPOVIC *et al.*, 2019), et peuvent modifier la réponse de l'hôte au défi du pathogène (KRISTIN *et al.*, 2019). Ceci dit, les LAB probiotiques peuvent avoir des effets thérapeutiques et prophylactiques potentiels contre l'infection à *Salmonella Javiana* (KRISTIN *et al.*, 2019).

Au final, les chercheurs de l'INRA sont parvenus à guérir des souris modèles de la maladie de Crohn (une maladie inflammatoire chronique du système digestif) avec l'utilisation de bactéries lactiques améliorées par intégration de gènes codants pour des protéines d'intérêts (INRA, 2017).

7.2 Application comme probiotiques

En 2002, les experts de la FAO et de l'OMS ont adopté une définition des probiotiques décider que ce sont « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates sont bénéfiques pour la santé de l'hôte. »

Les candidats au nom de « probiotiques » doit répondre à trois exigences clés :

- 1- Ils doivent être des micro-organismes vivants au moment de l'administration.
- 2- Ils doivent être administrés à une dose qui est suffisamment élevée pour avoir un effet de promotion de la santé. La dose efficace recommandée est étroitement liée à la documentation clinique sur laquelle elle doit être fondée.
- 3- Les micro-organismes administrés doivent avoir un effet bénéfique sur l'hôte. C'est pourquoi ils doivent provenir du tractus gastro-intestinal d'un individu en bonne santé et être résistants aux enzymes gastriques, faible pH et une forte concentration de sels biliaries (**DOROTA et DANUTA, 2018**).

Les essais cliniques montrent un signal positif pour la capacité de l'acide lactique pour rétablir l'eubiose vaginale et soulager les symptômes chez les femmes atteintes de vaginose bactérienne (BV).

D'ailleurs, plusieurs souches de lactobacilles et les espèces (par exemple *Lactobacillus rhamnosus GR-1*, *L. reuteri RC-14*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. crispatus*, *L. fermentum*) ont été évalués en tant que probiotiques vaginale pour le traitement ou la prévention BV (**GILDA et al., 2017**).

En plus, les probiotiques à base de lactobacilles sont recherchés en tant qu'adjuvants au traitement antimicrobien conventionnel pour les VVC récurrentes.

Cependant, une autre étude mise en revue par (**GILDA et al., 2017**), démontre que, certaines bactéries lactiques isolées à partir du tractus gastro-intestinal des poissons peuvent agir comme probiotiques, avec des effets bénéfiques sur la santé des poissons, principalement par la stimulation du système immunitaire et l'élimination des pathogènes concurrençant et envisage l'utilisation des souches productrices de bactériocines comme alternative aux antibiotiques dans l'aquaculture.

Par ailleurs, les propriétés probiotiques des souches de *L. Plantarum* en tant qu'agents de biocontrôle contre diverses bactéries pathogènes d'espèces Gram-négatives et Gram-positives, pendant la transformation l'entreposage des aliments, et l'augmentation de la durée de conservation, la sécurité des aliments fermentés (**SUDHANSHU et al., 2018**).

En fin, les chercheurs de l'INRA, ont révélés dernièrement que l'ingestion de la bactérie probiotique *Lactobacillus farciminis*, confère des propriétés anti-stress, grâce à l'effet restrictif de la perméabilité de la barrière intestinale, réduisant ainsi la circulation des polysaccharides incriminés dans les neuro-inflammations cervicales (**INRA, 2017**).

7.3 Application agroalimentaire

Certaines revues, approuvent l'utilisation des LAB probiotiques de type sauvage ou génétiquement modifié, comme alternative pour le traitement d'autres maladies inflammatoires gastro-intestinales. Tel que, la consommation de yaourt probiotique contenant *L. acidophilus La5 et (B)* et *L. lactis Bb12* a réduit de façon significative la glycémie à jeun (EJTAHED *et al.*, 2012).

Les bactéries lactiques probiotiques ont montré des tendances prometteuses pour remplacer les antibiotiques dans la production de poulets de chair, par conséquent les LAB peuvent venir au secours des antibiotiques et une aide supplémentaire pour limiter la résistance aux antibiotiques (EBU *et al.*, 2018).

L'étude ultérieure, de (JUNG-HOON, 2018) révèle que la stabilité de la souche probiotique *L. plantarum* LRCC5193 dans le chocolat, constitue un avenir prometteur, pour la commercialisation de chocolats contenant cette souche probiotique, de plus ces propriétés fonctionnelles liés à la stabilité (dans le suc gastrique, à différentes températures de stockage), encourage son utilisation dans d'autres produits alimentaires, accentuant leur valeur nutritionnelle, et les effets bénéfiques sur la santé humaine.

L'efficacité du yogourt au lait de vache contenant *L. johnsonii* et du yaourt au lait de brebis contenant *L. bulgaricus* et *S. thermophilus* a été évalué dans un modèle de mucosité induite par le MTX chez le rat. Il a été démontré que les deux types de yogourt réduisaient la perméabilité intestinale, ce qui les a révélés utiles pour restaurer la fonction barrière intestinale (CARVALHO, 2017).

7.4 Application industrielle

Les LAB sont un groupe de micro-organismes ayant une longue histoire dans les processus industriels de fermentation alimentaire, et outre leur fonction d'agents de biocontrôle et de bioconservateurs, de nombreux LAB fonctionnent également comme probiotiques, où ils peuvent améliorer la santé digestive des animaux et des humains (LINDGREN et DOBROGOSZ, 1990 ; HOLZAPFEL et WOOD, 2014).

En plus, de la production d'acide lactique, les LAB sont également des candidats attrayants pour la synthèse d'autres produits tels que, les polyalcanoates, les édulcorants et les exopolysaccharides (TARRARAN et MAZZOLI, 2018).

Parmi les propriétés fonctionnelles des différentes cultures starters de LAB il y'a l'activité antioxydante, des composés antimicrobiens, la dégradation des composés antinutritionnels, la production de peptides, l'acide polylactique et l'effet probiotique

(**RATTANACHAIKUNSOPON et PHUMKHACHORN, 2010 ; ZHANG *et al.*, 2018**) ; ces propriétés jouent un rôle majeur dans le choix de la culture de départ pour la production d'un aliment fonctionnel, mais pourraient également être pertinentes pour l'alimentation animale (**HANSEN, 2002 ; KAVITEKE *et al.*, 2018**).

Conformément à (**LÜBECK M et LÜBECK P.S, 2019**), les bactéries lactiques ont de nombreuses applications industrielles comme producteurs d'acide lactique, comme probiotiques, comme agents de biocontrôle et comme bio conservateurs. Les LAB jouent un rôle important dans la fermentation des aliments et dans les processus d'ensilage où les cultures telles que l'herbe, les légumineuses, les céréales ou le maïs sont fermentées pour produire des aliments très humides qui peuvent être stockés et utilisés pour nourrir le bétail (bovins), les (ovins) moutons ou autres ruminants de même, leur caractéristiques uniques les rendent particulièrement adaptés à la fermentation de jus vert pour la production d'acide lactique et pour la récupération des protéines.

Cependant, les membres du genre *Lactococcus* sont largement utilisés dans l'industrie laitière en raison de leur capacité à produire de l'acide lactique à partir du lactose dans le lait cru fermenté spontanément à 20 à 30 °C (**TEUBER, 1995**).

En plus, de l'effet bénéfique direct des LAB, les molécules bioactives produites par ces dernières et d'autres sources microbiennes, constituent des composants inhérents pour le microbiote humain et animal, notamment les bactériocines.

Introduction

La production de substances antagonistes par des organismes vivants est une caractéristique conservée tout au long de l'évolution, ce qui constitue un mécanisme de défense efficace ancestral.

D'après (OSAMA, 2019), les peptides antimicrobiens (AMP) sont en général, des peptides de charge positifs trouvés dans un large éventail d'organismes vivants ; doués d'une capacité à tuer les bactéries pathogènes et non pathogènes, les champignons, y compris virus et les cellules transformées ou cancéreuses avec divers mécanismes, tels que : la déstabilisation de la membrane de la cellule hôte, la formation de canaux transmembranaire, ou l'amélioration de l'immunité de l'hôte en agissant comme immunomodulateurs.

Ils ont été décrits pour la première fois en 1925, mais l'intérêt pour leur production, leur fonction et leurs applications possibles dans le domaine médical n'a augmenté que récemment ; divers types ont été représentés par la taille, le mécanisme inhibiteur, leurs cellules cibles, leurs spectre d'action, l'interaction avec le système immunitaire et leurs caractéristiques biochimiques (LORIS *et al.*, 2019).

Les bactériocines (AMP), sont produites à la fois par des bactéries Gram-positives et Gram-négatives et par certaines archées, sont synthétisés par les ribosomes et influencés par des facteurs environnementaux. De nombreuses bactériocines sont produites par le phylum Firmicutes, d'autres appartiennent aux bacteroidetes et le pourcentage restant au phylum Actinobactéries. En particulier, au sein de l'embranchement Firmicutes, l'intérêt majeur a porté sur les AMPs dérivées des bactéries lactiques à Gram positif couramment utilisées dans la fermentation alimentaire et bien représentées tant dans les voies gastro-intestinales, respiratoires et génitales humaines (LORIS *et al.*, 2019).

(SHIH-CHUN *et al.*, 2014), les décrivent comme une sorte de peptides antimicrobiens à synthèse ribosomique, issues des bactéries, qui tuent ou inhibent les souches bactériennes étroitement apparentées ou non apparentées aux souches productrices, sans endommager ces dernières, et ceci grâce à l'intervention de protéines immunitaires spécifiques. En raison de leur caractéristiques spécifiques (diversité de structure, de fonction, de ressources naturelles, et stabilité à la chaleur) ; de nombreuses études récentes se concentrent sur la purification et l'identification des bactériocines destinées à la technologie alimentaire et pharmaceutique ; Visant à prolonger la durée de conservation des aliments, à traiter les maladies pathogènes, guérir les cancers et préserver la santé humaine.

Par conséquent, elles peuvent devenir des candidats-médicaments potentiels pour remplacer les antibiotiques, et combattre de multiples agents pathogènes résistants aux antibiotiques dans un proche avenir.

1. Définition des bactériocines

Les bactériocines sont de peptides ou protéines antimicrobiens synthétisés par voie ribosomique et sécrétées par des bactéries dans le milieu extracellulaire et ayant un effet bactéricide ou bactériostatique sur des espèces taxonomiquement proches de la souche qui les produit, cette dernière étant elle-même immunisée à l'égard de sa propre bactériocine (DACOSTA, 2000).

2. Classifications des bactériocines

Les bactériocines peuvent être classées en fonction de leur masse moléculaire, de leur structure chimique, de leur stabilité thermique et enzymatique, de leur mode d'action, de leur activité antimicrobienne ou de la présence de résidus d'acides aminés modifiés après traduction (JIONG ZOU, 2017).

Klaenhammer, a proposé de classer les bactériocines en quatre principales classes en se basant sur leurs structures primaires et tridimensionnelles et sur leurs modes d'action (TAALE, 2016).

La Classe I, sont de petits peptides membranaires (<5 kDa) appelés lantibiotiques. La classe II, sont de petits peptides (<10 kDa) non antibiotiques thermostables qui peuvent être regroupés en trois sous-classes : la sous-classe IIa comprend des peptides *Listeria*-actifs qui contiennent la séquence consensus (Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys) ; la sous-classe IIb comprend des complexes en portions constitués de deux peptides pour activité et la sous-classe IIc comprend les peptides thiol-activés nécessitant des résidus cystéiques réduits. La classe III comprend de grosses bactériocines (>30 kDa) thermolabiles. La classe IV comprend des protéines complexes composées d'une ou plusieurs molécules chimiques (JIONG ZOU, 2017).

En 2005, avec la découverte de nouvelles bactériocines ayant une structure cyclique, une nouvelle classification des bactériocines proposée par (COTTER *et al.*, 2005) ; regroupe les bactériocines en trois classes : les lantibiotiques, les non-lantibiotiques et les bactériolysines. En effet, Cotter et ces collaborateurs ont subdivisé les lantibiotiques en pediocin-like, deux peptides, bactériocines circulaires et des bactériocines non modifiées et

non « pediocin-like ». Ils ne prennent pas en compte les peptides de haut poids moléculaires thermolabiles car selon eux ils seraient plutôt considérés comme enzymes à cause de leur potentielle activité enzymatique (TAALE, 2016).

Une nouvelle classification des bactériocines proposée par heng et tagg (2006) est considéré comme universelle car elle prend en compte les bactériocines produites par les bactéries à Gram positive et les bactéries à Gram négatives. Cette classification divise les bactériocines en quatre classes avec de sous-groupes. On distingue la classe des lantibiotiques, la classe des peptides non-modifiés, la classe des protéines de haut poids moléculaire et la classe des peptides cycliques (TAALE, 2016). La figure 04 a été proposée en se référant aux travaux de klaenhammer, de cotter et de heng et tagg.

Une autre méthode de classification, décrite par Alvarez-sieiro, divise les bactériocines en trois groupes (ALVAREZ SIEIRO 2016). Les classes I et II comprennent les petits peptides thermostables (<10 kDa). Les bactériocines de classe I sont modifiées, tandis que les bactériocines de classe II ne sont pas modifiées. La classe III comprend les grandes (>10 kDa) bactériocines thermolabiles (**figure 05**).

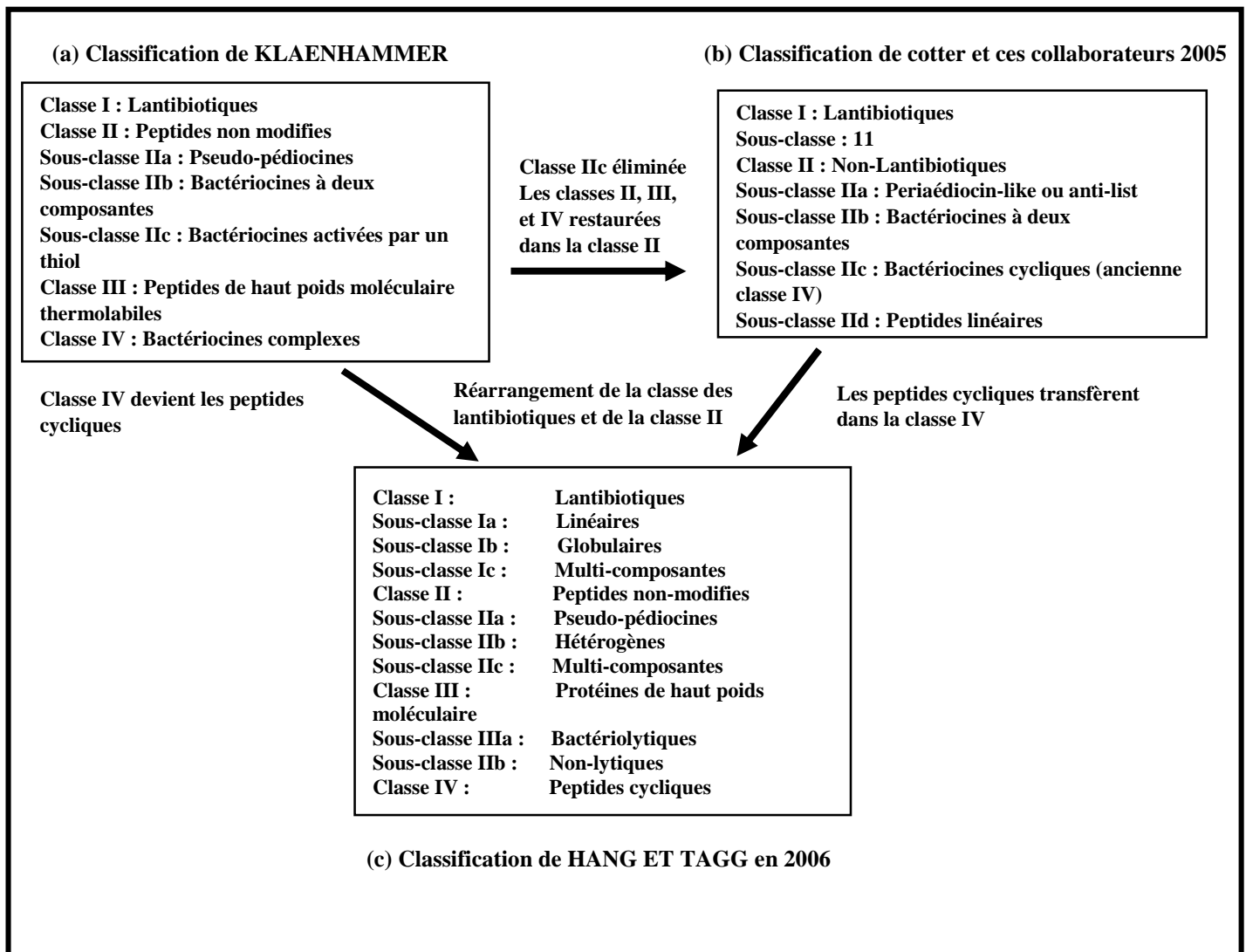


Figure 04 : Classification universelle des bactériocines (TAALE, 2016).

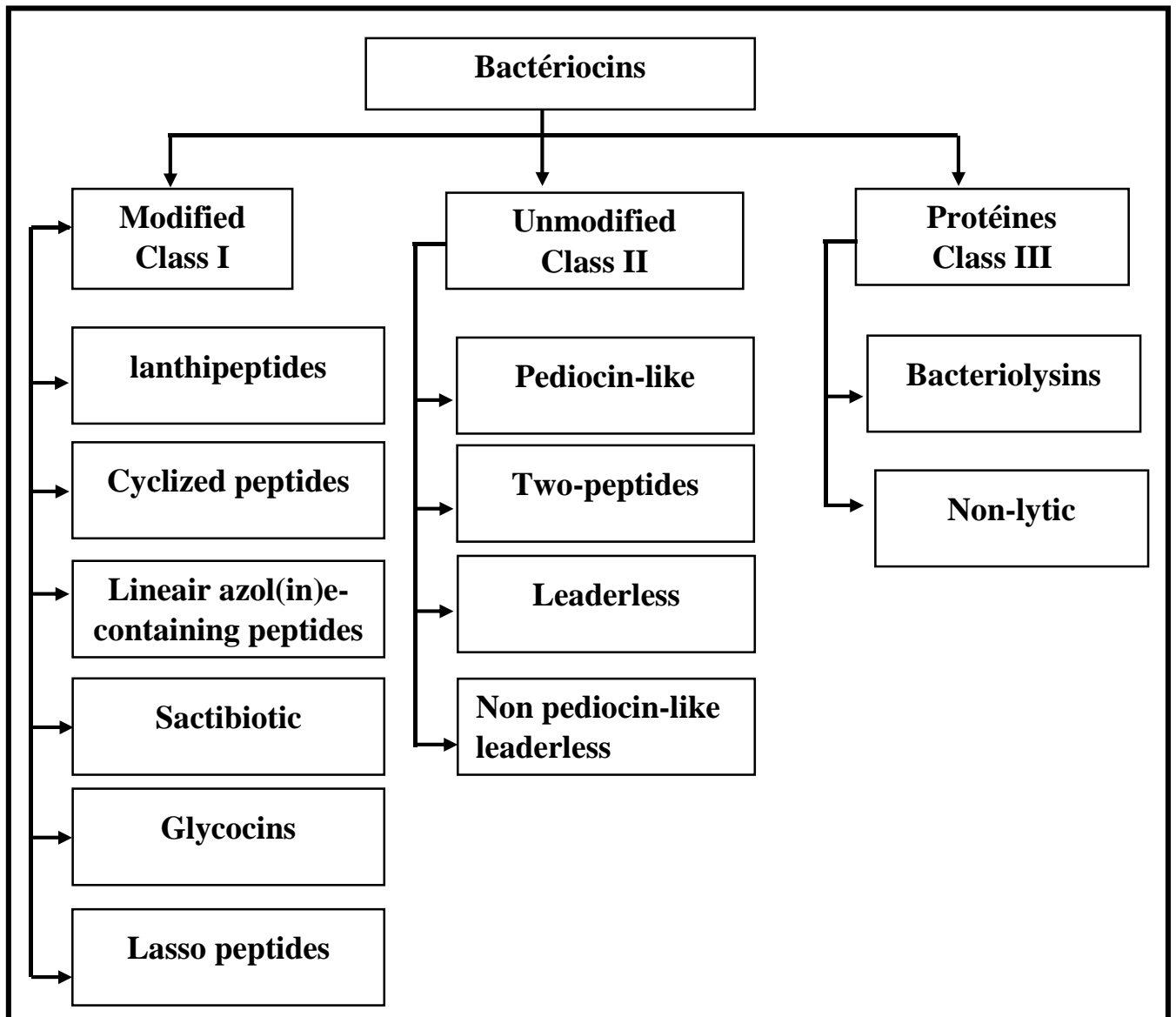


Figure 05 : Système de classification des bactériocines baser sur les travaux d'Alvarez-sieiro et ces collaborateurs en 2016 (JIONG ZOU, 2017).

Selon (ALEXEY *et al.*, 2018), la première classe comprend les bactériocines qui sont soumises à des modifications enzymatiques pendant la biosynthèse, car le peptide mature contient des acides aminés inhabituels et des résidus glycosylés et peut subir une cyclisation.

Ils ajoutent, que ses peptides ont un faible poids moléculaire dont les modifications permettent de les diviser en six sous-classes.

Aussi, la deuxième catégorie représentée par les bactériocines produites sans modifications supplémentaires pendant la biosynthèse. Ce groupe est moins diversifié et comprend trois sous-classes de bactériocines ayant une masse moléculaire de moins de 10 kDa.

En outre, le troisième groupe est le moins diversifié, représenté par des protéines ayant généralement une activité enzymatique et pesant plus de 20 kDa.

Récemment en 2017, Varella-coelho et ses collaborateurs ont classé les bactériocines en cinq groupes selon leur masse et leur structure chimique (JIONG ZOU *et al.*, 2018) :

A savoir, la classe I comprend les petits peptides linéaires (<5 kDa) contenant des acides aminés post-traductionnellement modifiés, y compris ceux avec des ponts thioéthers formés entre les groupes thiol des résidus cystéine et le carbone β des autres résidus d'acides aminés. La classe II comprend de petits (<10 kDa) peptides linéaires sans acides aminés modifiés après traduction.

La classe III comprend de grandes protéines (>10 kDa).

La classe IV comprend de petits (<10 kDa) peptides circulaires contenant une liaison amide entre les terminaisons N et C, mais pas d'acides aminés modifiés après traduction.

La classe V comprend de petits (<5 kDa) peptides circulaires ou linéaires contenant des acides aminés largement modifiés post-traductionnelle et des ponts thioéthers formés entre les groupes thiol des résidus cystéine et le carbone α des autres résidus d'acides aminés.

Tableau I : Quelques exemples de bactériocines avec leur classe d'appartenance (TAALE, 2016).

Classe	Sous-classe	Propriétés	Exemples
I-Lantibiotiques ou peptides modifiés	Ia-Linéaires	Modifiés, thermostables, 21-38 acides aminés, poids moléculaires <15KDa	Nisine, lacticine 481, Plantaricine C
	Ib-Globulaires	Cationique, forment des pores	Mersacidine
	Ic-Multicomposantes	Inhibent les enzymes, non cationique Deux peptides	Let3147, Plantaricine W
II-Peptides non modifiés	IIa- Pédiocine-like	Thermostable, 30-60 acides aminés, <15KDa	Pédiocine PAI/AcH
	IIb-Divers	Anti-listeria, YGNGV consensus	Entéroicine A, Sakacine A
	IIc-Multicomposantes	Non pediocin-like Deux peptides	Entéroicine B, L50, Carnobacteriocine A Lactocine G Plantaricine S Lactacine F
III-Protéines de poids moléculaire élevé	IIIa-Bactériolytique	Thermolabile >30KDa Cible la membrane plasmique	Entérolysine A, Len972
	IIIb-Non lytique	Cible le cytosol	Colicine E2-E9
IV-Peptides circulaires		Thermostable, liaison peptidique queue de la tête	AS-48, Grassercine A, Acidocine B

3. Différents types des bactériocines

Selon (ALEXEY *et al.*, 2018), les bactériocines de bactéries Gram-positives sont classées comme suite :

Les bactériocines à modification post-traductionnelle représentent le groupe le plus diversifié de bactériocines. À savoir, les peptides contenant de la lanthionine et de la méthyllanthionine, les peptides cycliques, les structures contenant des hétérocycles, du soufre à α -carbonés et celles contenant des résidus glycosylés.

On distingue les lantibiotiques, les peptides ne subissant pas de modifications post-traductionnelles, les bactériolysines, les peptides complexes, les microcines, les colicines et les archéocines. Chaque groupe de bactériocines est subdivisé en sous-groupe ou sous-classe.

3.1 Bactériocines de classe I

Cette classe regroupe tous les peptides antimicrobiens thermorésistants subissant des modifications post-traductionnelles et contenant certains acides aminés inhabituels. Elle se subdivise en trois (03) sous-classes (les lantibiotiques, les labyrinthopeptines et les sactibiotiques). Les lantibiotiques ou bactériocines de la sous-classe Ia sont de petits peptides (≤ 5 kDa ; de 19 à 28 acides aminés) (TAALE, 2016).

D'après (ALEXEY *et al.*, 2018), ces peptides peuvent être des molécules linéaires, globulaires ou à deux composants ; sont généralement amphiphiles chargées positivement, douées d'une capacité à former des pores dans les membranes biologiques.

Le lantibiotique de type A le mieux caractérisé est la nisine synthétisée par *Lactococcus lactis*. Cette dernière existe sous deux formes (nisine A et nisine Z) qui se distinguent seulement par le fait que le résidu occupant la position 27 est de l'histidine pour la nisine A et de l'acide aspartique pour la nisine Z (DACOSTA, 2000 ; CHEIGH et PYUN, 2005).

Aux concentrations micromolaires, la nisine lantibiotique interagit et s'insère dans les phospholipides chargés négativement des membranes biologiques. Dans ce cas, l'extrémité C-terminale de la molécule de nisine s'insère dans la phase hydrophobe de la membrane bactérienne, tandis que l'extrémité N-terminale reste près de la surface (ALEXEY *et al.*, 2018). L'oligomérisation de la molécule de nisine entraîne un amincissement et une déstabilisation de la membrane (PRINCE *et al.*, 2016).

Les labyrinthopeptines renfermant représentent la sous-classe Ib contenant un acide aminé inhabituel, la labionine et n'ont été découvertes que très récemment (ALEXEY *et al.*, 2018). Les labyrinthopeptines A1 et A2 produites par *Actinomadura namibiensis* sont les plus connues. De plus leur structure montre des ponts disulfures et des ponts méthyles entre les labionines chez A2, ce qui leur permet d'avoir des actions inhibitrices à l'encontre de *Staphylococcus*, de *Streptococcus*, du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et du virus de l'herpès (HSV) (FERNANDEZ, 2014).

Suivant (ALEXEY *et al.*, 2018) ; Les sactibiotiques représentent la sous-classe des bactériocines post-traductionnellement modifiées. Aujourd'hui, quatre membres de ce groupe ont été révélés la subtilosine A, la thurincine H, la propionicine F et la thuricine CD (MATHUR *et al.*, 2017) ; mais le sactibiotique typique est la subtilosine A, qui constitue un peptide cyclique de 35 acides aminés produit par *Bacillus sp.* Et caractérisé par trois ponts inter-résidus et présentant une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives à des concentrations micromolaires (KAWULKA *et al.*, 2004).

3.2 Bactériocines de classe II

Les bactériocines de la classe II forment un groupe hétérogène de peptides de taille inférieure à 10kDa, ne possèdent que les acides aminés standards et ne subissent pas de modifications post-traductionnelles (**FERNANDEZ, 2014**).

Selon (**ALEXEY et al., 2018**), les bactériocines de type pédiocine (sous classe IIa) sont des peptides composés d'un domaine N-terminal hydrophile et cationique, d'une hélice centrale amphiphile α - et d'un domaine C-terminal hydrophobe ou amphiphile ; elles sont thermostables avec une séquence d'acides aminés consensus (YGNGV) très conservée, la molécule est structurellement stabilisée par un ou deux ponts disulfure. Le mode d'action de ces peptides est lié à la rupture de l'intégrité de la membrane par la formation de pores sélectifs d'ions.

D'après **TAALE, (2016)**, les Bactériocines à deux composantes non-modifiées (sous classe IIb), sont des peptides ayant entre 30 et 50 acides aminés et sont synthétisés sous la forme d'un précurseur dont le peptide leader sera clivé au moment de l'exportation de la bactériocine. Ils sont cationiques, amphiphiles ou hydrophobes, et actifs au niveau des membranes bactériennes.

Les bactériocines de cette sous classe nécessitent la présence de deux ou de plusieurs peptides pour accomplir leur fonction. Deux types peuvent être distingués : le type E (Enhancing) où la fonction d'un des deux peptides est d'augmenter l'activité de l'autre et le type S (Synergy) où les deux peptides sont complémentaires (**DRIDER et al., 2006 ; DORTU et THONART, 2009**).

La lactococcine G produite par *Lactococcus lactis*, la thermophiline 13 produite *Streptococcus thermophilus*, l'enterocine L50 produite par *Enterococcus faecium* et la plantacine C11 produite par *Lactobacillus plantarum* font parties de cette sous classe (**DIEP et al., 2003**).

Les bactériocines circulaires forment la sous- classe IIc et sont aussi bien produites par des bactéries lactiques que par d'autres types de bactéries (**FERNANDEZ, 2014**). Plusieurs bactériocines ont été reportées comme étant des bactériocines circulaires car leurs parties N-terminale et C-terminale sont liées par une liaison covalente ; elles ont la particularité d'être résistantes à la chaleur et à de nombreuses protéases (**TAALE, 2016**).

Peptides linéaires non-modifiés ne ressemblant pas à la pédiocine (sous-classe IId). Selon (**TAALE , 2016**) : peuvent être : des bactériocines à voie sec-dépendantes, car elles possèdent en N-terminal un peptide signal permettant de traverser la membrane cytoplasmique par la voie sec-dépendante exemple (lactococcine 972) ; des bactériocines sans leader synthétisés sans séquence leader N-terminale et normalement impliqués dans leur transport

extracellulaire, comme exemple (lacticine Q) qui est capable de détruire le potentiel membranaire sans avoir besoin d'un récepteur spécifique en formant des pores responsables des fuites des composés intercellulaires. Enfin, des bactériocines particulières comme la lactococcine A.

3.3 Bactériocines de classe III

(HENG *et al.*, 2007) : Les molécules de cette classe sont des protéines d'une masse moléculaire supérieure à 30 KDa, elles sont thermolabiles et ne possèdent pas d'acides aminés modifiés. Divisées en trois sous classe :

La Sous classe IIIa (bactériolysines) : La zoocine A produite par *Streptococcus equi ssp zooepidermicus*, la stellalysin produite par *Streptococcus constellatus sp contellatus*, la millericine B produite par *Streptococcus milleri* et l'enterolyine A produite par *Enterococcus faecalis* font partie de cette sous classe ; ces protéines à activité antimicrobienne sont des enzymes lytiques qui neutralisent la cellule cible par une lyse complète de la cellule bactérienne.

Sous classe IIIb (bactériocines non lytiques) : les bactériocines de cette sous classe agissent à l'opposé de la sous classe IIIa par dissipation de la force proton motrice et elles ne manifestent aucun pouvoir lytique vis-à-vis de la cellule cible. L'helvecine J produite par *Lactobacillus helveticus* et la Streptococcine A-M57 produite par *Streptococcus pyogenes* font partie de cette sous classe (HENG *et al.*, 2007).

3.4 Bactériocines de classe IV

Les bactériocines de cette classe sont caractérisées par une structure cyclique, elles sont synthétisées par voie ribosomales et subissent des modifications post-traductionnelle comme la création d'une liaison entre le premier et le dernier acide aminé. La bactériocine type de cette classe est l'enterocine AS-48 produite par *Enterococcus faecalis ssp liquefaciens S 48*. D'autres bactériocines à structure cyclique font également partie de cette classe comme la reuterine 6 produite par *Lactobacillus reuteri* (HENG *et al.*, 2007).

Les bactériocines de bactéries Gram-négatives englobent les archéocines, les colicines et les microcines. Les halocines produites par les halobactéries (archées) sont les seules bactériocines reconnues jusqu'à présent. L'halocine S8 est la première archaéocine caractérisée. Elle contient 36 acides aminés codés par un méga-plasmide et est extrêmement résistante au sel, à des températures extrêmes et aux solvants organiques pendant de longue durée. La concentration des halocines produites augmente au cours de la transition de la phase

exponentielle vers la phase stationnaire. La stabilité des halocines peut expliquer la faible diversité des espèces dans les environnements hypersalés fréquentés par les halobactéries (VERMA *et al.*, 2014).

Les colicines ; qui représentent des protéines de poids moléculaire élevé synthétisées par les bactéries Gram négatif sous l'influence de facteurs de stress sont considérées comme des colicines (CASCALES *et al.*, 2007). Selon (TAALE, 2016), deux types sont révélés colicines du groupe A exemple : (colicine E1 à E9, K, N, U et S4) et colicines groupe B (colicines B, D, Ia, M, 5 et 10).

Les microcines sont de petites molécules polypeptidiques (<10 kDa) synthétisées par des bactéries Gram-négatives (ALEXEY *et al.*, 2018) ; produites dans des conditions de stress nutritif, et regroupés en deux classes I (microcines B17 et J29) et classe II (microcines V, L et 24) (TAALE, 2016).

4. Mécanismes de synthèse des bactériocines propres aux LAB

Différentes protéines sont impliquées dans les processus de biosynthèse et de régulation des bactériocines. Ces dernières sont produites sous forme d'un pré-peptide non biologiquement actif et qui vont subir plusieurs modifications post-traductionnelles pour aboutir aux peptides actifs. La régulation de la production de la bactériocine se fait selon le mécanisme du Quorum Sensing (DORTU et THONART, 2009).

Puisque la majorité des bactériocines produites par les bactéries lactiques, appartiennent aux deux premières classes, un nombre considérables de données existe actuellement aux sujet de leur production, excrétion, mode d'action et facteurs affectant leur production ou activité in vivo ou in situ (DROSINOS *et al.*, 2008).

4.1 Synthèse des lantibiotiques

La production des lantibiotiques est un processus qui nécessite plusieurs étapes : la formation du pré-lantibiotique, la déshydratation et la formation des ponts intra chaines, le clivage du peptide leader et sa sécrétion (MORISSET *et al.*, 2005).

Une fois produit, le pré-peptide contenant une séquence N-terminale de 23 à 30 acides aminés sera clivé lors du transport à l'extérieur de la cellule .Ce dernier va d'abord subir une déshydratation de la sérine et la thréonine pour former la Dha et Dhb (par l'intervention d'une déshydrogénase), puis une cyclase intervient pour former les liens thioéthers, entre ses résidus déshydratés et les cystéines environnantes, donnant aux lantibiotiques une structure cyclique. Après ces modifications ce peptide sera clivé lors de son excrétion par une protéase ou le

domaine protéasique de l'ABC transporteur (ATP-bending cassette transporteur) aboutissant ainsi au peptide biologiquement actif (CHEN et HOOVER, 2003 ; DORTU et THONART, 2009).

En effet, la nisine produite par *Lactococcus lactis* constitue le mode le mieux caractérisé, du fait de ces diverses applications notamment comme bioconservateur des denrées alimentaires, c'est pourquoi son mécanisme de synthèse et régulation est bien élucidé (figure 06).

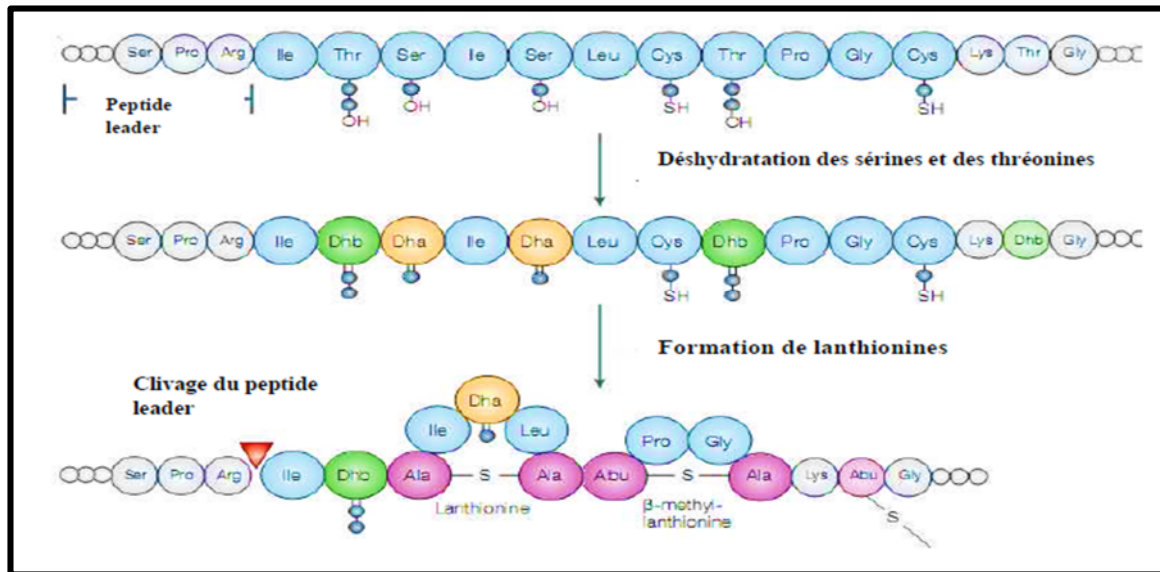


Figure 06 : Schéma de la modification post-traductionnelles de la pré-nisine (COOTER *et al.*, 2005).

4.2 Synthèse des bactériocines de classe II :

Les bactériocines de classe II sont des peptides qui sont synthétisés presque sans modification post-traductionnelle des résidus d'acides aminés, la seule modification post-traductionnelle est la formation de deux ponts disulfures nécessaires à leur activité (DRIDER *et al.*, 2006).

Les gènes codant pour la biosynthèse des bactériocines sont généralement organisés en trois opérons, le premier comporte les gènes de structure et d'immunité, le second contient les gènes codant pour l'exportation de la bactériocine, le troisième codant pour le système de régulation à trois composants (DIEP et NES, 2003 ; DRIDER *et al.*, 2006). De plus, les bactériocines de classe IIa sont également produites sous la forme d'un pré-peptide non biologiquement actif. La séquence N-terminal du pré-peptide (séquence signal), très conservée et contenant une vingtaine d'acides aminés, sera clivée du côté C-terminal d'un doublet GG par le domaine protéasique de l'ABC transporteur au moment de l'excrétion pour donner le peptide biologiquement actif (DORTU et THONART, 2009).

5. Mécanismes de régulation des bactériocines

L'ensemble des déterminants génétiques responsables de la production d'une bactériocine sont en général trouvés au voisinage les uns des autres groupés en une ou plusieurs unités transcriptionnelles. Elles sont portées par des éléments génétiques mobiles et exceptionnellement localisées sur le chromosome bactérien (CENATIEMPO, 1996). Différentes protéines sont impliquées dans la production des bactériocines qui est souvent contrôlée par un mécanisme à deux composants basé sur le *Quorum Sensing* (figure 07).

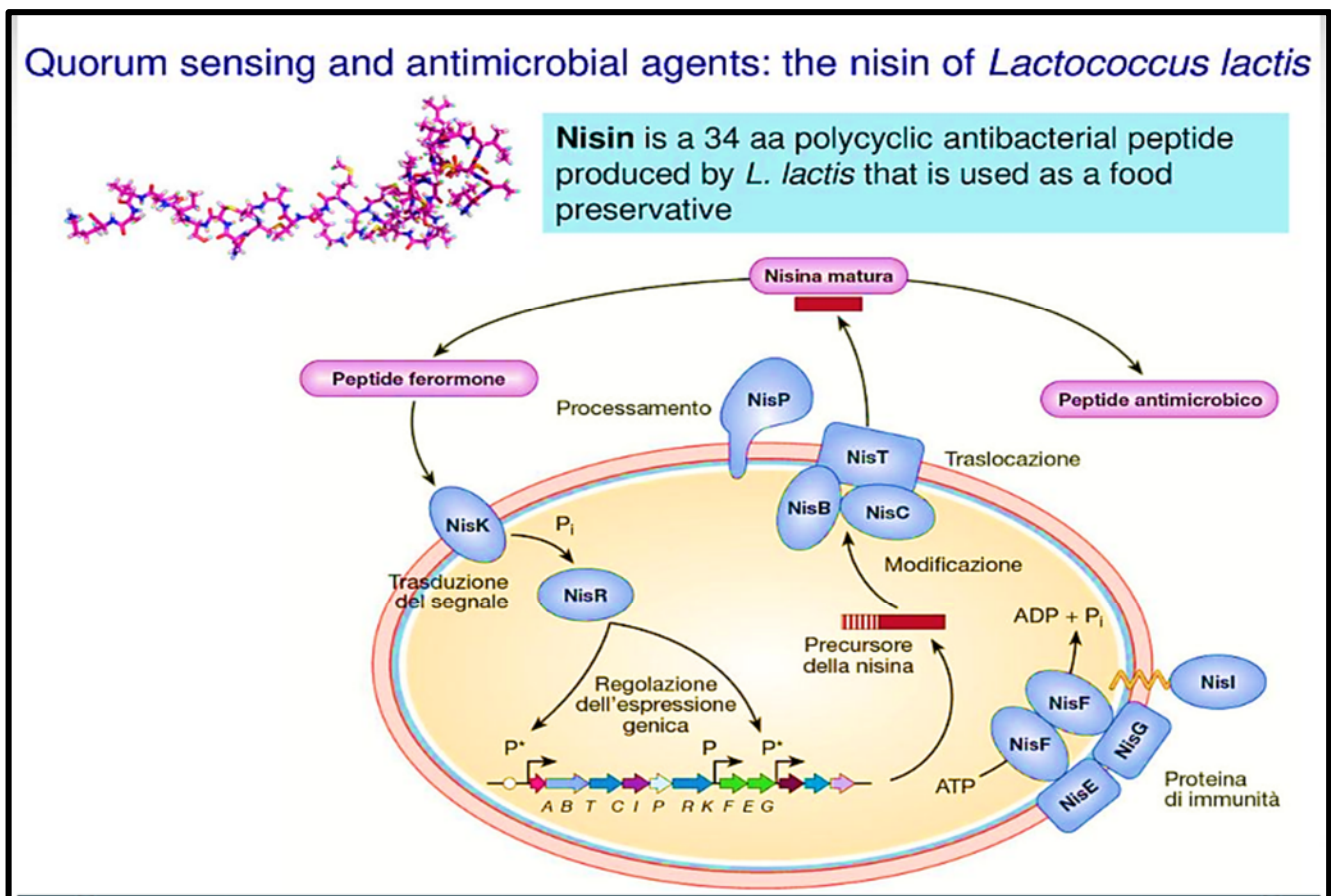


Figure 07 : Mécanisme du Quorum Sensing : Model nisine de *Lactococcus lactis*

(Source : <https://slideplayer.com/slide/13841517/>).

Lors de ce mécanisme, l'expression des gènes dépend de la densité de la population bactérienne dans le milieu (**DORTU et THONART, 2009**). Cette régulation repose sur la production de peptides phéromones qui peuvent être la bactériocine elle-même mais plus fréquemment un peptide spécifique (**MORRISET *et al.*, 2005**).

À une certaine concentration externe du peptide d'induction, l'histidine kinase transmembranaire est activée, ce qui induit la phosphorylation du régulateur de réponse et l'activation de l'expression des gènes de structure, d'immunité et de transport, on parle alors d'une autorégulation (**EIJSINK *et al.*, 2002 ; DRIDER *et al.*, 2006**).

6. Mode d'action des bactériocines

D'après (**DROSINOS *et al.*, 2009**), le mode d'action des bactériocines est caractérisé par deux phases distinctes :

- **Phase a** : Adsorption de la bactériocine sur les récepteurs situés sur la paroi cellulaire des souches sensibles : cette phase est réversible et éliminatrice de la bactériocine (par exemple présence de protéases) maintient la structure de la membrane intacte sans dommage des cellules bactériennes.
- **Phase b** : Dénaturation de la membrane cytoplasmique : elle est irréversible et les dommages entraînés sont caractéristiques pour chaque bactériocine (formation de pores, action lytique ou inhibition de synthèse de composants cellulaires importants).

L'activité antimicrobienne des bactériocines des bactéries lactiques s'exerce essentiellement par deux principaux mécanismes : formation de pores à travers la membrane cytoplasmique et inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituant principal de la paroi des bactéries Gram positif (**ABEE, 1995 ; CHEN et HOOVER, 2003**).

6.1 Classe I (les lantibiotiques)

Les lantibiotiques agissent en se liant à un récepteur transmembranaire de la cellule cible entraînant la formation de pores ; ce qui induit la perte du potentiel électrique et du gradient pH transmembranaire (**WIEDEMANN *et al.*, 2006 ; KUIPERS *et al.*, 2011**).

6.2 Classe II

Le mode d'action des bactériocines de la sous-classe IIa réside dans l'induction de la membrane par liaison au feuillet β de la cellule cible conduisant à la dissipation de la force proton motrice et à la fuite de l'ATP intracellulaire à cause de la formation de pores membranaires (**NISSEN-MEYER *et al.*, 2009 ; KJOS *et al.*, 2010**).

Les bactériocines de la sous-classe IIb agissent par perméabilisation de la membrane de la cellule cible provoquant ainsi la fuite des composés intracellulaires tels que les ions

monovalents (cas des plantaricines E/F et J/K), des cations monovalents (cas de la Lactococcine G) par formation de pores (NISSEN-MEYER *et al.*, 2011).

Quant aux bactériocines de la sous-classe IIc, elles induisent la perméabilisation des membranes bactériennes et détruisent la force proton-motrice. Leur cyclisation permet leur stabilisation et est nécessaire à l'expression de leur activité biologique (NISSEN-MEYER *et al.*, 2009).

6.3 Classe III

Peu d'études sur le mode d'action des bactériocines de classe III ont été publiées (MORISSET *et al.*, 2005). Cependant, leur mode diffère complètement des autres classes. En effet, l'entérolysine A, la zoocine A et la milléricine B agissent par l'hydrolyse des liaisons peptidiques des peptidoglycanes des cellules cibles. La zoocine A, à un spectre d'action étroit alors que l'entérolysine A et la milléricine B ont un spectre d'action large (DORTU et THONARD, 2009).

La figure 08, montre le mécanisme d'action de la Sakacine, la Pédiocine, la Nisine et la Lysostaphine qui sont des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives.

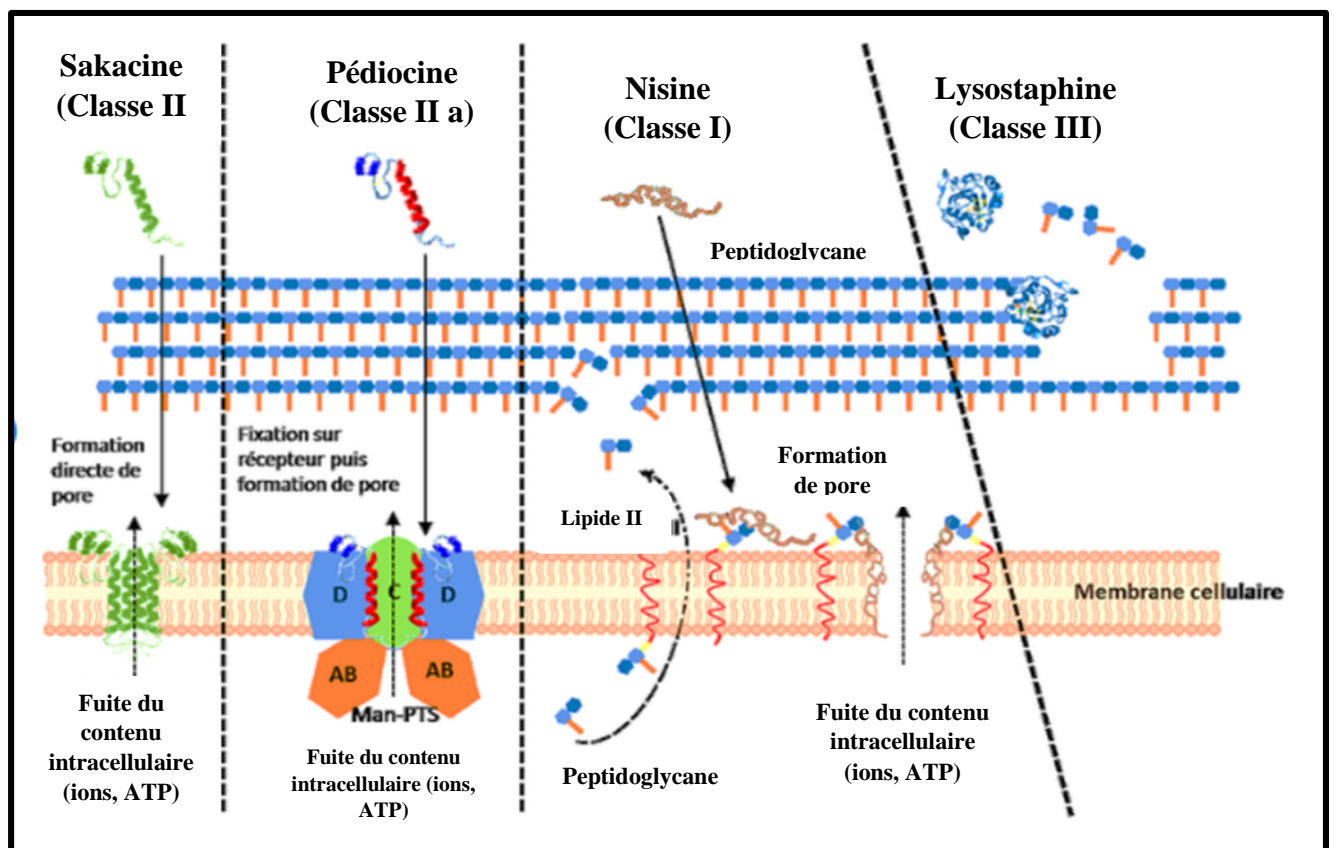


Figure 08 : Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives (FERNANDEZ, 2014).

La sakacine, une bactériocine de classe IIa, agit directement au niveau de la membrane interne en formant un pore conduisant à la mort de la bactérie cible. La pédiocine PA-1, appartenant aussi à la classe IIa, se fixe sur l'unité D du mannose phosphotransférase (enzyme transmembranaire multimérique). Elle s'internalise et force le canal à rester ouvert, conduisant à la fuite du contenu intracellulaire et à la mort de la bactérie cible. La nisine, une bactériocine de classe I, se fixe sur le lipide II transmembranaire impliqué dans la synthèse du peptidoglycane. Elle s'internalise et forme des pores tout en bloquant la fonction du lipide II. Enfin, la Lysostaphine, une bactériocine de classe III agit directement au niveau du peptidoglycane.

Tableau II : Représente le spectre d'activité de quelques bactériocines (de classe I et II) (TAALE, 2016).

Bactériocine	Organisme producteur	Active contre	Référence
Nisine F	<i>Lactococcus lactis</i> F10	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>	(TAALE, 2016)
Pédiocine PA1	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Pediococci</i> , <i>Lactobacilli</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Brochothrix</i> , <i>thermosphacta</i> , <i>propionibacteria</i> <i>Bacilli</i> , <i>Enterococci</i> , <i>Staphylococci</i> , <i>Listeria</i> , <i>Clostridia</i>	(TAALE, 2016)
Lactococcine MMFII	<i>Lactococcus lactis subsp</i> (<i>Streptococcus lactis</i>), <i>lactis</i>	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> , <i>Listeria ivanovii</i>	(TAALE, 2016)
Plantaricine Wαβ	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus spp.</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L.</i> <i>Pentosaceus</i> , <i>Oenococcus oeni</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Listeria</i> <i>innocua</i> , <i>Li. monocytogenes</i> , <i>Propionibacterium</i> <i>freudenreichii</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	(TAALE, 2016)
Labyrinthopeptides (A1 et A2)	<i>Actinomadura</i> <i>Namibien</i>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , virus de l'herpès simple 1.	(NANDEZ, 2014)

Enterocine A	<i>Enterococcus faecium</i> (<i>Streptococcus faecium</i>)	<i>Enterococcus faecalis</i> JCM 5803, <i>Ent. faecalis</i> OU510, <i>Ent. faecium</i> JCM 5804, <i>Ent. faecium</i> TUA 1344L, <i>Ent. hirae</i> ATCC 10541, <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 14917, <i>L. sakei ssp. sakei</i> JCM 1157, <i>Lactococcus lactis ssp. crémoirs</i> ATCC 19257, <i>Bacillus coagulans</i> JCM 2257, <i>B. subtilis</i> JCM 1465, <i>Listeria innocua</i> ATCC 33090, <i>Pediococcus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	(HU <i>et al.</i> , 2010)
Lacticine 3147 A1 & A2	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i>	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Clostridium difficile</i>	(REA <i>et al.</i> , 2011)

7. Applications potentielles des bactériocines

7.1 Application agroalimentaire

Conformément à (ÁLVAREZ *et al.*, 2019), les bactériocines sont incolore, inodore et sans saveur, et par conséquent, ne nuisent pas à l'acceptabilité de l'alimentation si elle est utilisée comme supplément (**figure 09**).

D'un autre côté, elles peuvent facilement être dégradés par les enzymes protéolytiques de l'hôte; donc les fragments de bactériocine ne demeures pas longtemps dans l'hôte ou dans l'environnement, ce qui réduit la possibilité d'interaction de ces fragments dégradés avec les souches cibles et les chances le développement de la résistance.

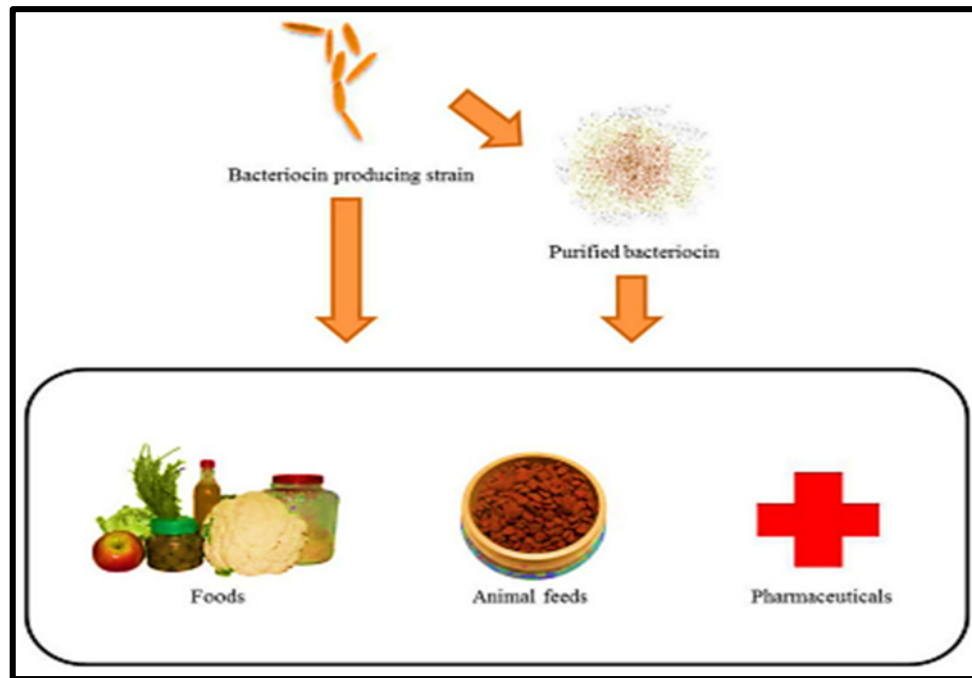


Figure 09 : Les souches productrices de bactériocines, les bactériocines purifiées peuvent être ajoutés aux aliments, aux animaux et aux médicaments (ÁLVAREZ *et al.*, 2019).

Si les souches productrices de bactériocines sont appliquées comme culture starter ou co-culture dans les aliments, elles peuvent prolonger la conservation des aliments. Les probiotiques produits par les bactériocines peuvent également équilibrer les bactéries dans le tube digestif pour réduire les maladies gastro-intestinales. Les bactériocines purifiées peuvent être ajoutées directement aux aliments comme agent de conservation naturel. Aussi, ajoutées à l'alimentation animale comme additif anti-pathogène pour protéger le bétail contre les dommages causés par les microorganismes nocifs. Ces peptides antimicrobiens (AMP) utilisés en médecine, peuvent améliorer la qualité de la vie humaine. Ils ont le potentiel de remplacer les antibiotiques comme médicaments antibactériens et sont de nouveaux médicaments anticancéreux (SHIH-CHUN *et al.*, 2014).

En effet, l'expérience menée par KIM N-N et ces collaborateurs (2019), démontre que la bactériocine dérivé de Brevis DF01 a fortement inhibé la formation de biofilms d'*E. coli* et de *Salmonella Typhimurium*, renforçant son utilisation prometteuse comme bioconserveur d'aliments.

A vrai dire, la bactériocine pédiocine PA-1 produite à partir de *Pediococcus acidilactici* est également disponible sur le marché sous le nom d'Alta® 2341 qui inhibe la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les produits carnés (FIELD *et al.*, 2018).

Conformément à (TASLEEM *et al.*, 2019) le concept de la technologie barrière a été développé ; consistant à l'utilisation de barrières combinées pour établir un effet antimicrobien, additif, et parfois synergique, améliorant ainsi la sécurité et la qualité sensorielle des aliments.

Démontrant que les bactériocines combinées à cette technologie peuvent constituer une alternative aux conservateurs chimiques dans les techniques de conservation.

Finalement, la technologie d'encapsulation des bactériocines a conduit au développement de nouveaux emballages antimicrobiens sans aucune modification aux composants alimentaires (CHANDRAKASAN *et al.*, 2019).

7.2 Application thérapeutique et pharmaceutique

(LORIS *et al.*, 2019), ont mis en revue, les propriétés anticancéreuses de plusieurs bactériocines : la colicine A et la colicine E1 qui ont révélé une activité inhibitrice contre la croissance de onze lignées différentes de cellules tumorales ; la colicine D et la colicine E2 ont montré un effet inhibiteur contre les cellules leucémiques murines P388 et la colicine E3 a supprimé la transformation maligne d'une lignée de monoblastes de poulet. Enfin, chez la souris, la nisine s'est révélée efficace pour contrôler le carcinome épidermoïde de la tête et du cou et le cancer de la bouche ; ayant comme résultat, la réduction des volumes tumoraux par l'augmentation de l'apoptose cellulaire.

Les interactions synergiques de l'antibiotique nisine et bactériocine de classe IIa, pédiocine PA-1, et l'antibiotique polymyxine E a permis l'inhibition de la poly myxine-résistante *E. coli*, pédiocine PA-1 résistant *L. monocytogenes* et nisine résistant *L. monocytogenes* variantes (NAGHMOUCHI *et al.*, 2011).

Les études réalisées par MATHUR et ces collaborateurs (2017) révèlent l'intérêt thérapeutique de la combinaison bactériocines avec des antibiotiques, des lysines de phage et d'autres antimicrobiens / facteurs de stress tels que les huiles essentielles végétales d'origine naturelle, en vue de cibler les agents pathogènes cliniques / vétérinaires, les agents pathogènes impliqués en biofilm, et les agents pathogènes d'origine alimentaire. D'ailleurs l'utilisation la nisine A, et ses dérivés transgéniques nisine 'S29A' et nisine 'M21V' indépendamment et en combinaison avec le carvacrol d'huiles essentielles, trans-cinnamaldéhyde, thymol, ainsi que l'agent de conservation de l'acide citrique, afin d'évaluer l'efficacité de ces combinaisons contre les Gram négatif pathogènes d'origine alimentaire *Escherichia coli* O157 : H7 et *Cronobacter sakazakii*, en effet, la nisine A-carvacrol a inactivé complètement O157 : H7 dans le jus de pomme, et ceci l'orque elles sont conservés à température ambiante. En plus de la réduction

significative de *C. sakazakii* (associer à la contamination du lait maternisé, et impliqué dans les cas d'entérite, de méningite et septicémie).

L'étude de **MESSI PATRIZIA** et ces collaborateurs (2019), prouve que les bactériocines de deux souches *Enterococcus munditii* (bacLP17 et bacLP18) d'origine de fruit de mer, on une forte activité inhibitrice contre les cellules en croissance active de *Listeria monocytogens*, amorçant leur intérêt en aquaculture et leur utilisation en biopréservation des produits à base de Poisson et fruits de mer.

La technologie d'encapsulation dans des polymères naturels ou synthétiques a été exploitée comme une alternative pour protéger les antimicrobiens, améliorant potentiellement leur efficacité et de la stabilité dans les aliments ; l'utilisation efficace de la microencapsulation des LAB avec des matériaux gastro-résistants (alginate, la gélatine, le chitosan, la gomme d'amidons) en industrie pharmaceutique. L'utilisation également des nanofibres et nanoparticules comme un système intelligent de protection et distribution de médicaments antimicrobiens, comme exemple ; la nisine encapsulé dans électrofilée en nanofibres de PLA, a réduit le nombre de cellules bactériennes dans une infection cutanée induite par *S. aureus*, de plus une augmentation du spectre de son activité a été observé grâce au co-filage de nanoparticules d'argent et d'acide 2,3-dihydroxybenzoïque en nanofibres PDLA-PEO. Finalement, la bactériocine subtilosine incorporée dans les nanofibres de PVA a inhibé l'activité du virus (HSV-1).

8. Les facteurs influençant l'activité et la biosynthèse des bactériocines

Plusieurs facteurs peuvent influences l'activité des bactériocines dans les produits alimentaires (**DORTU et THONART, 2009**) :

- L'acidité (pH) peut influencer la solubilité et la stabilité des bactériocines.
- La faible solubilité des bactériocines ayant pour résultat leur diffusion insuffisante et non-homogène dans la masse des aliments.
- L'interaction et l'inactivation des molécules de la bactériocine avec les additifs alimentaires ou des ingrédients.
- Présence de diverses enzymes pouvant dégrader la bactériocine telles que les protéases.
- Divers mécanismes tels que l'oxydation des lipides qui déstabilise les molécules de la bactériocine.
- Les traitements appliqués au produit (comme les traitements thermiques et la température de stockage).

De plus, L'état physiologique de la bactérie productrice et les conditions expérimentales (concentration et pureté de la bactériocine, concentration de la cellule cible et milieu de culture) peuvent influencer l'activité des bactériocines (TAALE, 2016). Ainsi, la combinaison de plusieurs bactériocines permet d'augmenter leur activité et leur spectre d'action (DORTU et THONART, 2009).

Enfin, des études récentes soulignent l'effet de certains facteurs sur la biosynthèse des bactériocines ; tel que, l'amélioration de l'activité inhibitrice de "*L. plantarum J23*" par l'ajout des ions 'Fe²⁺', 'mn²⁺', et l'alcool éthylique suggérant un effet synergique avec les bactériocines de cette souche. En revanche, l'inhibition de son activité par l'addition des ions 'Cu²⁺', 'K⁺', 'Ca²⁺', 'Zn²⁺' (ZHANG *et al.*, 2018a).

9. Les éventuels risques liés à l'application des LAB et leur bactériocines

A ce jour, aucun effet secondaire majeur n'a été relevé lors de l'usage de suppléments de ferments lactiques. Néanmoins, (ÁLVAREZ *et al.*, 2019), ont rapporté que les LAB sont considérés comme naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques et pourraient propager leurs gènes de résistance dans la chaîne alimentaire entre les aliments, les humains, ainsi que dans l'environnement par différents mécanismes. Ainsi, de nombreux cas de conjugaison dans des matrices alimentaires ont été signalés chez une bactérie commensale (*Enterococcus faecalis* et *Lactococcus lactis*) à des souches potentiellement pathogènes (*Listeria spp*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* et *E. coli*) dans le lait fermenté.

Suivant la FAO et l'OMS, il est important de déterminer si les cultures starter ou probiotiques destinées à la consommation humaine ou animale possèdent des gènes de résistance mobiles qui pourraient être transférés à d'autres micro-organismes on effet, Le transfert horizontal de gènes (HGT) impliquant l'échange de gènes entre les différentes bactéries grâce à des éléments d'ADN mobiles, peut constituer un facteur de risque pour la sécurité alimentaire.

Quelques articles ont signalé de faibles niveaux de toxicité liés aux bactériocines. A savoir la diminution des fibroblastes humains (HNF, ATCC CCL-28) due à un traitement de forte concentration (5000-et 1000- AU /ml) d'une bactériocine produite par *Lactococcus sp* (HY 449). La toxicité à dose dépendante de l'entérocytine S37 (propre à *E. faecalis S37*), a été révélée sur les lignées cellulaires Caco-2/TC7 indifférenciées (Cellules d'Adénocarcinome colique humain).

Certains rapports (**DICKS *et al.*, 2017**) ont signalés des propriétés spermicides inattendues de la nisine et la subtilosine de *Bacillus amyloliquefaciens*.

Enfin, l'effet cytotoxique de la pédiocine PA-1 et la nisine sur les cellules rénales du singe Véro et le côlon humain (SVHC).

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée, département de Biochimie-Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Il consiste en l'isolement et l'identification de bactéries lactiques à partir de lait cru, de la région de Tizi-Ouzou et l'étude de leur pouvoir antagoniste vis-à-vis d'une souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* 27853, et 5 souches pathogènes cliniques BLSE qui sont : *Staphylococcus aureus* (MU 50), *Escherichia coli* 15633 et 15836 et *Klebsiella pneumoniae* 15702 et 4856, par la méthode de diffusion en puits.

I. Matériels

I.1 Matériels biologiques

Pour la réalisation de la partie expérimentale, on s'est servi du matériel biologique suivant :

I.1.1 Lait cru

- Deux échantillons de lait cru de vache.

I.1.2 Les souches de références

Les souches test utilisées dans cette étude sont les suivantes :

- **Souches de références**

Pseudomonas aeruginosa (27853)

Souches clinique BLSE (laboratoire de microbiologie et parasitologie CHU Nadir Mohamed Tizi-Ouzou) :

- *Staphylococcus aureus* MU 50
- *Escherichia coli* (15633 et 15836) isolé à partir d'hémoculture.
- *Klebsiella pneumoniae* (15702 et 4856) isolé respectivement d'une hémoculture (MHC) et du pus.

Les souches sont purifiées et conservées sur gélose nutritive à +4°C. Avant leur utilisation dans les tests d'inhibition, elles sont activées par transfert sur bouillon cœur cerveau (BHIB) et incubées 24 heures à 37 °C.

I.2 Milieux de culture

I.2.1 Milieux pour l'isolement et purification

- Milieu Man Rogosa et Sharpe (MRS)
- Elliker
- M 17

I.2.2 Milieux pour identification

- Ampoules de sucres à 6%, 10% et 20%
- Bouillon au rouge de phénol
- Bouillon hypersalé (2%, 2.5%, 4%, 6.5% et 9%)
- Bouillon nitraté
- Gélose mannitol mobilité
- Gélose semi solide au lait citraté
- Lait Sherman
- Milieu Clark et Lubs
- Milieu à la gélatine
- Milieu de Møller (milieu ADH)

I.2.3 Milieux pour l'étude de l'antagonisme

- Bouillon BHIB
- Gélose nutritive
- Gélose Müller Hinton

I.3 Réactifs, colorants et autres

- Bâtons d'oxydase
- Bleu de méthylène
- Eau distillée stérile
- Eau oxygénée à 03%
- Eau physiologique
- Ethanol 96°
- Fuchsine
- HCl 1N
- Huile de vaseline stérile
- Huile d'immersion
- Lugol
- NaOH 1N
- Poudre de zinc
- Réactifs de Voges Proskauer VP1 et VP2
- Réactifs nitrates NR1 et NR2
- Rouge de phénol
- Violet de Gentiane

I.4 Appareillages

- Autoclave (Wisd IM 72351/5DMM/15)
- Agitateur magnétique
- Agitateur de tubes
- Bain Marie D-72338 Bolingen Germany
- Bec bunsen.
- Balance de précision (KERN PcB d= 0.001g)
- Centrifugeuse (6000x g) (SIGMA 4-16K)
- Etuves (MEMMERT 525/labab/13)
- pH-mètre
- Réfrigérateur
- Jarre d'anaérobiose
- Microscope optique (hund WETZLAR typ Med-Prax)
- Vortex

I.5 Verrerie et autres matériels

- Lames et lamelles
- Pipettes graduées 1 ml, 2 ml, 5 ml et 10 ml
- Pipettes Pasteur
- Cloche de Durham
- Tubes à essai stériles
- Tubes de centrifugation
- Flacons de 250 ml, 500 ml et 1000 ml
- Anse à boucle et anse à fil droit
- Boîtes de Petri en plastique
- Papier aluminium
- Papier film
- Spatules

II. Méthodes

II.1 Prélèvement (collecte du lait)

Un échantillon de 150 ml de lait cru (vache saines et non traitées par les antibiotiques) d'une collecte matinale a été récupéré chez des agriculteurs de la région de Tizi-Ouzou. L'année et le mois ainsi que la région de collecte du lait sont donnés dans le **tableau N°III**.

Tableau III : Année, mois et région de collecte des échantillons de lait de vache.

Origine des échantillons de lait de vache	Mois de la collecte	Année de la collecte
OUAGUENOUN	AVRIL	2019
TIZI OUZOU	AVRIL	2019

Le prélèvement s'est fait dans de bonnes conditions d'hygiène afin d'éviter toute contamination ultérieure (lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée, séchage avec une compresse stérile et collecte dès les premiers jets).

II.2 Isolement des bactéries lactique

II.2.1 Préparation de la solution mère

Pour la préparation de la solution mère, 10 ml d'échantillon est placé dans un tube contenant 90 ml d'eau physiologique stérile. Le mélange est ensuite agité au vortex.

II.2.2 Préparation des dilutions décimales

La dilution est un processus qui consiste à réduire la concentration d'une substance dans une solution. Dans ce but, des dilutions décimales sont ensuite réalisées en cascade jusqu'à la dilution 10^{-3} .

L'isolement a été fait sur gélose Elliker et MRS. A partir de la solution mère et de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) 100µl sont prélevés et déposés sur la gélose Elliker préalablement coulés et solidifiés sur boîtes de Petri puis bien étaler de la solution bactérienne à l'aide d'un râteau jusqu'à épuisement, puis incubé 24-72h à 37°C dans une jarre d'anaérobiose. Les bactéries lactiques sont généralement des microaérophiles ; leur incubation en anaérobiose a été assurée par la mise des boîtes de Petri dans du papier film.

II.3 Purification

Cette phase conduira à une souche pure est d'une importance capitale, toutefois elle est très délicate et comporte plusieurs étapes. La purification des bactéries lactiques est réalisée alternativement sur gélose et bouillon MRS à pH 6,2, afin de s'assurer de la pureté des cultures (BADIS *et al.*, 2005). Après incubation, chaque boîte de Petri est examinée (à l'œil nu), puis on procède directement à la coloration de Gram et à la vérification de l'absence de la catalase et l'oxydase des différentes colonies choisies.

Les colonies ayant répondu à ces trois premiers critères sont ensuite repiquées une deuxième et à une troisième fois jusqu'à pureté totale. Les souches purifiées sont ensuite soumises aux tests préliminaires ci-dessous.

La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode d'association.

➤ Protocole de la coloration de Gram

• Principe

- Réaliser un frottis sur une lame en verre propre et préalablement dégraissée ;
 - Colorer le frottis avec du violet de gentiane durant 2 minutes ;
 - Rejeter le colorant et ajouter le Lugol 2× 45 secondes ;
 - Rincer à l'eau ;
 - Décolorer à l'alcool 96° durant 10 secondes ;
 - Rincer abondamment à l'eau ;
 - Faire une contre-coloration avec de la fuchsine diluée à 1/10 durant 2 minutes ;
 - Rincer à l'eau et observer à l'immersion ×100.
- **Lecture** : Les bactéries Gram positives apparaissent en violet alors que les Gram négatives apparaissent en rose (FUGLSANG et EDWARDS, 2007).

➤ Test de la catalase

La catalase est une enzyme retrouvée chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. En effet, En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée qui est un composé cellulaire toxique. Cette, empêche l'accumulation de cette eau oxygénée en la décomposant en eau et en oxygène (DELARRAS, 2007 ; FUGLSANG et EDWARDS, 2007).



• Technique

Le test consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (10 volume) dans laquelle sera dissocié un petit prélèvement de la colonie.

• Lecture

La souche est dite catalase positive si un dégagement gazeux est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme catalase.

➤ Tests de l'oxydase

• Principe

Ce test permet la recherche du cytochrome oxydase qui est la dernière enzyme de la chaîne respiratoire (la phénylène diamine oxydase). Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyle paraphénylène diamine (LEVEAU *et al.*, 1991).

• Technique

Sur un tube stérile, déposer un disque oxydase et l'humidifier avec quelque goutte d'eau distillée stérile, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, prendre une colonie et la déposer sur le disque.

• Lecture

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

Seules les souches à Gram positif, catalase et oxydase négatif ont été retenues.

II.4 Conservation

À partir du troisième repiquage, on prélève de chaque boîte de petri 4 à 5 colonies qu'on va introduire par piqûre centrale dans un tube de conservation contenant du milieu MRS à pH 6,2, puis incubé pendant 24h à 37°C. Après croissance à température optimale les cultures sont maintenues à + 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines.

Tant dis que, la conservation à long terme des isolats purifiés a été réalisée dans le bouillon MRS contenant 30% de glycérol et stockés à une température de -20°C.

II.5 Screening de Bactéries lactiques bactériocinogènes

Les caractéristiques générales des souches cibles utilisées et leurs codes sont présentés dans le tableau ci dessous :

Tableau IV : souches pathogène cible et leur caractéristiques générales (DACOSTA, 2000 ; GUIRAUD, 2003).

Souches pathogènes	Code	Gram	Catalase	Oxydase	Forme des cellules	Milieu d'isolement	Température d'incubation
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	-	+	+	Bacille	BHIB	37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> (SARM)	MU 50	+	+	-	Cocci	Gélose Chapman	37° C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4810	-	-	+	Bacille	Gélose Hektoen	37° C
<i>Escherichia Coli</i>	4872	-	-	+	Bacille	Gélose au désoxycholate	37° C

II.5.1 Mise en évidence de la production de bactériocines

Le but de notre étude, est de mettre en évidence l'effet antagoniste des souches de bactéries lactiques que nous avons isolé par l'action de bactériocines ; ce qui nous conduit à travailler dans des conditions expérimentales élimant l'effet conjugué des acides organiques (notamment l'acide lactique et l'acide acétique) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (DACOSTA, 2000 ; YAAKOUBI *et al.*, 2006) :

- Élimination de l'effet de l'acidité par la neutralisation du pH
- Élimination de l'effet du peroxyde d'hydrogène par la création de la condition d'anaérobiose.

Pour la mise en évidence de la production de bactériocine(s), les 24 souches de bactéries lactiques isolées sont testées pour leur pouvoir antibactérien suivant la méthode de diffusion par puits décrite par TAGG et McGiven (1971) :

Son Principe consiste à inoculer la gélose fondue et refroidie à 45°C avec une préculture de la souche indicatrice. Après solidification, des puits sont creusés à l'aide d'un emporte-pièce ou un embout, puis remplis avec un surnageant préalablement stérilisé par filtration sur membrane de la culture à tester. Une prédiffusion à 4°C durant 4h est réalisée suivie d'une incubation 24h avant examen des zones d'inhibition.

II.5.1.1 Préparation du surnageant de l'isolat lactique

- Réaliser au préalable des cultures sur gélose Elliker avec chaque souche teste ;
- Après 18 h d'incubation en anaérobiose à 37°C ;
- Ensemencer 15 ml du bouillon Elliker avec 4 colonies de l'isolat lactique ;
- Ajouter 2 ml de l'huile de vaseline stérile pour assurer l'anaérobiose et incuber 18h à 37°C ;
- Aspirer l'huile de vaseline avec une micropipette puis récupérer les bouillons qui seront centrifugés à 5000 tours/minute à 4° C pendant 15 minutes ;
- Chauffer les surnageant dans des tubes stériles à 70°C pendant 30 minutes pour assurer l'inhibition de l'activité des protéases puis refroidie à température ambiante ;
- Ajuster le pH à 7 avec NaOH 1N afin d'éliminer l'effet antibactérien des acides organiques ;
- Filtrer le surnageant à l'aide d'un filtre de 0.2µm pour s'assurer que celui-ci est exempt d'éventuelles cellules bactériennes.

II.5.1.2 Préparation de l'inoculum de la souche indicatrice

- Des suspensions des souches cibles sont préparées dans de l'eau physiologique à 0,9% NaCl ;
- Bien agiter et mesurer la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre, celle-ci doit correspondre à une DO 0,08 ; 0,09 et 0,1 à 625 nm dans le but d'avoir le même inoculum en souches cibles dans les boites de Petri ; pour éviter que les résultats ne soient pas influencés par une différence au niveau du seuil d'ensemencement (gélose surchargée) ;
- Une dilution à un centième est ensuite effectuées ;
- 1ml de la dilution est ensemencé dans 20ml du milieu Elliker liquéfié à 45°C ensuite bien homogénéiser ;
- Creuser des puits (5puits) de 6 mm de diamètre dans la gélose avec le bout supérieur d'une pipette Pasteur stérile.

II.5.1.3 Réalisation du test d'inhibition

- Charger les puits avec 100µl du surnageant neutralisé de l'isolat lactique ;
- Laisser diffuser à la pailleuse durant 1h en s'assurent que celle-ci est en niveau afin d'éviter les résultats faussés (solution d'isolat déborde sur la gélose) ;

- Un puits est effectué pour chaque isolat dans quatre boîtes de Petri différentes (pour chaque souche teste) ;
- Charger un autre puits au niveau de la même boîte avec 100µl de bouillon Elliker ou MRS (témoin négatif) à pH7. Les boîtes de Petri sont mises au réfrigérateur à une température de +4°C pendant 4 heures pour permettre la bonne diffusion de la ou les bactériocines ; et incubées à 37°C pendant 24 heures ;
- La lecture se fait par la mesure du diamètre en millimètre avec pied à coulisse des zones d'inhibitions formées autour des puits (Zi). Un résultat est considéré positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieure à 2mm (**YILDIRIM Z et YILDIRIM M, 2001**). La mesure du diamètre d'inhibition se fait par la formule suivante : $Zi = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue} - \text{diamètre du puits}$ (**Annexe 3**).

II.6 Identification

À fin de réaliser cette dernière l'API 50 CH qui offre à la fois un gain de temps et une gamme de tests assez large permettant ainsi une identification vigoureuse et poussée (**LEVEAU et BOUIX, 1991**), fait que nous avons essayé de réaliser le maximum de tests que compte cette dernière et ce en préparant nous même les milieux de base, certains de ces tests seront communs pour l'ensemble des bactéries lactiques tandis que d'autres seront plus spécifiques.

II.6.1 Testes communs aux bactéries lactiques

II.6.1.1 Mobilité : (**LEVEAU *et al.*, 1991 ; GUIRAUD, 2003**).

- **Principe**

C'est un test important vu qu'il permet la caractérisation des bactéries lactiques qui sont généralement immobiles.

- **Technique**

- Des tubes de milieux gélosé mannitol mobilité sont ensemencés par piqûre centrale à partir des différents tubes d'enrichissement.
- Puis incubé à 37°C pendant 48 h.

- **Lecture** : les bactéries immobiles se développent uniquement sur la longueur de la piqûre centrale, or celles qui sont mobiles envahissent toutes les parties du tube (**Annexe 4**).

II.6.1.2 Type respiratoire : (BOUIX et LEVEAU, 1991 ; HOGG, 2005).

- **Principe**

Cette étude consiste à déterminer le type respiratoire des souches isolées à savoir aérobie, anaérobie, aéro-anaérobie facultatif ou micro-aérophile

- **Technique**

Les tubes contenant le milieu Elliker plus agar solidifié à une hauteur de 70 à 80 mm sont ensemencés par piqure centrale par les souches à tester et incubés 24 h aux températures appropriées.

- **Lecture :**

- Une croissance en surface et sur environ 1 cm : aérobie ;
- Croissance au fond du tube, et absence de colonies sur la zone supérieur du tube : anaérobie ;
- Croissance dans tout le tube : aéro-anaérobie facultatif ;
- Croissance d'environ 1cm sur une zone intermédiaire du tube : micro-aérophile.

II.6.1.3 Type fermentaire : (LEVEAU *et al.*, 1991).

- **Principe**

Ce test permet de séparer les souches en deux groupes homofermentaire ou hétérofermentaire.

- **Technique**

Suivant la technique de cloche de durham nous procédons comme il suit :

- Remplir des tubes à essai à vis renfermant la cloche de Durham de 10 ml du bouillon ;
- Elliker en conditions stériles ;
- Ensemencer avec l'isolat correspondant et homogénéiser en évitant l'introduction de bulles d'air dans la cloche ;
- Incuber à 37°C pendant 5 jours.

- **Lecture**

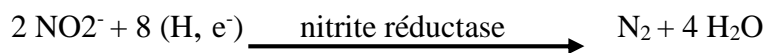
- Homofermentaire : absence de bulles dans la cloche ;
- Hétérofermentaire : présence de bulles gazeuses (remonter de la cloche plus d'1/10^{ème}).

II.6.1.4 Test nitrate réductase : (GUIRAUD, 2003 ; DELARRAS, 2007).

- **Principe**

Certaines bactéries ont la capacité de réduire les nitrates en nitrites selon la réaction suivante : $\text{NO}_3^- + 2(\text{H}^+, \text{e}^-) \xrightarrow{\text{nitrate réductase}} \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$

Tandis que d'autres peuvent poursuivre cette réduction jusqu' au stade d'azote gazeux :



La mise en évidence de la réduction des nitrates se base sur la recherche des nitrites formés en fin de réaction en utilisant les réactifs NR1 et NR2.

• Technique

- Introduire 1 ml de solution bactérienne dans des tubes de bouillon nitraté à raison de 10 ml ; et ceci pour les 5 souches testes.
- Après incubation à 37°C pendant 48h, ajouter quelques gouttes (2-3) du réactif NR1 et NR2.

Réactif nitrate 1 : 0.8 g d'acide sulfanilique + 100ml d'acide acétique 5N.

Réactif nitraté 2 : 0.5 g d'alpha naphthylamine +100 ml d'acide acétique 5N.

• Résultat

La coloration rouge (après une minute environ) signifie la présence des nitrites et donc présence d'une nitrate réductase (NR+).

Une réaction négative peut impliquer l'une des deux éventualités suivante :

- Soit la réduction des nitrates a été au-delà du stade nitrate jusqu'au stade NH_3 ou du N_2 : NR+.
- Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits : NR-.

Le test est complété par l'épreuve de Zo-Bell, on ajout alors un peu de poudre de zinc, on mélange et on laisse reposer. Si les nitrates du (NR-) non pas été réduits, ils le seront par voie chimique par le zinc ce qui donnera la coloration rose : NR-. Si le milieu reste incolore, cela

Implique que les nitrates ont été complémentaire réduits au-delà du « stade nitrites » en azote gazeux N_2 : NR+ (**Annexe 5**).

II.6.1.5 Recherche de l'acétoïne : (LEVEAU *et al.*, 1991 ; DELARRAS, 2007).

• Principe

Ce test permet la distinction entre les ferments acidifiants et ceux aromatisants, qui est mis en évidence par la réaction de Voges Proskauer, celle-ci est basée sur la présence d'acétyl-méthyl-carbinol (AMC), connue sous le nom d'acétoïne qui se révèle par la réaction de Barrit.

• Technique

- Le milieu Clark et Lubs est ensemencé par les souches à tester (5 souches).
- Incuber pendant deux jours à 37°C ;
- Après incubation, prélever 1 ml de la culture en bouillon, ajouter 0.5 ml du réactif VP1 puis 0.5 ml du VP2 ;

VP1 : solution à 6% d'œnaphtol dans de l'alcool à 90% ;

VP2 : solution aqueuse de potasse à 40% ;

- Agiter fréquemment durant 15 minutes environ en inclinant un peu les tubes et observer.

• Lecture

La présence de l'acétoïne se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu.

II.6.1.6 Test à l'arginine (ADH)

• Principe

Cette enzyme est très intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques, elle intervient dans la libération de l'ammoniac et de citruline à partir de l'arginine.

• Technique

- Pour chaque souche ensemencée 06 tubes du milieu ADH, le tube témoin ne renferme qu'une seule source de carbone (glucose) et un indicateur coloré. Les autres contiennent outre que le sucre et l'indicateur, de l'arginine comme acide aminé.
- Incuber à 37°C pendant 48h.

• Lecture

- Le tube témoin après consommation du glucose va virer au jaune traduisant ainsi un phénomène d'acidification.
- Les bactéries possédant une ADH vont métaboliser l'arginine, en formant des amines (agmatine puis la putricine) qui vont alcaliniser le milieu et faire virer l'indicateur de pH au violet (**Annexe 6**).

II.6.1.7 Hydrolyse de la gélatine : (BOUIX et LEVEAU, 1991).

• Principe

L'hydrolyse de la gélatine donne un aperçu sur le système protéolytique des souches sachant que celle-ci est une molécule protéique.

Cette technique se base sur le comportement de cette protéine vis à vis de la température.

En effet, à des températures inférieures à 23°C la gélatine se condense et devient solide or que, à des températures supérieures à 25°C la gélatine est liquéfiée.

- **Technique**

- Ensemencer le milieu à la gélatine dans la masse.
- Incuber à 37°C pendant 7 jours.
- Puis placer les tubes au réfrigérateur pendant quelques heures.

- **Lecture**

Après avoir retiré les tubes (5 tubes) du réfrigérateur, si la liquéfaction persiste cela veut dire l'hydrolyse de la gélatine par la gélatinase présente dans le milieu (**Annexe 7**).

II.6.1.8 Thermorésistante à 63°C pendant 30 minutes : (GUIRAUD, 2003).

- **Technique**

- Pour chaque souche, ensemencer 300µl de la solution bactérienne dans un tube du bouillon Elliker (10ml) ;
- Le placé dans un bain-marie à 63°C pendant 30 minutes ;
- Refroidir immédiatement sous le robinet et incuber à 37 °C pendant 48h.

- **Lecture**

L'apparition d'un trouble implique la poussée de la souche et donc la thermorésistance (**Annexe 8**).

II.6.1.9 Métabolisme des sucres : (LEVEAU *et al.*, 1991 ; DELARRAS, 2007).

- **Principe**

Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers composés carbonés en particulier des sucres et donc déterminer, en grande partie, le profil biochimique de ces dernière ce qui facilite leur classification.

- **Technique**

- Ensemencer chaque souche dans des tubes préalablement remplis avec un bouillon au rouge de phénol dans lequel la source de carbone est variable (12 sucres sont étudiés).
- Incuber à 37°C pendant 24 à 72 h.

- **Lecture**

Un virage au jaune indique l'acidification du milieu et donc la dégradation du sucre par la souche testée (**Annexe 9**).

II.6.2 Testes spécifiques

II.6.2.1 Genre *Streptococcus*

II.6.2.1.1 Croissance à différentes températures : (LEVEAU *et al.*, 1991).

- **Principe**

Les tubes de bouillon Elliker sont ensemencés à partir de chaque souche puis sont incubés aux températures suivantes :

- **Technique**

Ensemencer 2 à 3 colonies de l'isolat dans 5 ml du bouillon Elliker ;

- Incuber 48h à 37 ° C
- Incuber 10 jours à 10 ° C
- Incuber 24 à 48h à 45°C

- **Lecture**

La croissance bactérienne se manifeste par la présence d'un trouble dans le bouillon (Annexe 10).

II.6.2.1.2 Croissances sur milieu hostiles

II.6.2.1.2.1 Croissance à différentes concentrations de NaCl

- **Technique**

Pour chaque souche, des tubes de bouillon hyper salé à des concentrations de 02%, 04%, 6.5% et 9% NaCl sont ensemencer et incubés à 37° C pendant 48 h.

- **Lecture**

La présence d'un trouble implique la croissance bactérienne (Annexe 11).

II.6.2.1.2.2 Croissance à pH 9.2

- **Technique**

- Ajuster le pH du bouillon Elliker à 9.2 à l'aide d'une solution de soude (NaOH).
- Ensemencer les différentes souches et incuber à 30°C pendant 48h.

- **Lecture**

La présence d'un trouble implique une croissance bactérienne.

II.6.2.1.2.3 Croissance sur lait SHERMAN

- **Principe**

Cette épreuve a pour but de mettre en évidence l'aptitude des souches à pousser en présence de 0.1 % et 0.3 % de bleu de méthylène et leur capacité à le réduire.

- **Technique**

- Deux tubes de 10 ml du lait Sherman à 0.1 % et 0.3 % Sontensemencés par la souche étudiée.
- Incuber à 37° C pendant 72 h.

- **Lecture**

La croissance des souches se traduit par une coagulation du milieu, cependant la réduction du colorant par sa décoloration (**Annexe 12**).

II.6.2.1.2.4 Croissance en présence du tellurite de potassium

- **Technique**

- Additionner la gélose M17 de 0.04% de tellurite de potassium
- Ensemencer et incuber à 30°C pendant 48 h

- **Lecture**

Les colonies résistantes seront de couleur noire tandis que les colonies sensibles seront plus petites et de couleur grise.

II.6.2.2 Genre *Lactobacillus*

II.6.2.2.1 Croissance à différentes températures : (LEVEAU *et al.*, 1991).

- **Principe**

Les tubes de bouillon Elliker sont ensemencés à partir de chaque souche puis sont incubés aux températures suivantes :

- **Technique**

Ensemencer 2 à 3 colonies de l'isolat dans 5 ml du bouillon Elliker ;

- Incuber 7 à 10 jours à 15° C.
- Incuber 24 à 48h à 45°C.

- **Lecture**

La croissance bactérienne se manifeste par la présence d'un trouble dans le bouillon (Annexe 10).

II.6.2.2.2 Croissances sur milieu hostiles

II.6.2.2.2.1 Croissance à différentes concentrations de NaCl

- **Technique**

Pour chaque souche, des tubes de bouillon hyper salé à des concentrations de 2%, 4%, 6.5% et 9% NaCl sont ensemencer et incubés à 37° C pendant 48 h.

- **Lecture**

La présence d'un trouble implique la croissance bactérienne (Annexe 11).

II.6.2.2.2.2 Croissance sur lait SHERMAN

- **Principe**

Cette épreuve a pour but de mettre en évidence l'aptitude des souches à pousser en présence de 0.1 % et 0.3 % de bleu de méthylène et leur capacité à le réduire.

- **Technique**

- Deux tubes de 10 ml du lait Sherman à 0.1 % et 0.3 % Sont ensemencés par la souche étudiée.
- Incuber à 37° C pendant 72 h.

- **Lecture**

La croissance des souches se traduit par une coagulation du milieu, cependant la réduction du colorant par sa décoloration (Annexe 12).

1. Résultats d'isolement des bactéries lactiques

Il est important de signaler que l'isolement des bactéries lactiques était difficile à réaliser, puisque celles-ci sont très exigeantes en conditions de croissance, de plus on a effectué leur isolement en mois de mars où il faisait encore froid, notant également le régime alimentaire (pauvre ou riche en nutriments) et l'état de santé de la vache.

En effet, nous avons isolé et purifié 24 isolats lactiques sur milieu MRS et Elliker. Une fois purifiés ces isolats sont ensuite analysés afin de sélectionner ceux qui produisent des bactériocines en utilisant les souches cliniques BLSE (*Klebsiella pneumoniae* 15702 et 4856, *Escherichia coli* 15633 et 15836) et *Staphylococcus aureus* MU 50 (SARM) ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et comme souches sensibles aux bactériocines.

Les 24 souches purifiées sont désignées par un code constitué d'une lettre et d'un chiffre (V1) et (V2) pour distinguer la provenance de l'échantillon, Et un autre chiffre pour distinguer la souche.

1.1 Caractère morphologique et culturaux

L'aspect des colonies des souches des genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*, respectivement sur gélose MRS et Elliker au niveau du premier et du deuxième isolement est différent d'une souche à une autre (**tableau V**).

En effet, les variations morphologiques, physiologiques et métaboliques pourraient être le résultat d'une réponse aux conditions défavorables de l'environnement (bouillon MRS / Elliker) auxquelles sont exposées ces souches lactiques, comme l'épuisement des sources nutritionnelles (le carbone et l'azote), le changement de température, stress oxydatif ou à l'acide, etc.

Sur le plan microscopique les lactobacilles apparaissent sous forme de petits bacilles des fois allongés ; isolés (bacille) ou regroupés en paires (diplobacilles) ou bien en chaînettes de 3 à 5 éléments.

Quant aux streptocoques apparaissent sous forme de cellules sphériques isolées (cocci) ou regroupées en paires (diplocoques) ou en longues chaînettes (plus de 5 éléments) (Voir l'annexe 12).

Tableau V : résultats de l'aspect des colonies

N° de souche	Aspect de la colonie 1 ^{er} isolement	Aspect de la colonie 2 ^{eme} isolement
V1-03	Très petite, bombée, blanchâtre laiteuse, ronde, contour régulier,	Petite (1mm) bombée, blanchâtre laiteuse, ronde, contour régulier
V1-06	Grande (3mm), blanchâtre, laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier	Grande (4mm), blanchâtre, laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier
V1-10	Petite (2mm), plate, blanchâtre, laiteuse, translucide, contour irrégulier	Moyenne (3mm), plate, blanchâtre, laiteuse, translucide, contour irrégulier
V1-11	Petite (0.5mm), convexe, blanchâtre, laiteuse, bord régulier	Moyenne (2mm), convexe, blanchâtre, laiteuse, bord régulier
V1-13	Très petite, ronde, blanchâtre, laiteuse à bord régulier	Petite (1mm), ronde, blanchâtre, laiteuse, bord régulier
V1-16	Petite (1mm), plate, translucide, blanchâtre, laiteuse, à contour irrégulier	Moyenne (2mm), plate, translucide, blanchâtre, laiteuse, contour irrégulier
V1-18	Petite (1mm), ronde, translucide, blanchâtre, laiteuse à contour régulier	Moyenne (2mm), ronde, translucide, blanchâtre, laiteuse (crémeuse), contour régulier
V1-19	Petite (1.5mm), ronde, convexe, blanchâtre, laiteuse, foncée au centre, à bord régulier	Moyenne (2mm), ronde, convexe, blanchâtre laiteuse, foncée au centre, à bord régulier
V1-20	Très petite, bombée, blanchâtre laiteuse, ronde, contour régulier,	Petite (1mm) bombée, blanchâtre laiteuse, ronde, contour régulier
V1-25	Moyenne (2,5mm), blanche laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier	Grande (4mm), blanche laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier
V1-27	Petite (1mm), ronde, translucide, blanchâtre, laiteuse (crémeuse), à contour régulier	moyenne (2,5mm), ronde, blanchâtre, translucide laiteuse (crémeuse), à contour régulier
V2-01	Petite (1mm) bombée, blanchâtre, laiteuse, à bord régulier	Moyenne (2.5mm) bombée, blanchâtre laiteuse, à bord régulier

V2-03	Moyenne (2mm), ronde, blanchâtre, laiteuse à contour régulier	moyenne (2mm), ronde, laiteuse blanchâtre, à contour régulier
V2-05	Grande (3mm) crème, ronde, contour régulier	Grande (3mm), crème, ronde, contour régulier
V2-09	Moyenne (2mm), ronde, convexe, blanchâtre, laiteuses, translucide	Grande (4mm), rondes, convexes, blanchâtre, laiteuse, translucide
V2-10	Petite (1mm), ronde, bombée, blanchâtre, laiteuse, à contour régulier	Petite (1mm), ronde, blanchâtre, laiteuse, à contour régulier
V2-13	petite (1mm), blanchâtre, laiteuse, ronde, à bord régulier	Moyenne (2mm), blanchâtre, laiteuse, ronde, à bord régulier
V2-14	Grande (3mm), blanchâtre, laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier	Grande (4mm), blanchâtre, laiteuse foncée au centre, ronde, contour régulier
V2-17	Moyenne (2.5mm), ronde, convexe, blanchâtre, laiteuse, translucide, à bord régulier	Grande (3mm), ronde, convexe, blanchâtre, laiteuse, translucide, à bord régulier
V2-19	Moyenne (2mm), blanchâtre, laiteuse, ronde, à bord régulier	Moyenne (2mm), blanchâtre, laiteuse, ronde, à bord régulier
V2-20	Petite (1mm), ronde, blanchâtre, contour régulier	Petite (1mm), ronde, convexe, blanchâtre, contour régulier
V2-25	Petite (1mm) bombée, blanchâtre, laiteuses à bord régulier	Moyenne (2,5mm) bombée, blanchâtre laiteuses à bord régulier
V2-26	Très petite, ronde, convexe, blanchâtre, laiteuse, translucide	Petite (1mm), ronde, convexe, blanchâtre, laiteuse, translucide
V2-27	Moyenne (2mm), bombée, ronde, blanchâtre, laiteuse,	Moyenne (2mm), ronde, bossue, blanchâtre, laiteuse, translucide

2. Résultats de l'antagonisme bactérien

Parmi les 24 isolats lactiques testés, aucune activité ne sait traduite à l'encontre des souches BLSE testées (*Klebsiella pneumoniae* 15702 et 4856, *Escherichia coli* 15633 et 15836) et *Staphylococcus aureus* MU 50 (SARM). Cependant, 5 souches lactiques (18-V1 ; 19-V1 ; 27-V1 ; 3-V2 ; 27-V2) en manifestaient une activité antibactérienne à l'encontre de *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

L'utilisation du milieu Elliker (pH 7) et MRS (pH 6.5) comme témoin négatif n'a présenté aucun effet inhibiteur ce qui suppose que leurs constituants (l'acide ascorbique, les sucres, les tryptones...etc.) n'interviennent pas dans l'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* 27853, cela dit, d'après nos observations les substances actives peuvent être issues du métabolisme des isolats lactiques.

Et puisque, nous avons éliminé respectivement l'effet inhibiteur des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène par l'addition de l'hydroxyde de sodium (NaOH) et l'incubation en conditions d'anaérobiose ; ce qui nous a amené à conclure que ces 5 souches sont définies comme productrices de substances antagonistes de type bactériocines vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

Quant à celles qui n'ont pas manifestées d'activité inhibitrice plusieurs cas de figures peuvent être envisagés :

- Celles-ci ont produit des bactériocines auxquelles les souches pathogènes ont résisté ;
- Les bactériocines produites n'ont pas bien été diffusées sur gélose ;
- Ces souches n'ont pas produit de bactériocines ;
- Ou bien, les souches ont été détruites par des phages lytiques (bactériophages propres aux LAB).

Le diamètre de la zone d'inhibition la plus faible est de 12 millimètres (la plus faible activité observée pour la souche N° 19-V1 contre *Pseudomonas aeruginosa* 27853) et 18 millimètres (la plus grande activité observée pour la souche N° 18-1 contre *Pseudomonas aeruginosa* 27853). Comme le montre **le tableau VI**.

Il faut signaler que les résultats obtenus suscitent plus d'attention, car le profil de sensibilité dépend à la fois de la dose de la substance active utilisée, ainsi que la densité microbienne des souches cibles, il convient de dire que les diamètres d'inhibition obtenus doivent faire l'objet d'une recherche plus approfondie pour estimer la concentration minimale d'inhibition (CMI) dans chacun des puits, et donc comparer le pouvoir inhibiteur des différentes souches productrices.

Finalement, l'inhibition observée sur les surnageants des isolats (18-V1 ; 19-V1 ; 27-V1 ; 3-V2 ; 27-V2) n'est due ni aux acides organiques ni au peroxyde d'hydrogène, de même le traitement thermique nous a révélé que les zones d'inhibition obtenues disparaissent totalement après 30 min à 121°C. Ceci suggère que les substances inhibitrices sont de nature protéique, ainsi la démonstration de la nature protéique se fait par des tests de sensibilité aux

enzymes protéolytiques telles que la trypsine, la pepsine l' α -chymotrypsine (CHEN et HOOVER, 2003).

Tableau VI : Résultat de l'antagonisme vis-à-vis des pathogènes testés : diamètres des zones d'inhibition en Millimètre

La souche	Staphylococcus aureus (MU 50)	Pseudomonas aeruginosa (27853)	Klebsiella pneumoniae (15702)	Klebsiella pneumoniae (4856)	Escherichia coli (15633)	Escherichia coli (15836)
V1-3	00	00	00	00	00	00
V1-6	00	00	00	00	00	00
V1-10	00	00	00	00	00	00
V1-11	00	00	00	00	00	00
V1-13	00	00	00	00	00	00
V1-16	00	00	00	00	00	00
V1-18	00	18	00	00	00	00
V1-19	00	12	00	00	00	00
V1-20	00	00	00	00	00	00
V1-25	00	00	00	00	00	00
V1-27	00	15	00	00	00	00
V2-1	00	00	00	00	00	00
V2-03	00	14	00	00	00	00
V2-5	00	00	00	00	00	00
V2-09	00	00	00	00	00	00
V2-10	00	00	00	00	00	00
V2-13	00	00	00	00	00	00
V2-14	00	00	00	00	00	00
V2-17	00	00	00	00	00	00
V2-19	00	00	00	00	00	00
V2-20	00	00	00	00	00	00
V2-25	00	00	00	00	00	00
V2-26	00	00	00	00	00	00
V2-27	00	14	00	00	00	00

3. Caractères biochimiques et physiologiques

Une fois isolées, purifiées et sélectionnées, les cinq souches lactiques ayant montré une activité inhibitrice contre les souches cibles ont fait l'objet d'une identification par une galerie biochimique classique.

Les cinq souches isolées ont présenté des caractères communs ; à savoir la coloration GRAM+, catalase négative, oxydase négative, immobiles et ne réduisent pas les nitrates en plus des réactions variables manifestées pour les autres tests (**tableau VII**).

Par ailleurs, les résultats de la production d'acide, à partir de l'hydrolyse des 12 composés hydrocarbonés sont présentés dans **le tableau VIII**.

Tableau VII : résultats des caractères physiologiques et biochimiques

N° de la souche		19-V1	27-V2	18-V1	27-V1	3-V2
Type respiratoire		AF	AF	AF	AF	AF
Type fermentaire		Homo	Hétéro	Homo	Homo	Hétéro
Résistance 30 min à 63°C		+	-	-	-	-
Mobilité		-	-	-	-	-
Mannitol		+	-	-	-	-
Croissance à 15°C		+	-	+	+	-
Croissance à 45°C		-	+	-	-	+
Croissance à différentes concentrations de NaCl	2.5%	+	+	+	+	+
	4%	+	+	+	+	+
	6.5%	-	-	-	-	-
	9%	/	-	/	/	-
Hydrolyse de l'arginine		+	+	+	+	+
Réduction des nitrates		-	-	-	-	-
Croissance sur lait Sherman	1%	+	+	+	+	+
	3%	-	-	+	+	-
Recherche de l'acétoïne		-	-	-	-	-
Croissance à pH 9.2		+	/	+	+	/
Hydrolyse de la gélatine		-	-	-	-	-
Croissance en présence du tellurite de potassium		S	/	S	S	/

Abréviation : AF : Aéroanaérobie Facultatif ; Homo : Homofermentaire ; ADH : Arginine Dihydrolase ; Cr : Croissance ; + : Caractère positif ; - : caractère négatif ; S : Sensible (colonies grisâtre).

Tableau VIII : Résultats de la fermentation des glucides

N° de la souche	V1-19	V2-27	V1-18	V1-27	V2-3
Arabinose	-	-	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	-
Fructose	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	-
Ribose	+	+	+	+	+
Saccharose	+	f	-	-	+
Tréhalose	+	-	+	+	-
Xylose	+	f	+	+	-

4. Interprétation des résultats de l'identification

L'identification des souches lactiques (18-V1 ; 19-V1 ; 27-V1 ; 3-V2 ; 27-V2) a été effectuée par la méthode d'identification classique vu l'absence de galerie API système. Au cours de cette étude nous nous sommes intéressés à déterminer les principales caractéristiques physiologiques et biochimiques des souches isolés. De plus nous avons effectué une comparaison de nos résultats avec ceux rapportés à plusieurs auteurs (**GUIRAUD, 1998 ; HAMMES W.P. et HERTEL C., 2006 et IBRAHIM, 2015**).

L'identification des isolats obtenus par la méthode classique présente beaucoup de difficultés, car les souches ont manifesté des différences significatives dans les profils de fermentation des sucres ainsi que dans certains caractères physiologiques et biochimiques. Pour

ce fait, l'identification génotypique est indispensable pour confirmer la classification phénotypique.

Les bactéries lactiques présentent une instabilité génétique intrinsèque, Ainsi l'ADN bactérien peut être l'objet de variations qui se traduisent par l'apparition de différences héréditaires dans les structures et/ou les fonctions permanentes des bactéries, les variations génétiques ou génotypiques résultent d'une mutation, d'une transformation, d'une conjugaison, de l'acquisition d'un ou plusieurs gènes (DACOSTA, 2000 ; STOYANOVA *et al.*, 2007).

En outre, elles possèdent dans leur cytoplasme une quantité variable de plasmides. Ces derniers sont responsables de diverses fonctions métaboliques (fermentation des carbonhydrates, production de diacétyle à partir des citrates, production de polysaccharides extracellulaires, protéolyse extracellulaire), fonctions de résistance à l'environnement (production de bactériocines, résistance à certaines bactériocines, à certains antibiotiques. Aux phages) (DACOSTA *et al.*, 2000 ; KÖNIG et FRÖHLIGH, 2009).

Il arrive que des souches perdent spontanément certains de ces plasmides, ou à l'inverse en acquièrent de la part d'une autre cellule contribuant ainsi à l'évolution génétique bactérienne et à l'acquisition de nouvelles fonctions (ZAGOREC *et al.*, 2008).

4.1 *Lactobacillus fermentum*

La souche N° 27-V2 s'apparente à l'espèce type avec un degré de parenté de (96,55%)

Nos résultats s'accordent avec ceux (d'IBRAHIM, 2015 et HAMMES W.P. et HERTEL C., 2006). À l'exception du sucre arabinose qui n'a pas été fermenté par notre souche ; (ZHAO et GÄNZLE, 2018) explique ce fait par l'absence de gènes spécifiques de la souche codant pour les transporteurs de l'arabinose.

De plus, une faible utilisation du xylose et du saccharose a été observé, cette variation s'expliquer par le fait que le métabolisme glucidique est dépendant de la souche (IBRAHIM, 2015) ; comme telle, l'étude de (MAMI, 2010) rapporte l'utilisation du xylose et de l'arabinose mais pas le saccharose.

Lactobacillus fermentum, ainsi nommé parce qu'il provoque la fermentation, est une espèce un membre du groupe de *L. reuteri* abondantes dans les cultures naturelles de lactosérum (IBRAHIM, 2015) et peut être isolée d'autres milieux comme les betteraves fermentées et l'intestin de nourrisson (CURK *et al.*, 1993).

Selon (AXELSSON, 2004 ; DANIEL *et al.*, 2015 ; VANMATHI SELVI et KANTHAMANI, 2017) ; *L. fermentum* est caractérisé comme suite :

- Obligatoirement hétérofermentaire

- Anaérobie facultatif
- Ne pousse pas à 15° C mais à 45 ° C ;
- Gram(+), non mobile et asporulante ;
- Catalase, oxydase, et nitrate réductase négative.

4.2 *Lactobacillus reuteri*

La souche N° 3-V2 s'apparente à l'espèce type avec un degré de parenté de (89.65%). Les sucres galactose, fructose, maltose, saccharose, glucose, lactose, l'arabinose (IBRAHIM, 2015) et le ribose ont été fermentés par notre souche. En revanche, le mannose, le tréhalose, le cellobiose, le xylose, n'ont pas été utilisés. Ceci dit ; nos résultats se rapprochent de ceux de (HAMMES W.P. et HERTEL C., 2006 ; IBRAHIM, 2015).

La variation du métabolisme du xylose et l'arabinose a été observé par (ILAYARAJA et RADHAMADHAVAN, 2011) et du fructose par (JAMES *et al.* , 2013).

D'ailleurs, (ZHAO et GÄNZLE, 2018) ont rapporté que le métabolisme de l'arabinose et le xylose diffère entre les souches de *L. reuteri* ; soulignant que l'absence de gènes spécifiques de la souche codant pour les transporteurs de L-arabinose et de D-xylose inclue l'incapacité des souches à fermenter ces sucres.

On outre, *L. reuteri* utilise de préférence le maltose, le saccharose et le raffinose. Le transport des glucides est assuré exclusivement par des transporteurs secondaires coder par des gènes ScrT, LacS, MalT spécifiques de saccharose, de lactose et de maltose, ainsi l'utilisation de pentose chez *L. reuteri* est spécifique de la souche (GÄNZLE *et al.*, 2007; HU *et al.*, 2013).

Le profil de fermentation des souches de *L. reuteri* correspond au génotype et ainsi dépend des opérons codant pour les enzymes impliquées dans l'utilisation du pentose correspondant (TEIXEIRA *et al.*, 2013 ; HU *et al.*, 2013 ; GÄNZLE *et al.*, 2015 ; ZHAO et GÄNZLE, 2018).

Conformément à (IBRAHIM, 2015 ; ILAYARAJA et RADHAMADHAVAN, 2011), *Lactobacillus reuteri* était auparavant connu sous le nom de *L. fermentum* de type II, ce qui reflète qu'il est physiologiquement similaire à *L. fermentum*, isolé à partir de produits laitiers de viande et de sources animales. Et présente les caractéristiques suivantes :

- hétérofermentaire obligatoire ;
- Se présente sous forme de bâtonnets anaérobies facultatifs à Gram positif ;
- non mobile, asporulante, catalase-négative
- produit du gaz (CO₂) à partir du glucose
- se développe à 45°C mais pas à 15°C.

4.3 *Lactococcus lactis ssp lactis*

Lactococcus lactis est considérée comme une bactérie modèle, comme étant la bactérie alimentaire la plus étudiée. Elle fut décrite pour la première fois comme *streptococcus lactis* du groupe N par lister en 1873, puis reclassé en tant que genre *Lactococcus* par schleifer et ses collègues en 1985.

Cette espèce est divisée en quatre sous-espèces (PEREZ *et al.*, 2010) dont *Lc. lactis subsp. lactis* qui est très répandue dans le lait et les produits dérivés (NUNEZ et MEDINA, 1979). *Lc. lactis* est une bactérie à bas pourcentage en guanine et cytosine (environ 38 %), en forme d'ovocoques associés en paires ou en chaînettes de longueur variable. Elle est mésophile avec un optimum de croissance à 30°C. Son métabolisme est anaérobie facultatif et elle est capable de se multiplier en aérobiose en présence d'hème (DUWAT *et al.*, 2001). Et présente les caractéristiques suivantes : (GUIRAUD, 1998).

- Homofermentaire
- Gram positif, immobile et asporulante
- Catalase, oxydase, et nitrate réductase négative
- Ne pousse pas à 45°C mais à 10°C et 30°C.

Les souches N°27-V1, 18-V1 et 19-V1 s'apparentent à l'espèce type avec un degré de parenté respectif de (93,33% ,93.33%,90%).

Nos résultats sont compatibles avec ceux de (GUIRAUD, 1998) en ce qui concerne le métabolisme glucidique. Toutes les souches ont métabolisés les sucres (lactose, glucose, fructose, galactose, maltose, mannose, ribose, xylose, tréhalose et cellobiose).

Toutes les souches n'ont pas pu se développer en présence de bleu de méthylène à raison de 0.3 % ; comme les résultats rapportés par (AHMED et KANWAL, 2004). À l'exception de la souche (19-V1). En présence de concentration de NaCl à 6,5 % et à pH de 9,2 des résultats similaires en été observé par (GUIRAUD, 1998 ; ÜSTÜN, 2009 ; NURYSSHER *et al.*, 2016 et YERLIKAYA, 2018). Cependant elles sont puent croître en présence de NaCl à 2% et 4% comme certains rapports (NURYSSHER *et al.*, 2016 et GUIRAUD, 1998) l'ont révélé.

- **Les variations observées pour chaque souche sont :**

La souche N°19-V1 : pas de métabolisme d'arabinose, résistance 30 min à 63°C, utilisation du mannitol. Les deux souches N° 18-V1 et 27-V1 : absence du métabolisme de saccharose, croissance de bleu de méthylène 0.3%.

D'ailleurs, (FURET *et al.*, 2004 ; KHEMARIYA *et al.*, 2017) ont rapporté que certaines propriétés comme, la capacité à croître au-dessus de 40°C, à des concentrations de sel plus élevées (4 % de chlorure de sodium) et à produire de l'acide à partir de différents sucres (arabinose, lactose,

mannitol et raffinose) ; Ainsi que la résistance aux températures élevées (30 min à 63°C) (GUIRAUD, 1998) varie selon les espèces. De plus *Lc. lactis* possède de multiples auxotrophies suivant l'origine de la souche (CHOPIN, 1993 et AYAD *et al.*, 1999).

Ces variations, sont probablement dues à l'adaptation physiologique des souches aux conditions environnementales comme la salinité, les conditions climatiques, le stress physiologique la sélection naturelle (mutations) ou autres stress bactériens qui provoquent le dysfonctionnement de la physiologie des cellules.

5. Interprétation des résultats de l'antagonisme

Les bactéries présentent des mécanismes de compétition pour les nutriments et l'espace dans leur habitat. Parmi ces mécanismes : l'acquisition de défense par la production de peptides antimicrobiens (AMP) qui font référence aux bactériocines. Leurs propriétés biochimiques, leur structure et la nature de leur déterminant génétique sont d'une grande variabilité (PIARD et DESMZEAUD, 1992).

Les bactéries lactiques peuvent produire un à plusieurs types de bactériocines (STOYANOVA *et al.*, 2007); ayant un large ou étroit spectre d'activité contre des bactéries Gram-positives et Gram négatives (OSAMA, 2019 ; WALA'A, 2018).

En effet, (JAMES *et al.*, 2013 ; HAN *et al.*, 2015 ; WAYAH et PHILIP., 2018 ; AYAT *et al.*, 2018 ; RIAZ *et al.*, 2019 et CASTILHO *et al.*, 2019), ont isolé des bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* capable d'inhiber les bactéries à Gram négatif par la production de bactériocines.

5.1 Antagonisme de *Lactobacillus fermentum*

L. fermentum a montré une activité inhibitrice envers *Pseudomonas aeruginosa* 27853, par contre les autres souches ont résisté à l'action de la ou les bactériocines produites par cette espèce.

D'après (SAMSON *et al.*, 2018), La fermencine SA715 isolée de *L. fermentum* GA715 d'origine caprine, est une bactériocine à large spectre, non poreuse et associée à la paroi cellulaire, stable à des plages de température (40-90 °C et 100 °C), avec une forte activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* PA7, *Escherichia coli* UT181, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Corynebacterium spp* GH17 et *Bacillus cereus* ATCC. Cette bactériocine est sensible aux enzymes protéolytiques (protéinase K, peptidase, trypsine, α -chymotrypsine et protéase).

(NAWAZ *et al.*, 2009), ont isolé de *L. fermentum* une bactériocine stable dans toutes les plages de températures (50, 70, 80°C et 100°C) ayant un potentiel antimicrobien contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

Des études ont montré que *L. fermentum* avait une résistance aux antibiotiques comme (KLEIN et GÜNTER, 2011) qui ont démontré les profils de résistances de *Lactobacillus fermentum* vis-à-vis de la vancomycine glycopeptidique et à la tétracycline. Toutefois (ZENG *et al.*, 2011) ont montré le profil de sensibilité de ce dernier à certains antibiotiques courants, comme la gentamicine, la carbénicilline, la pénéticilline, l'érythromycine amikacine, l'ampicilline, le triméthoprim / sulfaméthoxazole, la céfazoline et l'acide chlorhydrique.

5.2 Antagonisme de *Lactobacillus reuteri*

L. reuteri a montré une activité antagoniste envers *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ; cependant, les autres souches ont résisté à l'activité de la ou les bactériocines produite par cette espèce.

En effet, *L. reuteri* produit de la reutéricine (KABUKI *et al.*, 1997) de la reuterine (TALARICO *et al.*, 1988 ; CALIX LARA *et al.*, 2014) et la reutericycline (GÄNZLE *et al.*, 2000 ; CALIX LARA *et al.*, 2014).

(TALARICO *et al.*, 1989) ont rapporté l'effet inhibiteur de la reutéricine sur la de certaines bactéries à Gram négatif et à Gram positif , ainsi que des levures , des champignons et des protozoaires.

Au même titre, (JAMES *et al.*, 2013) ont isolé du lait maternel une bactériocine de *L.reuteri* douée d'un pouvoir antimicrobien à large spectre contre des agents pathogènes cliniques (*Bacillus cereus* PA24, *Escherichia coli* SKN 541, *Enterococcus faecalis* 103907 CIP, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095 et *Listeria monocytogenes* Scott A. Avec une production maximale à 37°C et pH 7 ; une résistance à l'action de la catalase, la lipase et la α -amylase et une sensibilité au traitement thermique de (90°C pendant 1 heure) ainsi qu'à l'action des enzymes (lysozyme, méthanol, éthanol, acétone, trypsine, pronase E et protéinase K).

(TOBA *et al.*, 1991) ont présenté le profil de sensibilité de la reuterine 6 de *L. reuteri* (LA6) vis-à-vis des enzymes protéolytiques (actinase E et trypsine) ; (ILAYARAJA et RADHAMADHAVAN, 2011), ont démontré l'effet inhibiteur de L' α -amylase, protéinase K, et lysozyme sur les bactériocines de *L. reuteri* isolé du lait maternel.

Un fait important, les chercheurs (CASAS et DOBROGOSZ, 2000) ont constaté que *L. reuteri* sécrète des quantités suffisantes de bactériocines pour éliminer les envahisseurs intestinaux sans nuire au microbiote intestinal, du fait qu'il faut au moins quatre voir cinq fois

plus de reutéline pour tuer les "bonnes" bactéries intestinales (à savoir *L. reuteri* et d'autres espèces de *Lactobacillus*). De plus, le control de la biosynthèse de la reutéline est dirigée par un groupes de gènes sous forme d'une île génomique acquise à partir d'une source anormale (MORITA *et al.*, 2008).

L. reuteri possède des propriétés de résistance aux antibiotiques , certaines preuves ont souligné que cette résistance est liée aux plasmides, comme dans le cas l'érythromycine (IBRAHIM, 2015), la tétracycline et la lincomycine (BRITTON, 2017).

Enfin, (BRITTON, 2017) a signalé, la commercialisation récente de souches probiotiques de type *L. reuteri* (*L. reuteri* ATCC 55730 et *L. reuteri* ATCC 17938) par la société « Bio Gaia AB » spécialisé dans la distribution de produits contenant des probiotiques.

5.3 Antagonisme de *Lactococcus lactis ssp lactis*

Lc. lactis ssp lactis a montré une activité antagoniste envers *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ; cependant, les autres souches ont résisté à l'activité de la ou les bactériocines produite par cette espèce.

Les sous espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* ont été décrites comme bactériocinogènes (ALEGRIA *et al.*, 2010 ; BELLO *et al.*, 2010 ; RODRIGUEZ *et al.* , 2000 ; PERIN *et al.*, 2012 ; PRITI *et al.*, 2017).

En effet, *Lactococcus lactis* produit des bactériocines sous forme de lacticines (481, 3147, FS92, RM, NK24, R) plusieurs formes de nisine et de lactococcines (A, B, MN, G) la lactococcine MMT24 et lactococcine MMF (NURYSHEV *et al.*, 2016 ; YERLIKAY, 2018).

D'ailleurs, ont révélé la production de bactériocines outre que la nisine par *Lactococcus lacis ssp lactis*. Les bactériocines de cette espèce sont actives contre des bactéries Gram négatives (PERIN *et al.*, 2012 ; DRAPER *et al.*, 2013 et NURYSHEV *et al.*, 2016).

L'activité inhibitrice de la nisine purifiée contre *E. coli*, *Salmonella* et *Pseudomonas* a été confirmé (BHATIA et BHARTI, 2015).

De même, (PERIN *et al.*, 2012) ont révélé le potentiel antimicrobien à large spectre de lacticine 3147 et lactococcine M contre les pathogènes alimentaires (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* (OLUSEGUN *et al.*, 2016) et *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*), une stabilité à des températures élevées (90°C et 100°C) et une sensibilité vis-à-vis de la protéine K, la pepsine et l' α chymotrypsine. De même (SAHNOUFI *et al.*, 2014) ont isolé des souches de *Lactococcus lactis ssp lactis* dotées d'une activité inhibitrice envers plusieurs bactéries pathogènes dont *P. aeruginosa*, *Listeria innocua*, *E. coli* et *S. aureus* résistant à la méthicilline ; leur bactériocines sont stables sur une large gamme de ph (4-8), au traitement

thermique de (30 min à 100 °C) et inactivés par les enzymes protéolytiques (trypsine, protéine K et l' α chymotrypsine).

L'étude similaire de (NEMANJA *et al.*, 2015) ont mis en évidence la production de la bozacione B14 par *Lactococcus lactis ssp lactis* B14 et la lactococcine G produite par *Lactococcus lactis ssp. lactis* BGBM50.

(MCKAY, 1983) a déclaré que la présence abondante d'ADN extrachromosomique est une caractéristique courante des souches *Lactococcus*, qui constitue fréquemment le soutien génétique de nombreuses propriétés pertinentes dans les fermentations du lait. La résistance aux bactériophages ou production de bactériocines (NEMANJA *et al.*, 2015), sont codées par de l'ADN extrachromosomique. La production de la β -galactosidase est contrôlé par des gènes portés sur des plasmides (MAYO *et al.*, 1990).

Au final, (PRITI, 2017 ; LIASI *et al.*, 2009) ; ont signalé la résistance de *Lc. lactis* a plusieurs antibiotiques à savoir, aux aminoglycosides, aux sulfonamides, au β -lactam, aux polypeptides et aux groupes quinolones des antibiotiques, en plus des antibiotiques à spectre Gram négatif (acide nalidixique, acide pipémidique et norfloxacine) et aux aminosides (amikacine, kanamycine, et néomycine).

Conclusion

L'exploration des antimicrobiens d'origine naturelle fait l'objet d'une attention croissante en raison de la fréquence alarmante de la résistance bactérienne qui menace la vie humaine.

Largement utilisés comme des cultures starter dans les produits laitiers, les viandes et les fermentations végétales. Les bactéries lactiques présentes dans les écosystèmes humains ou animaux, jouent un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies bactériennes et virales par différents mécanismes.

En effet, plusieurs études portant sur les bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées à partir du lait et des produits laitiers, ont mis en évidence le potentiel remarquable de ces agents antimicrobiens.

Dans cet aperçu, notre présente étude a été conçue dans le but de rechercher des bactéries lactiques productrices de bactériocines.

Au cours de ce travail, les bactéries lactiques ont été isolées à partir du lait cru originaire de la région de Tizi Ouzou ; suivi d'une étude de l'antagonisme vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (27853) et des souches cliniques BLSE et *Staphylococcus aureus* (SARM) ; ensuite, celles-ci ont fait l'objet d'une identification sur la base de leurs caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques,

Les résultats d'étude de l'activité antagoniste par la méthode diffusion en puits a révélé un potentiel antimicrobien intéressant, de cinq (5) isolats lactiques (27-V2, 3-V2, 18-V1, 27-V1, 19-V2) à l'encontre de *Pseudomonas aeruginosa* (27853).

Les zones d'inhibitions obtenues, ont montré une tendance prometteuse en ce qui concerne l'activité inhibitrice envers *P. aeruginosa*, notamment pour les isolats (27-V1, 18-V1) avec 15mm et 18 mm respectivement.

Les souches (27-V2, 3-V2) et (19-V1) ont présenté également une activité antagoniste assez importante vis-à-vis de *P. aeruginosa* avec des zones de (14mm, 14mm) et 12mm pour chaque souche.

L'identification des cinq (5) isolats lactiques actifs a fait ressortir deux (2) souches du genre *Lactobacillus* appartenant à deux espèces différentes ainsi que trois (3) souches du genre *Streptococcus* appartenant à la même espèce.

Les résultats d'identification des souches N° (27-V2 et 3-V2) montrent un degré de parenté de (96,55%) et (89,65%) qui s'apparentent respectivement aux espèces *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus reuteri*.

Les souches N° (18-V1, 27-V1) et (19-V2) s'apparentent à l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* avec un pourcentage de parenté de (93,33%, 93,33%) et (90%) pour chaque espèce.

Cela dit l'effet antagoniste dû à la production de bactériocine peut varier au niveau des souches d'une même espèce, de plus le lait de vache peut constituer une source naturelle pour la recherche et la découverte de nouvelles souches de bactéries lactiques productrices de bactériocines a activité inhibitrice considérable contre des bactéries pathogènes.

Au final, il serait intéressant de poursuivre cet humble travail par :

- La confirmation de l'identification par des techniques plus performantes comme (l'étude du CG %, l'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARN 16S).
- L'identification et la caractérisation des molécules bioactives produites (la mise en évidence de la nature protéique par traitements enzymatiques, estimation de la masse moléculaire, et la concentration en protéines de la bactériocine).
- Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).
- Tester le profil de résistance de *P. aeruginosa* en présence des isolats lactiques.
- Tester l'activité antimicrobienne de l'intégralité des souches lactiques.

« A »

ABEE T. (1995). Pore-forming bacteriocins of Gram positive bacteria and selfprotection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, 129, 1-9.

M.E.F. ABDEL-HALIEM, E. TARTOUR, G. ENAN, Characterization, Production and PartialPurification of a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* LPS10 Isolated from Pickled Olives, *Res J Pharm, Biol Chem Sci* 7(5) (2013) 2362-2371.

ALEXEY S. VASILCHENKO1 · ALEXANDER V. VALYSHEV2 : Pore-forming bacteriocins : structural–functional relationships, © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018 <https://doi.org/10.1007/s00203-018-1610-3>.

ALEGRIA, A., DELGADO, S., ROCES, C., LOPEZ, B., & MAYO, B. (2010). Bacteriocins produced by wild *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional, starter-free cheeses made of raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 61e66.

AHMED T. et KANWAL R. (2004). Biochemical characteristics of lactic acid producing bacteria and preparation of camel milk cheese by using starter culture. *pakistan vet. J.*, 24 (2), 87-91.

M. ÁLVAREZ-CISNEROS, Y., & PONCE-ALQUICIRA, E. (2019). Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria. *Antimicrobial Resistance - A Global Threat*. doi:10.5772/intechopen.80624.

ALVAREZ-PEREZ, S., HERRERA, CM ET DE VEGA, C. (2012). Dans le zoom nectar floral : une première exploration des bactéries associées nectar dans les communautés de plantes sauvages. *FEMS Microbiology Ecology* 80, 591- 602.

AMANDINE FESSARD. Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l’activité antioxydante. *Sciences agricoles*. Université de la Réunion, 2017. Français. NNT : 2017LARE0033. tel-01974108.

AMANDINE FESSARD, FABIENNE REMIZE. Why Are *Weissella* spp. Not Used as Commercial Starter Cultures for Food Fermentation?. *Fermentation*, MDPI, 2017, *Fermentation and Bioactive Metabolites*, 3 (3), pp.38. [ff10.3390/fermentation3030038ff](https://doi.org/10.3390/fermentation3030038ff). [ffhal-01575097](https://doi.org/10.3390/fermentation3030038ff).

AUDISIO, M.C., TORRES, M.J., SABATE, D.C., IBARGUREN, C., AND APELLA, M.C. (2011). Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiological Research* 166, 1-13.

M. V. ARASU, N. A. AL-DHABI, S. ILAVENIL, K. C. CHOI, AND S. SRIGOPALRAM, “In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field,” *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 23, no. 1, pp. 6–10, 2016.

ASKARI, G., KAHOUADJI, A., KHEDID, K., CHAROF, R., AND MENNANE, Z. (2012). Screenings of lactic acid bacteria isolated from dried fruits and study of their antibacterial activity. *Middle-East Journal of Scientific Research* 11, 209-215.

AXELSSON L.(2004). Lactic acid bacteria : classification and physiology ;
in book « Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects »
3^{ème}éd.,Marcel Dekker,New York,pp 1-66.

Ayad E. H. E., Verheul A., de Jong C., Wouters J. T. M. & Smit G., "Flavour forming abilities and amino acid requirements of *Lactococcus lactis* strains isolated from artisanal and non-dairy origin." *International Dairy Journal*, 1999, 9

AYAT S. ELNAHAL; MAII A. SHAMS ELDEEN; MOHAMED I. EL SAWAF ; ABD-ELREHEM G. ADS, Invitro Study of Effect of *Lactobacillus Plantarum* on *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Wound Infection. Volume 27 / No. 2 / April 2018.

« B »

BADIS A., LAOUABDI-SELLAMI N., GUETARNI D., KIHAL M. ET OUZROUT R., 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre dedeux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.*, 23: 30-37

BHATIA S, BHARTI A. 2015. Evaluating the antimicrobial activity of nisin, lysozyme and ethylenediaminetetraacetate incorporated in starch based active food packaging film. *J Food Sci Technol* 52: 3504-3512.

BAHAR, A., & REN, D. (2013). Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1543–1575. doi:10.3390/ph6121543.

M.S. BARBOSA, S.D. TODOROV, Y. BELGUESMIA, Y. CHOISET, H. RABESONA, I.V. IVANOVA, J.M.CHOBERT, T. HAERTLE, B.D.G.M. FRANCO, Purification and characterization of the bacteriocinproduced by *Lactobacillus sakei* MBSa1 isolated from Brazilian salami, *J Appl Microbiol.*116(5) (2014) 1195-1208.

BAREFOOT, S. F., NETTLES, C. G., & CHEN, Y. R. (1994). Lactacin B, A Bacteriocin Produced by *Lactobacillus Acidophilus*. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, 353–376. doi:10.1007/978-1-4615-2668-1_13.

BELLO, B. D., RANTSIOU, K., BELLIO, A., ZEPPA, G., AMBROSOLI, R., CIVERA, T., ET AL. (2010).Microbial ecology of artisanal products from North West of Italy and antimicrobial activity of the autochthonous populations. *LWT e Food Science and Technology*, 43, 1151e1159.

BERMUDEZ-BRITO M, PLAZA-DIAZ J, MUÑOZ-QUEZADA S, GOMEZ-LLORENTE C, GIL A.Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab* 2012;61:160-74.

BLASER, M. (2011). Antibiotic overuse: stop the killing of beneficial bacteria. *Nature*476, 393–394. doi: 10.1038/476393a.

BROOIJMANS, R.J.W., DE VOS, W.H., AND HUGENHOLTZ, J. (2009) The electron transport chains of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Appl Environ Microbiol* 75, 3580–3585.
BOGDAN NEAMTU 1, OVIDIU TITA, MIHAI NEAMTU, MIHAELA TITA, MIRELA HILA , IONELA MANIU, Identification of Probiotic Strains from Human Milk in Breastfed Infants with Respiratory Infections, DOI 10.2478/aucft-2014-0016.

BOULLOUF AMAL (Thèse de Magister) En sciences alimentaires Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel « Bouhezza »Année universitaire 2015-2016.

BOUIX M. et LEVEAU J-Y., (1991). L'identification ; in : « Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires » 3^{ème} éd., technique et documentation Lavoisier, Paris, p 72-79.

BRITTON, R. A. (2017). Lactobacillus reuteri. The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology, 89–97. doi:10.1016/b978-0-12-804024-9.00008-2.

BOZOUDI, D., KOTZAMANIDIS, C., HATZIKAMARI, M., TZANETAKIS, N., MENEXES,G. AND LITOPOULOU- TZANETAKI,E. (2015): A comparison for acid production, proteolysis, autolysis and inhibitory properties of LAB from fresh and mature Feta PDO Greek cheese, made at three different mountainous areas. International Journal of Food Microbiology, 200:87-96.

« C »

CALIX-LARA TF, RAJENDRAN M, TALCOTT ST, ET AL, 2014. Inhibition of Escherichia coli O157 : H7 and Salmonella enterica on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention. Food Microbiol 38:192-200.

CARINE DORTU, PHILIPPE THONART : Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2009 13(1), 143-154.

CARVALHO, R. D. O., BREYNER, N., MENEZES-GARCIA, Z., RODRIGUES, N. M., LEMOS, L., MAIOLI, T. U., et al. (2017). Secretion of biologically active pancreatitis associated protein I (PAP) by genetically modified dairy Lactococcus lactis NZ9000 in the prevention of intestinal mucositis. Microb. Cell Fact. 16, 27.

CARVALHO RDDO, DO CARMO FLR, DE OLIVEIRA JUNIOR A, LANGELLA P,CHATEL J-M, BERMUDEZ-HUMARAN LG, AZEVEDO V AND DE AZEVEDO MS (2017) Use of Wild Type or Recombinant Lactic Acid Bacteria as an Alternative Treatment for Gastrointestinal Inflammatory Diseases: A Focus on Inflammatory Bowel Diseases and Mucositis. Front. Microbiol. 8:800. doi: 10.3389/fmicb.2017.00800.

CASAS IA ; DOBROGOSZ WJ (2000). "Validation of the Probiotic Concept : Lactobacillus reuteri Confers Broad-spectrum Protection against Disease in Humans and Animals". Microbial Ecology in Health and Disease.

CASCALES E, BUCHANAN SK, DUCHE D, KLEANTHOUS C, LLOUBES R, POSTLE K, CAVARD D (2007) Colicin biology. Microbiol Mol Biol Rev 71(1) :158–229.

S. CATALA-CLARIANA, F. BENAVENTE, E. GIMENEZ, J. BARBOSA, V. SANZ-NEBOT, Identification of bioactive peptides in hypoallergenic infant milk formulas by capillary electrophoresis-mass spectrometry, Anal Chim Acta 683(1) (2010) 119-125.

CASTILHO, N. P. A., COLOMBO, M., OLIVEIRA, L. L. DE, TODOROV, S. D., & NERO, L. A. (2019). Lactobacillus curvatus UFV-NPAC1 and other lactic acid bacteria isolated from calabresa, a fermented meat product, present high bacteriocinogenic activity against Listeria monocytogenes. *BMC Microbiology*, 19(1). doi:10.1186/s12866-019-1436-4.

CENATIEMPO Y., BERJEAD J.M., BIEF F., FERMAUX C., HECHARD Y. et ROBICHON D. (1996). Bactériocines des bactéries lactiques : données récentes sur leur structure, leur mode d'action et leurs déterminants génétiques. Elsevier,INRA. *Lait*,76, 169-177.

CHANDRAKASAN, G., RODRIGUEZ-HERNANDEZ, A.-I., DEL ROCIO LOPEZ-CUELLAR, M., PALMA-RODRIGUEZ, H.-M., & CHAVARRIA-HERNANDEZ, N. (2019). Bacteriocin encapsulation for food and pharmaceutical applications : advances in the past 20 years. *Biotechnology Letters*. doi:10.1007/s10529-018-02635-5.

CHEIGH C.I. AND PYUN Y.R. (2005). Nisin biosynthesis and its proprieties. *Biotechnol. Lett.*, 27, 1641-1648.

CHEN H. et HOOVER DG. (2003).Bactériocins and their food applications. *Comprehensive reviews In food safety*,2,82-100.

CHEN, Y., WANG, Y., CHOW, Y., YANAGIDA, F., LIAO, C., & CHIU, C. (2014). Purification and characterization of plantaricin Y, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 510. *Archives of Microbiology*, 196(3), 193–199. doi:10.1007/s00203-014-0958-2).

CHOPIN, A., M. C. CHOPIN, A. MOILLO-BATT & P. LANGELLA, (1984) Two plasmid-determined restriction and modification systems in *Streptococcus lactis*. *Plasmid* **11**: 260-263.

COTTER P.D., HILL C. AND ROSS R.P. (2005). Bacteriocins : developing innate immunity for food. *Nature Rev.Microbiol.*, **3**, 777-788.

MC CURK, F PELADAN, JC HUBERT ; Caractérisation biochimique des lactobacilles brassicoles. *Le Lait*, INRA Editions, 1993, 73 (2), pp.215-231.hal-00929330.

« D »

DABA H, SAIDI S. Detection of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from milk in various farms in north-east Algeria by a new procedure. *Agron Resear.* 2015;13:907–18.

DACOSTA Y. (2000). La bioprotection des aliments: l'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologique des aliments. Ed. YVES DACOSTA. Paris.

DANIEL GOY, JOHN HALDEMANN, ERNST JAKOB (2015), hétérofermentaires dans la fabrication du Gruyère ;*Agroscope Transfer | N° 60 / Avril 2015.*

DEEGAN L.H., COTTER P.D., HILL C. et ROSS P. (2006). Bacteriocins tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International dairy journal*, 16, 1058-1071.

DELARAS C. (2007). Microbiologie pratique pour les laboratoires d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed., Tec et Doc., Lavoisier, Paris, p 126-173. MM

DE SETA F, F PARAZZINI, DE LEO R, R BANCO, MASO GP, DE SANTO D, et al. Lactobacillus plantarum P17630 pour la prévention Candidose récurrence vaginite: une étude comparative rétrospective. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014; 182: 136 e 9.

DE JONG, A., VAN HIJUM, S. A. F. T., BIJLSMA, J. J. E., KOK, J., & KUIPERS, O. P. (2006). BAGEL: a web-based bacteriocin genome-mining tool. Nucleic Acids Research, 34(Web Server), W273–W279. doi:10.1093/nar/gkl237.

DI CAGNO, R., SURICO, R.F., PARADISO, A., DE ANGELIS, M., SALMON, J.C., BUCHIN, S., et al. (2009). Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. International Journal of Food Microbiology 128, 473-483. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.017.

DICKS LMT, ADP VAN STADEN ET B. KLUMPERMAN (2017): Bacteriocins and Nanotechnology DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-41625-2.00007-7> Elsevier Inc. All rights reserved.

DI CAGNO, R., CARDINALI, G., MINERVINI, G., ANTONIELLI, L., RIZZELLO, CG, RICCIUTI, P., et al. (2010). Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. Food Microbiol. 2010 May;27(3):381-9 DOI: 10.1016/j.fm.2009.11.012.

DI CAGNO, R., FILANNINO, P., VINCENTINI, O., LANERA, A., CAVOSKI, I., ET GOBBETTI, M. (2016). Exploitation of *Leuconostoc mesenteroides* strains to improve shelf life, rheological, sensory and functional features of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit puree. Food Microbiol. 2016 Oct;59: 176-89 doi: 10.1016/j.fm.2016.06.009.

DIEP D.B., MYHRE R., JOHNSBORG O., AAKRA A. AND NES I.F. (2003). Inducible bacteriocin production in *Lactobacillus* is regulated by differential expression of *pln* operons and by two antagonist response regulators, the activity of which is enhanced upon phosphorylation. Mol. Microbiol., 45, 483-494.

DORTU C et THONART P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la biopreservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 13 (1), 143-154.

DRAPER LA, COTTER PD, HILL C, ROSS RP. 2013. The two peptide lantibiotic lactacin 3147 acts synergistically with polymyxine to inhibit Gram negative bacteria. BMC Microbiol 13: 212.

DROSINOS E.H., MATARAGAS M, et PARAMITHIOTIS S. (2008) antimicrobial activity of bacteriocins and their applications; in book : “Meat biotechnology” éd., Springer New York, USA, pp 376-390 .

DRIDER D., FIMLAND H.Y., MCMULLEN L. and PREVOST H. (2006). The continuing story of class IIa bacteriocin. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 32, 101-107.

DUAR, R.M., LIN, X.B., ZHENG, J., MARTINO, M.E., GRENIER, T., PEREZ-MUNOZ, M.E., LEULIER, F., GANZLE, M., WALTER, J., 2017. Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiol. Rev.* doi:10.1093/femsre/fux030.

DUWAT P., SOURICE S., CESSÉLIN B., LAMBERET G., VIDO K., GAUDU P., LE LOIR Y., VIOLET F., LOUBIERE P. & GRUSS A., "Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival." *J Bacteriol*, 2001, 183 (15), 4509-4516.

DU, H., YANG, J., LU, Z., BIE, X., ZHAO, H., ZHANG, C., LU, F. 2018. Purification, Characterization, and Mode of Action of Plantaricin GZ1-27, a Novel Bacteriocin against *Bacillus cereus*. *J Agri Food Chem*.

« E »

EBU. L. F , A.A .ORUKOTAN AND J.R WARTU : The Use of Probiotic Containing Lactic Acid Bacteria to the Rescue of Antibiotics in Broiler Production Article · December 2018. DOI: 10.9734/JAMB/2018/45770.

EIJSSINK V.G.H., AXELSSON L., DIEP D.B., HAVARSTEIN L.S., HOLO H. et NES I.F (2002). Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria ; an example of biological warfare and communication.

EJTAHED HS, MOHTADI-NIA J, HOMAYOUNI-RAD A, NIAFAR M, ASGHARI-JAFARABADI M, MOFID V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition* 2012;28:539-43. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 639-654.

ENDO, A. AND OKADA, S. (2008) Reclassification of the genus *Leuconostoc* and proposals of *Fructobacillus fructosus* gen. nov., comb. nov., *Fructobacillus durionis* comb. nov., *Fructobacillus ficulneus* comb. nov. and *Fructobacillus pseudoficulneus* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 2195–2205.

ENDO, A., MAENO, S., TANIZAWA, Y., KNEIFEL, W., ARITA, M., DICKS, L., et al. (2018). Fructophilic Lactic Acid Bacteria, a Unique Group of Fructose-Fermenting Microbes doi: 10.1128/AEM.01290-18.

« F »

FERNANDEZ B (2014). Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes. PhD thesis, Université Laval, Québec, 143p.

FRITZE, D. AND CLAUS, D. (1995) Spore-forming, lactic acid producing bacteria of the genera *Bacillus* and *Sporolactobacillus*. In: *The Genera of Lactic Acid Bacteria* ((eds) B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel), 1st edn, pp. 368–387.

FILANNINO, P., DI CAGNO, R., AND GOBBETTI, M. (2018). METABOLIC AND FUNCTIONAL PATHS OF LACTIC ACID 1187 BACTERIA IN PLANT FOODS: GET OUT OF THE LABYRINTH. *CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY* 49, 64-72.

FELIS, G. E., SALVETTI, E., & TORRIANI, S. (2015). Systematics of Lactic Acid Bacteria. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria*, 25 31. doi:10.1002/9781118868386.ch2.

FIELD, D., ROSS, R. P., HILL, C. 2018. Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives, COFS.

FURET, J. P., P. QUENEE, AND P. TAILLIEZ. 2004. Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. *Int. J. Food Microbiol.* 97:197–207.

FUGELSANG K.C. et EDWARDDS C.G (2007). Lactic acid bacteria ; in : « wine microbiology : partial application and procedures » 2^{ème} éd., Springer New York, USA, pp29-44.

« G »

GALINA NOVIK, VICTORIA SAVICH (2019) :Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004>.

Y. GAO, D. LI, S. LIU, L ZHANG, Garviecin LG34, a novel bacteriocin produced by *Lactococcus garvieae* isolated from traditional Chinese fermented cucumber, *Food Control* 50(2015) 896-900.

Y. GAO, B. LI, D. LI, L. ZHANG, Purification and characteristics of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* L11 isolated from Chinese traditional fermented cucumber, *Biotechnol Lett* 38(5) (2016) 871-876.

GARRITY G.M., TIMOTHY G.L., JAMES R.C., SCOTT H.H., EUZEBY J. AND TINDALL B.J. (2007). Taxonomic Outline of Bacteria and Archeae. Part 9- The Bacteria : phylum “ Firmicutes” : class “ Bacilli”. Release 7.7 march 6.

GÄNZLE MG, HÖLTZEL A, J WALTER, JUNG G, WP DE HAMMES (2000). "Caractérisation de la reutericycline produite par *Lactobacillus reuteri* LTH2584". *Microbiologie appliquée et environnementale.* 66 (10) : 4325–33.

GÄNZLE, M.G., VERMEULEN, N., VOGEL, R.F., 2007. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiol.* 24, 128–138.

GÄNZLE, M.G., 2015. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Curr. Opin. Food Sci.* 2, 106–117

GHARSALLAOUI A, OULAHAL N, JOLY C, DEGRAEVE P. 2016. Nisin as a food preservative. Part 1: physicochemical properties, antimicrobial activity, and main uses. *Crit Rev Food Sci Nutr* 56: 1262-1274.

GILDA TACHEDJIAN A,B,C,D,*, MURIEL ALDUNATE A,B, CATRONIA S. BRADSHAW E,F, RICHARD A. CONE G : The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health *Research in Microbiology* 168 (2017) 782e792. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2017.04.001>, www.elsevier.com/locate/resmic.

GORSKI, A.; MIEDZYBRODZKI, R.; BORYSOWSKI, J.; DABROWSKA, K.; WIERZBICKI, P.; OHAMS, M.; KORCZAK-KOWALSKA, G.; OLSZOWSKA-ZAREMBA, N.; LUSIAK-SZELACHOWSKA, M.; KLAK, M.; et al. Phage as a modulator of immune responses: Practical implications for phage therapy. *Adv. Virus Res.* 2012, 83, 41–71.

GUIRAUD J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris: 54-571

GUIRAUD J. P. (2003). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris, pp 219-232, 530-582.

GUPTA R.K. et BATISH V.K. (1992). Genetic evidence for plasmid-encoded lactococcin produced in *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* 484. *Current Microbiology*, 24, 231-238.

« H »

HAMMES W.P. et HERTEL C. (2006). The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium* ; in : « the prokaryotes : A handbook on the biology of bacteria volume 4 : bacteria : firmicutes, cyanobacteria » 3^{ème} éd., Springer, New York, USA, 4, 320-403.

HAMMES, W.P. AND VOGEL R.F. (1995) The genus *Lactobacillus*. In : The Genera of Lactic Acid Bacteria ((eds) B.J.B. Wood and W.H. Holzappel), 1st edn, pp. 19–55. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.

HAN HZ, ZHAO Y J, SHI CZ, LIANG Y & YANG J Effect of *Lactobacillus plantarum* on intestinal infection in multiple drug-resistant bacteria mice. *Surgical infections* 2015 ; 16:762-768.

HARDIE, J.M AND WHILEY, R.A. (1995) The genus *Streptococcus*. In : The Genera of Lactic Acid Bacteria (eds) B.J.B. Wood and W.H. Holzappel), 1st edn, pp. 55–115. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.

HANSEN EB. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *Int J Food Microbiol* 2002; 78: 119– 131.

HENG N.C.K., WESCOMBE P.A., BURTON J. P., JACK R.W. AND TAGG J.R.(2007). The diversity of bacteriocins in Gram positive bacteria; in : “Bacteriocins:ecology and evolution”. Ed Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg.

HENICK-KLING, T. (1993) Malolactic fermentation. In : Wine Microbiology and Biotechnology ((ed.) G.H. Fleet), 1st edn, pp. 289–326. Harwood Academic Publisher, Amsterdam.

HOLLENBECK B.L. AND RICE L.B. (2012) Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. *Virulence* 3, 421–433. Blackie Academic & Professional.

HOGG S. 2005. *Essential Microbiology*. Ed., John Wiley et Son, Chichester, England, pp 99-100.

HOLZAPFEL, W.H., AND WOOD, B.J.B. (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. West 1212 Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

HU, Y., KETABI, A., BUCHKO, A., GÄNZLE, M.G., 2013. Metabolism of isomalto-oligosaccharides by *Lactobacillus reuteri* and bifidobacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 57, 108-114.

HU C-B, Malaphan W, Zendo T, Nakayama J et Sonomoto K (2010). Enterocin X, a novel two-peptide bacteriocin from *Enterococcus faecium* KU-B5, has an antibacterial spectrum completely different from those of its component peptides. *Applied and Environmental Microbiology* 76(13) : 4542- 4545. Doi : <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02264-09>.

« I »

R. ILAYARAJA ET RADHAMADHAVAN MADHAVAN (2011), Purification and partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus reuteri* isolated from human milk.

S. IBRAHIM updated Change history : July 2015, **M. CALASSO, M. GOBBETTI.** Lactic Acid Bacteria. *Lactobacillus* spp : Other Species. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd Edition, 2011, pages 128.

« J »

JAMES OWUSU-KWARTENG^{1,2}, KWAKU TANO-DEBRAH², FORTUNE AKABANDA^{1,2}, DENNIS S. NIELSEN³ & LENE JESPERSEN³, Partial Characterization of Bacteriocins Produced by *Lactobacillus reuteri* 2-20B and *Pediococcus acidilactici* 0-11A Isolated from Fura, a Millet-Based Fermented Food in Ghana, URL: <http://dx.doi.org/10.5539/jfr.v2n1p50>, *Journal of Food Research*; Vol 2, No. 1; 2013.

JAY J.M., LOSSNER M.J.ET GOLDEN D.A. (2005). *Modern food microbiology*. 7^{ème} ed., Springer, New York, USA, pp 14-15.

JUNG-HOON LIM, SEOK-MIN YOON, PEI-LEI TAN , SIYOUNG YANG, SAE-HUN KIM, AND HYUN-JIN PARK_ (2018) Institute of Food Technologists R _ Probiotic Properties of *Lactobacillus Plantarum* LRCC5193, a Plant-Origin Lactic Acid Bacterium Isolated from Kimchi and Its Use in Chocolates doi: 10.1111/1750-3841.14364.

JIONG ZOU, HAN JIANG, HUI CHENG, JIEHONG FANG, GUANGRONGHUANG, Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *Biomac* (2017), doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.05.233.

« K »

T KABUKI, T SAITO, KAWAI Y, UEMURA J, ITOH T (1997). "Production, purification et caractérisation de la reutéricine 6, une bactériocine à activité lytique produite par *Lactobacillus reuteri* LA6". *Journal international de microbiologie alimentaire* . 34 (2): 145–56.

V. KASKONIENE, M. STANKEVICIUS, K. BIMBIRAITĖ-SURVILIENE, G. NAUJOKAITĖ, L. SERNIENE, K. MULKYTĖ, M. MALAKAUSKAS, A. MARUSKA, Current state of purification, isolation and analysis of bacteriocins produced by lactic acid bacteria, *Appl Microbiol Biot* 101(4) (2017)1323-1335.

KAVITEKE D, KANDASAMY S, DEVI PB et al. Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods - A review. *Food Bioscience* 2018 ; 21: 34-44.

KAWULKA KE, SPRULES T, DIAPER CM, WHITTAL RM, MCKAY RT, MERCIÉ P, ZUBER P, VEDERAS JC (2004) Structure of subtilisin A, à cyclic antimicrobial peptide from *Bacillus subtilis* with unusual sulfur to alpha-carbon cross-links : formation and reduction of aliphatic-alpha-amino acid derivatives. *Biochemistry* 43:3385–3395.

KHEMARIYA, P., S. SINGH, G. NATH, AND A. K. GULATI. 2017. Probiotic *Lactococcus lactis*: A review. *Turk. J. Agric. Food Sci. Tech.* 5:556–562.

KILLER, J., DUBNA, S., SEDLACEK, I., AND ŠVEC P. (2014a) *Lactobacillus apis* sp. nov., from the stomach of honeybees (*Apis mellifera*), having an in vitro inhibitory effect on the causative agents of American and European foulbrood. *Int J Syst Evol Microbiol* 64, 152–157.

KILLER, J., HAVLIK, J., VLKOVA, E., et al. (2014b) *Lactobacillus rodentium* sp. nov., from the digestive tract of wild rodents.

KIM, N.-N., KIM, W. J., & KANG, S.-S. (2018). Anti-biofilm effect of crude bacteriocin derived from *Lactobacillus brevis* DF01 on *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. *Food Control*. doi:10.1016/j.foodcont.2018.11.004.

KIYMACI ME, ALTANLAR N, GUMUSTAS M, OZKAN SA & AKIN A (2018) Quorum sensing signals and related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microb Pathog* 121: 190-197.

KJOS M, SALEHIAN Z, NES IF ET DIEP DB (2010). An extracellular loop of the mannose phosphotransferase system component IIC is responsible for specific targeting by class IIa bacteriocins. *Journal of Bacteriology*, 192(22): 5906-5913. doi: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00777-10>.

KLEIN, GÜNTER (2011). "Résistance aux antibiotiques et caractérisation moléculaire des souches de probiotiques et de lactobacilles cliniques en relation avec les aspects de sécurité des probiotiques". *Pathogènes et maladies d'origine alimentaire*. 8 (2) : 267–281.

KÖNIG H., FR ÖHLICH J. 2009. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine.* Ed Springer-Verlag., Berlin Heidelberg. 109p.

KRISTIN M. BURKHOLDER,* , DYLAN H. FLETCHER, LAUREN GILEAU AND ARNOLD KANDOLO University of New England, Department of Biology : Lactic acid bacteria decrease *Salmonella enterica* Javiana virulence and modulate host inflammation during infection of an intestinal epithelial cell line Downloaded from <https://academic.oup.com/femspd/advance-article/doi/10.1093/femspd/ftz025/5480463> by guest on 03 May 2019.

KUIPERS A, RINK R ET MOLL GN (2011). Genetics, biosynthesis, structure, and mode of action of antibiotics. In Drider D et Rebuffat S (Ed.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides : From Genes to Applications*. New York : Springer, USA, p147-169. Doi : http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5_9.

KONSTANTINIDIS, K.T. AND TIEDJE, J.M. (2005) Towards a genome-based taxonomy for prokaryotes. *J Bacteriol* 187,6258–6264.

LAROCCA, D.; KASSNER, P.D.; WITTE, A.; LADNER, R.C.; PIERCE, G.F.; BAIRD, A. Gene transfer to mammalian cells using genetically targeted filamentous bacteriophage. *FASEB J.* 1999, 13, 727–734. [CrossRef].

LEVEAU J.Y., BOUIX M. et DE ROISSART H. (1991). La flore lactique ; in : Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires éd., *Technique et documentation*, Lavoisier, Paris, pp 152-182.

LIASISA, AZMI TI, HASSAN MD, SHUHAIMI M, ROSFARIZAN M, ARIFF AB. 2009. Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malay J Microbiol.*, 5:33–37.

LORIS RICCARDO LOPETUSO 1,2, MARIA ERNESTINA GIORGIO 1, ANGELA SAVIANO 1, FRANCO SCALDAFERRI 1,2 , ANTONIO GASBARRINI 1,2 AND GIOVANNI CAMMAROTA 1,2 : Bacteriocins and Bacteriophages: Therapeutic Weapons for Gastrointestinal Diseases?, *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 183 ; doi:10.3390/ijms20010183.

LOUARDI, M. (2013). Applications de la Spectrométrie de Masse, type MALDI TOF à la Bactériologie et à la Distinction de Variants Génétiques, Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale, science de la vie et de la santé, Université de Strasbourg, p. 13, 14 – 51, 53.

LU, X., YI, L., DANG, J., DANG, Y. AND LIU, B. (2014): Purification of novel bacteriocin produced by *Lactobacillus coryniformis* MXJ32 for inhibiting bacterial foodborne pathogens including antibiotic resistant microorganisms. *Food Control*, 46:264-271.

LÜBECK, M., & LÜBECK, P. S. (2019). Application of lactic acid bacteria in green biorefineries. *FEMS Microbiology Letters*. doi:10.1093/femsle/fnz024.

LUCIANA G. RUIZ RODRIGUEZ1, FLORENCIA MOHAMED1, JULIANA BLECKWEDEL1, ROXANA B. MEDINA1, LUC DE VUYST2, ELVIRA M. HEBERT1, FERNANDA MOZZI1* Diversity and Functional Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Wild Fruits and Flowers Present in Northern Argentina. *Front. Microbiol.* 10:1091 doi:10.3389/fmicb.2019.01091.

LUDWIG, W., SCHLEIFER, K.H., AND WHITMAN, W.B. (2009) Revised road map to the phylum Firmicutes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* ((eds) P. De Vos, G.M. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey.

LINJORDET, M.S. (2016). A comparative analysis of lactic acid bacteria isolated from honeybee gut and flowers, with focus on phylogeny and plasmid profiling. Master Thesis, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway.

LIU, W., PANG, H., ZHANG, H., AND CAI, Y. (2014). "Biodiversity of lactic acid bacteria," in *Lactic Acid Bacteria*. (The Netherlands: Springer), 103-203.

LUCIANA RUIZ-RODRIGUEZ*, JULIANA BLECKWEDEL*, MARIA EUGENIA ORTIZ, MICAELA PESCUA, AND FERNANDA MOZZI : *Lactic Acid Bacteria* 2017 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Industrial Biotechnology: Microorganisms, First Edition.

LV, X., LIN, Y., JIE, Y., SUN, M., ZHANG, B., BAI, F., ... LI, J. (2017). Purification, characterization, and action mechanism of plantaricin DL3, a novel bacteriocin against *Pseudomonas aeruginosa* produced by *Lactobacillus plantarum* DL3 from Chinese Suan-Tsai. *European Food Research and Technology*, 244(2), 323–331. doi:10.1007/s00217-017-2958-3).

« M »

MCKAY, L. L., ANDERSON, D. G. &. (1983) Simple and rapid method for isolating large plasmid DNA from lactic streptococci. *Applied and Environmental Microbiology* 46 549-552.
S.J. MACWANA, P.M. MURIANA, A 'bacteriocin PCR array' for identification of bacteriocin-related structural genes in lactic acid bacteria, *J Microbiol Method* 88(2) (2012)197-204.

MAKAROVA, K., SLESAREV, A., WOLF, Y., ET AL. (2006) Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 15611–15616.

MAMI. A ; HAMED. A ; HENNI. J .KERFOUF. A ; KIHAL. M. (2010). Activité antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. *LES TECHNIQUES DE LABORATOIRE -2010*, volume 5, N°21.

MATTARELLI, P., HOLZAPFEL, W., FRANZ, M.A.P.C., et al. (2014) Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related genera. *Int J Syst Evol Microbiol* 64, 1434–1451.

MATHUR H, FALLICO V, O'CONNOR PM, REA MC, COTTER PD, HILL C, ROSS RP (2017) Insights into the mode of action of the bacteriocin thuricin CD. *Front Microbiol* 8:696. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00696>.

MATHUR H, FIELD D, REA MC, COTTER PD, HILL C AND ROSS RP (2017) Bacteriocin-Antimicrobial Synergy: A Medical and Food Perspective. *Front. Microbiol.* 8:1205. doi: 10.3389/fmicb.2017.01205.

MAYO, B., HARDISSON, C., & BRAÑA, A. F. (1990). *Characterization of wild strains of Lactococcus lactis subsp. lactis isolated from Cabrales cheese. Journal of Dairy Research*, 57(01), 125. doi:10.1017/s0022029900026686.

MAYSAA KADHIM AL-MALKEY, A MUNIRA CH. ISMEEAL, A FAHEMA JABBAR ABO AL-HUR, A SINAA W. MOHAMMED, A HANAN J. NAYYEFA Antimicrobial effect of probiotic *Lactobacillus* spp. on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Contemp Med Sci | Vol. 3, No. 10, Spring 2017 : 218–223.*

METTE LÜBECK, PETER STEPHENSEN LÜBECK Section for Sustainable Biotechnology, Department of Chemistry and Bioscience, Aalborg University Copenhagen, A C Meyers Vaenge 15, 2450 Copenhagen SV, Denmark. doi:10.1093/femsle/fnz024/5304611.

MEHTA V, BHATT K, DESAIN, NAIK M. probiotics: an adjuvant therapy for D-Galactose induced Alzheimer's disease. *J Med Res Innov* 2017; 1:30.

MIMOUN, H.F. (2015). Effet des Substances Antimicrobiennes Produites par *Leuconostoc mesenteroides* Isolées à Partir du Lait de Chamelle Algérien sur *Listeria* ssp. dans les Produits Alimentaires, Thèse de Doctorat, Spécialité, Microbiologie Appliquée, Université d'Oran, p. 51-56.

MORISSET D., BERGEAUD J.M., FRERE J. et HECHARD Y. (2005). Bactériocines de bactéries lactiques ; in book: "bactéries lactiques et proniotiques" éd., tec-doc. Lavoisier, Paris, p 113-174.

MORITA H, TOH H, FUKUDA S, ET AL. (JUNE 2008). "Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic island for reuterin and cobalamin production". *DNA Res.* 15 (3): 151–61, doi: 10.1093/dnares/dsn009.

MURINA F, GRAZIOTTIN A, VICARIOTTO F, DE SETA F. Can *Lactobacillus fermentum* LF10 et *Lactobacillus acidophilus* LA02 dans un produit vaginal à libération lente est utile pour la prévention de la candidose vulvo récurrente : Une étude clinique. *J Clin Gastroenterol* 2014 ; 48 (Suppl 1) : S102 e 5.

« N »

NAEEM, M., ILYAS, M., HAIDER, S., BAIG, S., AND SALEEM, M. (2012). Isolation characterization and identification of lactic acid bacteria from fruit juices and their efficacy against antibiotics. *Pakistan Journal of Botany* 44, 323-328.

NAGHMOUCHI, K., BELGUESMIA, Y., BAAH, J., TEATHER, R., AND DRIDER, D. (2011). Antibacterial activity of class I and IIa bacteriocins combined with polymyxin E against resistant variants of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *Res. Microbiol.* 162, 99–107. Doi : 10.1016/j.resmic.2010.09.014.

NEMANJA MIRKOVIC, ZORICA RADULOVIC, GORDANA UZELAC, JELENA LOZO, DRAGOJLO OBRADOVIC, LJUBISA TOPISIROVIC AND MILAN KOJIC ; Isolation and Characterisation of Bacteriocin and Aggregation-Promoting Factor Production in *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* BGBM50 Strain ; doi: 10.17113/ft b.53.02.15.3846 ; *Food Technol. Biotechnol.* 53 (2) 237–242 (2015).

NUNEZ, M. & MEDINA, M. 1979 Lactic acid flora from blue Cabrales cheese. *Lait* 59 497-513
OKBERO, P. K. & SANDINE, W. E. 1985 Survey of antimicrobial resistance in lactic streptococci. *Applied and Environmental Microbiology* 49 538-542.

NAWAZ, S.K. ; RIAZ, S. ; RIAZ, S. ; HASNAIN, S. (2009). Screening for antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteriocin producing bacteria. *Afr. J. Biotechnol.* 8 (3), 365–368. [Google Scholar].

NISSEN-MEYER J, ROGNE P, OPPEGARD C, HAUGEN H ET KRISTIANSEN P (2009). Structure-function relationships of the non-lanthionine-containing peptide (class II) bacteriocins produced by grampositive bacteria. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(1) : 19-37. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/138920109787048661>.

NISSEN-MEYER J, OPPEGÅRD C, ROGNE P, HAUGEN HS ET KRISTIANSEN PE (2011). The two-peptide (Class- IIb) bacteriocins : genetics, biosynthesis, structure, and mode of action. In Drider D et Rebuffat S (Ed.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides : From genes to applications*. New York: Springer, p197-212. doi: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5_11.

G. NOVIK, V. SAVICH, Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine, *Microbes and Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004>.

NURYSHEV, M. Z., & STOYANOVA, L. G. (2016). *New Probiotic Culture of Lactococcus lactis ssp. lactis: Effective Opportunities and Prospects. Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 8(4). doi:10.4172/1948-5948.1000299.

« O »

T.C.OLOFSSON, BUTLER, È., MARKOWICZ, P., LINDHOLM, C., LARSSON, L., AND VASQUEZ, A. (2014). Lactic acid bacterial symbionts in honeybees—an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal* 13, 668-679.

OLUSEGUN A. OLAOYE, ABIODUN A. ONILUDE, STELLA C. UBBOR, ANNA N. AGIRIGA (2016) ;Microbiological quality during storage of pork balangu inoculated with nisin producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ; <https://www.researchgate.net/publication/308928409>.

OSAMA O IBRAHIM. “Classification of Antimicrobial Peptides Bacteriocins, and the Nature of Some Bacteriocins with Potential Applications in Food Safety and Bio-Pharmaceuticals”. *EC Microbiology* 15.7 (2019): 591-608.

« P »

PASCUAL L.M., DANIELE M.B., GIORDANO W.C. et BARBERIS I.L., (2008). Purification and partial characterisation of novel bacteriocin L23 produced by *Lactobacillus fermentum* L23. *Curr. Microbiol.*, 56, 397-402.

PACHLA, A., WICHA, M., PTASZYNSKA, A.A., BORSUK, G., ŁANIEWSKA–TROKENHEIM, Ł., AND MALEK, W. (2018). The molecular and phenotypic characterization of fructophilic lactic acid bacteria isolated from the guts of *Apis mellifera* L. derived from a Polish apiary. *Journal of Applied Genetics* 59,1291 503-514.

PATRICK TAILLIEZ. MINI-REVUE : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Le Lait*, INRA Editions, 2001, 81 (1-2), pp.1-11. 10.1051/lait : 2001101. hal-00895453.

PATRIZIA MESSI ET REGGIO EMILIA, VIA GIUSEPPE CAMPI 285, 41125 MODENE, ITALIE) Characterization of Anti-Listeria monocytogenes Properties of two Bacteriocin-Producing *Enterococcus mundtii* Isolated from Fresh Fish and Sea food <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01716-6>
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019.

PEREZ T., BALCAZAR J. L., PEIX A., VALVERDE A., VELAZQUEZ E., DE BLAS I. & RUIZ-ZARZUELA I., "*Lactococcus lactis* subsp. *tructae* subsp. nov. isolated from the intestinal mucus of brown trout (*Salmo trutta*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)."
Int J Syst Evol Microbiol, 2010.

PENG X, MENG J, CHI T, LIU P, MAN C, LIU S, et al. *Lactobacillus plantarum* NDC 75017 alleviates the learning and memory ability in aging rats by reducing mitochondrial dysfunction. *Exp Ther Med* 2014; 8:1841-6.

PERIN, L. M., MORAES, P. M., VIÇOSA, G. N., SILVA JUNIOR, A., & NERO, L. A. (2012). *Identification of bacteriocinogenic Lactococcus isolates from raw milk and cheese capable of producing nisin A and nisin Z. International Dairy Journal, 25(1), 46–51.* doi:10.1016/j.idairyj.2011.12.010.

E.V. PINGITORE, E. SALVUCCI, F. SESMA, M. NADER-MACÍAS, Different strategies for purification of antimicrobial peptides from Lactic Acid Bacteria (LAB), A. Méndez-Vilas (Ed.) 2 (2007) 557-568.

PIARD J. et DESMAZEAUD M. (1992) inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antimicrobial substances. *Lait*, 72, 113-142.

PONTONIO, E., DI CAGNO, R., TARRAF, W., FILANNINO, P., DE MASTRO, G., AND GOBBETTI, M. (2018). Dynamic and Assembly of Epiphyte and Endophyte Lactic Acid Bacteria During the Life Cycle of *Origanum vulgare* L. *Frontiers in Microbiology* 9, 1372-1372. doi: 10.3389/fmicb.2018.01372.

POT, B. (2008).the taxonomy of lactic acid bacteria ; in book : « de la génétique aux ferments »éd., tec-doc.,Lavoisier,paris,pp 1-92.

POPOVIC N, DJOKIC J, BRDARIC E, DINIC M, TERZIC-VIDOJEVIC A, GOLIC N & VELJOVIC K (2019) The influence of heat-killed *Enterococcus faecium* BGPAS1-3 on the tight-junction protein expression and immune function in differentiated Caco-2 cells infected with *Listeria monocytogenes* ATCC 19111. *Frontiers in Microbiology* 10.

PRINCE A, SANDHU P, KUMAR P, DASH E, SHARMA S, ARAKHA M, SALEEM M (2016) Lipid-II independent antimicrobial mechanism of nisin depends on its crowding and degree of oligomerization. *Sci Rep* 6:37908. <https://doi.org/10.1038/srep37908>.

PRITI KHEMARIYA1*, SUDHIR SINGH1, GOPAL NATH2, ANIL K GULATI2 ; Probiotic *Lactococcus lactis*: A Review DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i6.556-562.690>. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(6): 556-562, 2017.

PRINGSULAKA O., THONGNAM N., SUWANNASAI N., ATTHAKOR W., POTHIVEJKUL K. AND RANGSIRUJI A., 2011. Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, 23: 547-551

« R »

RATTANACHAIKUNSOPON P, PHUMKHACHORN P. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann Biol Research* 2010;1(4):218-228.

RODRIGUEZ, E., GONZALEZ, B., GAYA, P., NUÑEZ, M., & MEDINA, M. (2000). Diversity of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from raw milk. *International Dairy Journal*, 10, 07e15.

RIAZ, A., NOUREEN, S., LIQAT, I., ARSHAD, M., & ARSHAD, N. (2019). Antilisterial efficacy of *Lactobacillus brevis* MF179529 from cow: an in vivo evidence. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1). doi:10.1186/s12906-019-2444-5.

RIAZ, S., NAWAZ, S. K., & HASNAIN, S. (2010). Bacteriocins produced by *L. fermentum* and *L. acidophilus* can inhibit cephalosporin resistant *E. coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(3), 643–648. doi:10.1590/s1517-83822010000300015.

RONIMUS, R.S. AND MORGAN, H.W. (2001) The biochemical properties and phylogenies of phosphofructokinases from extremophiles. *Extremophiles* 5, 357–373.

« S »

SAHNOFI F., BOUTIBA-MAATALLAH A., BOUHADID B., BOUTIBA Z (2014) ; Characterization of bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from marine fish caught in the Algerian west coast <https://www.researchgate.net/publication/283733123>.

SAMSON W. B., & PHILIP, K. (2018). Characterization, yield optimization, scale up and biopreservative potential of fermencin SA715, a novel bacteriocin from *Lactobacillus fermentum* GA715 of goat milk origin. *Microbial Cell Factories*, 17(1). doi:10.1186/s12934-018-0972-1.

SALMINEN S., WRIGHT A.V. AND OUWEHAND A., 2004. Microbiological and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A .p 628.

SALVETTI, E., TORRIANI, S., AND FELIS, G.E. (2012) The genus *Lactobacillus* : a taxonomic update. *Probiotics Antimicrob Prot* 4, 217–226.

SALVETTI, S., FONDI, M., FANI, R., et al. (2013) Evolution of lactic acid bacteria in the order Lactobacillales as depicted by analysis of glycolysis and pentose phosphate pathways. *Syst Appl Microbiol* 36, 291–305.

SALVETTI E, HARRIS HMB, FELIS GE, O'TOOLE PW. 2018. Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification. *Appl Environ Microbiol* 84:e00993-18, <https://doi.org/10.1128/AEM.00993-18>.

SCHLEIFER, K.H. AND LUDWIG, W. (1995) Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. In : *The Genera of Lactic Acid Bacteria* ((eds) B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel), 1st edn, pp. 7–17. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.

SCHLEGEL, H. G. 1997. *General Microbiology*. Cambridge University Press, New York, NY.

SEOUNG HYUK KIM, WANG JUNE KIM, SEOK-SEONG KANG* :** Inhibitory effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus brevis* DF01 and *Pediococcus acidilactici* K10 isolated from kimchi on enteropathogenic bacterial adhesion <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100425>. *Food Bioscience* 30 (2019) 100425.

SHIH-CHUN YANG^{1,2†}, CHIH-HUNG LIN^{3,4†}, CALVIN T. SUNG⁵ AND JIA-YOU FANG^{1,2,6*} : Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals,

doi: 10.3389/fmicb.2014.00241.

SOBOL CV, BELOSTOTSKAYA GB (2016). Product fermented by Lactobacilli induces changes in intracellular calcium dynamics in rat brain neurons. *Biochem (Moscow) Suppl Series A: Membr Cell Biol* 2016;10:37-45.

SUDHANSHU S. BEHERA,1,2 RAMESH C. RAY ,2 AND NEVIJO ZDOLEC 3 (2018) : Lactobacillus plantarum with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented Foods <https://doi.org/10.1155/2018/9361614>.

STOYANOVA L.G., EGOROVA N.S., FEDOROVAB G.B., KATRUKHAB G.S. et NETRUSOVA A.I. (2007). A comparison of the properties of bacteriocins formed by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Strains of Diverse origin. *Applied biochemistry and Microbiology*. 2007, 43(6), 604-610.

« T »

TABANELLI, G., MONTANARI, C., BARGOSI, E. et al., (2014): Control of tyramine and histamine accumulation by LAB using bacteriocin-forming lactococci. *International Journal of Food Microbiology*, 190:14-23.

M.D TASLEEM KHAN 1 AND Z.R AZAZ AHMAD AZAD 2019 A HURDLE APPROACH FOR PRESERVATION OF SEA FOOD PRODUCTS USING DIFFERENT STORAGE FACTORS WITH SYNERGISTIC BACTERIOCIN
DOI: 10.7897/2277-4572.081122

TAGG J.R and Mc GIVEN A.R. (1971). Assay for bacteriocins. *App. Microbiol.*, 21(5), 943.
TAALE ESSODOLOM, THESIS · FEBRUARY (2016): Bioactive molecules from bacteria strains: biochemical and molecular characterization of bacteriocins producing strains isolated from Soumbala, Bikalga and some yoghurt consumed in....
<https://www.researchgate.net/publication/299338438>.

TALARICO TL, CASAS IA, CHUNG TC, DOBROGOSZ WJ (1988). "Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32 (12) : 1854–8.

TALARICO TL, DOBROGOSZ WJ (MAI 1989). "Caractérisation chimique d'une substance antimicrobienne produite par *Lactobacillus reuteri* " *Antimicrob. Agents Chemother* . 33 (5) : 674–9.

TARRARAN L, MAZZOLI R. Alternative strategies for lignocellulose fermentation through lactic acid bacteria : the state of the art and perspectives. *FEMS Microbiol Lett* 2018, 365:fny126 doi: 10.1093/femsle/fny126.

TEIXEIRA, J.S., ABDI, R., SU, M.S.-W., SCHWAB, C., GÄNZLE, M.G., 2013. Functional characterization of sucrose phosphorylase and scrR, a regulator of sucrose metabolism in *Lactobacillus reuteri*. *Food Microbiol*. 36, 432–439.

TEUBER M. (1995) The genus *Lactococcus*. In : *The Genera of Lactic Acid Bacteria* ((eds) B.J.B. Wood and W.H. Holzappel), 1st edn, pp. 173–175. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.

TOBA, T., SAMANT, S. K., YOSHIOKA, E., & ITOH, T. (1991). Reuterin 6, a new bacteriocin produced by *Lactobacillus reuteri* LA 6. *Letters in Applied Microbiology*, 13(6), 281–286. doi:10.1111/j.1472-765x.1991.tb00629.x.

« U »

ÜSTÜN, M., B. ÖZDEN, Ö. ŞİMŞEK, AND M. AKÇELİK. 2009. Identification of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* based on their cell wall protein and plasmid contents. *Turk. J. Biol.* 33:21–27.

« V »

K.VANMATHI SELVI, R.KANTHAMANI (2017); Isolation and Partial Characterisation of Bacteriocin Produced By *Lactobacillus Fermentum*, DOI: 10.9790/3008-1204013844.

VERMA AK, BANERJEE R, DWIVEDI HP ET JUNEJA VK (2014). Bacteriocins: Potential in Food Preservation. In Batt CA et Tortorello ML (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition) (Vol. 1): Elsevier, p180-186.* doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00029-X>.

« W »

WALA'A ALI SHAWKAT(2018), Department of Biology College of Science University of Baghdad, Bcateriocins “Microbial weapon of choice”, <https://www.researchgate.net/publication/328249372>.

WANG B, YAO M, LV L, LING Z, LI L. The human microbiota in health and disease *Engineering*, 2017 ; 3: 71-82.

WAYAH, S. B., & PHILIP, K. (2018). Characterization, yield optimization, scale up and biopreservative potential of fermencin SA715, a novel bacteriocin from *Lactobacillus fermentum* GA715 of goat milk origin. *Microbial Cell Factories*, 17(1). doi:10.1186/s12934-018-0972-1

WIEDEMANN I, BÖTTIGER T, BONELLI RR, SCHNEIDER T, SAHL H-G ET MARTINEZ B (2006). Lipid II-based antimicrobial activity of the lantibiotic plantaricin C. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4) : 2809-2814. doi: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.72.4.2809-2814.2006>.

F.W.F. WONG, A.B. ARIFF, S. ABBASILIASI, D.C. STUCKEY, Recovery of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Pediococcus acidilactici* Kp10 using surfactant precipitation, *Food Chem* 232 (2017) 245-252.

WILLING, B. P., RUSSELL, S. L., AND FINLAY, B. B. (2011). Shifting the balance: antibiotic effects on host–microbiota mutualism. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 233–243. doi: 10.1038/nrmicro2536.

« Y »

YANG, S.C.; LIN, C.H.; SUNG, C.T.; FANG, J.Y. Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Front. Microbiol.* 2014, 5, 241.

YERLIKAYA, O. (2018). Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science*. doi:10.3168/jds.2018-14983.

YILDIRIM Z. and YILDIRIM M. (2001). Characterization of buchnericin Ib produced by *Lactobacillus buchneri* LB. *Turk. J. Biol.*, 25, 73-82.

YOO SR, KIM YJ, PARK DY, JUNG UJ, JEON SM, AHN YT, et al. Probiotics *L. plantarum* and *L. curvatus* in combination alter hepatic lipid metabolism and suppress diet-induced obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21: 2571-8.

YOUCEF Z. ET YILDIRIM M. (2001). Characterisation of buchnericin Ib produced by *Lactobacillus buchneri* LB. *turk.J.Biol.*, 25, 73, 82.

YOUCEF A.E. (2008). Detection of bacterial pathogens in different matrices : current practices and challenges ; in : « principales de bacterial detection : biosensors, recognition receptors and microsystems » éd., Springer, New York, USA, pp 31-48.

« Z »

ZAGOREC M., ANBA-MONDOLONI J., CRUTZ-LE COQ A.M. et CHAMPOMIER-VERGES M.C. (2008). Genetics of lactic acid bacteria ; in : « Meat biotechnology » éd., Springer, New York, USA, pp 150-151.

ZENG, XIAO QUN ; PAN, DAO DONG; ZHOU, PEI DONG (2011). "Caractéristiques fonctionnelles de *Lactobacillus fermentum* F1". *Microbiologie actuelle* .62 : 27–31.

ZHAO W, YUAN T, PIVA C, SPINARD EJ, SCHUTTERT C, ROWLEY DC & NELSON DR (2018) The probiotic bacterium, *Phaeobacter inhibens*, down-regulates virulence factor transcription in the shellfish pathogen, *Vibrio coralliilyticus*, by N-acyl homoserine lactone production. *Appl Environ Microbiol*.

ZHAO, X., & GÄNZLE, M. G. (2018). Genetic and phenotypic analysis of carbohydrate metabolism and transport in *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 272, 12–21. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.021.

ZHANG J, YANG Y, YANG H, BU Y, YI H, ZHANG L, HAN X AND AI L (2018) Purification and Partial Characterization of Bacteriocin Lac-B23, a Novel Bacteriocin Production by *Lactobacillus plantarum* J23, Isolated From Chinese Traditional Fermented Milk. *Front. Microbiol.* 9:2165 doi: 10.3389/fmicb.2018.02165.

ZHANG Z, LV J, PAN L et al. Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018; 102: 8135–8143.

ZERGOUG Amina (Thèse de doctorat) : Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires Année universitaire 2017/2018.

ZHOU, X., YE, L., AND WU, J.C. (2013) Efficient production of L-lactic acid by newly isolated thermophilic *Bacillus coagulans* WCP10-4 with high glucose tolerance. *Appl Microbiol Biotechnol* 97, 4309–4314.

X. ZHU, Y. ZHAO, Y. SUN, Q. GU, Purification and characterisation of plantaricin ZJ008, a novel bacteriocin against *Staphylococcus* spp. from *Lactobacillus plantarum* ZJ008, *Food Chem* 165 (2014) 216-23.

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés :

❖ **Bouillon rouge de phénol (milieu pour le métabolisme glucidique)**
(DELARRAS, 2007).

Composition en g/l

Peptone de caséine	5
Peptone de viande.....	5
Chlorure de sodium	5
Rouge de phénol.....	0.018

pH : 7.2± 0.2 à 25°C

Stérilisation à 120°C pendant 15 minutes

Répartir le milieu dans des tubes stériles, puis incorporé dans chaque tube une solution stérile du glucide à étudier à une concentration finale de 5g/l.

❖ **Bouillon cœur-cerveille (BHI) Agar (GUIRAUD, 2003)**

Composition en g/l

Protéase-peptone	10
Infusion de cervelle de veau.....	12.5
Infusion cœur de bœuf.....	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate d'hydrogène disodique.....	2.5
Glucose	2
Eau distillée qsp	1000 ml

pH : 7.4

Stérilisation : 15 min à 120°C

❖ **Bouillon Elliker (1956) :(LEVEAU *et al.*, 1991)**

Composition en g/l

Tryptone	20
Extrait de levure	5
Gélatine	2.5
Lactose	5
Saccharose.....	5

Glucose.....	5
Acétate de sodium.....	1.5
Chlorure de sodium.....	4
Acide ascorbique.....	0.5
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 6.8

Stérilisation : 15 minutes à 120°C

❖ **Bouillon hypersalé (6.5 % de chlorure de sodium) : (LEVEAU *et al.*, 1991)**

Composition en g/l

Glucose.....	5
Extrait de viande.....	5
Peptone.....	15
NaCl.....	65
Eau distillée.....	1000 ml

pH final : 7.5

Stérilisation : 15 minutes à 120°C

Pour le bouillon hypersalé à 2 %, 2.5 %, 4 % et 9 % de sel peser respectivement 20 g ; 25 g ; 40 g et 90 g de NaCl au lieu de 65 g.

❖ **Bouillon nitraté : (GUIRAUD, 2003)**

Bouillon nutritif.....	1000 ml
Nitrate de potassium.....	1g

Ajuster le pH à 7 ; répartir en tubes à essais (7 à 10 ml) ; autoclaver 15 minutes à 120 °C

❖ **Gélose Mueller Hinton : (GUIRAUD, 2003)**

Composition en g/l

Extrait de viande.....	2
Hydrolysate de caséine.....	17.5
Amidon.....	1.5
Gélose.....	10
Eau distillée qsp.....	1000 ml

pH : 7.2

Stérilisation 15 minutes à 120°C.

❖ **Gélose nutritive : (GUIRAUD, 2003)**

Composition en g/l

Peptone.....	10
Extrait de viande	5
Chlorure de sodium.....	5
Gélose.....	15
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7.2

Stérilisation : 20 minutes à 120°C.

❖ **Gélose semi solide au lait citraté : (GUIRAUD, 2003)**

Répartir du lait en tubes à essais (10.5 ml par tube) et stériliser par tyndallisation 3 fois à 100 °C , 30 minutes à 24 heures d'intervalle. Ajouter aseptiquement dans chaque tube 0.5 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 %. Autoclaver 20 min à 120 °C, puis solidifier en culot.

❖ **Milieu ADH (milieu de base pour la recherche de l'arginine dihydrolase) : (LEVEAU *et al.*, 1991).**

Composition en g/l

Peptone.....	5
Extrait de viande	5
Pyridoxal	0.005
Solution aqueuse de pourpre de Bromocrésol à 2‰	5 ml
Glucose.....	0.5
Eau distillée qsp	1000 ml

Le milieu en arginine est obtenu en ajoutant 10 g de l'arginine

pH : 6.4

Stérilisation : 5 minutes à 120 °C

❖ **Milieu à la gélatine : (GUIRAUD, 2003)**

Composition en g/l

Peptone	10
Extrait de viande	4
NaCl	2.5

Gélatine120
Eau distillée qsp 1000 ml
Ajuster le pH à 6.8 : répartir dans les tubes à essais ; stériliser à 115 °C pendant 25 minutes.

❖ **Milieu Clark et Lubs (1915) : (DELARRAS, 2007)**

Composition en g/l
Peptone de viande7
D(+) glucose.....5
Tampon phosphate0.005
Eau distillée qsp 1000 ml
pH final : 6.9 ±0.2 à 25 °C
Stérilisation : 15 minutes à 120 °C

❖ **Milieu M17 (TERZAGHI ET SANDINE, 1975) : (TEUBER et GEIS, 2006)**

Composition en g/l
Peptone trypsine de caséine2.5
Peptone pepsique de viande2.5
Peptone papaïnique de soja5
Extrait de levure5
Extrait de viande2.5
D(+) lactose.....5
β-glycérophosphate de sodium19
Sulfate de magnésium (Mg SO₄, 7H 2O (1.0 M) 0.25
Acide ascorbique.....0.5
Gélose.....4
Eau distillée qsp 1000 ml
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7.1 ± 0.2
Stérilisation : 15 minutes à 121 °C.

❖ **Milieu mannitol mobilité : (GUIRAUD, 2003)**

Composition en g/l

Peptone.....	20
Nitrate de potassium.....	1
Mannitol.....	2
Rouge de phénol.....	0.04
Gélose.....	4
Eau distillée qsp.....	100 ml

Ajuster le pH à 8.1 ; répartir dans des tubes à essais (8 à 10 ml) ; stériliser à 120 °C pendant 15 minutes.

❖ **Milieu MRS (DE MAN, ROGOZA, SHARPE, 1960) : (LEVEAU *et al.*, 1991)**

Composition en g/l

Peptone.....	10
Extrait de levure.....	8
Extrait de viande.....	4
Acétate de sodium.....	5
Phosphate bipotassique.....	2
Citrate d'ammonium.....	2
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O.....	0.2
Sulfate de manganèse, 4H ₂ O.....	0.05
Glucose.....	20
Tween 80.....	1 ml
Agar.....	15
Eau distillée qsp.....	1000 ml

pH : 6.2

Stérilisation : 15 minutes à 120°C

❖ **Lait Sherman : (LEVEAU *et al.*, 1991)**

Lait stérilisé.....	9 ml
Bleu de méthylène à 1 % stérilisé 20 minutes à 120 °C.....	1 ml

Au moment de l'emploi, mélanger le lait avec le bleu de méthylène pour avoir du lait à 1% (de même pour le lait de 3%).

❖ **Eau physiologique**

NaCl9
Eau distillée 1000ml

Stérilisation à 120°C pendant 15 minutes.

Annexe 2 : Réactifs et colorants : les colorants utilisés

❖ violet de gentiane :

violet de gentiane 1g
Alcool à 90°10ml
Eau distillée qsp 100ml

❖ Fuchsine :

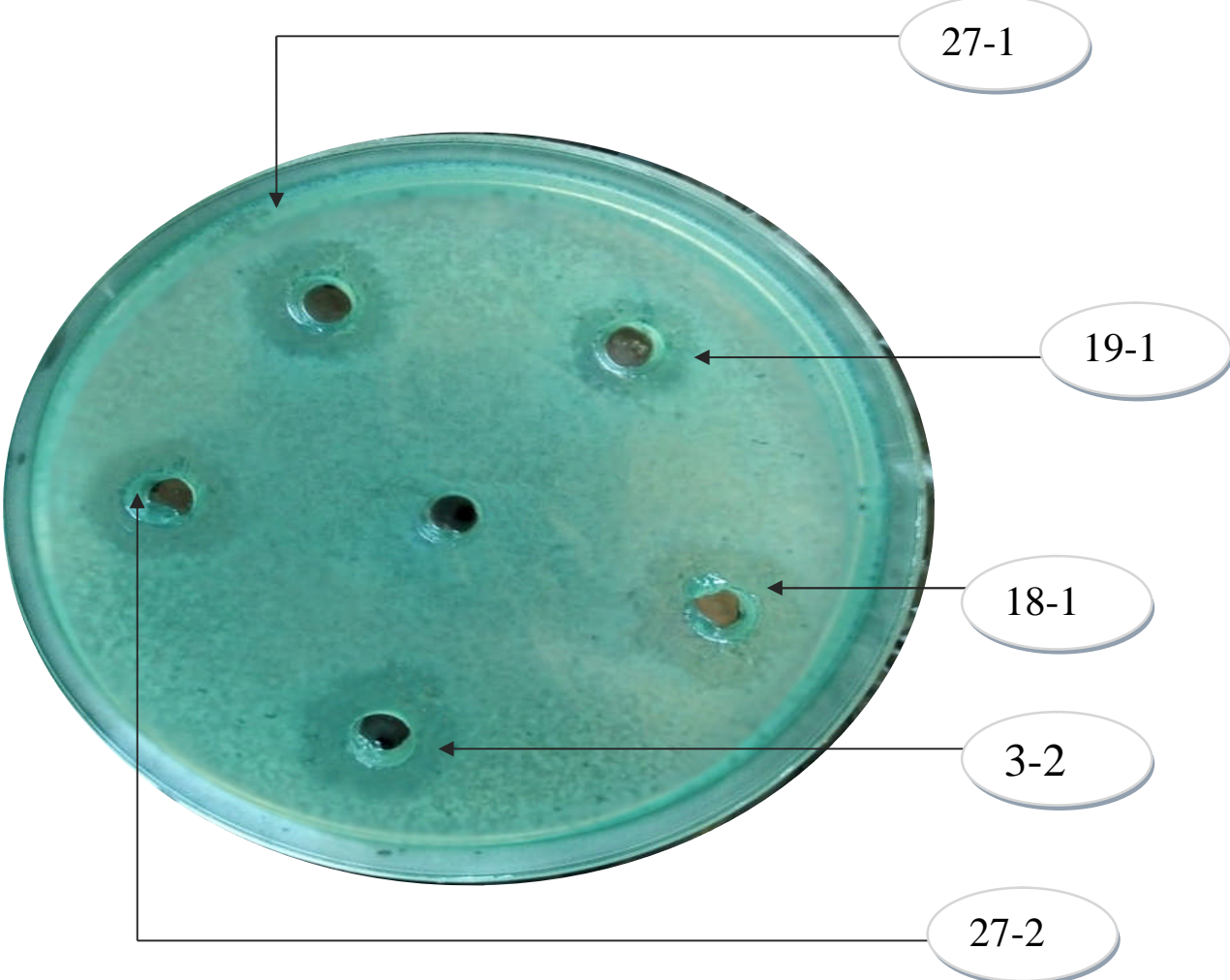
Fuchsine basique 1g
Alcool éthylique à 9010ml
Eau distillée qsp 100ml
Cette solution doit être diluée au 15^{ème}

❖ Lugol :

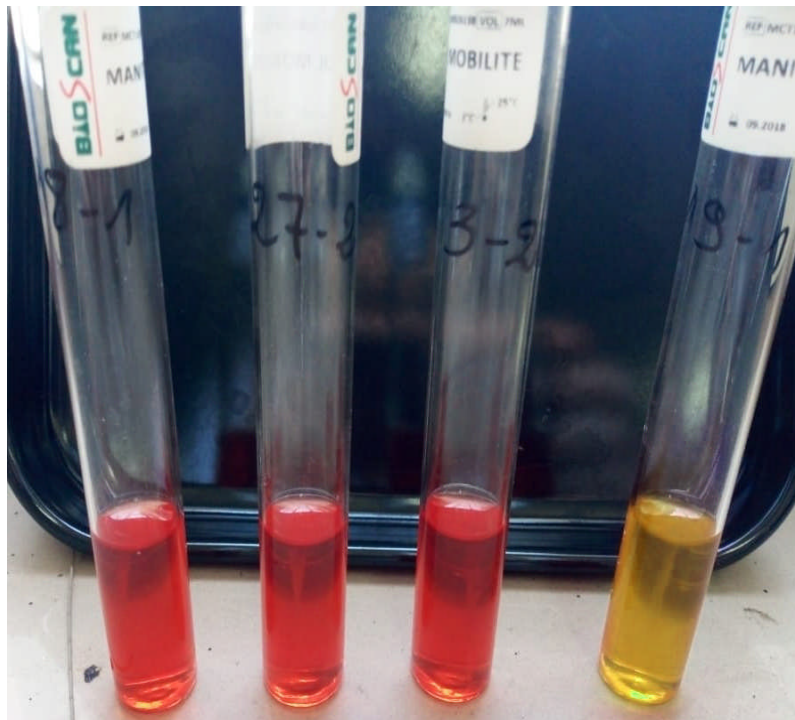
Composition du réactif :

Iode 0,5 g
Iodure de potassium 1,5 g
Eau distillée100 ml

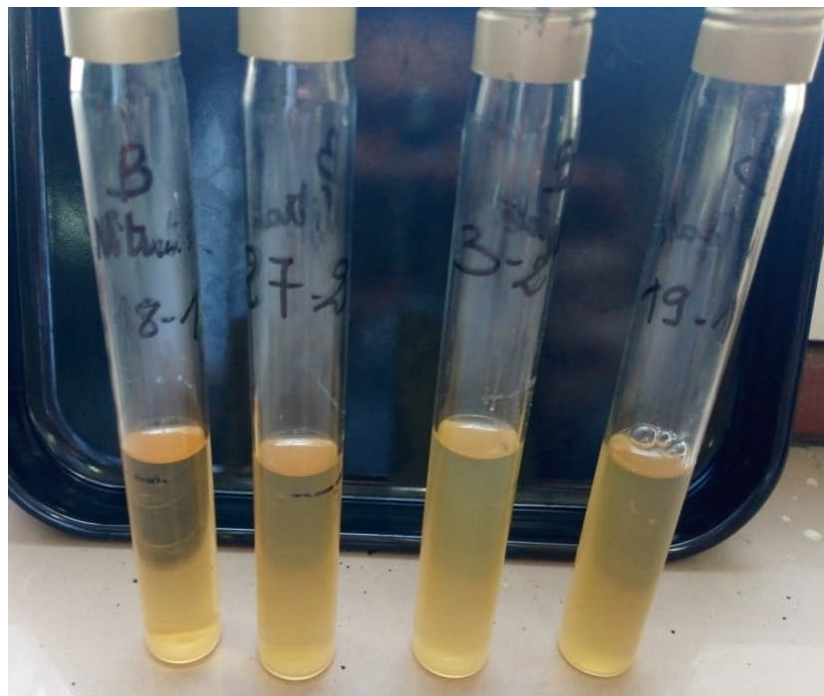
Annexe 3 : les résultats de l'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* sur boîte de petri



Annexe 4 : photos montrant le résultat de la mobilité



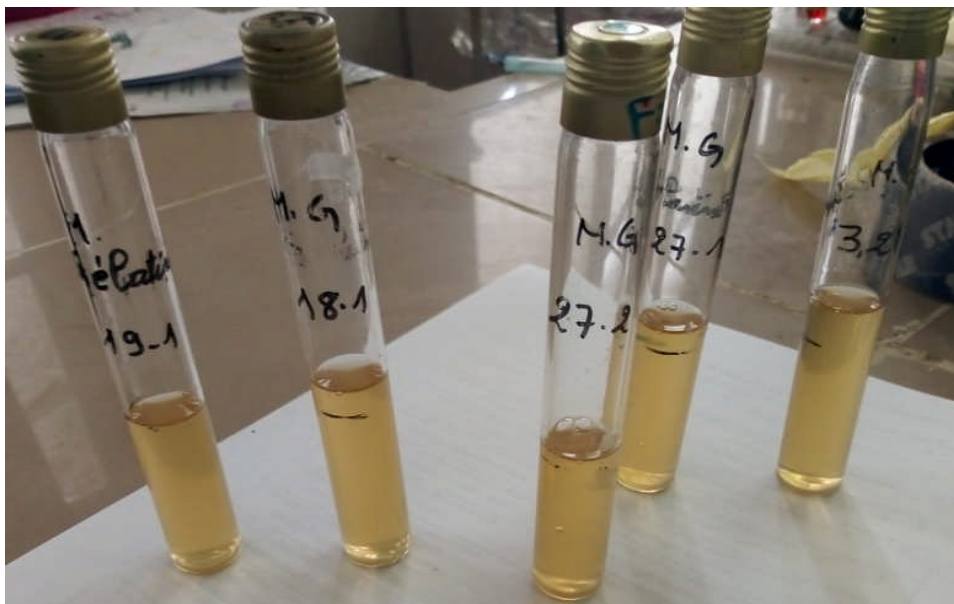
Annexe 5 : photos montrant le résultat test nitrate-réductase



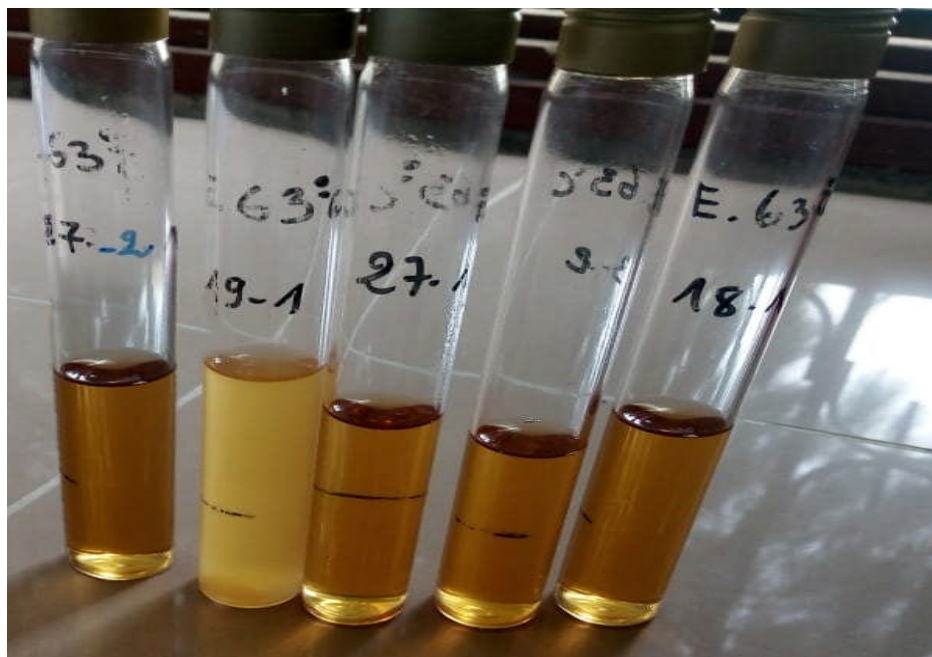
Annexe 6 : photos montrant le résultat du test à l'ADH



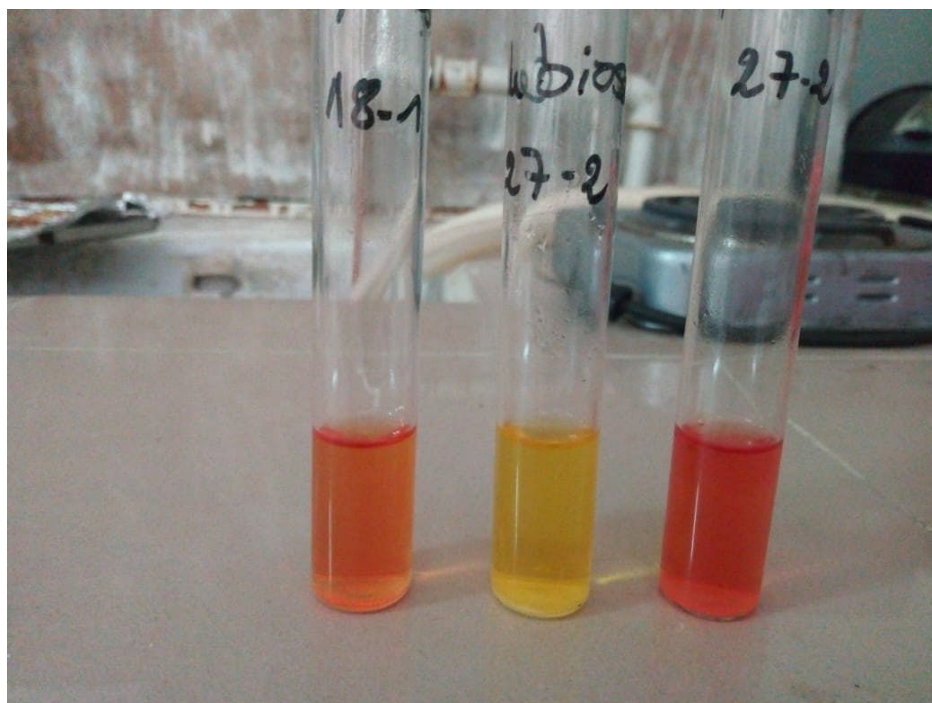
Annexe 7 : photos montrant le résultat de l'hydrolyse de la gélatine



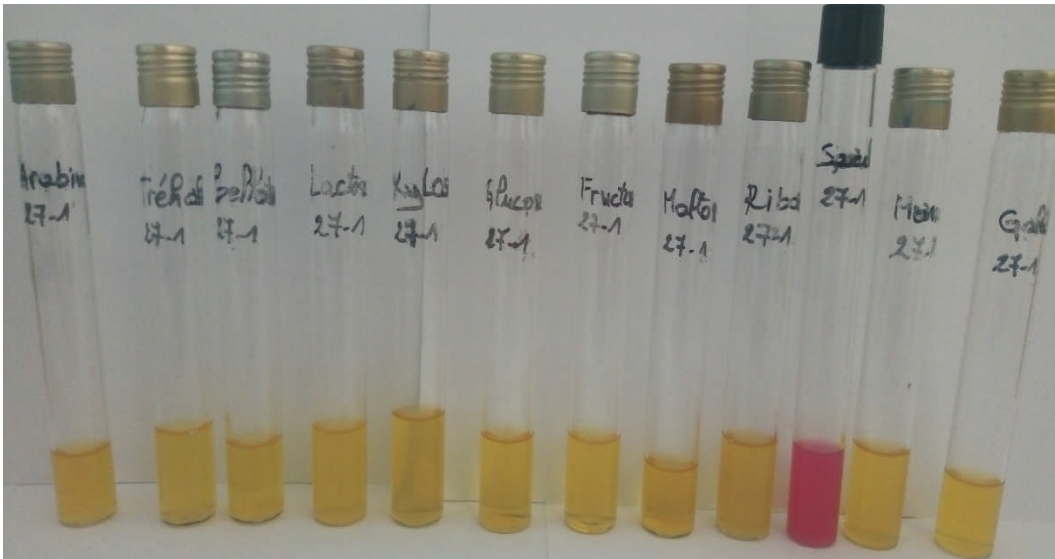
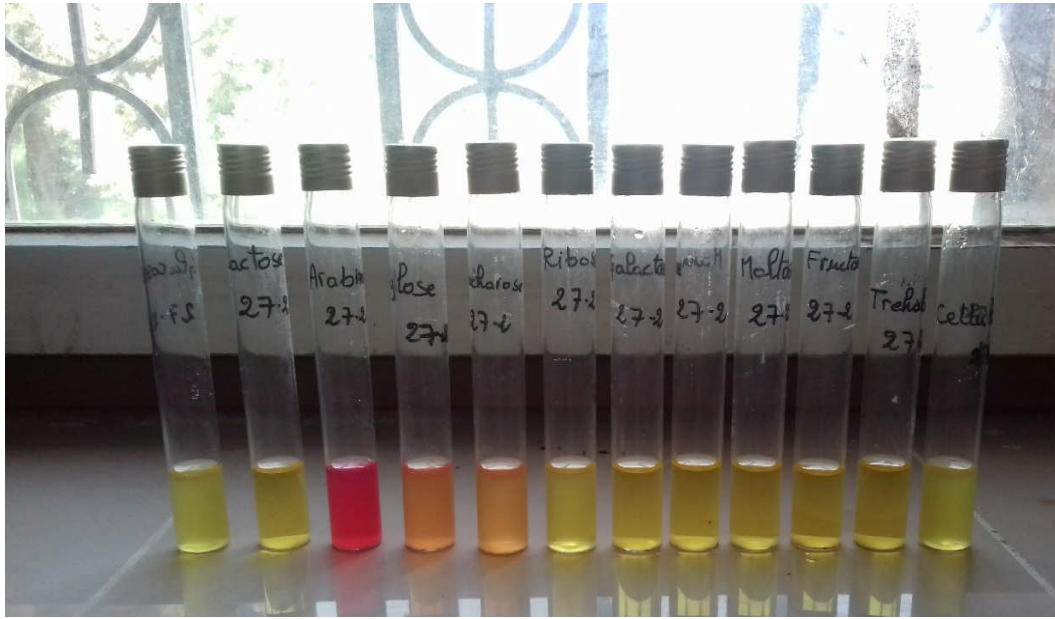
Annexe 8 : photos montrant le résultat de la thermorésistance (30 minutes à 63°C)



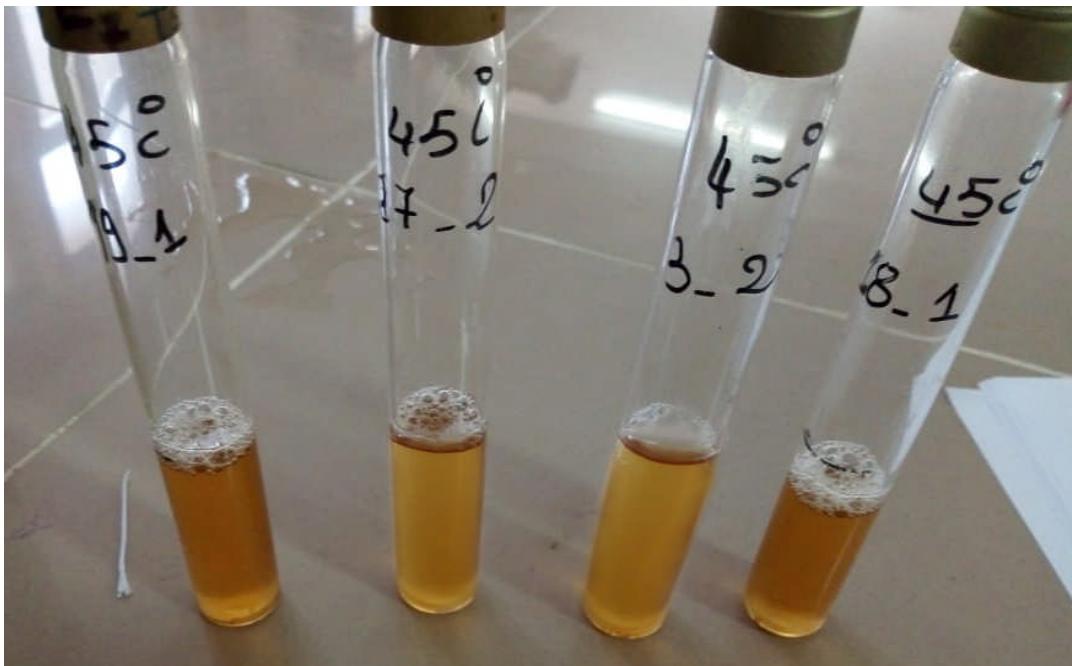
Métabolisme des sucres rouge (-), jaune (+), orange (faible)



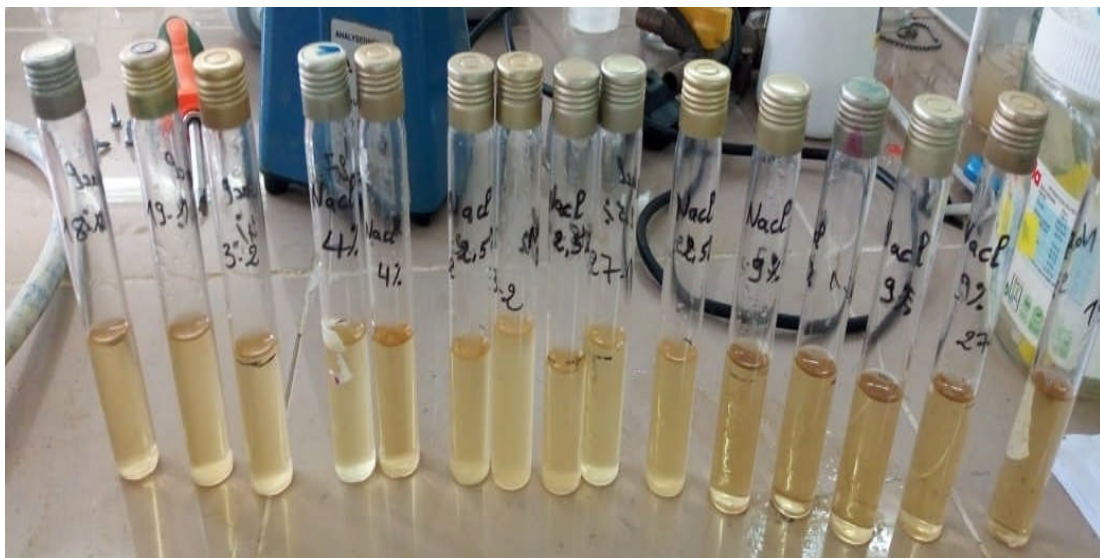
Annexe 9 : photos montrant la fermentation des sucres



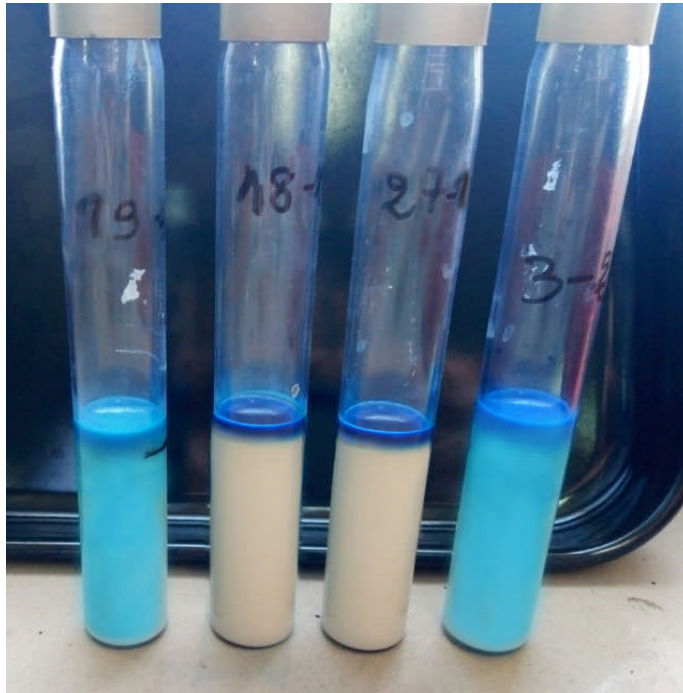
Annexe 10 : photos montrant le résultat de la croissance à 45°C



Annexe 11 : photos montrant le résultat de croissance à différentes concentrations de NaCl (sur bouillon hypersalé à 4%)



Annexe 12 : photos montrant le résultat du test sur lait Sherman



Annexe 13 : photos montrant l'aspect macroscopique des isolats lactiques



Résumé :

L'émergence de bactéries multirésistantes constitue une menace importante pour la santé à l'échelle mondiale. Les bactéries lactiques probiotiques attirent l'attention sur leur importance incontestable dans les domaines de l'alimentation, de l'industrie et de la santé.

L'utilisation des bactéries lactiques productrices de bactériocines isolées directement des aliments pour l'élimination des pathogènes d'origine alimentaires ou cliniques est une approche novatrice.

Par conséquent, cette étude visait à la recherche de bactéries lactiques sauvages, productrices de bactériocines. Nous avons isolé 24 souches lactiques issues du lait cru de la région de Tizi Ouzou, ensuite nous avons étudié leur potentiel antimicrobien envers des souches pathogènes cliniques (BLSE), *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (SARM) par la méthode de diffusion en puits.

Cinq (5) isolats lactiques ont montré un potentiel antimicrobien intéressant à l'encontre de *P. aeruginosa* ; ces souches appartiennent à trois (3) espèces de deux (2) genres différents qui sont *Lactococcus lactis ssp lactis* avec les zones d'inhibitions les plus élevées (15-18 mm) et *Lactobacillus reuteri* et *Lactobacillus fermentum* ayant les diamètres inférieurs (12 mm).

Mots clés : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *bactériocines*, *antagonisme*.

Abstract:

The emergence of multidrug-resistant bacteria is a major global health threat. Probiotic lactic acid bacteria draw attention to their undeniable importance in the fields of food, industry and health.

The use of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated directly from food for the removal of foodborne or clinical pathogens is an innovative approach.

Therefore, this study aimed at finding wild lactic acid bacteria that produce bacteriocins. We isolated 24 lactic strains from raw milk from the Tizi-Ouzou region, and then studied their antimicrobial potential against clinical pathogenic strains (BLSE), *Staphylococcus aureus* (SARM) and *Pseudomonas aeruginosa* by the well diffusion method.

Five (5) lactic isolates showed antimicrobial potential of interest against *P. aeruginosa*; these strains belong to three (3) species of two (2) different genera which are *Lactococcus lactis ssp lactis* with the highest inhibition zones (15-18 mm) and *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* with the lowest inhibition zones (12 mm).

Keywords: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *bacteriocins*, *antagonism*.

Introduction

Chapitre I

Bactéries Lactiques

Chapitre II

Bactériocines

Matériel et Méthodes

Résultats et discussion

Conclusion

Références

Bibliographiques

Annexes