

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie

Thème :

**Evaluation du potentiel probiotique et technologique
des bactéries lactiques isolées à partir d'olives
fermentées de la région de Mascara**

Présenté par :

Soutenu le : 08/07/2025

. M^{lle} MOHAMED HACENE Hala

. M^{lle} BENCHELABI Nihad Nour El Houda

Devant le jury :

- | | | |
|---------------------|------------|--------------|
| • Mme. AIT SAADI N. | MCA /USDB1 | Présidente |
| • Mme. KADRI F. | MCA /USDB1 | Examinatrice |
| • Mme. BENHOUNA I. | MCB/USDB1 | Promotrice |

PROMOTION :2024/2025

Remerciements

Tout d'abord, nous exprimons notre profonde reconnaissance envers Dieu, le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Nous avons l'honneur d'adresser nos plus sincères remerciements à **Madame Benhouana I.**, notre encadrante, pour nous avoir proposé ce sujet passionnant, pour sa précieuse aide, ses conseils éclairés, sa bienveillance constante et sa disponibilité sans faille. Son accompagnement attentif a grandement contribué à l'élaboration et à l'aboutissement de ce travail.*

Nous remercions également les membres du jury pour l'intérêt porté à notre travail et pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de l'évaluer :

*À **Madame Aït Saadi N.**, nous exprimons notre gratitude pour avoir accepté de présider ce jury.*

*À **Madame Kadri F.**, nous remercions chaleureusement pour avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur accueil, leur encadrement technique et leur disponibilité. Nous remercions tout particulièrement **Madame Djamila**, **Monsieur Gheribi Youcef**, **Madame Chafika** et **Madame Houria** pour leur accompagnement, leurs conseils et leur aide précieuse tout au long de notre stage.*

Enfin, nous adressons nos plus vifs remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. À nos familles, amis et proches, merci pour votre soutien moral, votre affection et votre présence constante qui nous ont permis d'avancer avec confiance et détermination.



Dédicaces

Je dédie ce travail, avec amour, respect et gratitude, à toutes les personnes qui ont compté dans ce parcours et sans qui cette étape n'aurait jamais été possible.

À ma douce maman, AMEL,

Pour ton amour infini, ta force, tes prières et ton dévouement de chaque instant. Je te dois tout, et bien plus encore. Tu es la lumière de ma vie. Ma réussite est la tienne, et je te la dédie du fond du cœur.

À mon père bien-aimé, ABBAS,

Pour ta présence rassurante, ton soutien silencieux mais puissant, et les sacrifices que tu as faits sans jamais les compter. Tu es l'exemple de droiture et de patience qui m'a toujours inspirée. Merci d'avoir cru en moi. Ce travail est le fruit de ton amour et de ton dévouement. J'espère qu'il te rend fier.

À mon frère, ABD EL DJALIL,

Merci pour ton soutien puissant, pour ta présence qui m'a souvent donné la force d'avancer.

À ma sœur, ROUMAÏSSA,

Ta tendresse, ton écoute et ton amour ont été un baume pour le cœur. Je vous aime profondément.

À ma chère binôme et amie, HALA,

Ton soutien, ta fidélité et notre complicité m'ont accompagnée tout au long de ce travail. Tu as été plus qu'une partenaire, une sœur de cœur. Merci pour les rires, la patience et la sincérité. Que la vie t'offre le meilleur.

Et à toutes les personnes, proches ou lointaines, qui ont semé en moi la confiance, le courage et la persévérance. Cette réussite est aussi la vôtre. Merci.



NIHAD NOUR EL HOUDA





Dédicaces

Années de persévérance, de défis surmontés, de nuits blanches, de joies partagées et de soutien inestimable. C'est avec une profonde reconnaissance que je dédie ce travail à toutes les âmes qui ont illuminé ce parcours.

À ma chère maman, Moumení Zahía,

Ton amour inconditionnel, ta force, tes prières silencieuses et ton dévouement sans limites ont été mon refuge dans chaque moment difficile. Tu es mon pilier, ma lumière, ma fierté. Que Dieu te garde en santé et te récompense pour tout ce que tu m'as offert. Ma réussite est la tienne.

À mon père bien-aimé, Mohamed Hacene Mohamed,

Pour ta présence rassurante, ton soutien discret mais toujours constant, et tes sacrifices silencieux. Tu es un exemple de patience et de droiture. Ce mémoire est aussi le fruit de ton amour et de ta foi en moi. J'espère qu'il te rend fier.

À mes frères, Sidahmed et Amine,

Merci pour votre affection, vos encouragements et votre présence constante. Votre soutien m'a donné la force d'avancer quand tout semblait difficile. Je vous aime profondément.

À ma grand-mère bien-aimée, Mama Khaira,

Toi qui m'as élevée avec tant d'amour, de tendresse et de patience pendant mon enfance. Ton empreinte est indélébile dans mon cœur.

À mon grand-père bien-aimé, Baba Ali.

pilier de ma vie et source inépuisable de tendresse et de sagesse. C'est grâce à toi que je trouve la force de continuer mes études et de poursuivre mes rêves

Louange à Allah,

C'est par Sa miséricorde et Sa force que ce travail a pu voir le jour. Qu'Il soit loué pour chaque pas, chaque réussite, chaque souffle.

À mes compagnons de cœur, mes chats,

À Bimo, mon chat tant aimé, compagnon fidèle pendant trois années, qui m'a offert amour, réconfort et tendresse. Tu me manques profondément.

À Timo, mon petit chat joueur et affectueux, merci d'avoir veillé sur moi lors des longues nuits d'étude. Votre présence a été une source de chaleur dans ma vie.



À ma précieuse amie et binôme, Nihad,

Merci pour ta fidélité, ton soutien sincère, ta patience et notre belle complicité. Tu as été plus qu'une binôme, une sœur de cœur. Que la vie te sourie à chaque étape.

À mes amies d'enfance et de lycée, Hadjar et Meriem,

Vous occupez une place très chère dans mon cœur. Votre amitié sincère, votre présence constante, votre soutien et vos encouragements ont été des sources précieuses de force et de réconfort pour moi. Je vous aime profondément et je vous estime énormément. Merci d'être là, depuis tant d'années, avec tant de fidélité et de bienveillance.

À mon amie de l'université, Imene

Merci d'avoir été là à chaque moment. Tu as été bien plus qu'une camarade : une confidente, une âme sœur, un soutien indéfectible. Ton aide, ta présence, et ton amitié m'ont porté jusqu'ici.

Enfin, à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont cru en moi, m'ont encouragée, écoutée ou simplement offert un sourire : je vous remercie du fond du cœur. Cette requête Est aussi la vôtre.

hala



الملخص:

استهدفت هذه الدراسة عشر سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك (إيجابية الجرام، كروية أو عصوية) المعزولة من زيتون مخمر في منطقة معسكر. هذه البكتيريا، القادرة على تخمير السكريات وتحويلها إلى حمض اللاكتيك، تحظى بأهمية كبيرة في الصناعات الغذائية، وخاصة في منتجات الألبان (الزبادي، الجبن، الزبدة). كان الهدف الرئيسي هو تقييم قدراتها التكنولوجية (النشاط البروتيويتي، إنتاج عديدات السكاريد الخارجية، النشاط المضاد للميكروبات) ومقاومتها للمضادات الحيوية .

كشفت الاختبارات أن السلالات العشر لا تنتج عديدات السكاريد الخارجية (EPS) ، وهي خاصية مرغوبة في صناعة الجبن والزبادي. ومع ذلك، فإنها تظهر نشاطاً بروتيويتياً ملحوظاً، مما يفيد في تحطيم البروتينات وتحسين الخصائص الحسية للأغذية المخمرة .

أظهرت السلالات العشر نشاطاً مثبطاً قوياً ضد خمسة مسببات أمراض (الإشريكية القولونية، الليستيريا المستوحدة، المكورة العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، والكليسيلا)، بأقطار تثبيط تتراوح بين 11 و40 مم. تشير هذه الخاصية إلى إمكاناتها في منع التلوث الميكروبي في المنتجات المخمرة .

تم تقييم السلالات من حيث تحملها للظروف المعوية (الحموضة، أملاح الصفراء) ، وهي معايير أساسية للاستخدام البروبيوتيك.

من بين السلالات العشر المدروسة، تميزت بكتيريا *Weissella sp* و *Enterococcus sp* و *Leuconostoc sp* بخصائصها التكنولوجية والمضادة للميكروبات الواعدة. يمكن استخدام هذه البكتيريا في صناعة الألبان لتحسين جودة المنتجات المخمرة. هناك حاجة إلى دراسات إضافية لتأكيد سلامتها وتأثيراتها المفيدة داخل الجسم الحي.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، نشاط بروتيويتي، نشاط مضاد للميكروبات، عديدات السكاريد الخارجية، بروبيوتيك، تخمير، زيتون معسكر.

Résumé

Cette étude porte sur dix souches de bactéries lactiques (Gram positif, coques ou bâtonnets) isolées à partir d'olives fermentées de la région de Mascara. Ces bactéries, capables de fermenter les sucres en acide lactique, présentent un intérêt majeur dans les industries agroalimentaires, notamment laitières (yaourt, fromage, beurre). L'objectif principal était d'évaluer leurs aptitudes technologiques (pouvoir protéolytique, production d'exopolysaccharides, activité antimicrobienne) et leur résistance aux antibiotiques.

Les tests ont révélé que les dix souches ne produisent pas d'exopolysaccharides (EPS), un caractère pourtant recherché en fromagerie et yaourtière. Cependant, elles présentent un pouvoir protéolytique significatif, utile pour la dégradation des protéines et l'amélioration des propriétés sensorielles des aliments fermentés.

Les dix souches ont démontré une forte activité inhibitrice contre cinq pathogènes (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella*), avec des diamètres d'inhibition variant entre 11 et 40 mm. Cette propriété suggère leur potentiel pour prévenir les contaminations microbiennes dans les produits fermentés.

Les souches ont été évaluées pour leur tolérance aux conditions gastro-intestinales (acidité, sels biliaires), critères essentiels pour une utilisation probiotique.

Parmi les dix souches étudiées, *Weissella* sp, *Enterococcus* sp et *Leuconostoc* sp s'ont distinguées par ses propriétés technologiques et antimicrobiennes prometteuses. Ces bactéries lactiques pourraient être exploitées dans l'industrie laitière pour améliorer la qualité des produits fermentés. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer leur innocuité et leurs effets bénéfiques in vivo.

Mots-clés : bactéries lactiques , pouvoir protéolytique, activité antimicrobienne, exopolysaccharides, probiotiques, fermentation, olives de Mascara.

Abstract:

This study focuses on ten strains of lactic acid bacteria (Gram-positive, cocci or rods) isolated from fermented olives in the Mascara region. These bacteria, capable of fermenting sugars into lactic acid, are of major interest in the agro-food industry, particularly in dairy production (yogurt, cheese, butter). The main objective was to evaluate their technological aptitudes (proteolytic activity, exopolysaccharide production, antimicrobial activity) and their antibiotic resistance.

The tests revealed that the ten strains do not produce exopolysaccharides (EPS), a trait that is nevertheless sought after in cheese and yogurt production. However, they exhibit significant proteolytic activity, which is useful for protein degradation and improving the sensory properties of fermented foods.

All ten strains demonstrated strong inhibitory activity against five pathogens (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella*), with inhibition zones ranging between 11 and 40 mm. This property suggests their potential to prevent microbial contamination in fermented products.

The strains were assessed for their tolerance to gastrointestinal conditions (acidity, bile salts) essential criteria for probiotic use.

Among the ten strains studied, *Weissella* sp, *Enterococcus* sp, and *Leuconostoc* sp stood out due to their promising technological and antimicrobial properties. These lactic acid bacteria could be exploited in the dairy industry to improve the quality of fermented products. Further studies are needed to confirm their safety and beneficial effects in vivo.

Keywords: lactic acid bacteria, proteolytic activity, antimicrobial activity, exopolysaccharides, probiotics, fermentation, Mascara olives.

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

BL : Bactérie lactique

E. coli : Escherichia coli

EPS : Les exopolysaccharides

GRAS : Generally Recognised As Safe (généralement considérées comme sûres)

MRS : De Man- Rogosa et Sharp.

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : Potentiel d'Hydrogène.

S. aureus : staphylococcus aureus

La liste des figures

Figure 01 : Voies Homofermentaire et Hétérofermentaire de la dégradation des glucides par les bactéries lactiques.....	3
Figure 02 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode spots sur agar	15
Figure 03 : Schéma de conservation à longue durée des bactéries lactiques Purifiées.	21
Figure 04 : Observation macroscopique des colonies des souches lactiques cultivées sur milieu solide MRS.	22
Figure05 : Observation de la turbidité chez les bactéries lactiques cultivées en bouillon MRS.....	22
Figure 06 : Observation au microscope photonique de la souche 24 au (G X1250)	23
Figure 07 : Résultat négatif du test catalase (A), Résultat du test catalase d'un témoin positif (B)	23
Figure 08 : L'activité protéolytique chez les souches testées.....	26
Figure 09 : Aspect des souches non productrices d'exopolysaccharides sur milieu hypersaccharosée.....	26
Figure 10 : résultat de l'effet antibactérien par méthode direct des souche testées.....	28
Figure 11 : Effet antibactérien par méthode directe des souches testées.....	29
Figure12 : L'effet de différents pH sur la croissance de la souche 2.....	30
Figure13 : L'effet de différents pH sur la croissance de la souche 4.....	30
Figure14 : L'effet de différents pH sur la croissance de la souche 19.....	30
Figure15 : L'effet de différents pH sur la croissance de la souche 27.....	31
Figure 16 : L'effet de différents pH sur la croissance de la souche 34.....	31
Figure 17 : L'effet des différentes concentrations des sels biliaries sur la viabilité de la souche 2.....	32
Figure 18 : L'effet des différentes concentrations des sels biliaries sur la viabilité de la souche 4.....	33
Figure19 : L'effet des différentes concentrations des sels biliaries sur la viabilité de la souche 19.....	33
Figure20 : L'effet des différentes concentrations des sels biliaries sur la viabilité de la souche 27.....	33
Figure21: L'effet des différentes concentrations des sels biliaries sur la viabilité de la souche 34.....	34

Figure 22: (A) le pourcentage d'Auto-agrégation des souches testées, (B) le pourcentage de Co-agrégation des souches testées.....	35
Figure 23 : Résultat de la sensibilité aux antibiotiques.....	37
Figure 24 : Cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon....	38
Figure 25 : Évolution de la croissance des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon....	39
Figure 26 : Évolution du pH des cultures pures et mixtes de la souche 34 seule et la souche 34 avec <i>Listeria monocytogenes</i> en milieu lait écrémé.....	40
Figure 27 : La cinétique d'acidité titrale des cultures pures et mixtes de la souche 34 seule et la souche 34 avec <i>Listeria monocytogenes</i> en milieu lait écrémé.....	40
Figure 28 : La cinétique de croissance des cultures pures et mixtes de la souche 34 avec <i>Listeria monocytogenes</i> en milieu lait écrémé.....	41
Figure 29 : la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu lait d'avoine....	42

La liste des tableaux

Tableau I : Provenance et identification des souches utilisées dans notre travail.....	11
Tableau II : Différents antibiotiques utilisés, ainsi que leur concentration et leur mode d'action.....	18
Tableau III : Caractéristiques microscopiques et du test catalase des bactéries lactiques.....	24
Tableau IV : les zones de l'activité protéolytique chez les souches testées (exprimée en mm).....	25
Tableau V : Résultats de test de sensibilité aux antibiotiques.....	37

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
الملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Listes des tableaux	
Introduction.....	01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Bactéries lactiques

1. Généralités.....	04
2. Habitat	04
3. Classification.....	05
3.1. Classification classique	06
3.2. Classification moléculaire.....	06
3.3. Le genre <i>Leuconostoc</i>	07
3.4. Le genre <i>Weissella</i>	07
3.5. Le genre <i>Enterococcus</i>	07

Chapitre II : Exploitation des bactéries lactiques

1. L'intérêt technologique des bactéries lactiques.....	08
1.1. Dans l'industrie alimentaire.....	08
A/ Les ferments lactiques	08
A.1. Critères de sélection des ferments lactiques	08
B / Aptitudes technologiques des bactéries lactiques	08
B.1.Activité acidifiante	09
B.2.Activité antimicrobiennes	09
B.3.Activité protéolytique.....	09

B.4. Aptitude texturant	10
1. 2. Dans le domaine de la santé.....	10
A/ Bactéries lactiques comme probiotique.....	10

Matériel et méthodes

I. Provenance des bactéries utilisées.....	11
I.1. Les bactéries lactiques.....	11
I.2. Les souches pathogènes.....	11
II . Revivication des souches.....	12
III. Vérification de la pureté des souches.....	12
III.1. Étude macroscopique.....	12
III.2. Étude microscopique.....	12
III.3. Caractéristiques biochimiques.....	13
IV. Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques.....	14
IV.1. Activité protéolytique.....	14
IV.2. Production d'exopolysaccharides (EPS).....	14
IV.3. Etude de l'activité antimicrobienne.....	14
IV.3.1 Méthode direct spot agar test (Fleming et al., 1975).....	14
V. Profil probiotique.....	15
V.1. Tolérance à l'acidité.....	15
V.2. La tolérance aux sels biliaires.....	16
V.3. Test de thermorésistante.....	16
V.4. Auto-agrégation et co-agrégation.....	16
IV . Évaluation d'aspect sécuritaire.....	17
IV . 1. Activité hémolytique.....	17
IV . 2. La résistance aux antibiotiques.....	18
VII. Suivi de la Cinétique d'acidification et de la croissance des souches lactiques dans milieu MRS liquide.....	19
VIII. Suivi de la cinétique d'acidification et de croissance des souches de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> en cultures pures et mixtes avec les souches <i>Listeria monocytogenes</i>	19
XI. Suivi de la cinétique de croissance des bactéries lactiques dans le lait d'avoine.....	20
X. Conservation des souches isolées.....	20
X. 1. Conservation de courte durée.....	20

X. 2.Conservation de longue durée.....	20
--	----

Résultats discussion

Résultats :

I. Caractérisation macroscopique et microscopique.....	22
I.1. Sur milieu solide.....	22
I.2. Sur milieu liquide.....	22
I.3. Examen microscopique (coloration de GRAM).....	23
I.4. Test de catalase.....	23
II . Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques.....	25
II . 1. Activité protéolytique.....	25
II . 2.Production d'exopolysaccharides (EPS).....	26
II . 3.Etude de l'activité antimicrobienne.....	27
III. Profil probiotique.....	29
III.1. La tolérance à l'acidité.....	29
III.2.La tolérance aux sels biliaires.....	31
III.3. Test de thermorésistance.....	34
III.4. L'auto-coagréation.....	34
IV. Évaluation d'aspect sécuritaire.....	35
IV.1.Activité hémolytique.....	35
IV.2.Antibiogramme.....	36
V. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon.....	38
VI. Suivi de la cinétique d'acidification de souches de <i>Leuconostoc</i> 34 en cultures pures et mixtes avec la souche <i>Listeria monocytogenes</i> en milieu lait écrémé.....	39
VII. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu lait d'avoine....	42

Discussion :

I. Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques.....	43
I.1. Activité protéolytique.....	43
I. 2. Production d'exopolysaccharides (EPS).....	43
I.3.Etude de l'activité antimicrobienne.....	44
I.3.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Escherichia coli</i>	44
I.3.2. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Klebsiella</i>	45
I.3.3. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45

I.3.4. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	46
I.3.5. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Listeria</i>	46
II. Profil probiotique.....	47
II.1. Tolérance à l'acidité.....	47
II.2. La tolérance aux sels biliaires.....	49
II.3. Auto-agrégation et co-agrégation.....	49
III. Évaluation d'aspect sécuritaire.....	50
III. 1. Activité hémolytique.....	50
III. 2. Antibiogramme.....	51
IV. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon...	51
V. Suivi de la cinétique d'acidification de souches de <i>Leuconostoc</i> 34 en cultures pures et mixtes avec la souche <i>Listeria monocytogenes</i> en milieu lait écrémé.....	52
VI. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu lait d'avoine...	53
Conclusion et perspectives.....	54
Références bibliographiques	
Les annexes	

Introduction

Introduction générale :

Les bactéries lactiques (BL) sont essentielles dans la transformation des aliments, notamment lors des fermentations. On les trouve dans divers milieux. Elles sont largement impliquées dans la fermentation de matières premières d'origine végétale et animale, où elles assurent à la fois la conservation, l'amélioration des qualités organoleptiques et la sécurité des produits finis. Leur métabolisme repose essentiellement sur la fermentation des glucides, mais certaines souches sont également capables de dégrader les protéines et les lipides, générant ainsi divers composés tels que des acides organiques, des peptides, des molécules aromatiques, des bactériocines et des exo polysaccharides.

Ces métabolites influencent non seulement le goût, la texture et l'arôme des aliments fermentés, mais jouent aussi un rôle dans la protection contre les micro-organismes pathogènes **(Aymerich T et al., 2019)**. En effet, certaines souches de BL exercent une activité antimicrobienne significative, soit par acidification du milieu, soit par production de composés inhibiteurs comme les bactériocines **(Anacarso I et al., 2014 ; Tapiba V et al., 2015)**. Ces propriétés confèrent à ces bactéries un double intérêt : technologique (pour la transformation alimentaire) et probiotique, notamment grâce à leur résistance aux conditions digestives et leur interaction bénéfique avec le microbiote intestinal.

La fermentation est une technique ancienne transmise au fil des siècles **(Melini, F et al., 2019)**. Aujourd'hui, elle est considérée comme une méthode biotechnologique efficace pour convertir des aliments bruts en produits fermentés plus digestes, plus sûrs et plus nutritifs **(Perpetuini, G et al., 2020)**. Ce procédé s'applique à une grande variété de matrices alimentaires, qu'elles soient végétales (fruits, légumes, céréales) ou animales (lait, viande, poisson) **(Shah, AM et al., 2023)**. Dans tous ces cas, les BL jouent un rôle central grâce à leur capacité à acidifier le milieu et à stabiliser les aliments.

Les olives fermentées représentent un exemple représentatif de produit végétal fermenté naturellement riche en bactéries lactiques. Elles constituent un environnement favorable à la sélection de souches aux propriétés technologiques et probiotiques intéressantes. Grâce à leur richesse en composés phénoliques et leur faible pH, elles favorisent le développement des bactéries acidotolérantes capables de produire des métabolites bioactifs. **(Montagano et al 2024)**

Dans ce cadre, l'étude des bactéries lactiques isolées à partir d'olives fermentées de la région de Mascara présente un Intérêt majeur. Elle vise à évaluer leur potentiel technologique dans les fermentations alimentaires ainsi que leurs propriétés probiotiques, en vue de leur valorisation dans le développement de cultures starter naturelles ou de nouveaux aliments fonctionnels.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I : Bactéries lactiques

1. Généralité :

Le terme de « bactéries lactiques » a été défini pour la première fois en 1919 par Orla Jensen (GÄNZLE *et al.*, 2016). Il désigne un ensemble de microorganismes d'un groupe hétérogène de qualité alimentaire avec le statut « GRAS », ce qui signifie qu'elles peuvent être consommées sans risque (Papadimitriou *et al.*, 2016), ces *microorganismes* produisent l'acide lactique comme produit principal du métabolisme fermentaire à partir du glucose. (ZHENG *et al.*, 2020). Leur teneur en G+C est généralement comprise entre 32 et 51 mol. En homofermentation, elles convertissent le glucose en acide lactique, tandis qu'en hétérofermentation, elles produisent du CO₂, de l'éthanol et de l'acide lactique (Akbar *et al.*, 2016).

Les bactéries lactiques (BL) se distinguent par des caractéristiques morphologiques, biochimiques et moléculaires. Sur le plan morphologique, elles se distinguent par leur taille, leur forme et leur couleur. Ce niveau est important pour comprendre la structure et l'organisation cellulaire (Zhen *et al.*, 2021). Du point de vue biochimique, elles se caractérisent par leur profil enzymatique, leur capacité à fermenter différents sucres, ainsi qu'une production spécifique de métabolites. Enfin, au niveau moléculaire, leur identification repose sur l'analyse de séquences d'ADN à l'aide de techniques telles que la PCR et le séquençage, qui permettent de détecter des marqueurs génétiques spécifiques à chaque souche. (Bin Masalam *et al.*, 2018)

Les BL sont un groupe de bactéries Gram-positives, asporulés, catalase négative, en forme de bâtonnets (bacilles) ou sphériques (cocci), oxydase négative, nitrate réductase négative, anaérobies facultatifs, généralement immobiles, acidotolérantes.

Elles sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnelle. Leur développement nécessite des acides aminés, des peptides, des vitamines, des sels, des acides gras, des glucides fermentes cibles (sources de carbone organique) (Mermouri, 2018 ; Jaffar *et al.*, 2022)

Les BL sont parmi les plus importants microorganismes qui sont utilisés dans la fermentation des aliments. Elles produisent l'acide lactique et d'autres substances inhibitrices qui prolonge et conserve les aliments par inhibition de la croissance d'espèces liées à l'altération et les espèces pathogènes (Ozogul *et Hamed*, 2017) comme le peroxyde d'hydrogène, bactériocines, et elles augmentent la valeur nutritionnelle des produits et améliorent les caractéristiques organoleptiques et la texture des aliments fermentés (Settanni *et Moschetti*, 2010, Zannini *et al.*, 2016, Zarour *et al.*, 2017),

La voie métabolique du glucose peut être homofermentaire si le produit final est l'acide lactique, comme chez *Streptococcus* *et Lactococcus*. Elle peut également être hétérofermentaire si, en plus de l'acide lactique, il y a production d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique (Figure 01), comme chez certaines espèces de *Lactobacillus* *et Leuconostoc*. (Szutowaska, J., 2020)

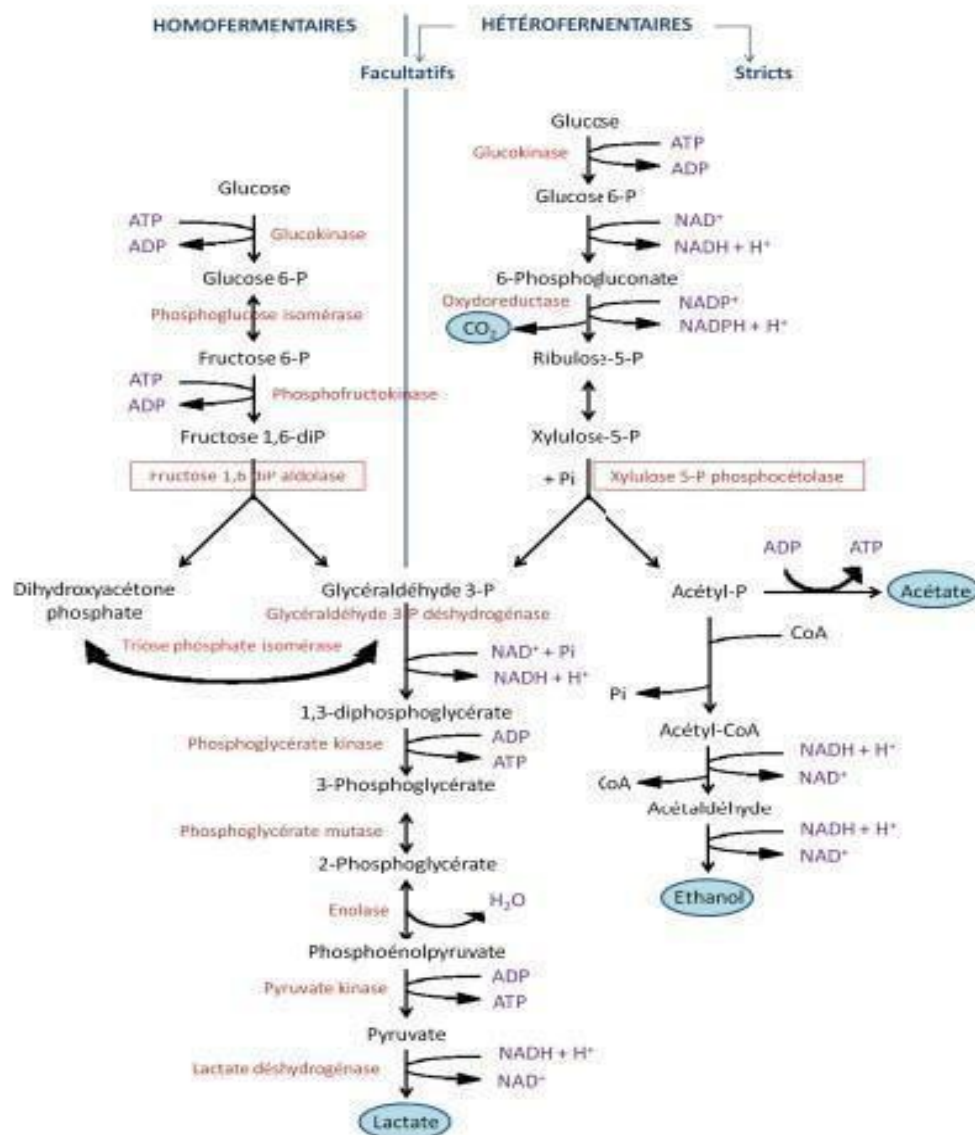


Figure 01 : Représentation schématique des voies homofermentaire et hétérofermentaire de la dégradation des glucides par les bactéries lactiques. La voie homofermentaire, basée sur la glycolyse (EMP), conduit principalement à la production de lactate, tandis que la voie hétérofermentaire (strictes ou facultatives) utilise la voie des pentoses phosphates et aboutit à la formation de lactate, d'éthanol, d'acétate et de CO₂. Les enzymes impliquées sont indiquées en rouge, et les enzymes limitantes sont encadrées. Les principaux métabolites finaux sont entourés en bleu. (Emilie Delavenne, 2012).

2. Habitat :

Les bactéries lactiques sont des germes ubiquitaires (**Zergoug, 2017**), qui existent dans une variété d'habitats riches en nutriments tels que les produits laitiers, y compris le lait maternel (**MARTIN et al., 2003**), la viande, les poissons, les végétaux, les légumes, les céréales, les boissons (**Menad, 2018 ; Boughra, 2021**). Certaines espèces se retrouvent aussi en association avec cd, les cavités buccales, la flore intestinale, et vaginale humaine ou animale (**Makhloufi, 2011 ; Boughra, 2021**).

Les réservoirs naturels de la plupart des espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux. Et pour la première fois en 1873, Lister a isolé *Lactococcus lactis subsp. Lactis* à partir du lait fermenté.

Les espèces du genre *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* se rencontrent surtout chez les hommes, animaux, oiseaux ou dans la peau des animaux et des matières fécales. Par contre les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent que sur les plantes. (**Lenoir et al., 1992 ; Guiraud et al., 2003 ; Hannachi, 2008**)

3. Classification

L'identification et la classification des bactéries lactiques remontent à 1919, avec les travaux fondateurs d'Orla-Jensen. Cette première approche s'appuyait sur des critères observables, incluant les propriétés morphologiques, biochimiques, physiologiques et moléculaires des microorganismes (**Rahal et Ben Mabrouk, 2023**).

3.1. Classification classique

Cette méthode de catégorisation prend en compte plusieurs paramètres déterminants : la morphologie bactérienne, le mécanisme de fermentation du glucose, les seuils de tolérance thermique, la structure isomérique de l'acide lactique synthétisé, ainsi que la résistance aux milieux salins, acides ou basiques (**Bouguerra, 2021**).

L'identification précise des souches de bactéries lactiques nécessite également l'analyse d'autres marqueurs phénotypiques et biochimiques. Parmi ceux-ci figurent le spectre de fermentation des sucres, la capacité à hydrolyser l'arginine, la production d'acétoïne (révélée par le test de Voges-Proskauer), la résistance aux sels biliaires, le profil hémolytique, la synthèse de polysaccharides extracellulaires, les exigences nutritionnelles, la présence

d'enzymes spécifiques (comme la β -galactosidase et la β -glucuronidase), le comportement en milieu lacté et les propriétés antigéniques (**Bouguerra, 2021**).

3.2. Classification moléculaire

Les techniques modernes de typage moléculaire, telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la PCR répétitive (rep-PCR) et la méthode RFLP, jouent un rôle essentiel dans la caractérisation précise des bactéries lactiques. Grâce aux avancées technologiques comme la PCR et le séquençage automatique du gène de l'ARNr 16S, l'identification des espèces est désormais plus rapide et plus fiable, permettant une différenciation claire des souches individuelles (**Mokdad, 2020**).

La classification moléculaire repose sur plusieurs critères fondamentaux. L'analyse de la structure des peptidoglycanes (PTG) permet de distinguer les espèces selon leurs liaisons peptidiques spécifiques (**Rahal et Ben Mabrouk, 2023**). De plus, l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont permis de restructurer la taxonomie des bactéries lactiques (Benhoua, 2019). Ces méthodes ont conduit à des regroupements, comme la création du genre *Carnobacterium* à partir de certaines souches de *Lactobacillus*, ainsi qu'à des séparations, comme la division du genre *Streptococcus* en *Streptococcus sensu stricto*, *Lactococcus* et *Enterococcus* (**Bessila et Messaoudi, 2020**).

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Lactobacillales*, qui comprend 6 familles principales : *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Aerococcaceae*. Parmi les 38 genres recensés, 10 sont particulièrement importants dans le domaine alimentaire : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium* et *Weissella* (**Bouguerra, 2021**).

Les bactéries lactiques se distinguent par leur faible teneur en bases guanine-cytosine (GC), généralement inférieure à 50 %. Cependant, certaines espèces de *Lactobacillus* peuvent atteindre 57 % (Saidi, 2020). Les genres *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et

Streptococcus, dont le pourcentage GC est inférieur à 50 %, sont classés dans la branche des *Clostridium* avec *Bacillus*, tandis que les bactéries à taux GC supérieur à 50 %, comme *Propionibacterium* et *Bifidobacterium*, appartiennent à la branche des *Actinomycetales* (Bessila et Messaoudi, 2021).

3.3. Le genre *Leuconostoc* :

En 1878, Van Tétéghem décrit pour la première fois les genres *Leuconostoc* (Zhang & Cai, 2014). Ils appartiennent à la famille des *Leuconostocaceae* et à l'ordre des *Lactobacillales*. Ce sont des microorganismes procaryotes, hétérofermentaire, non sporulés, mésophile, saprophytes, immobiles, aérobies anaérobies facultatifs et ils produisent l'acide lactique. (Benreguieg, 2015).

Les *Leuconostoc* se présentent sous forme de coques lenticulaires en paires ou en chaînes, (Bendimerad, 2013).

Ce genre des bactéries sont utiles dans différents types de fromage et dans l'industrie laitière (beurre et crème) principalement les *Ln. Mesenteroides et ssp. Cremoris*. (Negadi et al, 2017)

Leuconostoc sont capables de produire des exopolysaccharides (EPS) à partir du saccharose, ce qui peut renforcer l'adhésion intestinale des bactéries probiotiques et stimuler leur l'activité antimicrobienne contre les agents pathogènes. (BENHOUNA, 2019 ; MOKDAD Feyza Halima, 2020).

3.4. Le genre *Weissella* :

Les cellules de *Weissella* sont asporulées, immobiles, gram positive, micro aérophiles ou aéro-anaérobies et hétérofermentaire stricts. Elles se développent à 15°C mais certaines espèces préfèrent une température de 45°C. (björkroth et holzapfel, 2006 ; Fusco et al, 2015).

Les bactéries appartiennent au groupe *Weissella* sont sous forme des courts bacilles, de coccobacilles ou des coccoïdes en chaînes ou groupés par deux. (BENYOUCEF AMEL, 2018)

Elles sont traditionnellement associées à certaines fermentations alimentaires. Certaines souches de *Weissella* sont aujourd'hui considérées comme probiotiques tel que *W. cibaria*. De plus, *W. Cibaria et W. confusa* peuvent synthétiser de grandes quantités de

polysaccharides extracellulaires non digestibles, principalement du dextrane. Ces composés présentent un

Intérêt important en raison de leur potentiel prébiotique et de leurs plusieurs applications industrielles principalement dans la fabrication de pain et de boissons fermentées. (BENHOUNA Insaf Samira, 2019)

3.5. Le genre *Enterococcus* :

Ce genre regroupe les *streptocoques fécaux* qui représentent une hémolyse de type α et β (Bessila Et Messaoudi ,2020) sont des cocci à Gram positif, souvent regroupés en paires ou courtes chaînes, comprenant principalement *E. faecalis* et *E. faecium*. Ces bactéries commensales intestinales présentent des caractéristiques distinctives : une croissance entre 10-45°C (optimum 35-37°C), une résistance notable aux conditions stressantes (NaCl 6,5%, pH 9,6) (Penven *et al.*, 2023). Et un métabolisme homofermentaire. Leur identification repose notamment sur leur capacité à fermenter l'arabinose et le sorbitol (Bessila Et Messaoudi ,2020)

Chapitre II : Exploitation des bactéries lactiques

1. L'intérêt technologique des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques jouent un rôle crucial dans plusieurs domaines technologiques, notamment dans l'industrie alimentaire et le domaine de la santé.

1.1. Dans l'industrie alimentaire :

A/ Les ferments lactiques :

Les ferments lactiques, également appelés levains lactiques, sont des bactéries essentielles dans la fermentation du lait pour produire des aliments comme les yaourts, les fromages, le beurre et les laits fermentés. Ces microorganismes jouent aussi un rôle en boulangerie, influençant la texture, le goût et la conservation du pain. (Junjian *et al.*, 2024)

A.1. Critères de sélection des ferments lactiques

Les bactéries utilisées comme ferments lactiques doivent être inoffensives pour la santé. La plupart des bactéries lactiques sont considérées comme sûres à l'exception de certaines souches d'entérocoques qui peuvent poser des risques (Sehibi et Laouasna, 2021). Pour qu'un ferment soit efficace, il doit répondre à plusieurs exigences :

- Résistance aux bactériophages et aux procédés mécaniques (comme le brassage).
- Tolérance à différents stress : acidité, sel (NaCl), sucre (saccharose), températures élevées, et même antibiotiques. (Sehibi et Laouasna, 2021)
- Stabilité lors de la congélation, la lyophilisation (séchage à froid) et le stockage.
- Adaptabilité à différentes conditions (présence d'oxygène, températures non optimales).
- Compatibilité avec d'autres souches bactériennes pour les mélanges de ferments. (Canon, 2021) ·

B. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la transformation de diverses matières premières en produits fermentés comme ; les laits fermentés, les fromages, les olives et certains vins, avec une prédominance dans l'industrie laitière qui les utilise largement sous forme de ferments commerciaux. Leur importance industrielle repose sur leurs propriétés technologiques clés, notamment leur capacité d'acidification, leurs activités enzymatiques (protéolytique ...), ainsi que leur production de métabolites bénéfiques tels que les acides organiques et les bactériocines, sans oublier leur contribution à la texture des produits via la synthèse d'exopolysaccharides (Boumediene, 2023 ; Slamnia *et al.*, 2018)

B.1. Activité acidifiante :

L'activité acidifiante des BL est leur propriété principale en industrie agroalimentaire. En fermentant les sucres, elles produisent de l'acide lactique (**bounedjar et benaouda ;2020**) ce qui : Abaisse le pH, donnant un goût acidulé aux aliments (yaourts, fromages, légumes fermentés).

- Assure la sécurité en inhibant les pathogènes (**Marcelli et al., 2024**)
- Modifie la texture (ex. coagulation des protéines du lait). Et Améliore la conservation
- Le choix des souches dépend de la vitesse et du niveau d'acidité souhaité pour chaque produit. (**BOUCHIBANE ,2023**)

Des recherches ont identifié des bactéries lactiques prometteuses dans le lait de chamelle. *Lactobacillus salivarius* montre une forte capacité d'acidification, tandis que

L. plantarum et *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* présentent une acidification modérée. Ces souches offrent des perspectives intéressantes pour les industries laitières et fermentaires. (**Allouache et al.,2017 ; SLAMNIA et al. 2018**).

B.2. Activité antimicrobiennes :

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes particulièrement efficaces, Ces substances présentent un intérêt majeur pour les industries agroalimentaire et pharmaceutique dont les bactériocines et les acides organiques (**Marcelli et al., 2024**)

Les bactériocines, comme la nisine (synthétisée par *Lactococcus lactis* est utilisée comme additif alimentaire) et la lactococcine, sont des peptides antimicrobiens qui agissent en perforant les membranes cellulaires des bactéries Gram+, entraînant leur lyse. Leur stabilité remarquable face à la chaleur et aux enzymes protéolytiques en fait des agents de conservation idéaux crée un environnement hostile pour les pathogènes. L'effet antimicrobien résulte à la fois de l'abaissement du pH et de l'action directe de la forme non dissociée de l'acide sur les microorganismes sensibles, tout en étant sans danger pour la consommation humaine (**Zhaouet El Hadj Sadoun,2024**)

B .3. Activité protéolytique :

La protéolyse est considérée comme étant l'événement biochimique le plus important durant la maturation fromagère (**Allouche et al. 2017**). Les bactéries lactiques utilisent des enzymes pour digérer les protéines et obtenir des acides aminés essentiels à leur croissance, avec une activité plus marquée chez les lactobacilles que chez les *lactocoques* (**Tadjer et Seba, 2023**)

B.4. Aptitude texturant :

Les bactéries lactiques synthétisent des exopolysaccharides (EPS), des polymères glucidiques complexes qui se présentent sous deux formes : des polysaccharides capsulaires (CPS) ancrés à la paroi cellulaire (peptidoglycane), ou des EPS libérés dans le milieu environnant (**Benhoua ,2019 ; Zannini et al,2016**). Ces macromolécules, combinées à l'activité acidifiante des souches, jouent un rôle déterminant dans l'amélioration des propriétés texturales des produits fermentés (**Zhang et al., 2023**)

1. 2. Dans le domaine de la santé

1. 2.1. Bactéries lactiques comme probiotique :

· Les probiotiques sont des microorganismes vivants (principalement des bactéries lactiques comme *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*) Qui consommés en quantité suffisante, améliorent la santé intestinale et immunitaire (Ils peuvent stimuler les cellules du système immunitaire et favoriser la production d'anticorps qui inhibent ainsi les bactéries pathogènes à la surface des muqueuses intestinales). Commercialisés sous forme de yaourts, compléments alimentaires (gélules, poudres) ou aliments fermentés, ils équilibrent la flore digestive (**Singhal et al. 2023**). La FAO/OMS les définit comme des "microbes bénéfiques" lorsqu'ingérés en doses adéquates (Rapport FAO/OMS, 2002)

Les bactéries lactiques interviennent dans le contrôle des infections intestinales comme la prévention des diarrhées par l'introduction d'une nouvelle flore intestinale qui agit sur les entérobactéries responsables de ces désordres intestinaux (**Mermouri,2018 ; sabrina,2020**)

Les souches lactiques sont également utilisées dans le traitement des autres infections telles que :

- Les allergies alimentaires grâce à leur activité protéolytique par dégradant les protéines.
- La prévention des gastro-entérites nosocomiales chez les nouveau-nés.
- Les propriétés anti hypercholestérolémies, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter*.
- Prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (**berradia, 2016 ; sabrina,2020**)
- Utilisées souches de *Lactobacillus crispatus* sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes chez les femmes (**Mauries et al., 2021**)

Etude expérimentale

Ce travail a été réalisé au laboratoire PFE de de la Faculté de Science de la Nature et de la Vie, à l'Université Saad Dahleb, Blida 1, sur une période de trois mois. L'objectif de notre travail consiste à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des souches et la mise en évidence du potentiel probiotique et protéolytique de bactéries lactiques isolées à partir d'olives fermentées du territoire.

I. Provenance des bactéries utilisées :

I.1. Les bactéries lactiques :

Les dix (10) souches de bactéries lactiques sélectionnées pour l'étude proviennent d'un travail antérieur de notre promotrice, Ces souches, initialement extrait d'olives fermentées algériens, ont été purifiées au laboratoire et le genre a été identifié par des tests physico-chimique (identification phénotypique).

Chacune des bactéries est référencée par un code unique, comme détaillé dans le **Tableau I**.

Tableau I : Provenance et identification des souches utilisées dans notre travail

Code de souche	Identification phénotypique
Souche 2	<i>Weissella sp</i>
Souche 3	<i>Weissella sp</i>
Souche 4	<i>Weissella sp</i>
Souche 5	<i>Weissella sp</i>
Souche 14	<i>Enterococcus sp</i>
Souche 19	<i>Enterococcus sp</i>
Souche 24	<i>Leuconostoc sp</i>
Souche 26	<i>Leuconostoc sp</i>
Souche 27	<i>Leuconostoc sp</i>
Souche 34	<i>Leuconostoc sp</i>

I.2. Les souches pathogènes :

Les souches bactériennes pathogènes utilisées dans nos expérimentations proviennent du laboratoire d'hygiène de Tipaza.

Pseudomonas aeruginosa CNR ISPA PS20

E. coli ATCC8739

Staphylococcus aureus ATCC 19095

Listeria monocytogène ATCC 9525

Klebsiella.p13883

II . Revivication des souches :

Les souches lactiques étant conservées dans milieu lait glycérol à -80°C, leur revivification est réalisée sur milieu liquide (MRS bouillon) De Man, **Rogosa et sharp, (1960)**. C'est un milieu adapté à la recherche spécifique des bactéries lactiques, L'incubation des souches a été faite à 30°C pendant 24h à 48h. Le repiquage a été réalisé sur MRS solide et incubée à 30°C pendant 24h à 48h. (**ZAROOUR et al, 2013**).

Pour les souches pathogènes, la revivication a été faite dans de bouillon nutritif puis une incubation à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les cultures sont ensemencées dans des boîtes Pétri contenant de la gélose nutritive et l'incubation se fait pendant 24 h à une température de 37 ° C.

III. Vérification de la pureté des souches :

La pureté des 10 souches a été confirmée par l'observation de l'aspect des colonies sur gélose MRS, la coloration de GRAM ainsi que par la réaction de catalase. (**MARCONI et al, 2000**).

1. Étude macroscopique :

Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu MRS solide (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité ...). L'observation macroscopique est faite après 24 heures d'incubation à 30°C sur gélose MRS pour les bactéries lactiques et gélose nutritive à 37 °C pour les bactéries pathogènes.

2. Étude microscopique :

L'observation microscopique au grossissement (**G x 1250**) permet de classer les bactéries selon leur GRAM, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (**Joffin et Leyral, 1996**). Ces caractères sont déterminés selon la méthode de coloration de GRAM qui consiste à :

•Préparer un frottis :

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique puis prélever à l'aide d'une pipette pasteur stériles une fraction d'une colonie isolée.
- Réaliser le frottis de façon à obtenir un étalement mince et homogène.
- Sécher à l'air libre puis fixer le frottis par 3 passages rapides et bref de la lame au-dessus d'une flamme d'un bec bunsen.

•Etape de la coloration différentielle de GRAM :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rejeter le violet de gentiane et recouvrir de Lugol pendant 1 minute.
- Rejeter le Lugol, et décolorer à l'alcool 95° pendant 30 secondes et rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la lame à la fuchsine dilué 1/10 pendant une minute puis rincer.
- Sécher à la chaleur et examiner à l'immersion (**Denis et al., 2011, Fares et al., 2020**) - La lecture se fait (×100) avec l'huile à immersion.

3. Caractéristiques biochimiques :

Test de catalase :

•Principe :

L'enzyme catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée (H₂O₂) qui résulte de l'oxydation mise en évidence par contact de la culture bactérienne avec l'eau oxygénée (**Guiraud, 2003**).

Selon la réaction suivante :



Une goutte de H_2O_2 est déposée sur une lame qui contient une colonie prélevée à partir de la gélose MRS. La décomposition de H_2O_2 est traduite par un dégagement gazeux sous forme de mousse et de bulles (**Belyagoubi, 2014 ; AHMED et IRENE, 2007**).

IV. Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques

1. Activité protéolytique :

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est mise en évidence sur milieu PCA additionné à 1%, 3% et 5% (v/v) de lait écrémé (**Moslehishad et al, 2013**).

Les bactéries à tester, issues des cultures jeunes, ont été ensemencées par touche à la surface à l'aide d'une anse de platine. Après séchage, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 48 h, l'activité protéolytique de ces bactéries se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**BELHAMRA, 2017**).

2. Production d'exopolysaccharides (EPS) :

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des exopolysaccharides (EPS) dont l'accumulation provoque une augmentation de la viscosité des milieux.

Les souches à tester sont ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée 10 % déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 37°C pendant 1j à 5j, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes (**Benhoua, 2019**).

3. Etude de l'activité antimicrobienne :

Les souches lactiques sélectionnées ont été évaluées pour leur activité antagoniste vis-à-vis de bactéries indicatrices, incluant *Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC 9525, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogenes* ATCC 9525 et *Klebsiella* p13883. L'analyse a été réalisée selon la méthode d'interaction directe (Spot Agar Test), telle que décrite par **Fleming et al. (1975)**.

3.1 Méthode direct spot agar test (Fleming et al., 1975) :

Ce test d'antagonisme permet de détecter la production de substances antibactériennes par les bactéries lactiques contre les souches pathogènes cibles. Une pré culture de chaque souche lactique, incubée 18 heures à 30°C, est déposée (10 µL) en spots sur gélose MRS, avec trois spots par boîte de taille identique. Après 24 heures d'incubation en aérobie à 30°C, les boîtes sont recouvertes de 10 ml de gélose MH (Mueller Hinton) inoculée avec 1 ml d'une pré culture de 18 heures de chaque bactérie pathogène. Une seconde incubation à 37°C pendant 24 heures permet d'observer les zones d'inhibition autour des spots lactiques. Les résultats positifs, caractérisés par une zone claire ≥ 6 mm (figure 05), indiquent une production de composés antimicrobiens (Fleming et al., 1975).

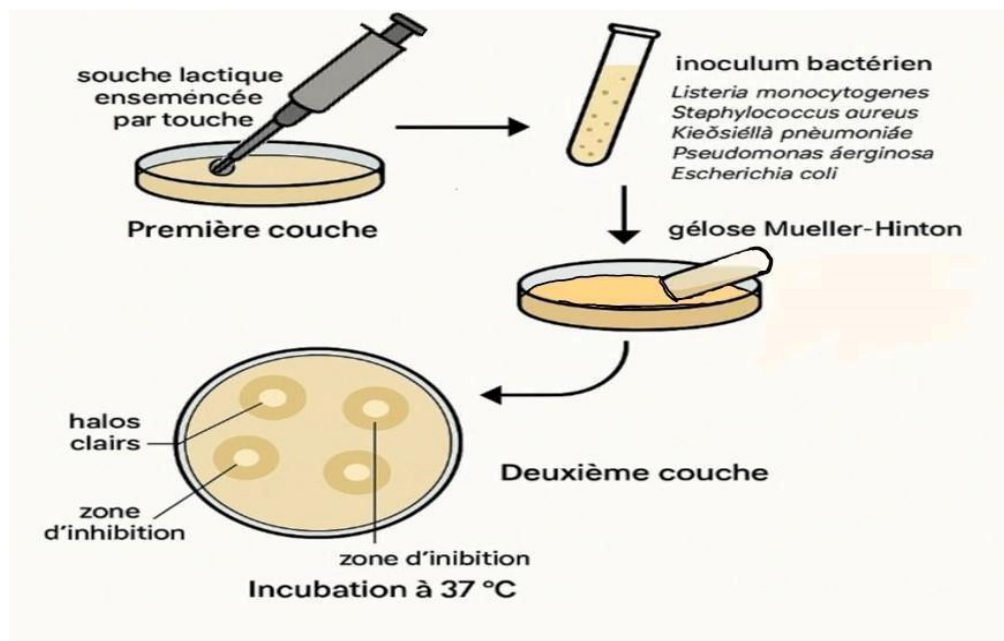


Figure 02 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode spots sur agar (Fleming et al., 1975).

V. Profil probiotique

1. Tolérance à l'acidité :

La tolérance des bactéries lactiques à l'acidité gastrique a été évaluée à travers des essais in vitro réalisés principalement à pH 2,3 et pH 4, pendant 3h qui est la durée moyenne de rétention des aliments dans l'estomac. (Prasad et al., 1998)

Après 18h d'incubation des souches lactiques, les cultures ont été centrifugées (1000 tours / min, 10 min). Les culots ont été rincé par le PBS stérile (solution tampon phosphate) à pH 7 puis inoculée dans du PBS stérile ajustée préalablement à pH 2, pH 3, pH 4, suivi d'une incubation à 30 C° pendant 48h.

Des dénombrements sont effectués sur les boîtes de pétri coulées par gélose MRS après 0h et 3h d'incubation (**Benmechernene et al., 2013 ; Gharbi et al.,2019**). Les valeurs ont été exprimées en log UFC / ml.

2.La tolérance aux sels biliaires :

Les sels biliaires facilitent la digestion des graisses et limitent la croissance des bactéries dans le haut du tube digestif. Ils servent aussi à tester la résistance des souches en vue d'une utilisation probiotique par l'homme. (**Shima et al.,2009**)

L'expérience a été appliquée a des concentrations de 0,5%, 1% et 2% de sels biliaires. Après 18h d'incubation des souches lactiques, Les cellules bactériennes ont été récupérées par centrifugation et lavées avec du PBS stérile (solution tampon phosphate) à pH 8, puis suspendues dans une solution PBS (pH 8) contenant 0,5%, 1,0% ou 2,0 % de sels biliaires. La survie cellulaire a été mesurée après 0 et 4 heures d'exposition à 37 °C, selon la méthode de dénombrement, avec incubation à 30°C durant 48 heures. Les résultats sont exprimés en log UFC/ml." (**Benmechernene et al., 2013**)

3. Test de thermorésistante :

Ce test permet de sélectionner ou d'identifier les souches thermorésistantes. Des tubes de bouillon de MRS inoculés par les souches à tester sont soumis à un traitement thermique au bain marie 63.5 C pendant 30min, suivie d'une incubation à 30 C° pendant 24h à 48h.

Lecture : la présence d'un trouble indique une thermorésistance (**A.E. Sika-Kadji et al., 2022**).

4. Auto-agrégation et co-agrégation

5 ml de culture d'une nuit, contenant 10^8 UFC/mL des souches sélectionnées de *Weissella sp*, *Enterococcus sp*, *Leuconostoc sp*, ont été vortexés pendant 10 s et incubés à 37 °C. L'absorbance du surnageant a été mesurée après 0h (DO_{t0}) ,2h ,4h et 24h d'incubation (Dot) **(Cirat et al., 2024)**.

Le pourcentage d'auto-agrégation a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$A = [1 - (DO_t / DO_{t0})] \times 100.$$

Pour évaluer la congrégation, des volumes égaux (4 ml) de souches LAB sélectionnées et de *Listeria monocytogenes*, ont été mélangés, vortexés pendant 10 s et incubés à 37 °C. Les valeurs d'absorbance à 600 nm ont été mesurées après 0h, 2h, 4 h et 24h d'incubation pour les cultures mixtes (DO mix), LAB unique (DO bacterie) et *Listeria monocytogenes* (DO *L. monocytogenes*) **(Cirat et al., 2024)**.

Le pourcentage de coagrégation a été calculé comme suit :

$$\text{coagrégation (\%)} = [1 - DO_{\text{mix}} / (DO_{\text{souche}} + DO_{\text{pathogène}}) / 2] \times 100.$$

IV . Évaluation d'aspect sécuritaire

1.Activité hémolytique :

L'hémolyse est la lyse des globules rouges causée par la rupture de leur membrane. Elle peut être provoquée par des enzymes bactériennes ou des substances qui créent des pores membranaires. Cela libère l'hémoglobine, qui peut ensuite être dégradée.

Pour évaluer cette activité, une culture jeune de 18h a été utilisée pour réaliser un ensemencement par striée sur la surface de milieu gélose au sang. Les boîtes ont ensuite été incubées à 30°C pendant 48 heures. **(Gharbi et al.,2019)**

Le type d'hémolyse est déterminé par l'aspect des zones autour des colonies : zone verte pour α -hémolytique (digestion partielle des hématies), apparition d'une zone claire indique β -hémolytique (digestion Complète), et absence de zone indique γ -hémolytique.

2. La résistance aux antibiotiques

Elle permet de déterminer la sensibilité ou la résistance des souches à étudier à certains antibiotiques en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide.

Pour réaliser ce test, un antibiogramme en milieu solide est réalisé, chaque souche, d'une culture jeune de 18 h d'incubation à 37°C, estensemencée en surface de la gélose MRS, déjà coulée et solidifiée. Chaque souche est testé vis-à-vis de quatre (4) disques d'antibiotiques respectivement: Ampicilline, Chloramphénicol, Céphalosporine, Multi-Drug Resistance protéine , Cefotaxime , Amoxicilline , ces derniers sont déposés à la surfaces des boitesensemencées par les souches lactiques. Après incubation à 37 °C pendant 18h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Leroy *et al.*, 2007 ; Liasi *et al.*, 2009)

Tableau II : Différents antibiotiques utilisés, ainsi que leur concentration et leur mode d'action

Antibiotique	Charge de Disque (μ g)	Symbole	Sites d'inhibitions
Ampicilline	10	AMP	Paroi bactérienne
Chloramphénicol	10	CLM	Ribosome bactérien
Céphalosporine	30	KF	Paroi bactérienne.
Multi-Drug Resistance Protein		MRP	
Cefotaxime	30	CTX	Paroi bactérienne
Amoxicilline	25	AX	Paroi bactérienne

VII. Suivi de la Cinétique d'acidification et de la croissance des souches lactiques dans milieu MRS liquide :

L'acidification étant une fonction clé des bactéries lactiques, nous avons suivi la cinétique d'acidification des souches par pH-métrie. Parallèlement, la croissance bactérienne a été suivie par turbidimétrie à 600 nm. Après 18 heures d'incubation en bouillon MRS, une culture de 10^8 Ufc /ml a été inoculée dans des flacons stériles contenant 50 ml de bouillon MRS.

L'acidité (pH) et la croissance (DO à 600 nm) ont été mesurées toutes les 3 heures pendant 48 heures (0, 3, 6, 9, 15, 18, 21, 24, 27... 48 h). (**Allouche et al., 2010**)

VIII. Suivi de la cinétique d'acidification et de croissance des souches de *Leuconostoc mesenteroides* en cultures pures et mixtes avec les souches *Listeria monocytogenes*.

Pour évaluer la cinétique de croissance, les souches productrices de substances antimicrobiennes les plus potentielles *Leuconostoc sp* ont été sélectionnées pour être testées contre les souches *Listeria monocytogenes*.

Une pré-culture de la bactéries *Leuconostoc* a été inoculé à 1/100 dans un flacon contenant du lait écrémé enrichi avec 0.5% d'extrait de levures

. De même pour les cultures mixtes, un volume final de lait écrémé a été inoculer avec 1/100 de bactéries indicatrices et de souches lactiques, le pH, l'acidité titrable et la croissance bactériennes ont été mesurés toutes les 2 heures pendant 48h (**Kihal et al., 2007**).

L'acidité développée dans le lait est suivie à l'aide d'un pH mètre, L'acidité Dornic est dosée par titration avec une solution de NaOH (N/9) dans une culture en 10 mL du lait, est versé dans un bêcher dans lequel sont ajoutées 5 gouttes de phénolphtaléine. et exprimée en degré Dornic, déterminée par la formule : **Acidité (°D) = V NaOH. 10**

V NaOH : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 ml de lait (**Bourgeois et al, 1996 et Mami, 2007**).

La croissance bactérienne a été mesuré par dénombrement sur boîte, Après agitation des flacons incubés, des dilutions décimales ont été réalisées. Suivi d'un encensement par spot. La mesure de la population bactérienne a été réalisée par comptage dans le milieu sélectif

MRS et oxford incubé à 30 ° C et 37 ° C pour les souches *Leuconostoc* et *Listeria*, respectivement

XI. Suivi de la cinétique de croissance des bactéries lactiques dans le lait d'avoine :

Pour évaluer la croissance des bactéries lactiques dans un substrat végétal, cinq souches ont été sélectionnées et préalablement cultivées en bouillon MRS. La concentration cellulaire a été déterminée par spectrophotométrie (DO à 600 nm).

Un volume d'inoculum ajusté a été introduit dans des flacons stériles contenant 50 mL de lait d'avoine. Le pH a été suivi toutes les 2 heures pendant 48 heures afin d'analyser la cinétique d'acidification.

X. Conservation des souches isolées :

1. Conservation de courte durée

La conservation à court terme des isolats purifiés est effectuée par ensemencement des souches pures sur gélose MRS inclinée à l'aide d'une anse en platine stérile. Après incubation à 30°C pendant 18h, Les tubes sont maintenus à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les trois à quatre semaines (**Saidi et al., 2002**).

2. Conservation de longue durée

A partir des jeunes cultures de 18h sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tr / min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation (lait écrémé 70% et 30% de glycérol) sur le culot. Les cultures sont conservées en « Eppendorf » à - 20 °C. La figure 3 montre le protocole de conservation à longue durée. Les cultures peuvent être conservées plusieurs mois. (**Badis et al, 2005**).

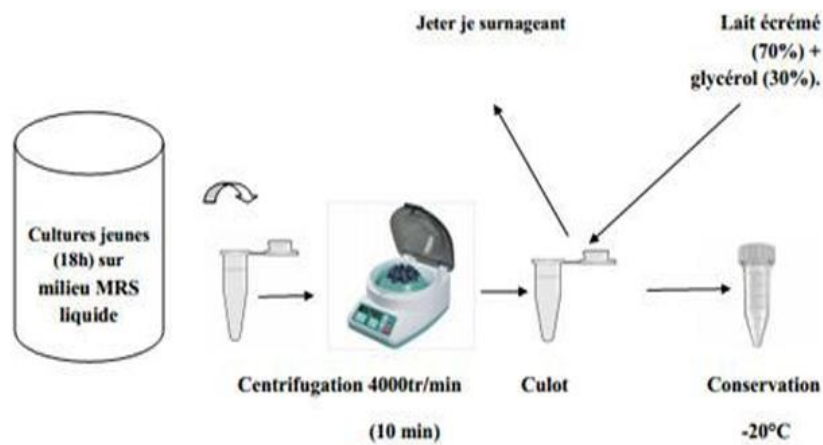


Figure 03 : Schéma de conservation à long durée des bactéries lactiques Purifiées.
(Belarbi,2021)

Résultats et discussion

Résultats :

I. Caractérisation macroscopique et microscopique :

L'aspect macroscopique des souches sélectionnées a mis en évidence de petites colonies arrondies, légèrement surélevées, à surface lisse et de couleur blanchâtre. **(Figure 4).**

I.1. Sur milieu solide :

I.2. Sur milieu liquide :

La croissance des bactéries se manifeste par un trouble homogène sur milieu MRS liquide.

I.3. Examen microscopique (coloration de GRAM) :

L'observation au microscope, après coloration de Gram, a révélé des bactéries Gram positif, de forme cocci ou coccobacille ovoïde, regroupées en paires et formant de longues chaînes. (La figure 6) représente l'observation microscopique de la souche retenue

I.4. Test de catalase :

Le test à la catalase s'est révélé négatif pour l'ensemble des souches, aucune production de bulles d'air n'ayant été observée en présence de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce qui suggère que toutes les souches sont catalase négative. Donc il s'agit de bactéries lactiques. La souche de *E. coli*, a été utilisé comme témoin positif pour vérifier le H_2O_2 utilisé (Figure 7).

La combinaison d'une coloration de Gram positive et d'un test de catalase négatif confirment l'appartenance des souches aux bactéries lactiques. Les résultats sont résumés dans le tableau.

Tableau III : Caractéristiques microscopiques et du test catalase des bactéries lactiques.

Codes des souches	GRAM	Forme	Catalase
2	+	Coccobacille en diplo	-
3	+	Coccobacille en diplo	-
4	+	Coccobacille en diplo	-
5	+	Coccobacille en diplo	-
14	+	Coccobacille en diplo	-
19	+	Coccobacille en diplo	-
24	+	Coccobacille en diplo	-
26	+	Coccobacille en diplo	-
27	+	Coccobacille en diplo	-
34	+	Coccobacille en diplo	-

(+) : positif, (-) : négatif

II . Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques

1. Activité protéolytique :

L'activité protéolytique représente un critère technologique important dans l'évaluation des bactéries lactiques, car elle conditionne leur aptitude à se développer dans le lait et participe à l'amélioration des propriétés organoleptiques du produit fini. En ce qui concerne l'activité enzymatique, les dix (10) souches de BL ont présenté une capacité à hydrolyser la caséine dans le lait écrémé à des concentrations de 1 %, 3 % et 5 %, comme l'indique la présence de halos clairs autour de leurs colonies ; chaque zone a été mesurée et exprimée en mm Les analyses ont été réalisées en triple. **(Cirat et al.,2024)**

2.Production d'exopolysaccharides (EPS) :

Les exo polysaccharides (EPS) synthétisés par les bactéries lactiques présentent un intérêt croissant en raison de leurs applications potentielles dans l'industrie alimentaire. Ces composés naturels peuvent servir d'additifs alimentaires sûrs pour améliorer diverses propriétés des produits, notamment la texture, les caractéristiques rhéologiques, la sensation en bouche et la stabilité **(Ruiz Rodriguez et al., 2017)**.

Cependant, les résultats obtenus indiquent que les souches sélectionnées dans cette étude ne produisent pas d'EPS.

3.Etude de l'activité antimicrobienne :

Les bactéries lactiques démontrent une remarquable capacité à inhiber la croissance des pathogènes grâce à leur production diversifiée de composés antimicrobiens, incluant notamment les acides organiques, les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène **(Reuben et al., 2020)**. D'autre part, cet est très important pour une colonisation réussie des muqueuses intestinales.

Ces organismes agissent comme une barrière microbienne contre les pathogènes gastro-intestinaux en éliminant la compétition et produisant des composés inhibiteurs. **(Al-Dhabi et al., 2020 ; Barzegar et al., 2021)**

L'activité antimicrobienne des souches lactiques a été évaluée contre des pathogènes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525) et à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC 8739, *Klebsiella.p13883*). Les diamètres d'inhibition varient de 11 à 40 mm, selon la souche lactique et le pathogène cible.

- Les *Enterococcus* (S14, S19) se distinguent par leur efficacité, particulièrement la souche S19 qui inhibe fortement *Klebsiella* et *E. coli* (40 mm), dépassant même l'antibiotique de contrôle (ATB 37 mm)
- Souche 34 montre l'activité la plus faible (11 mm contre *Klebsiella* et *E. coli*).
- Les souches S3, S5, S24, et S27 ont des performances intermédiaires (15–25 mm).
- Les résultats indiquent également que Les souches de *Weissella* (S2, S3, S4, S5) ont montré une inhibition modérée contre *Staphylococcus* (15–21 mm) et *E. coli* (17–23 mm), avec la souche S5 comme la plus active (23 mm contre *E. coli*).
- Les autres bactéries lactiques testées affichent une activité modérée contre *Pseudomonas* (diamètres ≤ 19 mm) et *Listeria* (14–23 mm), avec des zones d'inhibition souvent inférieures à 20 mm

Ces résultats confirment que les bactéries lactiques produisent des composés inhibiteurs efficaces contre divers pathogènes, avec des variations significatives entre souches. Il est donc essentiel de bien sélectionner les souches pour des applications ciblées contre des pathogènes spécifiques. **(Le tableau 02)** et la **(figure 09)** représente le diamètre des spectres d'inhibitions des souches envers les cinq souches pathogènes.

III. Profil probiotique

1. La tolérance à l'acidité :

La résistance bactérienne à l'acidité constitue une propriété essentielle à double titre : d'une part pour assurer leur survie lors du transit intestinal, et d'autre part pour leur incorporation dans des compléments alimentaires ou aliments acides. Cette caractéristique permet aux souches probiotiques de maintenir leur viabilité et leur efficacité plus longtemps dans des environnements à faible pH, aussi bien dans les produits alimentaires que lors du passage dans le tractus gastro-intestinal (**Benyoucef,2018**).

Bien que les 5 souches (S19, S2, S24, S27, S 34) ont démontré une certaine tolérance aux pH acides (2-4) avec une meilleure viabilité à pH 4, des différences significatives ont été observées à pH2. La souche S19 présente les meilleures performances avec une viabilité initiale de Log 8.65 UFC/ml et une réduction limitée à 8 Log après 3h à Ph 2.À l'inverse, S2, S24, S27, S 34 ont subi des réductions drastiques sous pH2 après 3h. Ces variations inter-souches, particulièrement marquées à pH2, soulignent l'importance de la sélection spécifique pour des applications nécessitant une résistance gastrique.

2.La tolérance aux sels biliaires :

La sécrétion et la concentration de la bile dans les différentes parties de l'intestin varient principalement selon le type d'aliment ingéré. Il est donc difficile de connaître précisément la concentration de bile à un moment donné. Davenport (1968) indique que les taux biliaires intestinaux varient entre 0,5% et 2,0% durant la première heure de digestion, puis peuvent diminuer pendant la deuxième heure.

Des concentrations biliaires variant de 0,3% à 2% ont été employées dans divers milieux de culture pour isoler sélectivement des bactéries résistantes aux sels biliaires à partir de cultures mixtes.

L'évaluation de la tolérance aux sels biliaires a été réalisée sur cinq souches de bactéries lactiques (Souches 2, 4, 19, 27 et 34), incubées pendant 4 heures en présence de différentes concentrations de sels biliaires (0,5 %, 1% et 2%). Pour l'ensemble des souches, une diminution de la viabilité bactérienne (exprimée en Log UFC/ml) a été observée après 4 heures d'exposition, cette réduction devenant plus marquée à mesure que la concentration en sels biliaires augmente. La souche 2 a montré la meilleure tolérance, avec une baisse modérée de la viabilité même à 2%, tandis que la souche 4 a présenté une sensibilité importante, avec une diminution de plus de 3 log à cette même concentration. Les souches 19, 27 et 34 ont également affiché une réduction progressive de leur viabilité en fonction de la concentration, suggérant une tolérance intermédiaire. Ces résultats montrent que les souches présentent une tolérance variable aux conditions simulant l'environnement intestinal.

Les résultats obtenus sont exprimés en Log UFC/ml

3. Test de thermorésistance :

Aucune des souches n'a montré de tolérance au traitement thermique à 63,5 °C pendant 30 minutes, ce qui indique qu'elles sont toutes thermosensibles.

4. L'auto-coagréation :

L'analyse des propriétés d'agrégation des souches étudiées a permis de mettre en évidence des variations notables en fonction du temps d'incubation. Pour l'auto-agrégation, les résultats montrent une augmentation progressive des pourcentages au cours des 24 heures. La souche 14 s'est révélée la plus performante, atteignant un taux d'auto-agrégation de 77,1% à 24h, suivie par les souches 19 (70,82%) et 4 (60,96%). Les souches 27 et 34 ont affiché des valeurs plus modérées, avec respectivement 56,97% et 57,52%. Ces résultats suggèrent une forte capacité d'interaction cellulaire chez les souches 14 et 19.

En parallèle, le test de co-agrégation a révélé que les souches 4, 14 et 27 présentaient les meilleurs taux à 24h, avec respectivement 22,14%, 25% et 24,18%, ce qui reflète leur aptitude à

interagir avec d'autres micro-organismes comme *L. monocytogenes*. A l'inverse, les souche 19 et 34 présentent un modéré capacité de co-agrégation de 13,29% et 17,76. Ces résultats confirment le potentiel de certaines souches, en particulier la souche 14, dans la compétition microbienne et la prévention de la colonisation par des pathogènes. Ces données sont représentées graphiquement dans la **Figure 22**

IV. Évaluation d'aspect sécuritaire

1. Activité hémolytique :

L'analyse de l'activité hémolytique a été réalisée sur un milieu de gélose nutritive au sang à 5%, permettant la détection des phénomènes d'hémolyse (α -hémolyse : zones verdâtres ; β -hémolyse : zones claires périphériques). Conformément aux normes de sécurité de la FAO/OMS (2002) pour les microorganismes probiotiques, aucune des souches testées n'a présenté d'activité hémolytique (α ou β), comme en témoigne l'absence totale de zones de lyse érythrocytaire autour des colonies ces résultats, cohérents avec ceux de **Benmechernene et al. (2013)** pour des souches apparentées, confirment l'innocuité hémolytique des isolats étudiés et leur conformité aux critères de sécurité des souches probiotiques.

2. Antibiogramme :

De nombreuses études ont démontré l'existence d'une résistance naturelle aux antibiotiques chez les bactéries lactiques. Dans cette optique, il apparaît essentiel de vérifier l'absence de gènes de résistance chez les souches candidates avant leur utilisation dans des cultures probiotiques (**Ammor et Mayo, 2007**).

Les profils de résistance et de sensibilité de nos souches sont présentés dans (**Tableau VI**). L'évaluation de l'activité antibiotique a été réalisée après 24 heures d'incubation par mesure des zones d'inhibition, selon les critères établis par **Liasi et al. (2009)** : sensible ($S \geq 21$ mm), intermédiaire ($I = 16-20$ mm) et résistant ($R \leq 15$ mm).

Nos résultats révèlent que toutes les souches lactiques testées (S2 à S34) présentent une sensibilité (S) uniforme à la céphalosporine (KF), à l'amoxicilline (AX), à l'ampicilline (AMP), ainsi qu'aux inhibiteurs de la protéine de résistance multi-drogue (MRP), témoignant d'une efficacité élevée de ces antibiotiques. Par ailleurs, une sensibilité intermédiaire (I) au chloramphénicol (CLM) a été notée chez les souches S2, S3, S5, S14 et S24, traduisant une réponse partiellement efficace. La souche S26 s'est révélée sensible à cet antibiotique. Concernant le Cefotaxime (CTX), une sensibilité intermédiaire a été observée uniquement chez la souche S34, alors que toutes les autres souches montrent une résistance marquée (R), soulignant une efficacité réduite de cette molécule contre ces isolats. Le résultat de l'antibiogramme est représenté dans la

V. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon :

L'analyse cinétique du pH dans le milieu MRS fermenté par les souches 2, 4, 19, 27 et 34 pendant 48 heures a révélé une acidification progressive. Le pH initial (5,99-6,14) a significativement diminué dès les premières heures, avec une baisse particulièrement marquée pour la souche 27 (pH 4,96 à 6 heures). Après 48 heures, toutes les souches ont atteint des valeurs de pH comprises entre 3,92 et 3,98, démontrant une activité acidifiante soutenue (**Figure 24**). Cette acidification reflète une production active d'acides organiques, caractéristique d'un métabolisme fermentaire efficace.

Parallèlement, la densité optique (DO) présente une évolution typique, avec une augmentation initiale suivie d'une diminution après 34 heures. Les valeurs initiales de DO (0,311-0,566) ont culminé avant de se stabiliser entre 1,85 et 1,93 en fin de fermentation. Ce profil suggère une croissance bactérienne active suivie d'une phase de déclin, probablement liée à l'épuisement des nutriments ou à l'accumulation de métabolites inhibiteurs. Ces données corroborent les observations d'acidification et confirment la viabilité des souches dans les conditions testées.

VI. Suivi de la cinétique d'acidification de souches de *Leuconostoc 34* en cultures pures et mixtes avec la souche *Listeria monocytogenes* en milieu lait écrémé :

Les valeurs de pH et d'acidité titrable ont été effectuées pour les différentes souches sélectionnées (*Leuconostoc 34* et *Leuconostoc 34*+ *Listeria monocytogenes*). Les résultats de la cinétique du pH ont révélé que la souche *Leuconostoc 34* acidifiant moins le milieu laitier lorsqu'elle était cultivée seules (en monoculture) que lorsqu'elle était associée à la souche *L. monocytogenes* (en culture mixte). Plus précisément, *Leuconostoc 34* a respectivement réduit le pH de 6,53 à 4,26 durant les 48h. En revanche, une acidification plus marquée a été observée lors de la culture mixte avec les souches *Leuconostoc 34* et *L. monocytogenes*, avec une diminution significative du pH atteignant 4,01 après 48 heures (**Figure 26**).

Parallèlement, l'analyse de l'acidité titrable (exprimée en degrés Dornic) a mis en évidence des niveaux variés de production d'acide lactique. Toutefois, la culture mixte avec la souche *L. monocytogenes* a généré des quantités plus importantes d'acide lactique, en lien avec une croissance bactérienne plus marquée (**Figure 27**).

Suite à la cinétique de croissance des souches indicatrices en culture pure et mixte avec la souche *Leuconostoc 34*, une diminution significative de la densité listérienne a été observée après l'ajout de *Leuconostoc 34*, comme représentée par la régression dans le temps G. Les réductions détectées en utilisant la souche *Leuconostoc 34* étaient respectivement de 3,52 log pour *L. monocytogenes* (**figure 28**)

VII. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu lait d'avoine :

Le suivi de la cinétique de pH du lait d'avoine fermenté par les souches 2, 4, 19, 27 et 34 sur une période de 48 heures met en évidence une acidification progressive du milieu. Toutes les souches présentent une baisse régulière du pH, traduisant une activité fermentaire effective. Au départ, le pH moyen initial se situait autour de $6,0 \pm 0,1$. Une diminution significative a été observée dès les premières heures de fermentation, notamment pour la souche 27, qui a atteint un pH de 5,03 dès la 6e heure. A la fin de la fermentation (48 h), les valeurs de pH les plus basses ont été enregistrées entre 3.86 et 3.88 pour toutes les souches, indiquant une acidification efficace du milieu. Ces résultats sont illustrés dans la **Figure 29** qui présente l'évolution du pH en fonction du temps pour chacune des souches testées dans le lait d'avoine.

Discussion :

Notre étude porte sur l'évaluation du potentiel probiotique et technologique des bactéries lactiques isolées à partir d'olives fermentées de la région de Mascara.

Les souches isolées présentent les caractéristiques typiques des bactéries lactiques : Gram positif, immobiles, catalase et oxydase négatives. Morphologiquement, il s'agit de coques ovoïdes, parfois allongées (**Jaffar et al., 2022**)

Les observations microscopiques et les tests physiologiques ont confirmé que toutes les souches étaient à Gram positif, catalase négative et thermosensibles. Au microscope, elles apparaissent comme des coccobacilles, souvent observées en paires ou en chaînettes courtes, ce qui corrobore les résultats de **Benhoua (2019)**.

I. Etude des pouvoirs technologiques des bactéries lactiques

1. Activité protéolytique :

L'activité protéolytique observée chez certaines de nos souches se manifeste par la formation d'un halo clair autour des colonies sur gélose PCA supplémentée de 1%, 3 %,5 % de lait écrémé, indiquant leur capacité à hydrolyser la caséine. Ce phénomène reflète la production d'enzymes protéolytiques capables de dégrader les protéines laitières, un critère important dans le potentiel technologique des bactéries lactiques, notamment pour la libération de peptides bioactifs. Les souches *Weissella* (S 2, S 3, S 4, S 5), *Enterococcus* (S 14), ainsi que *Leuconostoc* (S 26, S 27) sont fortement protéolytiques comparativement aux autres souches, ce qui pourrait les rendre intéressantes dans les procédés de fermentation de produits laitiers ou végétaux. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Benyoucef (2018)**.

2. Production d'exopolysaccharides (EPS) :

Les exopolysaccharides (EPS) produits par les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la protection des probiotiques lors du transit gastro-intestinal (**Caggianiello et al., 2016**). Cette propriété confère aux souches productrices d'EPS un avantage potentiel en tant que candidats probiotiques (**Angmo et al., 2016 ; benhoua ,2019**).

Cependant, les souches sélectionnées dans cette étude ne présentent pas de capacité de production d'EPS. Ce résultat contraste avec les observations rapportées par Mokdad (2020) et Benyoucef (2018) qui ont décrit des souches apparentées capables de synthétiser ces composés.

L'absence de production d'EPS chez nos isolats suggère que leur survie probiotique pourrait reposer sur d'autres mécanismes de protection.

3. Etude de l'activité antimicrobienne :

La capacité inhibitrice in vitro des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes démontre leur potentiel probiotique, notamment leur rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (**Zhaouet El Hadj Sadoun, 2024**). Cette propriété antimicrobienne constitue un critère essentiel pour leur utilisation dans les applications alimentaires et thérapeutiques.

Dans le but d'évaluer la capacité de nos souches à produire des substances antimicrobiennes, elles ont été testées pour leurs activités inhibitrices vis-à-vis les souches indicatrices : *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria monocytogenes*, par la méthode directe. L'ampleur relative des inhibitions observées dans la méthode directe a été appréciée par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions, obtenus autour des touches et des puits. Ainsi leur moyennes et écart-types ont été calculé.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Zouari Ben Arfa (2018)** et **Mokdad (2020)**, qui ont également observé que les isolats lactiques présentent une activité inhibitrice contre des bactéries à Gram positif et négatif, avec des variations notables entre souches. Cette cohérence confirme la reproductibilité des propriétés antimicrobiennes des bactéries

lactiques.

3.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli*

Escherichia coli pathogène se différencie des souches commensales par l'acquisition de facteurs de virulence lui permettant de contourner les défenses de l'hôte et de coloniser de nouvelles niches écologiques. Selon leurs déterminants de virulence et leur tropisme, ces souches peuvent provoquer des infections digestives, respiratoires, urinaires, ainsi que des méningites et septicémies ((**Liu et al., 2019**))

Les résultats montrent que les souches lactiques présentent une activité antibactérienne variable contre *Escherichia coli*. Les *Weissella* (S2-S5) inhibent modérément *E. coli* (17,33-23 mm), tandis que les *Enterococcus* révèlent des performances contrastées, avec S19 (40 mm) surpassant même l'antibiotique contrôle (37,5 mm). Les *Leuconostoc* (S24/S26) montrent une bonne activité (21,5-35 mm), alors que S34 présente la plus faible inhibition (11 mm). Ces variations suggèrent des mécanismes d'action distincts selon les genres bactériens. La souche S19 (*Enterococcus*) et S24 (*Leuconostoc*) émergent comme les plus efficaces.

3.2. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Klebsiella*

Klebsiella pneumoniae représente un pathogène épidémique majeur, fréquemment responsable d'infections graves. De nombreuses épidémies nosocomiales liées à cette bactérie ont été documentées, particulièrement dans les unités de soins intensifs pour adultes et pédiatriques (; **Zergoune Khouloud Eldjazair, 2019**).

Les souches lactiques testées montrent une activité inhibitrice variable contre *Klebsiella*, avec des diamètres d'inhibition allant de 11 à 40 mm. La souche S19 (*Enterococcus*) se distingue par son efficacité maximale (40 mm), surpassant même l'antibiotique contrôle (37,5 mm), suivie de S24 (*Leuconostoc*, 35 mm). Les *Weissella* (S2-S5) présentent une activité modérée (17-23 mm), tandis que S34 montre la plus faible inhibition (11 mm). Ces résultats révèlent que certaines souches lactiques, notamment S19 et S24, pourraient constituer des alternatives prometteuses contre les infections à *Klebsiella*, avec des performances dépendant à la fois du genre bactérien et de la souche spécifique.

3.3. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif, commensal du tube digestif mais peu représenté chez l'individu sain. Ce pathogène opportuniste est responsable de nombreuses infections nosocomiales, particulièrement chez les patients immunodéprimés ou fragilisés (**Zergoune Khouloud Eldjazair, 2019**).

Les souches lactiques testées montrent une inhibition modérée de *Pseudomonas* (18,33-31 mm). Les souches S19 et S24 présentent la meilleure activité (31 mm), surpassant même l'antibiotique contrôle (29,5 mm). Les *Weissella* (S2-S5) et *Leuconostoc* (S24-S26) montrent des performances variables (18,33-25,5 mm), tandis que S27 est la moins efficace (18,33 mm).

3.4. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un cocci Gram positif pathogène, catalase et coagulase positive, faisant partie de la flore commensale humaine. Ce pathogène opportuniste provoque des infections cutanées (furuncles), systémiques (septicémies) et des intoxications alimentaires (Amar et Torres, 2019) Les souches lactiques testées montrent une activité inhibitrice variable contre *S. aureus* (14,25-29 mm). Les meilleures performances sont observées avec :

- S24 (29 mm), S19 (25,33 mm), S14 (23,5 mm) sont des résultats exceptionnels

Les souches S3 et S5 présentent l'activité la plus faible (14,25-15,25 mm). Bien qu'aucune souche ne surpasse l'antibiotique contrôle (33,5 mm), certaines (S24, S19, S14) démontrent un potentiel intéressant.

3.5. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Listeria*

Listeria monocytogenes, agent pathogène responsable de la listériose, provoque des infections alimentaires graves pouvant évoluer vers des formes invasives (septicémies, méningites) avec un taux de mortalité atteignant 20-30%. Ce pathogène environnemental, naturellement présent dans le sol et les végétaux en décomposition, contamine fréquemment les produits laitiers crus et les végétaux. Il affecte également le bétail, causant avortements et infections neurologiques. Sa présence dans la chaîne alimentaire en fait un marqueur d'hygiène critique, nécessitant un contrôle rigoureux tout au long des processus de transformation alimentaire.(Buchanan et al., 2017)

Les souches lactiques testées présentent une activité inhibitrice variable contre *L. monocytogenes*

(14,25-25,33 mm), avec des performances notables pour S19 (25,33 mm), S14 (23,5 mm) et S34 (23 mm), surpassant même l'antibiotique contrôle (17,25 mm). L'analyse par genre bactérien révèle que les *Enterococcus* (S19/S14) sont les plus efficaces, tandis que les *Leuconostoc* (S24/S26) montrent une faible activité. Ces variations suggèrent différents mécanismes d'action, incluant probablement la production de bactériocines (comme la nisine) et l'acidification du milieu.

Nos résultats concernant les *Enterococcus* sp. Démontrent une activité inhibitrice plus marquée que celle rapportée par **Zouari et Benarfa (2018)**, qui ont observé des zones d'inhibition plus réduites (11 à 18 mm). Par ailleurs, nos souches présentent des diamètres d'inhibition supérieurs à ceux décrits par **Mokdad (2020)** pour d'autres genres de bactéries lactiques (BL).

Les bactéries lactiques synthétisent des agents bactéricides qui varient dans leur spectre d'activité. Beaucoup de ces agents sont des bactériocines de structures protéiques (**Zacharof et Lovitt, 2012**)

Les bactéries lactiques produisent naturellement divers métabolites antimicrobiens lors de leur croissance, notamment des acides organiques qui acidifient le milieu, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des bactériocines (substances protéiques), leur permettant d'inhiber la prolifération des microorganismes indésirables et de dominer dans **divers écosystèmes (Dortu et Thonart, 2009 ; Titiek et al., 1996 ; Aslam et Qazi, 2010)**. Ces composés expliquent non seulement leurs propriétés compétitives, mais aussi la conservation prolongée des produits fermentés comme le lait, ainsi que leurs bénéfices thérapeutiques (**Hassan et al., 2008 ; Bentoura Sellam Amira, 2018**).

II. Profil probiotique

1. Tolérance à l'acidité :

La résistance à l'acidité constitue une propriété essentielle pour les bactéries probiotiques, cruciale à la fois pour leur survie lors du transit gastro-intestinal et pour leur incorporation dans des compléments alimentaires. Les souches probiotiques doivent notamment tolérer des conditions acides sévères (pH 2,0 à 3,0) pendant au moins 90 minutes pour assurer leur efficacité (**Ben Salah et al., 2012**). Cette caractéristique permet aux souches de maintenir leur viabilité plus longtemps dans les produits alimentaires acides, sans réduction significative de leur

concentration chez l'hôte (**Prasad et al., 1998**). Bien que le pH gastrique puisse s'élever temporairement jusqu'à 6,0 ou plus après l'ingestion d'aliments, il se maintient généralement entre 2,5 et 3,5 en conditions normales (**Huang et Adams, 2004**), soulignant l'importance d'une résistance acide optimale pour garantir la survie et l'activité des probiotiques.

Dans cette étude, toutes les 5 souches testées (S2. S4. S34.S19. S27) ont affiché log N UFC/ml élevés dans des conditions de pH bas. Cependant, une grande variabilité entre les souches a été révélée.

De plus, la souche *Entérocoque sp* (S19) a montré une meilleure tolérance à un pH faible que les autres souches bioactives de *Weissella sp* et *Entérocoque sp* où une viabilité de 94.66 % au pH 2 a été détectée. Genre *Weissella sp* et *Leuconostoc sp* ou un moins de viabilité de 87. 53% et 89%.par contre les résultats de cette étude ont montré non seulement la viabilité mais aussi la prolifération des souches dans les pH 3 et 4.

Les résultats de viabilité obtenus après exposition des souches à des pH acides (2, 3 et 4) sont conformes à ceux rapportés par **Benmechernene et al., (2013)** et **Mokdad (2020)** pour des souches lactiques isolées du lait de chamelle algérien. Cependant, ils contrastent avec les observations **d'Argyri et al., (2013)**, qui n'ont détecté aucune résistance au pH acide chez 16 souches sur 17 testées. Cette divergence pourrait s'expliquer par des différences dans les souches étudiées ou les conditions expérimentales.

La tolérance élevée des souches testées pourrait être attribuée à la structure particulière de leur membrane bicouche lipidique, qui leur confère une résistance accrue aux environnements hostiles (**Ben Salah et al., 2012**). Selon la littérature, une souche capable de survivre à un pH de 3,0 pendant 3 heures est considérée comme hautement résistante aux acides, un critère essentiel pour son potentiel probiotique (**Guo et al., 2010 ; Argyri et al., 2013**).

La résistance aux acides est un facteur clé non seulement pour la survie des bactéries lactiques dans l'estomac, mais aussi pour leur utilisation en culture mixte. Cette propriété leur permet également de persister dans des aliments à forte acidité, élargissant ainsi leurs applications industrielles (**Da Silva et al., 2019**).

Les souches étudiées présentent une robustesse notable face aux conditions gastriques, renforçant leur candidature comme probiotiques prometteurs. Leurs performances, comparables

à celles d'autres souches documentées, soulignent leur potentiel pour des applications en alimentation humaine et en fermentation contrôlée.

2. La tolérance aux sels biliaires :

La tolérance aux sels biliaires représente un critère essentiel dans la sélection des probiotiques. Cette propriété est essentielle car l'intestin grêle et le côlon représentent les premiers sites de colonisation de l'organisme hôte par les souches probiotiques (**Banwo et al., 2021**).

L'exposition de nos souches aux différentes concentrations de sels biliaires (0,5%, 1% et 2,0%) a révélé une diminution modérée de leur viabilité. Toutefois, l'ensemble des dix (10) souches testées a bien résisté à ce stress, confirmant leur capacité d'adaptation. Ces observations rejoignent celles rapportées par **Benyoucef (2018)**, qui a également noté une bonne tolérance aux sels biliaires chez des souches similaires.

Les résultats de cette étude ont montré non seulement la viabilité mais aussi la prolifération car selon **Prasad et al (1998)**, L'un des rôles principaux des acides biliaires est de limiter la prolifération bactérienne dans la partie supérieure du tube digestif humain. Ils agissent en perturbant les membranes biologiques des cellules microbiennes, ce qui entraîne leur inactivation ou leur mort. La concentration moyenne de bile dans l'intestin est estimée à environ 0,3% (p/v). Par ailleurs, la durée moyenne d'exposition des bactéries à la bile lors du transit intestinal est d'environ 4 heures.

Des résultats comparables ont été rapportés par **Benmechernene et al. (2013)**, qui ont mis en évidence la capacité de certaines souches de *Leuconostoc* à survivre en présence de sels biliaires. Cette tolérance suggère une adaptation de ces souches à l'environnement intestinal, ce qui est un critère essentiel pour leur sélection en tant que probiotiques. Par ailleurs, **Cirat et al. (2024)** ont également observé une résistance remarquable chez des souches de *Weissella*, même à une concentration élevée de 2% de sels biliaires, renforçant l'idée que certaines bactéries lactiques disposent de mécanismes efficaces leur permettant de maintenir leur viabilité dans des conditions de stress digestif. Ces observations, en accord avec nos propres résultats, soulignent le potentiel de ces souches pour une application probiotique, en particulier dans le cadre d'un passage gastro-intestinal prolongé.

3. Auto-agrégation et co-agrégation

La capacité d'une souche probiotique à s'auto-agréger constitue un paramètre essentiel favorisant son adhésion aux surfaces des muqueuses, telles que celles de la cavité buccale, du tractus gastro-intestinal et du tractus urogénital, tout en contribuant à la prévention de la colonisation par des micro-organismes pathogènes (**Fang et al, 2024 ; Boris et al., 1998**).

Les résultats ont révélé que toutes les souches testées présentent une capacité d'auto-agrégation supérieure à 40% après 24h, ce qui répond aux critères proposés par Del Re et al. (2000) pour les souches probiotiques. La souche 14 a montré la plus forte auto-agrégation (77,1%), suivie des souches 19 et 4, confirmant leur potentiel d'adhésion. Ces données sont cohérentes avec celles de **Lakra et al., (2020)** et **Selmi et al., (2023)**, qui ont rapporté une amélioration de l'auto agrégation avec le temps.

En co-agrégation, les souches 14, 27 et 4 ont affiché les meilleurs résultats (25% et 24,18%, 22,14% respectivement), indiquant leur aptitude à interagir avec des micro-organismes comme *L.monocytogenes*. Ces résultats sont cohérents avec celles de Cirat et al., (2024)

Ces observations confirment le potentiel probiotique de ces souches surtout la souche 14 et 27, en particulier pour leur rôle dans la colonisation intestinale et la compétition avec les pathogènes.

III. Évaluation d'aspect sécuritaire

1.Activité hémolytique :

Les microorganismes probiotiques, notamment les leuconostocs, doivent présenter un profil de sécurité avéré, ce qui implique notamment l'absence d'activité hémolytique. L'hémolyse représentant un facteur de virulence clé chez les bactéries pathogènes, son évaluation in vitro constitue un test primordial dans l'analyse de sécurité, complété par l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (**Halder et al., 2017**). Dans le cadre de cette étude, les cinq souches bioactives analysées se sont toutes révélées non hémolytiques, confirmant ainsi leur innocuité. Ces résultats

sont en parfaite concordance avec les observations de **Benmechernene et al. (2013)** concernant des souches de *L. mesenteroides* isolées à partir de lait de chamelle algérien.

2. Antibiotogramme :

Les probiotiques, utilisés dans divers produits de consommation, doivent répondre à des critères stricts de sécurité microbiologique. Plusieurs études soulignent la nécessité d'évaluer systématiquement leur innocuité, notamment l'absence de pouvoir pathogène, de production de toxines et de gènes transférables de résistance aux antibiotiques (Zarour et al., 2018). Bien que ces microorganismes soient généralement considérés comme sûrs, leur capacité potentielle à héberger et transférer des gènes de résistance représente une préoccupation majeure en santé publique. En effet, même non pathogènes pour l'homme, ces souches peuvent constituer des réservoirs de résistance, facilitant la dissémination horizontale de ces gènes vers des bactéries pathogènes, soit dans l'organisme humain, soit dans l'environnement. Cette problématique justifie la mise en place de protocoles rigoureux d'évaluation avant leur utilisation commerciale. **(Zarour et al., 2018)**

L'analyse révèle que toutes les souches sont sensibles aux β -lactamines, notamment l'amoxicilline, l'ampicilline et la céphalosporine, ainsi qu'aux inhibiteurs de la protéine de résistance multi-drogue (MRP), témoignant d'un profil de sensibilité favorable à ces classes d'antibiotiques. Une sensibilité intermédiaire au chloramphénicol a été observée chez la majorité des souches (S2, S3, S5, S14 et S24), Le cefotaxime, quant à lui, ne montre qu'une seule souche intermédiaire (S34),. Ces profils de sensibilité homogènes soulignent une certaine sécurité vis-à-vis des antibiotiques critiques, tout en appelant à une vigilance continue face aux mécanismes de résistance naturelle observés. . Nos résultats se rapprochent à ceux de **Mokdad et al., (2020)**.

IV. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu MRS bouillon :

Les résultats obtenus montrent que les souches 2, 4, 19, 27 et 34 provoquent une acidification progressive et significative du milieu MRS au cours des 48 heures de fermentation. Cette

diminution marquée du pH, accompagnée d'une augmentation concomitante de la densité optique, témoigne d'une activité métabolique intense. L'évolution observée suggère une production continue d'acide lactique, métabolite clé participant à la fois au processus fermentaire et à la stabilisation microbiologique du milieu. Ces résultats similaires ont été rapportés par **Allouche et al., 2010**.

Ces données confirment la capacité des souches testées à acidifier efficacement leur environnement. La corrélation entre la croissance bactérienne (mesurée par DO) et la baisse du pH renforce l'hypothèse d'une production active d'acides organiques tout au long de la phase de fermentation. Ces caractéristiques sont particulièrement intéressantes pour des applications en biotechnologie alimentaire où le contrôle de l'acidification est crucial.

V. Suivi de la cinétique d'acidification de souches de *Leuconostoc* 34 en cultures pures et mixtes avec la souche *Listeria monocytogenes* en milieu lait écrémé :

Les résultats obtenus indiquent que l'évolution du pH dépend fortement du mode de culture, qu'il s'agisse d'une monoculture (S 34) ou d'une culture mixte (S34 avec *L. monocytogenes*).

En monoculture, la souche 34 a provoqué une acidification modérée du milieu laitier. En revanche, en culture mixte, une baisse du pH nettement plus importante a été enregistrée après 48 heures d'incubation.

Cette observation est confirmée par les résultats relatifs à l'acidité titrable, exprimée en degrés Dornic, qui montrent une production accrue d'acide lactique dans les cultures mixtes par rapport aux monocultures.

Ces observations sont en accord avec les résultats rapportés par **MOKDAD, 2020**, qui a également constaté une acidification plus marquée et une augmentation de l'acidité titrable dans la culture mixte.

La cinétique de croissance des souches bioactives de *Leuconostoc* étudiées a révélé une inhibition significative de *Listeria monocytogenes* après 9 heures d'incubation, en accord avec les travaux de **Bellil et al. (2014)** et Benmechernene et al. (2013). Cette réduction marquée du pathogène suggère une production de bactériocines lors de la phase exponentielle tardive de croissance, renforçant ainsi le potentiel antimicrobien de ces souches.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Kaya et Simsek (2019)**, qui ont observé une diminution d'au moins 1 log des populations de *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* dans le lait en présence de bactériocines (100 AU/ml) produites par des souches de *Lactobacillus plantarum* PFC339, *Enterococcus faecalis*. Le mécanisme d'action impliquerait une perturbation de la perméabilité membranaire ou la formation de pores dans la paroi cellulaire des bactéries cibles. Ces données confirment l'efficacité des bactériocines comme agents de biocontrôle contre les pathogènes alimentaires.

VI. Suivi de la cinétique d'acidification des souches 2, 4, 19, 27, 34 en milieu lait d'avoine :

Les résultats de la cinétique du pH révèlent que les souches 2, 4, 19, 27 et 34 induisent une acidification plus marquée du lait d'avoine au cours des 48 heures de fermentation. Cette baisse significative du PH suggère une production active et progressive d'acide lactique, un facteur clé dans la fermentation et la stabilisation microbiologique du produit.

Conclusion

Les bactéries lactiques ont un intérêt primordial dans l'alimentation, il y'a au moins quatre Mille ans que l'homme se sert de ces bactéries. Elles ont un intérêt industriel tout particulier, Où elles sont utilisées pour améliorer les caractères organoleptiques de différents Produits alimentaires (le gout, la saveur, la texture, l'arôme de produits par exemple le lait Fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnées...etc.), ainsi qu'elles jouent Un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme.

Étude s'est focalisée aux bactéries lactiques à potentiel probiotique extrait d'olives fermentées de la région de Mascara. Le but de cette étude était de mettre en place une collection de souches de bactéries lactiques ayant un potentiel probiotique et évaluation in vitro de leurs aptitudes technologiques à savoir : Le suivi de l'activité protéolytique, la croissance sur lait escrimé et production d'EPS.

A l'issue de ce qui a été réalisé, Dix (10) souches provenant d'un travail antérieur de notre promotrice, les souches ont été isolées, purifiées et identifiées par des tests physico-chimiques, Les résultats de l'identification phénotypique des genres ont révélé que les dix souches sélectionnées appartiennent à *Leuconostoc sp*, *Enterococcus sp*, *Weissella sp*.

Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que les dix souches possédaient la capacité d'inhiber les agents pathogènes plus précisément (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogène*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella*) donc une activité antimicrobienne très élevée vis-à-vis toutes les souches pathogènes considérés (avec un spectre d'inhibition plus prononcé contre *Klebsiella* et *E. coli*.)

L'étude de profil probiotique suggère que nos souches pourraient être exploitées comme probiotique en raison de leur viabilité et leur tolérance à diverses barrières biologiques telle que les acides (pH 2 et 3) et les sels biliaries, ces derniers ont confirmé leur capacité à survivre dans des conditions extrêmes du tubes digestif.

L'analyse des profils de sensibilité aux antibiotiques des souches lactiques testées a révélé une sensibilité complète à la céfalotine (KF), (MRP), l'amoxicilline (AX) et l'ampicilline (AMP), indiquant une efficacité marquée de ces β -lactamines contre l'ensemble des isolats. Par ailleurs, certaines souches ont également montré une sensibilité intermédiaire au chloramphénicol (CLM), suggérant une efficacité partielle de cet antibiotique. Ces résultats traduisent une susceptibilité homogène à plusieurs agents antibactériens parmi les différents isolats étudiés.

Toutes les souches présentent un pouvoir protéolytique très important surtout chez les souches *Weissella* (S 2, S 3, S 4, S 5) et *Enterococcus* (S 14), hydrolyse des lipides avec un grand pouvoir chez la souche *Leuconostoc* (S 26, S 27)

Enfin, en perspective d'avenir, nous espérons vivement d'approfondir les données concernant les dix souches par :

1. L'analyse de leurs propriétés technologiques (lipolyse, potentiel aromatique, etc...)
2. La caractérisation de leur hydrophobicité,
3. La résistance à la pepsine
4. Une évaluation probiotique *in vivo* pour confirmer leurs effets bénéfiques.

Ces travaux pourraient déboucher sur des applications prometteuses en industrie pharmaceutique, notamment pour le développement d'agents antibactériens naturels ou de conservateurs alimentaires à base de bactéries lactiques.

- Ces souches présentant des caractéristiques prometteuses nécessitent une caractérisation plus approfondie afin d'évaluer précisément leur adéquation aux critères de sélection des ferments lactiques. Une telle étude permettra de valider leur aptitude à être utilisées comme cultures starters dans l'industrie des aliments fermentés, tout en garantissant leur efficacité technologique et leur innocuité pour des applications industrielles concrètes.

Référence Bibliographique

A

- a.e. sika-kadji, t.b. kéhi, f.k. n'guessan and r.a. koffi-nevry, 2022. probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from broiler chickens in côte d'ivoire. *international journal of poultry science*, 21: 119-128. doi : [10.3923/ijps.2022.119.128](https://doi.org/10.3923/ijps.2022.119.128)
- ahmad f. m. a., irene k.p.tan., 2007. isolation of lactic acid bacteria from malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *bioresource technologie.*, 98 :1380-1385
- anacarso i., messi p., condò c., iseppi r., bondi m., sabia c., and de niederhäusern s., a bacteriocin-like substance produced from *lactobacillus pentosus* 39 is a natural antagonist for the control of *aeromonas hydrophila* and *listeria monocytogenes* in fresh salmon fillets, *lwt-food science and technology*. (2014) **55**, no. 2, 604–611, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.012>, 2-s2.0-84888129071.
- ayivi, r. d. ; gyawali, r. ; krastanov, a. ; aljaloud, s. o. ; worku, m. ; tahergorabi, r etibrahim, s. a. (2020). lactic acid bacteria : food safety and human health applications. *dairy*, 1(3) : 202-232.
- aymerich t., rodríguez m., garriga m., and bover-cid s., assessment of the bioprotective potential of lactic acid bacteria against *listeria monocytogenes* on vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 8 °c, *food microbiology*. (2019) **83**, 64–70, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.04.011>, 2-s2.0-85064980468, [31202420](https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.04.011).

b

- badis a., laouabdia-sellami, n., guetarni, d., kihal, m et ouzrout, r. (2005). caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle ». *sciences and technology*, 23, 30-37.
- banwo, k., alonge, z., & sanni, a. i. (2021). binding capacities and antioxidant activities of *lactobacillus plantarum* and *pichia kudriavzevii* against cadmium and lead toxicities. *119*, pp. 779-791.
- batouche a, sélection et caractérisation technologique de certaines bactéries lactiques isolées à partir des produits de pêches, (en ligne), mémoire de doctorat : qualité des produits et sécurité alimentaire, université mustapha stambouli de mascara 2024
- béal c., marin, m., fontaine, e., fonseca, f et obert, j.p. (2008). production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. in : bactéries lactiques, de la

généétique aux ferments (corrieu g. et luquet f.m.). technique & documentation, lavoisier. paris. 661-765.

- bekakria r ; bouazdi h ; himour h ; mekhalfia a, qualité du lait : point sur le paramètre lipolyse (en ligne) mémoire de master : qualité des produits et sécurité alimentaire. université 8 mai 1945 guelma ,2022
- belhamra z. (2017). croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. thèse de doctorat science de la nature et de la vie. sétif : université ferhat abbas –sétif.
- **belyagoubi I., 2014.** antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. thèse de doctorat en biologie. université aboubakr belkaïd-tlemcen. 170p.
- belyagoubi, I. (2014). antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens, thèse de doctorat. université aboubakr belkaïd tlemcen, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, 209p.
- bendimerad, n. (2013). caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de lait crus recueillis dans les régions de l'ouest algérie, essai de fabrication de fromage frais type « jben. ». thèse de doctorat
- **benhouna i.** recherche et exploitation des exopolysaccharides produits par les bacteries lactiques et leur application [en ligne]. mémoire de doctorat : microbiologie appliquée. oran : université ahmed ben bella, 2019.
- benkhouch, f. (2006). bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. isolement et identification biochimique. 2. evaluation et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonas. thèse de doctorat en microbiologie et enzymologie. université de mentouri constantine.p21
- benmechernene, z., chentouf, h. f., yahia, b., fatima, g., quintela-baluja, m., calo-mata, p., barros velázquez, j. (2013). technological aptitude and applications of *leuconostoc mesenteroides* bioactive strains isolated from algerian raw camel milk. biomed research international.<http://dx.doi.org/10.1155/2013/418132>
- benreguieg, m. (2015). propriétés antibactériennes et probiotiques de bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache, de chèvre et de berbis dans la région de l'ouest algérien. thèse de doctorat : microbiologie. mostaganem : université abdelhamid ibn badis de mostaganem, 181 p. disponible sur mosta.dz/bitstream/handle/123456789/1110/cd5.pdf.
- benyoucef a. etude des propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques produisant des substances antibactériennes. mémoire de doctorat : microbiologie appliquée. oran : université ahmed ben bella, 2018.
- berradia a. (2016). isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait cru de chèvre. mémoire de master en biologie. université abdelhamid ibn badis mostaganem faculté des sciences de la nature et de la vie. p 11, 16.

- bessila, r ; messaoudi, l (2020), propriétés probiotiques des bactéries lactiques, [en ligne]. mémoire de master : microbiologie appliquée, tébessa : université de larbi tébessa
- bjorkroth, j., & holzapfel, w. h. (2006). *genera leuconostoc, oenococcus and weissella*. in m. dworkin, s. falkow, e. rosenberg, k. h. schleifer, & e. stackebrandt (eds), *the prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria* (3rd ed., vol. 4, pp. 267-319). new york, ny : springer.
- bjorkroth, j., dicks, l. & endo, a. 2014. *the genus weissella*. lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy, eds wh holzapfel and bjb. wood (chichester : wiley blackwell), 418-428.
- bouchibane, m. (2023). *identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux : aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté*. thèse de doctorat : nutrition et sciences des aliments. mostaganem : université abdelhamid ibn badis, nombre de pages non précisé.
- bouguerra a., 2021. évaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle, thèse de doctorat. université ferhat abbas, sétif 1 faculté des sciences de la nature et de la vie, 141p.
- bouguerra, a. (2021). évaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. thèse de doctorat, 25. université ferhat abbas, sétif 1 faculté des sciences de la nature et de la vie, sétif. b-sciences agronomiques et biologiques 8 :39-47.
- boumediene, m.w. (2023). *caractérisation de bactéries lactiques isolées à partir du lait de dromadaire*. mémoire de master : microbiologie appliquée. ain témouchent : université belhadj bouchaib, nombre de pages non précisé.
- bounedjar, i ; benaouda, m, pouvoir inhibiteur et résistance au stress chez les bactéries lactiques (enligne), mémoire de master : microbiologie appliquée. université djilali bounaama khemis miliana
- bourgeois, c. m., mesle, j., zucca, j. et larpent, j. f., 1996 : microbiologie alimentaire (tome 1) lavoisier. 29-245.

c

- canon, f. (2021). *favoriser les interactions positives entre bactéries lactiques : vers de nouvelles applications alimentaires*. thèse de doctorat : sciences de l'aliment. rennes : l'institut agro, 161 p.
- chekhchoukh m, souici n, et zitouni a. (2016). intérêt technologique des bactéries lactiques du lait de chamelle. diplôme de magister science de la nature et de la vie. université m'hamed bougara de boumerdès. p 8, 9.
- chemlal-kheraz, d. (2013). isolement et identification phénotypique des bactéries lactiques isolées du tilapia du nil (*oreochromis niloticus*) et mise en évidence de

leur potentiel probiotique, thèse de doctorat. université d'oran faculté des science département de biologie, 217p.

- chemlal-kherraz, d. (2012-2013). *isolement et identification phénotypique des bactéries lactiques isolées du tilapia du nil (oreochromis niloticus) et mise en évidence de leur potentiel probiotique* [thèse de doctorat, université d'oran]. laboratoire réseau de surveillance environnementale, département de biologie, faculté des sciences
- cirat, r., benmecherneure, z., cunedieğlu, h., rutigliano, m., sciarro, a., abderrahmani, k., mehrouk, k., capozzi, v., spano, g., la galla, b., rocchelli, m.t., ficco, d. and fragasso, m. (2024). *application croisée des bactéries lactiques laitières algériennes pour la conception de produits à base de plantes : caractérisation de weissella cibaria et lactiplantibacillus plantarum pour la formulation d'une boisson à base de quinoa*.microorganismos, 12, 2902. <https://doi.org/10.3390/microorganismos12100942>
- collins, m., samelis, j., metaxopoulos, j., wallbanks, s, 1993. taxonomy studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *weissella* for the leuconostoc paramesenteroides group of species. journal of applied bacteriology, 75,595-603.

d

- **dib, b. ; semaan, e. ; mrad, r., ayoub, j. ; choueiry, l. ; moussa, b. et bitar, g. (2012).** identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. *lebanese science journal*, 13(1) : 43-48

f

- fang, f.; xu, j.; li, q.; xia, x.; du, g. characterization of a lactobacillus brevis strain with potential oral probiotic properties. bmc microbiol. 2018, 18, 221. [google scholar] [crossref] [pubmed]
- fleming h.r., etchell g.l., costilow r.n. (1975). microbial inhibition by isolate of pediococcus from cucumber brine. appl and microbiology, 30 :104-102.
- **fleming, h. p., etchells, j. l., et costilow, r.n. (1975).** microbiol inhibition by an isolate of pediococcusfrombrines.appliedmicrobiology.vol.30, n°.6. p.10401042.
- franciosi, e., settanni, l., cavazza, a., & poznanski, e. (2009). biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. international dairy journal, 19(1), 3–11.

g

- gänzle, m. g., & ripari, v. (2016). "composition and function of sourdough microbiota: from ecological theory to bread quality". international journal of food microbiology, 239, 19-25.
- gharbi y., fhoula i., ruas-madiedo p., afef n., boudabous a., gueimonde m ouzari h.i. (2019). *in-vitro* characterization of potentially probiotic *lactobacillus* strains isolated from human microbiota: interaction with pathogenic bacteria and the

enteric cell line ht29. *annals of microbiology* 69:61–72.
<https://doi.org/10.1007/s13213-018-1396-1>.

- gotsis, e., anagnostis, p., mariolis, a., vlachou, a., katsiki, n., & karagiannis, a. (2015) health benefits of the mediterranean diet an update of research over the last 5 years. *angiology*, 66(4), 304-318.
- guiraud j (2003) : microbiologie alimentaire. techniques d'analyses microbiologiques. ed. dunod, paris, 651p.
- gusils c., chia a.p., oliver g. et gonzalez s.,2010. microtechnique for identification of lactic acid bacteria. *methods on molecular biology*, vol 268: public health microbiology: methods and protocols. humana press. totowa.453-458

h

- hadef, s. (2012). evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales, thèse de magister. université kasdi merbah-ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers département des sciences de la nature et de la vie, 135p.
- **hansal n., (2015).** isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *leuconostoc mesenteroides* isolé à partir du lait cru de chèvre. thèse de magistère en biologie, option : microbiologie fondamentale et appliquée. université d'oran1. p109
- hassaine o., 2013. caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. thèse de doctorat. université d'oran esenia, 180p.
- hassaine, o. (2013). caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien, thèse de doctorat. université d'oran esenia, 180p
- heyman m., heuvelin e. (2006). micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. *nutrition clinique et métabolisme*, 20 : p 85–9.

i

- idoui t.,2008. les bactéries lactiques indigènes : isolement, identification et propriétés technologiques. effets probiotiques chez le poulet de chair isa15, le lapin de souche locale et le rat wistar. thèse de doctorat d'état. université d'oran. algérie.179.

j

- jaffar, n.s. ; jawan, r et chong, k.p. (2022). the potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production - a mini review. *front. plant sci*, pp1-13.
- junjian, r., yuhan, t., yue, z., lingxia, j., chao, z., yongchao, l. & ruixiang, z. (2024). fermentation mixte de bactéries lactiques et de levain sur les caractéristiques de qualité et de conservation du pain cuit à la vapeur. *food chemistry* : x, *24*, 102035. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.102035>

k

- k & smaoun o. (2017). caractérisation de souches locales de bactéries lactiques isolées à partir de quelques produits laitiers artisanaux et mise au point d'un produit type raib, mémoire de master. université a. mira - bejaia, département de microbiologie, 63p.
- kihal, m., prevost, h., henni, d. e., benmechernene, z., & divies, c. (2007). carbon dioxide production by *leuconostoc mesenteroides* grown in single and mixed culture with *lactococcus lactis* in skimmed milk. *world j dairy food sci*, 2, 62–68.
- kihal, m., prevost, h., lhotte, m. e., huang, d. q. et divies, c., 1996 : instability of plasmid encoded citrate permease in *leuconostoc*. *j. appl. microbiology*. 22, 219-223.

l

- lakra, a.k.; domdi, l.; hanjon, g.; tilwani, y.m.; arul, v. some probiotic potential of *weissella confusa* md1 and *weissella cibaria* md2 isolated from fermented batter. *lwt* **2020**, 125, 109261.
- larpent g. m., michaux o., lrpent j.p, desmasures n., desmazeaud m., mangin i., masson f., montel m.c. et tailliez p.,1997. les ferments lactiques et bactéries apparentées in microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. larpent j-p. tec & doc. lavoisier. pp :199-252.
- lenoir j. hermier j.et weber.e; 1992 : les groupes microbiens, ed. flammarion médecine en science, p224
- liasi, s.a., azmi, t.i., hassan, m.d., shuhaimi, m., rosfarizan, m & ariff, a.b. (2009). antimicrobial activity and anti-biotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product. *malaysian journal of microbiology*, 5, 33-37.

m

- mahi m. (2010). etude technologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de brebis. diplôme de magister science de la nature et de la vie. oran : université d'oran ahmed ben bela, p 38, 40, 41, 42.
- mami a. (2013). recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires an algérie. thèse de doctorat science de la nature et de la vie. oran : université d'oran, p 17.
- mami, a., 2007 : le biocontrôle de *staphylococcus aureus* par les bactéries lactiques du genre *lactobacillus* isolées du lait cru de chèvre. thèse pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie appliquée. université d'oran. 1-156.
- mangia, nicole p ; cottu, michele ; mura, maria e ; murgia, marco a ; blaiotta, giuseppe. (2021). technological parameters, anti-*listeria* activity, biogenic amines formation and degradation ability of *l. plantarum* strains isolated from sheep-fermented sausage
- marcelli, v., osimani, a. & aquilanti, l. (2024). progrès de la recherche sur l'utilisation des bactéries lactiques comme bioconservateurs naturels contre

pseudomonas spp. dans la viande et les produits carnés : une revue. *recherche internationale sur l'alimentation*, *196*, 115129.

- martín, r., langa, s., reviriego, c., jiménez, e., marín, m. l., xaus, j., & fernández, l. (2003). "human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut". *journal of pediatrics*, 143(6), 754-758.
- masalam ms, bahieldin a, alharbi mg, al-masaudi s, al-jaouni sk, harakeh sm, et al. (2018). isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in saudi raw and fermented milk. *evid based complement alternat med*. 2018 :7970463. doi : 10.1155/2018/7970463
- mauries, c., ranisavljevic, n., gallet, r., fournier, a., gala, a., ferrières-hoa, a., brouillet, s. and hamamah, s. (2021). *évaluation du microbiote génital : une approche émergente en assistance médicale à la procréation*. *gynécologie obstétrique fertilité & sénologie*, 49(3), 185-192. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2020.07.005>
- mäyrä-mäkinen, a & bigret, m. (2004). industrial use and production of lactic acid bacteria. in: *lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (salminen s., wright a.v. et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, inc. new york. 73-102
- melini, f, melini, v, luziatelli, f, ficca, ag, and ruzzi, m. health-promoting components in fermented foods: an up-to-date systematic review. *nutrients*. (2019) 11 :1189. doi : 10.3390/nu11051189
- mermouri, l. (2018). étude de l'effet de souches probiotiques de bactéries lactiques (*lactobacillus* spp.), isolées e produits fermentés, sur la valeur nutritive de fourrages conservés par ensilage, thèse de doctorat. université des sciences et de la technologie d'oran mohamed-boudiaf, 177p.
- mermouri, l. (2018). étude de l'effet de souches probiotiques de bactéries lactiques (*lactobacillus* spp.), isolées de produits fermentés, sur la valeur nutritive de fourrages conservés par ensilage. *thèse de doctorat*, 21. universite des sciences et de la technologie mohammed boudiaf d'oran.
- microbiologie alimentaire. tlemcen : université aboubeker belkaid de tlemcen algérie, 255 p. disponible sur <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2036/1/doctorat-bendimerad-nahida.pdf>.
- mokdad f. influence des leuconostocs produisant des bactériocines sur les caractéristiques industrielles des produits laitiers [en ligne]. mémoire de doctorat : microbiologie appliquée. oran : université ahmed ben bella, 2020.
- Montagano F, Dell'Orco F, Prete R, Corsetti A. Health benefits of fermented olives, olive pomace and their polyphenols: a focus on the role of lactic acid bacteria. *Front Nutr*. 2024 Sep 18;11:1467724. doi: 10.3389/fnut.2024.1467724. PMID: 39360269; PMCID: PMC11444980.
- negadi, n.-e, & mekelleche, a. (2017). isolement et identification de certaines souche de bactéries lactiques de lorge de la région de hadjadj (wilaya de

mostaganème), mémoire de master. université abdelhamid ibn badis mostaganem faculté de science de la nature et de vie, 74p.

O

- ogunbanwo st., sanni a.l. et omilude a.a. (2003). characterization of lactobacilli in cheese. *journal of dairy research*, p 25, 431-438.

P

- papadimitriou, k., alegría, á., bron, p. a., de angelis, m., gobbetti, m., kleerebezem, m., lemos, j. a., linaires, d. m., ross, p., stanton, c., turroni, f., van sinderen, d., varmanen, p., ventura, m., zúñiga, m., tsakalidou, e., and kok, j. (2016). stress physiology of lactic acid bacteria. *microbiology and molecular biology reviews*, 80(3), 837-890.
- papamanoli, e., tzanetakis, n., litopoulou-tzanetaki, e., kotzekidou, p. (2003). characterization of lactic acid bacteria isolated from a greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *meatsci.* 65 : 859–867.
- penven, m., zouari, a., nogues, s., collet, a., lecourt, m., birer, a., guérin, f., auger, g. and cattoir, v. (2023). *prédiction en ligne de la résistance aux antimicrobiens dans les isolats cliniques d'entérocoques par séquençage du génome entier.* *european journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 42(1), 67-76. <https://doi.org/10.1007/s10096-022-04527-z>
- perpetuini, g., prete, r., garcia-gonzalez, n., khairul alam, m., and corsetti, a. table olives more than a fermented food. *food secur.* (2020) 9 :178. doi : 10.3390/foods9020178

R

- rahal, k ; ben mabrouk, c (2023), l'effet probiotique des bactéries lactiques d'origines animales [en ligne]. mémoire de master : microbiologie appliquée. biskra : université mohamed khider
- rakhis, s., & ladjal, h. (2016). etude de quelques propriétés probiotiques des quelques souches lactobacillus isolées de lait chamelle et de chèvre, memoire de master. université abd el hamid ibn badis mostaganem, faculté de science de la nature et de vie, 74p.
- raynaud s., 2006. régulation métabolique et transcriptionnelle de l. autoacidification chez lactococcus lactis. thèse de doctorat, spécialité : sciences ecologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieriestoulous, 309p
- ruas-madiedo, p., hugenholtz, j. & zoon, p. 2002. an overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *international dairy journal*, 12, 163-171.

S

- sabrina a, effets probiotiques de bactéries lactiques isolées de diverses sources naturelles (en ligne), mémoire de doctorat : écosystèmes microbiens complexes, oran : université ahmed ben bella, 2020

- saidi, n., guessas, b., bensalah, f., badis, a., hadadji, m., henni, d., prevost, h. & kihai, m. 2002. caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre des régions arides. *algerian journal of arides areas*, 1, 1-11.
- seifu, e., abraham, a., kurtu, m. y., & yilma, z. (2012). isolation and characterization of lactic acid bacteria from intuit: ethiopian traditional fermented camel milk. 82–98.
- selmi, h.; rocchetti, m.t.; capozzi, v.; semedo-lemsaddek, t.; fiocco, d.; spano, g.; abidi, f. *lactiplantibacillus plantarum* from unexplored tunisian ecological niches: antimicrobial potential, probiotic and food applications. *microorganisms* **2023**, *11*, 2679. [\[google scholar\]](#) [\[crossref\]](#) [\[pubmed\]](#)
- shah, am, tarfeen, n, mohamed, h, and song, y. fermented foods: their health-promoting components and potential effects on gut microbiota. *fermentation*. (2023) 9 :118. doi : 10.3390/fermentation9020118

- shima, m., matsuo, t., yamashita, m. et adachi, s., 2009: protection of lactobacillus acidophilus from bile salts in a model intestinal juice by incorporation into the inner-water phase of a w/o/w emulsion. food hydrocolloids. 23, 281-285.
- singh, b., parsaik, a. k., mielke, m. m., erwin, pj, knopman, d. s., petersen, r. c., & roberts, r. o. (2014). association of mediterranean diet with mild cognitive impairment and alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. j. alzheimer's disease, 39(2), 271-282.
- singhal, r, kamalesh k, deepak m, lokesh g, narayan l, et sunil m. 2023. « bacteriocin producing lactic acid bacteria from camel milk and its fermented products: a review ». annals of phytomedicine 12 (2): 208-15.
- slamnia i. et saddok a. (2018). aptitudes technologiques des souches lactiques locales. mémoire de master en science alimentaire. université abdelhamid ibn badis-mostaganem faculté des sciences de la nature et de la vie. p 4, 8, 11, 19.
- **szutowka, j. (2020).** functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review. eur. food res. technol. 246, 357–372.

t

- tadjer, n ; seba, k ; etude de l'activité protéolytique des bactéries lactiques conservées dans le laboratoire de microbiologie de l'université ibn khaldoun - tiaret (en ligne) mémoire de master : microbiologie appliquée. tiaret : université ibn khaldoun
- tapiba v., nasr n., and higazy a. m., isolation, identification and application of bacteriocin-like inhibitory substances producing bacterial strains, *interntionl journal current microbiolgy applied sciences*. (2015) 4, no. 8, 333–342.
- turpin w. (2011). vers une évaluation des potentialités probiotique et nutritionnelle des bactéries lactiques constitutives du microbiote d'un aliment fermenté traditionnel à base de mil par une approche moléculaire : biotechnologie, microbiologie. thèse de doctorat, université de montpellier 2, france.

v

- vandenbergh, d., smits, a., pot, b., ledeboer, a., kersters, k., verbakel, j., verrips, c. (1993). isolation, screening and identification of lactic-acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. food biotechnol. 7 : 189–205.

z

- zannini, e., waters, d. m., coffey, a. & arendt, e. k. 2016. production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. applied microbiology and biotechnology, 100, 1121-1135.
- zarour k., benmechernene z., hadadji m., moussa-boudjemaa b., henni j e. and kihal m., 2013. caractérisation microbiologique et technologique des espèces de leuconostoc mesenteroïdes du lait cru de chèvre et de chamelle d'algerie. revue « nature and technologie »
- zergoug, a. (2017). effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires. thèse de doctorat en microbiologie appliquée. université abdelhamid benbadis– mostaganem. p 5.
- zhang h, et cai y., 2014.lactic acid bacteria fundamentals and practice. springer dordrecht heidelberg. new york london. 536p.

- zhang, j., yao, y.j., li, j., ju, x. & wang, v. (2023). impact des bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharides sur les propriétés chimiques et rhéologiques du levain de sarrasin et la qualité du pain de sarrasin. *food chemistry*, *425*, 136369. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136369>
- zhaouet el z, etude l'interaction négative et positive chez lactobacilles isolées du lait de chamelle (en ligne), memoire de master ; biotechnologies microbienne oran : université ahmed ben bella, 2024
- zhen, s., yaqi, w ; jiangtao, w ; jinju, w ; mengxin., l ; xianjia, b ; meluleki, h et weitaog. (2021). metabolism characteristics of lactic acid bacteria and expanding application in food industry
- zheng, j., wittouck, s., salvetti, e., franz, c. m., harris, h. m., mattarelli, p., & walter, j. (2020). "a taxonomic note on the genus lactobacillus: description of 23 novel genera, emended description of the genus lactobacillus Beijerinck 1901, and union of lactobacillaceae and leuconostocaceae". *international journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858.

Les annexes

Annexe 01 : La composition des solutions utilisées.

Tableau 01 : Composition de la solution NAOH 1N.

Composants	Quantité
Eau distillée	100ml
NAOH	40g

Tableau 02 : composition de la solution HCL 1N.

Composants	Quantité
Eau distillée	100ml
HCL	4ml

Tableau0 3: Composition d'eau physiologique 9/ml

Composants	Quantité
Eau distillée	1000ml
Peptone	1g
NaCl	9,6

Annexe 02 : La composition des milieu utilisées.

Tableau 04: Composition du bouillon nutritive



Composants	Quantité
Extrait de viande	5g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1000ml
pH final	7.2
Autoclavage 121°C pendant 20 min	

Tableau 05: Composition du Géllose nutritive

Ingrédients	Masse
Peptone	10 g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar	5g
L'eau distillée	1l

PH=7, autoclavage 20 min à 120°C.

Tableau 06 : Composition du bouillon MRS.

Composants	Quantité
Acétate de sodium	5g
Eau distillée	1000ml
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Glucose	20g
Phosphate bi potassique	2g
Peptone	10g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Tween20	1ml
pH final	6.5+/-0.1
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

Tableau 07 : Composition du Gélose MRS 62 g / 1l

Ingrédients	Masse
Peptone	10 g
Extrait de viande	10g
Extrait de Levure	5g
Glucose	20
Phosphate dipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Tween 80 (polysorbate 80)	1g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.1g
Agar	15g
L'eau distillé	1l

PH = 6,8, autoclavage à 120°C

Tableau 08: Composition du milieu Mueller Hinton.

Composants	Quantité
Agar	10
Amidon	1.5
Extrait de viande	2g
Hydrolysant acide de caséine	17.5
pH final	7.4

Tableau 09 : Composition du milieu hypersaccharosé (MSE)

Ingrédients	M as se
Extrait de viande	10 g
Extrait de Levure	5g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	3g
Peptone	2, 5g
Saccharose	15 0g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl	1g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0. 2g
Agar	15 g
L'eau distillé	1l

pH= 6,8 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Tableau 10 : Composition du Milieu PCA :

Ingrédients	Masse
Peptone de caséine	5g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	1g
Agar	15g

PH = 7, Stérilisation par autoclavage à 121°C pendant 15 min

Tableau 10 : Composition du solution PBS :

Composant	Quantité pour 1L(g)
NaCl (chlorure de sodium)	8.0 g
KCl (chlorure de potassium)	0.2 g
Na ₂ HPO ₄ (phosphate disodique)	1.44 g
KH ₂ PO ₄ (phosphate monopotassique)	0.24 g

Annexe 3 : Matériels utilisés dans cette étude

Milieux de culture

- Milieu MRS (bouillon + gélose).
- Gélose nutritive.
- Bouillon nutritif.
- Milieu PCA.
- Milieu MSE.

Appareillage :

- Etuve bactériologique (WISVEN).
- Bain marie
- Réfrigérateur (Condor).
- Autoclave (WISCLAVE).
- Vortex (VELP).
- Balance de précision
- Balance électrique (KEREN).
- Microscope optique (ZEISS).
- Agitateur muni d'une plaque chauffante (VWR).

Produits chimiques :

- Eau distillée.
- Eau physiologique.
- Huile d'immersion.
- Huile de paraffine.
- H₂O₂.
- Produit de coloration de Gram :
 - Violet de gentiane.
 - Lugol's iodine.
 - Alcool 95°.
 - Fuchsine

Autres matériels :

- Bec-benzène.
- Boîtes de Pétri.
- Tubes à essai.
- Lames et lamelles

Annexes 04 : Photos des milieux et appareils utilisés dans cette étude



Etuve



Agitateur



Bec Bunsen



Microscope



Plaque chauffante



Autoclave



Balance



pH mètre



Milieu GN



Milieu BN



Milieu Oxford



Gélose MRS



Eaux physiologique



Tubes à essais

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie

Thème :

Evaluation du potentiel probiotique et technologique
des bactéries lactiques isolées à partir d'olives
fermentées de la région de Mascara

Présenté par :

Soutenu le : 08/07/2025

. M^{lle} MOHAMED HACENE Hala

. M^{lle} BENCHELABI Nihad Nour El Houda

Devant le jury :

- | | | |
|---------------------|------------|--------------|
| • Mme. AIT SAADI N. | MCA /USDBI | Présidente |
| • Mme. KADRI F. | MCA /USDBI | Examinatrice |
| • Mme. BENHOUNA L. | MCB/USDBI | Promotrice |

PROMOTION :2024/2025

Visa de correction
le 14/07/2025

