



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Tidjani Chahrazed

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

Thème

**Etude du pouvoir technologique de quelques
isolats de *Lactobacillus* spp. d'origine
alimentaire**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Mr. Saidi Radwane	MCA	Président
Mr. Becheur Mourad	MAA	Examineur
Mr. Houicher Abderrahmane	MCA	Rapporteur

Promotion : Juin – 2019

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة عمار ثليجي- الاغواط

كلية: العلوم

قسم العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: التجاني شهرزاد

ميدان: علوم الطبيعية و الحياة

شعبة: علوم غذائية

تخصص: صناعات غذائية و مراقبة النوعية

موضوع البحث

دراسة القوة التكنولوجية لبعض عزلات *Lactobacillus spp.* من مصدر غذائي

أعضاء لجنة المناقشة :

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية:	الصفة
السيد سعدي رضوان	أستاذ محاضر "أ"	رئيسا
السيد بشور مراد	أستاذ مساعد "أ"	ممتحنا
السيد هويشر عبد الرحمن	أستاذ محاضر "أ"	مقررا

الدفعة: جوان -2019

Nom et Prénom : Tidjani Chahrazed

Thème : Etude du pouvoir technologique de quelques isolats de *Lactobacillus* spp. d'origine alimentaire

Résumé

Le présent travail a pour objectif principal d'étudier quelques aptitudes technologiques de trois isolats de *Lactobacillus* spp. (Zb7, Sm2 et Lb3) isolées à partir des produits laitiers fermentés traditionnellement (Zebda, Smen et Lben). L'étude de la résistance des ces isolats au pH acide et aux sels biliaires 0.3% a révélé que les trois lactobacilles sont résistants à l'acidité avec une bonne tolérance des sels biliaires. De plus, aucune production des amines biogènes (histamine et tyramine) et de gélatinase n'a été détectée dans *Lactobacillus* spp. testées. L'absence de l'activité hémolytique (γ -hémolyse) a été également détectée chez les trois lactobacilles. Le test d'antibiorésistance a montré également une grande sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques testés : Rifampicine, Penicilin-G, Tetracycline, Ampicilline, Vanomycine, Erythomycin, et Chloromphenicol. Cependant, tous les isolats de lactobacilles testés sont résistants au vancomycine, à l'exception de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 qui a montré une sensibilité considérable à cet antibiotique. Par ailleurs, tous les surnageants de *Lactobacillus* spp. testés ont inhibé avec des degrés variables la croissance des deux moisissures pathogènes *Penicillium expansum* et *Aspergillus parasiticus*. Cependant, la bactérie *Staphylococcus aureus* a montré une résistance considérable à l'égard des surnageants des isolats Zb7 et Sm2, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* a résisté seulement à l'activité de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2. Sur la base de ces résultats, un isolat (*Lactobacillus* spp. Sm2) a été sélectionné pour des études plus approfondies en fonction de leur aspects sécuritaires avant l'utilisation de cette bactérie et/ou leur extrait dans les matrices alimentaires.

Mots clé : Lactobacille, Aptitude technologique, Aspect sécuritaire, Activité antimicrobienne, Laghout.

Name and Surname : Tidjani Chahrazed

Memory title : Study of the technological proprieties of some *Lactobacillus* spp. isolates from food origin.

Abstract

The main objective of this work is to study some technological skills of three *Lactobacillus* spp. isolates. (Zb7, Sm2 and Lb3) isolated from traditionally fermented dairy products (Zebda, Smen and Lben). The study of the resistance of these isolates to acid pH and bile salts 0.3% revealed that the three lactobacilli are resistant to acidity with a good tolerance of bile salts. In addition, no production of biogenic amines (histamine and tyramine) and gelatinasis was detected in *Lactobacillus* spp. Tested. The absence of hemolytic activity was also detected in all three lactobacilli. The antibiotic resistance test also showed a high sensitivity of the lactobacilli to the antibiotics tested: Rifampiciin, Penicilin-G, Tetracycline, Ampicillin, Vanomycine, Erythomycin, and Chloromphenicol. However, all lactobacilli isolates tested are resistant to vancomycin, with the exception of *Lactobacillus* spp. Sm2 which showed considerable sensitivity to this antibiotic. Moreover, all *Lactobacillus* spp. surnageants inhibited with varying degrees the growth of the two pathogenic molds *Penicillium expansum* and *Aspergillus parasiticus*. However, the bacterium *Staphylococcus aureus* showed considerable resistance to the surnageants of the Zb7 and Sm2 isolates, while *Pseudomonas aeruginosa* withstood only the activity of the isolate *Lactobacillus* spp. Sm2. Based on these results, an isolate (*Lactobacillus* spp. Sm2) was selected for further studies based on their safety aspects prior to the use of this bacterium and/or their extract in food dies.

Key words: Lactobacille, Technological suitability, Safety aspect, Antimicrobial activity, Laghouat.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة بعض القدرات التكنولوجية لثلاثة عزلات من البكتيريا مأخوذة من منتجات الحليب المخمرة تقليديا (*Lactobacillus spp.* (Lb3,Zb7 Sm2). كشفت الدراسة مقاومة هذه العزلات الثلاث لحموضة المعدة و الأملاح الصفراوية بنسبة (0.3 %) ، بالإضافة إلى ذلك لم يتم إنتاج أي من الأمينات البيوجينية (الهستامين والتيرامين) و الجيلاتين من طرفها، وتم الكشف عن غياب النشاط الانحلالي لديها، كما أظهر اختبار مقاومة للمضادات الحيوية حساسية عالية لها و مع ذلك كانت جميع العزلات اللبنية مقاومة للفانكوميسين ماعدا *Lactobacillus spp.Sm2*.

زيادة على ذلك أظهرت اختبارات منع نمو نوعين من الفطريات والبكتيريا المنتقاة والتي لها أثر كبير في التسبب بأمراض خطيرة مقاومة ملاحظة بدرجات متفاوتة لكلاهما *Aspergillus parasiticus* و *Penicillium expansum* في حين أن البكتيريا *Staphylococcus aureus* أبرزت مقاومة معتبرة للعزلتين اللبنتين Zb7 و Sm2 ، بينما *Pseudomonas aeruginosa* قاومت نشاط العزلة اللبنية. بناء على هذه النتائج قد تم اختيار العزلة اللبنية (Sm2) لدراستها وفقا لجوانب السلامة قبل استخدام البكتيريا و/أو مستخلصها في المنتجات الغذائية.

الكلمات الأساسية : *Lactobacillus*، الملائمة التكنولوجية ، جانب السلامة ، النشاط المضاد للميكروبات ، الأغواط .



Dédicaces

- ♥ *Je dédie ce travaille a*
- ♥ *Ma très chère mère*
- ♥ *A la mémoire de mon très cher père*
- ♥ *A mes frères et mes sœurs*
- ♥ *A tous les membres de ma famille*
- ♥ *A tous mes chères amies*
- ♥ *A vous tousmerci*

Remerciements

Je remercie, en premier lieu, " **ALLAH** " pour m'avoir donnée la force et la volonté pour réaliser et mener bien ce travail.

Je tiens particulièrement à remercier ma famille pour leur soutien permanent et le réconfort qu'ils m'ont prodigué tout au long de mon cursus universitaire.

J'aimerais également témoigner toute mes gratitude et mes respects envers mon encadreur le **Dr. Houicher Abderrahmane**, Maître de conférences à l'Université Amar Thélédji, pour avoir accepté de diriger tous le long de ce travail, aussi pour ses nombreux conseils scientifiques, ses encouragements et son parfait sens de la responsabilité.

Je remercie **Mr : Saidi Radwane**, Maître de conférences à l'Université Amar Thélédji, pour accepter de présider le jury et de juger ce travail. Qu'il veuille accepter mes profonds respects.

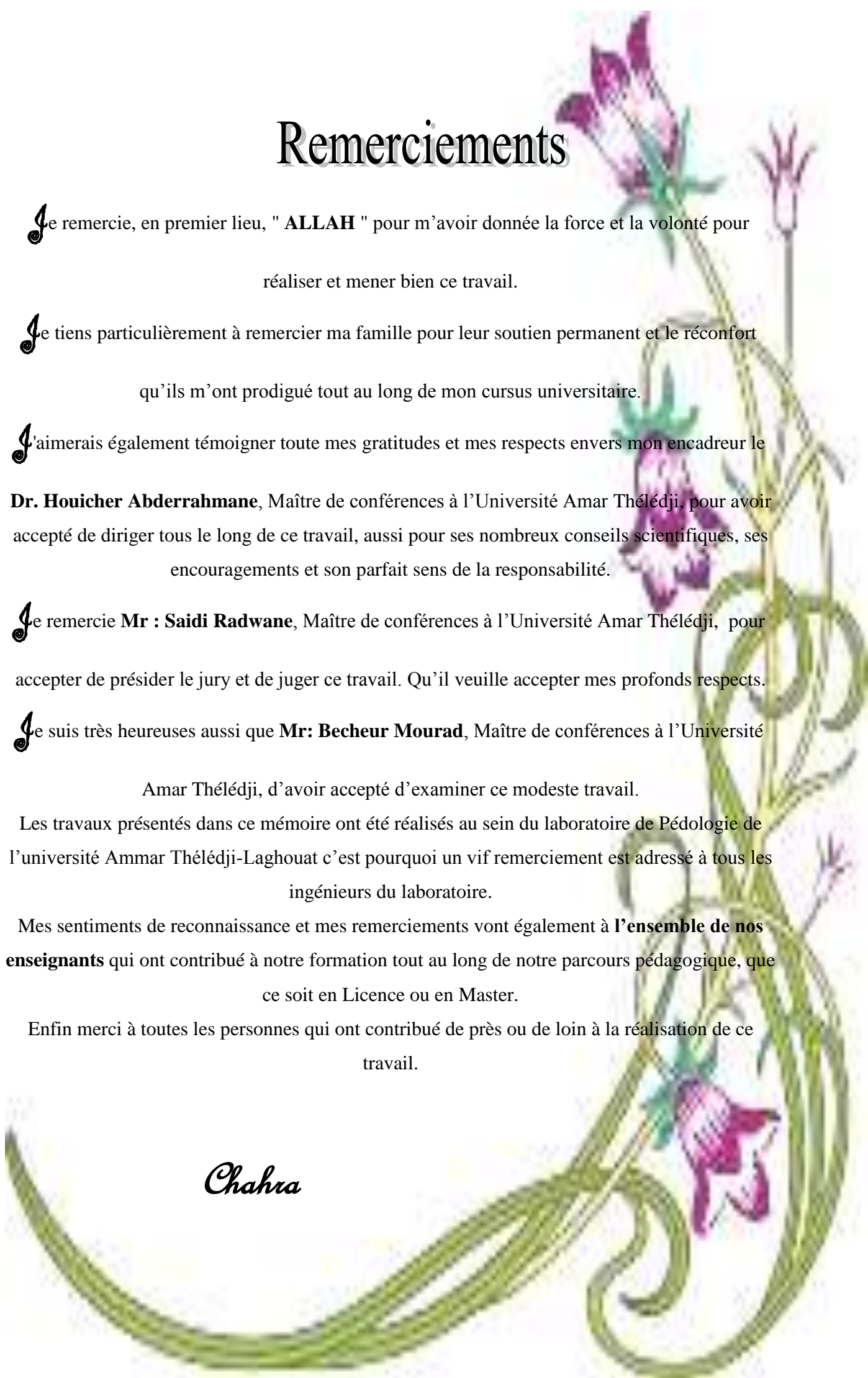
Je suis très heureuses aussi que **Mr: Becheur Mourad**, Maître de conférences à l'Université Amar Thélédji, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du laboratoire de Pédologie de l'université Ammar Thélédji-Laghouat c'est pourquoi un vif remerciement est adressé à tous les ingénieurs du laboratoire.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à **l'ensemble de nos enseignants** qui ont contribué à notre formation tout au long de notre parcours pédagogique, que ce soit en Licence ou en Master.

Enfin merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Chahra



Liste des tableaux

Tableau 1 :	Classification des lactobacilles selon leur type fermentaire.	07
Tableau 2 :	Classification de <i>Lactobacillus</i> selon les données de l'ARNr 16S.	07
Tableau 3 :	Présentation des isolats <i>Lactobacillus</i> spp. sélectionnées pour cette étude.	21
Tableau 4 :	Résultats de la résistance des isolats de <i>Lactobacillus</i> spp. aux sels biliaires à la DO ₆₀₀ exprimés en moyenne \pm écart-type.	30
Tableau 5 :	Résultats de pouvoir de décarboxylation d'amines biogènes (histamine et tyramine) et de production de gélatinase.	32
Tableau 6 :	Résultat du test antibiorésistance des lactobacilles sélectionnés pour cette étude.	32
Tableau 7 :	Résultat de l'activité hémolytique des lactobacilles sélectionnés pour cette étude.	34
Tableau 8 :	Résultat de l'activité antimicrobienne des <i>Lactobacillus</i> spp. sélectionnés pour cette étude.	35

Liste des figures

Figure 1 :	Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes.	05
Figure 2 :	Observations au microscope électronique à transmission (10000X) des formes des bactéries lactiques bâtonnet (a) et coque (b, c) .	05
Figure 3 :	Types d'hémolyse par streptocoques.	16
Figure 4 :	Schéma de protocole d'étude de la résistance des <i>Lactobacillus</i> spp. au pH acide et aux sels biliaires.	22
Figure 5 :	Protocole de l'étude du pouvoir d'antibiorésistance de <i>Lactobacillus</i> spp. sur milieu MRS agar.	24
Figure 6 :	Protocole de l'étude de l'activité hémolytique des <i>Lactobacillus</i> spp.	25
Figure 7 :	Protocole de la méthode des puits utilisés pour la recherche de l'activité antimicrobienne des <i>Lactobacillus</i> spp.	27
Figure 8 :	Aspect microscopique des isolats de <i>Lactobacillus</i> spp. cultivés dans le milieu gélosé MRS après coloration de Gram (X 1000).	29
Figure 9 :	Resistance des lactobacilles au pH acide.	30
Figure 10 :	Resistance des lactobacilles aux sels biliaires à 0.3%.	31

Liste des photos

- Photos 01 :** Absence de production de gélatinase par les isolats de lactobacilles testés. **33**
- Photos 02 :** Les zones d'inhibition des lactobacilles aux antibiotiques mesurées à l'aide de pied à coulisse. **33**
- Photos 03 :** Les zones de sensibilité des isolats de *Lactobacillus* spp. vis-à-vis les souches pathogènes (Staph) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, (Pseudo) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (PE) *Penicillium expansum* MUCL 29192 et (AP) *Aspergillus parasiticus* CBS 100926. **36**

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

BCCM : Belgian Co-ordinated Collection of Micro-organisms.

BHI : Brain Heart Infusion.

CBS : Centre de Biochimie Structurale.

DO : Densité Optique.

FAO : Food and Agriculture Organization.

HDA : Milieu ajouter Histidine.

Lb : Lben.

MHA : Muller Hinton Broth.

MRS : de Man-Rogosa et Sharp.

NCCLS : National Commite for Clinical Laboratory Standards.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDA : Potato Dextrose Agar.

Sm : Smen.

TDA : Milieu ajouter Tyrosine.

UFC : Unité Formant Colonie.

WHO : World Health Organization.

Zb : Zebda.

Table des Matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des abréviations

Introduction 01

Partie théorique

Chapitre I *Lactobacillus* spp.

1.1.	Généralité sur les bactéries lactiques	04
1.2.	Taxonomie des <i>Lactobacillus</i> spp.	06
1.3.	Habitat de Lactobacilles	08
1.3.1.	Habitat végétal	08
1.3.2.	Habitat animal	08
1.3.3.	Habitat humain	08
1.4.	Caractéristiques des <i>Lactobacillus</i> spp.	09
1.4.1.	Caractères morphologiques	09
1.4.2.	Caractères biochimiques	09
1.4.3.	Caractères culturels et exigences nutritionnelles	09
1.5.	Intérêt et utilisation des Lactobacilles	11

Chapitre II Aptitudes technologiques des Lactobacilles

1.	Aptitudes technologiques des Lactobacilles	13
1.1.	Résistance à l'acidité gastrique	13
1.2.	Résistance aux sels biliaires	14
1.3.	Résistance aux antibiotiques	14
1.3.1.	Résistance naturelle ou intrinsèque	15
1.3.2.	Résistance acquise	15
1.4.	Activité hémolytique	15
1.5.	Propriétés antimicrobiennes	16

Partie pratique

1.	Matériels et Méthodes	
1.1.	Objectif de l'étude	20
1.2.	Matériel biologique	20
1.3.	La résistance au pH acide et aux sels biliaires	21
1.3.1.	La résistance au pH acide	21
1.3.2.	La résistance aux sels biliaires	22
1.4.	La production des amines biogènes (histamine et tyramine)	22
1.5.	La production de gélatinase	23
1.6.	Le pouvoir d'antibiorésistance	23
1.7.	L'activité hémolytique	24
1.8.	L'activité antimicrobienne	25
1.8.1.	Préparation des suspensions bactériennes	25
1.8.2.	Préparation des suspensions fongiques	26
1.8.3.	Préparation de surnageant des lactobacilles	26
1.8.4.	L'évaluation de l'activité antimicrobienne	26
2.	Résultats et discussion	
2.1.	Résultats	
2.1.1.	Résistance au pH acide et aux sels biliaires	29
2.1.2.	La production de Gélatinase	32
2.1.3.	Le pouvoir antibiorésistance	33
2.1.4.	L'activité hémolytique	34
2.1.5.	L'activité antimicrobienne	35
2.2.	Discussion	37

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Introduction :

Les bactéries lactiques sont présentes depuis toujours dans l'alimentation humaine ont souvent montré un effet bénéfique sur la santé, ces derniers temps un intérêt considérable s'est développé autour l'utilisation des bactéries lactiques ayant des effets bénéfiques à travers le monde (**Gournier-Château et al., 1994**). Ces bactéries contribuent par leurs activités enzymatiques variées par la production de composés volatils qui participent au développement de l'arôme, de la saveur, ainsi produisent des exopolysaccharides qui jouent un rôle important dans le développement de la texture de plusieurs produits laitiers (**Laboui et al., 2005**).

Les lactobacilles sont des bactéries lactiques qui produisent par fermentation de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme énergétique (**Kesarcodi Watson et al., 2008**). En industrie alimentaire, les lactobacilles sont largement utilisées dans la production de plusieurs produits alimentaires tels que le yaourt, le fromage, les saucissons secs, les jambons secs, les cornichons choucroutes, la bière, le cidre le cacao, le pain de Levin et l'ensilage, ainsi que dans les préparations pharmaceutiques et thérapeutiques potentielles destinées à l'homme y compris les anti-inflammatoires et les anticancéreux. De plus, ils assurent un rôle inhibiteur de la croissance de bactéries indésirables, responsables de l'altération des aliments ou potentiellement pathogènes, elles interviennent dans la sécurité et la qualité organoleptique des produits alimentaires (**Tailliez, 2004 ; Denis et al., 2007**).

En général, les bactéries lactiques au cours de leur passage dans le tractus gastro-intestinal, se heurtent aux problèmes de stress causés par le suc gastrique puis le suc biliaire suivi par la compétition avec les germes pathogènes et autochtones. Pour exercer ses effets convenablement, il doit répondre aux critères de sécurité tels que la sensibilité aux antibiotiques et l'absence de l'activité hémolytique; aux critères fonctionnels comme la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires (**Hyronimus et al., 2000**), ainsi que l'absence de formation d'amines biogènes, qui peuvent être un problème d'intoxications alimentaires (**Askar et al., 1986**). C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude qui a pour objectif principal d'évaluer le pouvoir technologique de quelques isolats de *Lactobacillus* spp. d'origine alimentaire. Les aptitudes technologiques recherchées sont : la résistance au pH acide et aux sels biliaires, la production des amines biogènes (histamine et tyramine), la production de gélatinase, le pouvoir d'antibiorésistance, l'activité hémolytique, et enfin l'activité antimicrobienne des ses isolats vis-à-vis des bactéries et moisissures pathogènes.

Introduction

Cette étude se compose de 3 parties dont la première est consacrée à une synthèse bibliographique sur *Lactobacillus* spp. et les aptitudes technologiques de *Lactobacillus* spp. , la deuxième est intéressée au matériel et aux méthodes mises en œuvre pour réaliser ce travail, la dernière partie est traitée les différents résultats obtenus au cours de cette étude ainsi que leur discussion, et enfin nous achevons ce travail par une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre I : *Lactobacillus* spp.

Chapitre I : *Lactobacillus* spp.**1.1. Généralité sur les bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du **XX^{ème}** siècle (**Maghnia, 2011**). Les bactéries lactiques sont très répandues dans la nature, elles peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique. Dans certains écosystèmes comme le lait elles sont dominantes, dans d'autres elles sont minoritaires. Ces bactéries montrent des exigences nutritionnelles complexes en glucides fermentescibles, en acides gras, en acides aminés, en peptides, en vitamines et en sels, leur classification est réalisée en fonction de leur morphologie, de leur type de fermentation et de leur température optimale de croissance, on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et sous produits, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001; Marshall, 1987**).

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes procaryotes forment un groupe hétérogène composé de coques, de bacilles ou de coccobacilles voir (**figure 2**), dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Non pathogènes, ces bactéries à coloration de gram positive (Gram +), généralement immobiles ont un métabolisme aéro-anaérobies ou micro-aérophiles, asporulantes et ne produisent pas la catalase, la nitrate réductase et le cytochrome oxydase (à l'exception de quelques souches sous certaines conditions). Elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Dellaglio et al., 1994 ; Salminen et al., 2004 ;Badis et al., 2005**).

Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire qui repose dans sa grande partie sur l'utilisation des glucides, elles peuvent produire soit :

- De l'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes),
- De l'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives),
- De l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (**Vandamme et al., 1996 ; Lopez et Mayo, 1997 ; Swearingen, 2001**).

Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique (**De Roissart et al., 1994**).

D'après **Lahtinem et al., (2012)**, les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et l'ordre des Lactobacillales renfermant trente cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement douze sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, à savoir : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus* et *Weissella* qui sont présentés dans les figures suivantes (figures 1 et 2):

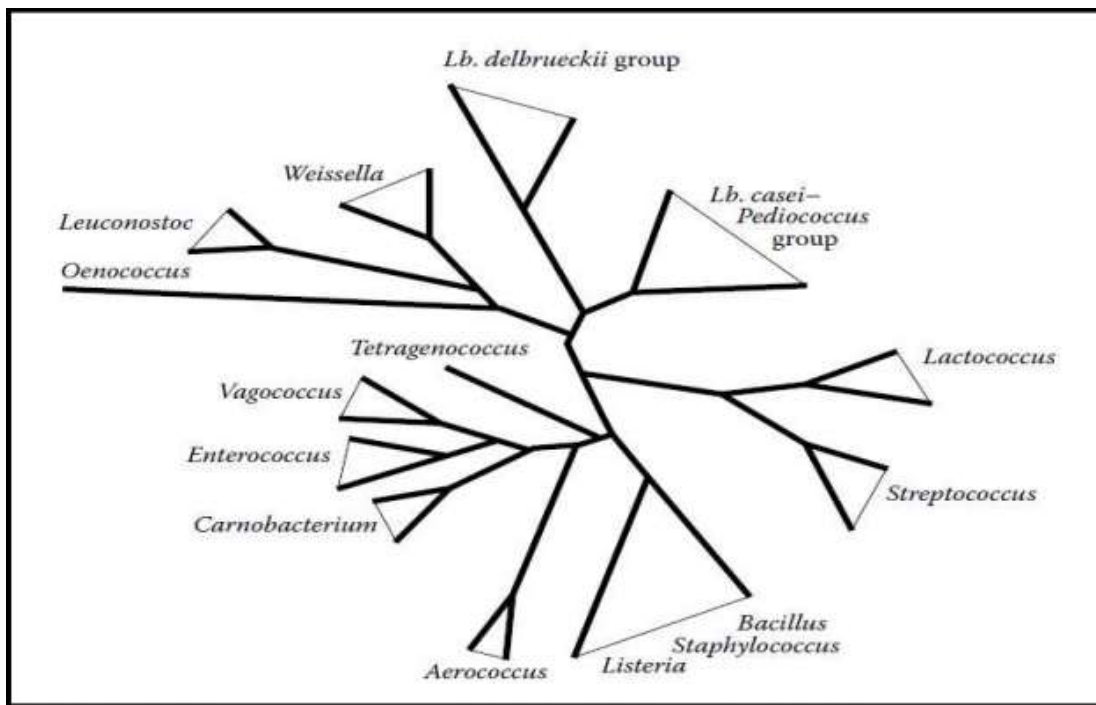


Figure 2: Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (**Lahtinem et al., 2012**).

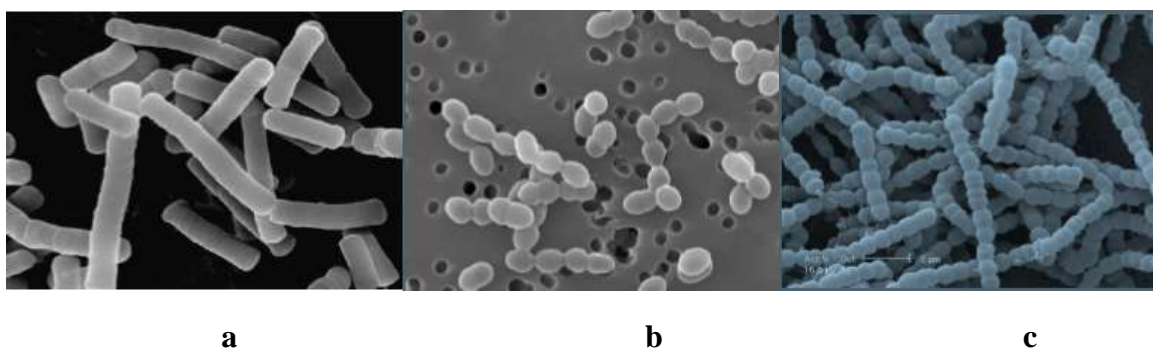


Figure 2 : Observations au microscope électronique à transmission (10000×) des formes des bactéries lactiques bâtonnet (a) et coque (b, c) (**Ehrmann et al., 2009**).

1.2. Taxonomie des *Lactobacillus* spp. :

La taxonomie est reposée sur plusieurs critères morphologiques et biochimiques permettant de différencier et de caractériser les espèces sont détaillée par suivant :

- Le type de gram, la morphologique et la disposition cellulaire,
- Les différents métabolismes glucidiques, protéiques, lipidiques, le caractère fermentaire,
- La croissance des cellules sur des milieux hostiles,
- La synthèse d'enzymes (de protéases), de bactériocines, de métabolites (exopolysaccharides),
- La composition de l'ADN mesurée par hybridation permet de différencier les genres et les espèces entre eux. Le pourcentage de G-C des espèces du genre *Lactobacillus* est très hétérogène et varie d'une espèce à une autre de 32 à 53% (**Schleifer, 1985 ; Collins et al., 1991 ; Zhang et al., 2014**).

Orla- Jensen (1919) a proposé de diviser le genre *Lactobacillus* en trois sous genres : *Thermobacterium*, *Bêtabacterium*, *Streptobacterium*,

- Les Lactobacilles homofermentaires stricts,
- Les Lactobacilles hétérofermentaires stricts,
- Les Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs, voir (**Tableau 1**)

Schleifer et al. (1995) ont classifiés *Lactobacillus* selon les données de l'ARNr 16S voir (**Tableau 2**).

En 1901, le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck, et l'espèce type était *Lactobacillus delbrueckii*. Le genre *Lactobacillus* est le genre principal et de loin le plus grand et le plus diversifié, les Lactobacillales est le plus grand ordre dans le phylum Firmicutes et la classe Bacilli. La famille des Lactobacillaceae, directement sous l'ordre des Lactobacillales, est l'une des sept familles, il comprend actuellement 158 espèces, sept de ces espèces sont constituées de 18 sous-espèces (**Hammes, 2003 ; Zhang et al., 2014**).

Tableau 1 : Classification des lactobacilles selon leur type fermentaire (**Orla-Jensen, 1919**).

Groupe 1 : <i>Thermobacterium</i> (Homofermentaires stricts)	Groupe 2 : <i>Streptobacterium</i> (Homofermentaires facultatifs)	Groupe 3 : <i>Bêtabacterium</i> (Hétérofermentaires stricts)
Groupe <i>delbrueckii</i> G-C: 49-51 % <i>Lb. delbrekii</i> <i>Lb. ssp. delbrekii</i> <i>Lb. ssp. lactis</i> <i>Lb. ssp. bulgaricus</i> <i>Lb. ssp. leichmani</i>	Groupe <i>plantarum</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. pentoseus</i> <i>Lb. sake</i> Groupe <i>casei</i> <i>Lb. casei ssp. casei</i> <i>Lb. casei ssp. alactosus</i> <i>Lb. casei ssp. pseudoplatarum</i> <i>Lb. casei ssp. rhamnosus</i> <i>Lb. johnsoni</i>	Groupe <i>fermentum</i> <i>Lb. san francisco</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. fructivorans</i>
G-C: 33-41 % <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. amylovorus</i> <i>Lb. crispatus</i> <i>Lb. gallinarum</i> <i>Lb. jensenii</i> <i>Lb. kefiranoferiens</i> <i>Lb. kefirgranum</i>		

Tableau 2: Classification de *Lactobacillus* selon les données de l'ARNr 16S (**Schleifer et al., 1995**).

Groupe I. <i>Delbrueckii</i>	Groupe II. <i>Casei-Pediococcus</i>	Groupe III. <i>Leuconostoc</i>
Hétérofermentaires Facultatifs	Homofermentaires stricts	Hétérofermentaires stricts
Autres Homofermentaires	<i>Lb. avarius</i>	Genre <i>Leuconostoc</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lb. salivarius</i>	<i>Ln. amelibiosum</i>
<i>Lb. acidophilus</i>	Hétérofermentaires facultatifs	<i>Ln. carnosum</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Ln. gelidum</i>
<i>Lb. crispatus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	Genre <i>Weissella</i>
	<i>Lb. sakei</i>	<i>Ln. paramesen</i>
	Hétérofermentaires stricts	<i>Lb. confusus</i>
	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Lb. viridescens</i>
	<i>Lb. brevis</i>	
	<i>Lb. sanfrancisco</i>	
	<i>Lb. buchneri</i>	
	Genre <i>Pediococcus</i>	

1.3. Habitat de Lactobacilles :

1.3.1. Habitat végétal :

Les lactobacilles sont présents en infimes quantités sur les surfaces végétales pour assurer la colonisation rapide des végétaux abîmés lors de la récolte ou des fruits en décomposition, l'homme a s'utiliser ces bactéries pour conserver à moindre coût et transformer bon nombre de matières premières végétales alimentaires comme les céréales, les tubercules et les fourrages verts. Les fermentations lactiques réalisées par ces bactéries limitent les altérations des matières premières en gênant le développement des bactéries indésirables ou pathogènes. Ces fermentations améliorent également la qualité organoleptique des produits et dans certains cas leur valeur nutritionnelle et leur digestibilité (Tailliez, 2004).

1.3.2. Habitat animal :

Dans les produits animaux, les lactobacilles ont aussi trouvé des environnements favorables à leur croissance. De nombreuses études ont permis d'identifier les espèces utilisées comme levains commerciaux et artisanaux dans la transformation du lait en fromage :

- Les lactobacilles entrent dans la constitution des levains thermophiles commerciaux ou artisanaux utilisés dans la fabrication des yaourts, laits fermentés et fromages à pâte pressée cuite. Ces lactobacilles sont essentiellement des espèces homofermentaires (*L. delbrueckii*, *Lactis* ssp. ou *Bulgaricus* ssp. et *L. helveticus*).
- Dans la fabrication de fromage, ils jouent un rôle important dans la texture et la flaveur des fromages (*L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* et de *Lactobacillus fermentum*).
- Dans le cas des viandes, des espèces des lactobacilles : *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* et *L. plantarum* peuvent jouer un rôle de barrière, limitent ainsi le développement de bactéries d'altération ou indésirables, assurent l'acidification indispensable à la texture des viandes salées saumurées et des saucisses fermentées et contribuent à l'aromatisation de ces produits à travers le catabolisme de certains acides aminés (Desmazeaud, 1996 ; Tailliez, 2004).

1.3.3. Habitat humain :

Les lactobacilles sont présents dans les muqueuses intestinales, orales et vaginales humains. Dans la flore fécale de l'enfant ou de l'adulte excédent rarement 1 % ont été retrouvées

en dominance les espèces suivant : *L. gasseri* et *Lactobacillus reuteri* en association avec *L. ruminis* et *Lactobacillus salivarius*. La flore du caecum (partie du côlon ascendant située en prolongement de l'intestin grêle) semble plus riche en lactobacilles et en entérocoques que la flore fécale. Selon certains auteurs, ils contribueraient à l'équilibre de la flore intestinale notamment en limitant, comme dans les laits fermentés, le développement de bactéries protéolytiques et putréfiantes (Sterling et al., 1963 ; Reinheimer et al., 1969; Fenton et al., 1987 ; Reuter et al., 2001). De plus, la flore vaginale de la femme en bonne santé et en âge de procréer est constituée de lactobacilles en dominance ont montré que les trois espèces trouvées le plus fréquemment dans cet environnement sont par ordre : *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus crispatus* et *Lactobacillus gasseri*, ces deux dernières étant apparentées à *L. acidophilus*. D'autres espèces comme *L. fermentum*, *Lactobacillus mucosae*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* et *Lactobacillus vaginalis* associés à d'autres espèces colonisatrices comme *Ureaplasma urealyticum*, les streptocoques du groupe B, les entérocoques, les staphylocoques et *Escherichia coli* (Tailliez, 2004). La colonisation primaire du tube digestif de l'enfant par les lactobacilles de la flore vaginale de sa mère est réelle, mais cette flore ne persiste pas dans le temps. Elle est rapidement remplacée par une flore composée de lactobacilles et d'autres micro-organismes provenant de l'alimentation et l'environnement. La flore digestive de l'enfant est beaucoup moins stable que celle de l'adulte et va se modifier, notamment lors des grands changements, dans son alimentation : nouveau-né nourri au sein ou par le lait reconstitué, compléments alimentaires et cessation de l'allaitement maternel, diversification alimentaire (Tailliez, 2004).

1.4. Caractéristiques des *Lactobacillus* spp. :

Lactobacillus a différents caractères quelques soit : morphologiques, biochimiques, culturels et des exigences nutritionnelles sont détaillées aux dessous :

1.4.1. Caractères morphologiques :

C'est une bactérie fermentescible chimio-organotrophe à gram positif anaérobies facultatives ou micro aérophiles, asporulés et immobiles en forme des : bâtonnets (bacilles) ou des coccobacilles voir (figure 2) qui forment à l'occasion de courtes chaînes (Schlegel, 1998).

1.4.2. Caractères biochimiques :

Bien qu'elles aient besoin de milieux riches pour croître, elles sont omniprésentes et peuvent survivre partout où il y a surtout hydrates de carbone, ils sont présents chez les humains

dans le vagin et le tractus gastro-intestinal, dont ils sont symbiotiques et constituent une petite partie de la flore intestinale. Ils sont généralement bénins, sauf dans la bouche où ils ont été associés avec des cavités de carie dentaire (**Schlegel, 1998**).

De nombreuses espèces sont prédominantes dans le matériel végétal en décomposition. La production d'acide lactique crée un environnement acide, qui inhibe la croissance de certaines bactéries nocives. Plusieurs membres du genre ont eu leur génome séquencé (**Schlegel, 1998**).

Les lactobacilles sont divisés en :

- Les Lactobacilles homofermentaires stricts : regroupent les espèces de sous-genre *Thermobacterium*, qui dégradent les hexoses en acide lactique,
- Les Lactobacilles hétérofermentaires stricts : regroupent les espèces de sous-genre *Bêtabacterium*, fermentent les hexoses en acide lactique, en acide acétique ou en éthanol et CO₂,
- Les Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs : regroupent les espèces de sous genre *Streptobacterium*, métabolisent les hexoses en acide lactique par la voie homofermentaire et dégradent les pentoses par voie hétérofermentaire. Ils ne produisent pas de CO₂ (**Cannon, 2005 ; Dellaglio, 2007**).

1.4.3. Caractères culturels et exigences nutritionnelles :

La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à 55 °C (**Adams et al., 2000 ; Tailliez, 2004**). Les lactobacilles se développent au mieux dans des conditions acides, quand le pH avoisine les 4,5 à 6,4, mais leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine 3,5 (**Collins et al., 1989 ; De Vos et al., 2009**). Le milieu le plus adapté à leur culture est celui De Man, Rogosa et Sharpe (MRS). Sur MRS gélosé, les colonies se développent en 24 à 48 heures, elles sont généralement petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, lisses ou rugueuses, arrondies ou lenticulaires (**De Vos et al., 2009**). En plus de la source de carbone et d'azote, les lactobacilles sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses qui peuvent être classées selon **De Man et al. (1960)** et **De Vos et al. (2009)** comme suit :

❖ Exigences en vitamines :

Toutes les espèces ont un besoin absolu en vitamines telles que la pantothenate (B5), en niacine (B3) et en cobalamine (B12). Les déficiences en vitamine B12 peuvent induire une

diminution de la synthèse de l'ADN et entrainer des changements morphologiques et les cellules deviennent filamenteuses. Une telle élongation cellulaire a été observée avec *L. helveticus* sp *jugurti* lors de déficiences en cobalamine (B12) ou en acide folique (**De Man et al., 1960**).

❖ **Exigences en bases azotées :**

Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'Adénine, de Cytosine, de Désoxyguanosine, de Guanine, de Thymidine et d'Uracile. Ces exigences sont variables selon les espèces (**De Man et al., 1960**).

❖ **Exigences en cations :**

Les ions Mg^{2+} et Mn^{2+} ou Fe^{2+} sont nécessaires pour la croissance des lactobacilles. Le manganèse et le magnésium interviennent comme activateurs d'un grand nombre de réactions enzymatiques et comme stabilisateurs de la structure des acides nucléiques, de l'intégrité des ribosomes et de la membrane cellulaire des lactobacilles (**De Vos et al., 2009**).

1.5. Intérêt et utilisation des Lactobacilles :

Les lactobacilles sont présent dans des aliments tel que "le lait" et dans sous dérivés "fromage et yaourt" ont beaucoup des propriétés (l'acidification, la protéolyse, l'autolyse, la production de bactériocines...etc.) pour ce là, ils sont utilisés industriellement dans différents domaines et différentes productions:

- ✚ En tant que ferments lactiques dans la production de yaourt, fromage et en tant que ferments protecteurs pour les produits fermentés : saucissons secs, jambons secs, les cornichons choucroutes, la bière, le cidre le cacao, pain de Levin et l'ensilage,
- ✚ Dans les préparations pharmaceutiques et thérapeutiques potentielles destinées à l'homme y compris les anti-inflammatoires et les anti-cancers,
- ✚ Elles assurent un rôle inhibiteur de la croissance de bactéries indésirables, responsables de l'altération des aliments ou potentiellement pathogènes,
- ✚ Elles interviennent dans la qualité organoleptique des produits, notamment la texture, le goût et également dans la réduction du taux de cholestérol sanguin (**Tailliez, 2004**).

Mais dans certains cas, quelques souches de lactobacilles pathogènes peuvent occasionnellement causer des infections comme: endocardites, bactériémies et abcès où

Lactobacillus rhamnosus est l'espèce la plus fréquemment impliquée (**Tailliez, 2004; Denis et al., 2007**).

**Chapitre II : Aptitudes
technologiques des
Lactobacilles**

1. Aptitudes technologiques des Lactobacilles :

1.1. Résistance à l'acidité gastrique :

Les bactéries lactiques, lors de leur croissance, hydrolysent le lactose du lait grâce à la bêta-galactosidase pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du gaz carbonique ou de l'alcool. Cette production de composés acides va entraîner un abaissement de pH. Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé; la participation aux propriétés rhéologiques du produit fini et l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Papamanoli et al., 2003**). La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (**Mäyrä- Mäkinen et al., 2004; Monnet et al., 2008**).

La survie des bactéries dans le tube digestif dépend de leur capacité à tolérer les pH bas, ce qui propose que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2,5 par conséquent peut affecter sur la croissance et la viabilité bactérienne (**Ammor et al., 2007**). Lors de la fermentation lactique, les lactobacilles produisent et accumulent dans leur environnement des composés acides qui rendent le milieu acide défavorable à la croissance des autres bactéries, par conséquent, après l'ingestion, ils rencontrent un autre environnement acide, l'estomac ce qui suggère leur adaptation et leur fonctionnement à des pH bas. Les lactobacilles peuvent réagir au stress acide par trois mécanismes :

- En limitant l'entrée des acides dans son cytoplasme,
- En alcalinisant le milieu intracellulaire grâce aux enzymes impliqués,
- En protégeant les macromolécules contre les dérivés chargés par les protéines chaperonne (**Bahri, 2014**).

1.2. Résistance aux sels biliaires :

La bile est un liquide visqueux de couleur jaune-verdâtre sécrété en continu par le foie et stocké dans la vésicule biliaire est composée de cholestérol, de sels biliaries, de lécithine et de pigments joue plusieurs rôles dans l'organisme. Le principal est de participer à la digestion des graisses et à la détoxification lors des repas. Les acides biliaries (également connu sous le nom

de sels biliaires) sont formés par des dérivés du cholestérol et par des stéroïdes acides sécrétés par le foie. Ils sont stockés et concentrés dans la vésicule biliaire et injectés dans le duodénum après la prise alimentaire. (**Ammor et al., 2007**).

La tolérance aux sels biliaires est un facteur important pour la survie des probiotiques, car après leur échappement aux conditions acides de l'estomac, les probiotiques doivent faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion des repas gras (**Ammor et al., 2007**). L'un des mécanismes de cette résistance est la déconjugaison des sels biliaires grâce à la « Bile Salt Hydrolase » (BSH) qui est aussi appelée cholylglycine hydrolase. Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des sels biliaires conjugués avec la glycine ou la taurine en résidus d'acides aminés et en sels biliaires libres ce qui a pour effet de diminuer la solubilité de la bile et de réduire son activité détergente (**Begley et al., 2006 ; Hamon et al., 2011**).

Un autre mécanisme responsable de la résistance des lactobacilles aux sels biliaires est l'extrusion de la bile. Ce mécanisme est réalisé grâce aux systèmes *multidrug resistance* (MDR). Les MDR sont ainsi responsables de la résistance à de nombreux composés toxiques comme les antibiotiques, les solvants organiques, les détergents et les sels biliaires (**Bahri, 2014**).

1.3. Résistance aux antibiotiques :

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et héli synthèse (**Mangin, 2016**).

Leur efficacité est s'apparait dans sa capacité de diffuser le tissu bactérienne. Celle-ci réside dans sa capacité à pénétrer dans la bactérie et à se fixer sur sa cible afin d'en perturber le fonctionnement physiologique. Si l'antibiotique perd une de ses facultés, il devient alors inefficace et le terme « résistance » prend tout son sens, la bactérie détenant le pouvoir de croître en présence de l'antibiotique, on se distingue deux types de résistance aux antibiotiques : la résistance intrinsèque et la résistance acquise (**Marshall et al., 2004**).

1.3.1. Résistance naturelle ou intrinsèque :

Cette résistance, généralement chromosomique, est présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des

antibiotiques et elle est due soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique (Levy et Marshall, 2004).

1.3.2. Résistance acquise :

Cette résistance ne concerne que quelques souches, d'une même espèce ou d'un même genre, normalement sensibles à un antibiotique donné. Elle est due à des modifications génétiques chromosomiques ou extra chromosomiques : mutations sur des gènes existants (gènes codant pour des cibles des antibiotiques, gènes régulateurs...) ou incorporation de nouveaux gènes codant à des mécanismes de résistances (Marshall *et al.*, 2004).

Le développement de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries est basé principalement sur deux facteurs : la présence de gènes de résistance et la pression de sélection imposée par l'utilisation des antibiotiques (Mangin, 2016).

1.4. Activité hémolytique :

La détermination de l'activité hémolytique est l'une des exigences de sureté des souches probiotiques. Les microorganismes probiotiques doivent être dénués de toutes formes de pathogénicité (FAO/OMS, 2002). En effet, les probiotiques sont des organismes vivants et de ce fait, ils peuvent être responsables théoriquement d'effets secondaires comme des risques d'infections systémiques (Salminen *et al.*, 1998). Si les globules rouges sont détruits plus rapidement qu'ils ne peuvent être remplacés, un déséquilibre se produit, lorsque les globules rouges éclatent, l'hémoglobine, (la partie qui transporte l'oxygène), est libérée dans le reste du sang. Cela peut diminuer la quantité d'oxygène que le corps obtient (Barber et Elde, 2014). Lorsque l'hémolyse se produit et conduit à un déséquilibre des globules rouges, il est appelé anémie hémolytique, et il existe deux types. La première est appelée anémie hémolytique intrinsèque, ce type est généralement un trouble héréditaire, le deuxième type est appelé anémie hémolytique extrinsèque, et ici, la rate détruit les globules rouges sains ou ils sont endommagés par une infection (Gurpreet-Dhaliwal *et al.*, 2004).

L'hémolyse est causée par des troubles sanguins, des toxines dans le corps ou une infection. Certaines affections spécifiques pouvant causer l'hémolyse sont l'hépatite, l'anémie falciformes, la bactérie *E. coli* ou le streptocoque (Haak, 2018).

Il existe trois types d'hémolyse :

- **Gamma (γ) hémolytique** : absence de réaction hémolytique autour des colonies (absence d'hémolyse),

- **Béta (β) hémolytique** : la présence d'une zone claire d'hydrolyse autour des colonies (hémolyse totale),
- **Alpha (α) hémolytique** : la présence d'une couleur verte autour des colonies (hydrolyse partielle). (De Vuyst *et al.*, 2003).

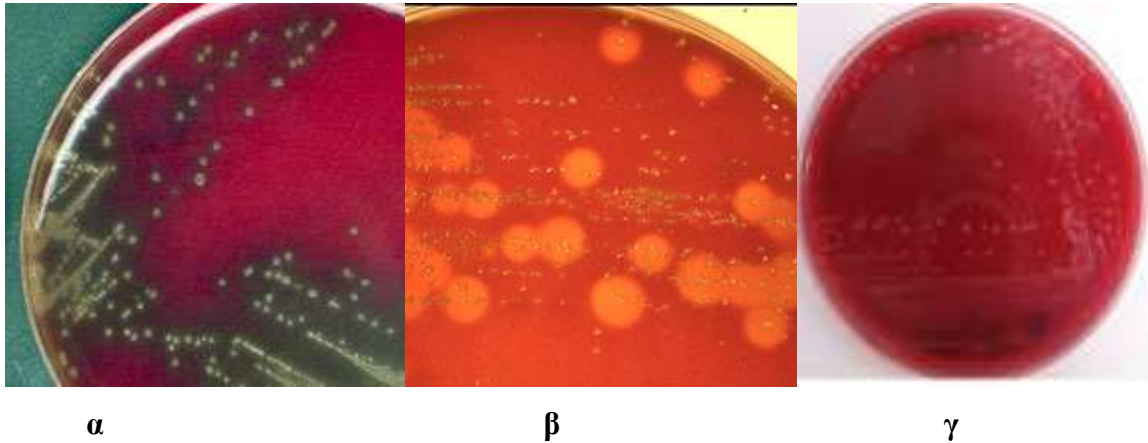


Figure 3: Types d'hémolyse par streptocoques (Bouvet, 2004).

1.5. Propriétés antimicrobiennes :

L'activité antimicrobienne contre les germes pathogènes est l'un des critères fréquemment utilisés pour la sélection des souches probiotiques. Les bactéries lactiques constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments, du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles (Dunne *et al.*, 2001). En effet, les bactéries lactiques, et notamment les lactobacilles, produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes, comme des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du dioxyde de carbone, du diacétyle et des bactériocines (Dortu *et al.*, 2009). Les acides lactique et acétique sont produits lors de la fermentation lactique. Leurs activités antibactériennes contre les germes pathogènes qui s'expriment par deux manières :

- Une action directe où les acides organiques diffusent passivement à travers la membrane bactérienne font acidifier le cytoplasme et inhibent l'activité enzymatique cellulaire des pathogènes acidosensibles. Cette diminution du pH peut donc affecter la viabilité des pathogènes bactériens (Aiba *et al.*, 1998).
- Une action indirecte due à la tolérance de l'acidité par les lactobacilles et par conséquent, dans un milieu acide leur compétitivité bactérienne est avantagée par rapport aux autres bactéries (Servin, 2004). Le peroxyde d'hydrogène, produit en présence d'oxygène,

s'accumule en l'absence de catalase ; son pouvoir oxydatif provoque l'oxydation des lipides et la libération des acides nucléiques (**Block, 1991**). Le dioxyde de carbone, formé au cours de la fermentation hétérolactique, crée un environnement anaérobie qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies. Les acides organiques, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries. En diffusant à travers les couches lipidiques de la membrane bactérienne, ils provoquent un abaissement du pH interne par libération de protons, déstabilisant ainsi le fonctionnement de la cellule bactérienne (**Booth, 1985**).

Le diacétyl est un composé aromatique possédant aussi une activité antibactérienne. Plusieurs bactéries des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*, peuvent le synthétiser (**Leveau, 1991**). Il a des effets inhibiteurs plus importants sur la croissance des levures, bactéries à Gram négatif que sur celles des bactéries à Gram positif sont moins sensibles (**El-Ziney et al., 1998**).

Dioxyde de carbone, formé essentiellement au cours de la fermentation hétérolactique, inhibe les microorganismes aérobies à travers la création d'un environnement anaérobie puis son accumulation dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire (**Ammor et al., 2006**).

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est un métabolite intermédiaire qui possède un effet antimicrobien. Il est produit lors de la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* ainsi que par d'autres genres bactériens non lactiques tels que *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Clostridium*. Elle interfère avec la réplication de l'ADN chez les procaryotes (Gram-positif ou Gram-négatif), les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires (**El-Ziney et al., 1998**).

Les bactériocines sont des molécules d'origine bactérienne, de nature protéique ou partiellement protéique et douées d'une activité antagoniste vis-à-vis des espèces phylogénétiquement proches de l'espèce productrices. (**Park et al., 2003**). Deux grands groupes de bactériocines peuvent être distingués d'une part, les bactériocines produites par des bactéries à Gram négatif, principalement représentées par les colicines et les microcines, et d'autre part, celles produites par les bactéries à Gram positif, et notamment les bactériocines de bactéries lactiques. (**Cenatiempo et al., 1996**). Toutes les bactériocines produites par des bactéries

lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram⁺ et celles à Gram⁻ (**Dortu et al., 2009**).

Les lactobacilles sont largement connus par leur production de bactériocines (**Todorov, 2005**). Les bactériocines agissent généralement sur la membrane cytoplasmique des cellules sensibles et cela par la formation de petits pores membranaires. (**Luquet et al., 2005**). Elles s'ancrent sur la paroi, forment des pores et induisent ainsi la fuite du contenu cytoplasmique (**Ocana et al., 2004**).

Matériels et Méthodes

Matériels et Méthodes

1. Matériels et méthodes :

1.1. Objectif de l'étude :

Ce travail a pour objectif principal l'étude du pouvoir technologique de quelques isolats de *Lactobacillus* spp. d'origine alimentaire. Les aptitudes technologiques recherchées sont :

- ✓ La résistance au pH acide et aux sels biliaries,
- ✓ La production des amines biogènes (histamine et tyramine),
- ✓ La production de gélatinase,
- ✓ Le pouvoir d'antibiorésistance,
- ✓ L'activité hémolytique,
- ✓ L'activité antimicrobienne.

1.2. Matériels biologique :

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, trois isolats de *Lactobacillus* spp. ont été sélectionnés à partir des travaux de projet de fin d'étude d'**Abidi (2018)**. Ces bactéries lactiques ont été isolées à partir des produits laitiers fermentés traditionnellement tels que : Smen, Zebda et Lben (voir le tableau 3), et identifiées partiellement à l'aide des galeries API 50CHL. De plus, leur pouvoir antimicrobien a été testé vis-à-vis quatre souches de référence suivantes :

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Penicillium expansum* MUCL 29192 et *Aspergillus parasiticus* CBS 100926.

L'étude a été réalisée au sein du laboratoire pédologique numéro 8, département des Sciences Agronomiques-Université Ammar Thélédji-Laghout, durant la période de Novembre 2018 jusqu'au Mars 2019.

Tableau 3: Présentation des isolats *Lactobacillus* spp. sélectionnées pour cette étude

Isolats	Identification*				
	Source	Gram	Forme	Catalase	Galerie API CH50
Lac Zb 7	Zebda	+	Bacille	–	<i>Lactobacillus</i> spp. (81%)**
Lac Lb 3	Lben	+	Bacille	–	<i>Lactobacillus</i> spp. (94%)
Lac Sm 2	Smen	+	Bacille	–	<i>Lactobacillus</i> spp. (84%)

* Travaux de projet de fin d'étude d'Abidi (2018)

**Taux de similarité biochimique au profil de *Lactobacillus* spp.

1.3. La résistance au pH acide et aux sels biliaries :

1.3.1. La résistance au pH acide :

Pour déterminer la résistance des bactéries lactiques sélectionnées au pH acide en fonction du temps, le protocole d'Ispirli *et al.* (2017) et d'Hyrominus *et al.* (2000) a été utilisé (voir figure 4). Le test consiste à préparer une série des tubes contenant de bouillant MRS ajusté au pH 4 par l'addition de l'HCl 1M. Un inoculum de 1 ml de chaque isolat a été transféré dans 20 ml de ce bouillon pour obtenir une densité optique (DO₆₀₀) de 0.1. Puis la croissance des lactobacilles a été mesurée toutes les quatre heures à la DO₆₀₀ pendant une incubation de 24 h à 37 °C (sans agitation) à l'aide d'un spectrophotomètre de type biochrom Libra S6 (80-5000-10, UK). Notons que, chaque essai est répété deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

1.3.2. La résistance aux sels biliaries :

Afin de déterminer l'effet des sels biliaries sur la croissance des lactobacilles sélectionnés en fonction du temps, la méthode décrite par Ispirli *et al.* (2017) et Hyrominus *et al.* (2000) a été utilisée. Après l'autoclavage du bouillant MRS, les sels biliaries d'origine bovine ont ajoutés à une concentration de 0.3 % (w/v), puis une série des tubes de 20 ml ont été préparés. Pour obtenir une densité optique (DO₆₀₀) de 0.1, un inoculum de 1 ml de chaque isolat a été transféré dans ces tubes. Ensuite, la croissance des *Lactobacillus* a été mesurée toutes les quatre heures à la DO₆₀₀ pendant une incubation à 37 °C/24 h (sans agitation) et chaque essai est répété deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale (voir figure 4).

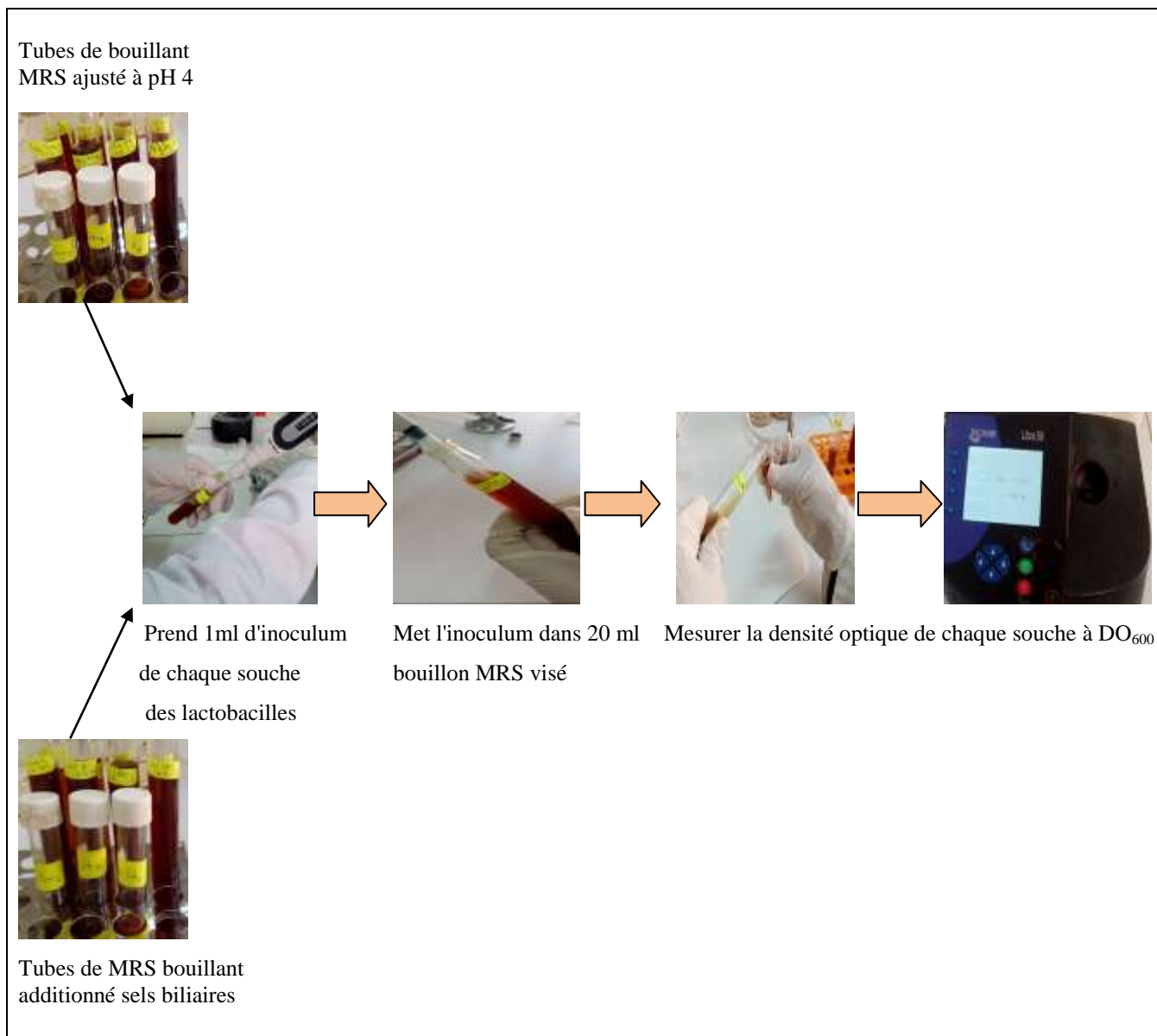


Figure 4: Schéma de protocole d'étude de la résistance des *Lactobacillus* spp. au pH acide et aux sels biliaires.

1.4. La production des amines biogènes (histamine et tyramine) :

Pour étudier le pouvoir de décarboxylation des acides aminés (histidine et tyrosine) par les isolats de lactobacilles, le protocole de **Joosten et al., (1989)** a été utilisé. Le milieu spécifique pour la détection des amines biogènes est composé de 5 g de tryptone, 5 g d'extrait de levure, 5 g de NaCl, 1 g de glucose, 0.5 ml de Tween 80, 0.2g de MgSO₄, 0.1 g de CaCO₃, 0.06 g de violet de bromocrésol, 0.05 g MnSO₄, 0.04 g de FeSO₄, 20 g d'agar et 20 g d'acide aminé spécifique (histidine ou tyrosine) préparé dans un litre d'eau distillée (voir Annexe 1). Après stérilisation (à 121 ° C pendant 15 min), le pH du milieu est ajusté à 5.

Matériels et Méthodes

Le milieu est ensemencé en surface avec 0.1 ml de chaque culture bactérienne précédemment préparée dans le bouillon MRS. Après incubation à 30 ° C pendant 24-48 h, un halo violet est interprété comme une réaction positive pour la production d'amines biogènes dans les milieux histidine decarboxylase agar (HDA) ou tyrosine decarboxylase agar (TDA). Notons que, un témoin positif a été utilisé pour chaque essai représenté par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, forte productrice d'amines biogènes. Chaque essai est répété deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

1.5. La production de gélatinase :

Dans cette étude, la production de gélatinase a été testée sur le milieu gélosé BHI contenant 10 g/l de peptone et 30 g/l de gélatine, conformément au protocole de **Rivas et al. (2012)**. La surface du milieu est ensemencée avec 0.1 ml de chaque culture des lactobacilles précédemment préparée. Après incubation à 30 °C pendant 24-48 h, les boîtes ont été placées à 4 °C pendant 5 h avant l'examen de la zone de turbidité autour des colonies indiquant l'hydrolyse de la gélatine. Dans cette essai, la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a été utilisée comme témoin positif. Chaque teste est répété deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

1.6. Le pouvoir d'antibiorésistance :

Pour étudier l'antibiorésistance des *Lactobacillus* spp., sept antibiotiques ont été choisis pour cette étude : Rifampicine (R, 30 µg), Penicilin-G (P, 10 µg), Tetracycline (TE, 30 µg), Ampicilline (Amp, 10 µg), Vanomycine (VA, 30 µg), Erythomycin (E, 15 µg), et Chloromphenicol (C, 30 µg), utilisant la méthode de diffusion en disque sur gélose décrite par **NCCLS (2004)**. Pour chaque isolat, des cultures bactériennes (Zb7, Sm2 et Lb3) ont été préparées dans un bouillon MRS à 30°C pendant 24h. Après l'incubation, 0.5 ml de chaque culture ont été transférées dans 10 ml d'eau physiologique (0.9 %) pour obtenir une suspension bactérienne de 10⁸ UFC/ml. Ensuite, 0.1 ml de la suspension bactérienne précédemment préparée a été ensemencée en surface du milieu gélosé MRS. À l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques ont été déposés sur le milieu MRS agar. Après incubation des boîtes à 30°C pendant 24-48 heures, les zones d'inhibitions ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse et les résultats de la lecture sont exprimés en millimètre (mm). Notons que, chaque boîte est répétée deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale. Ce protocole est simplifié dans la figure 5 :

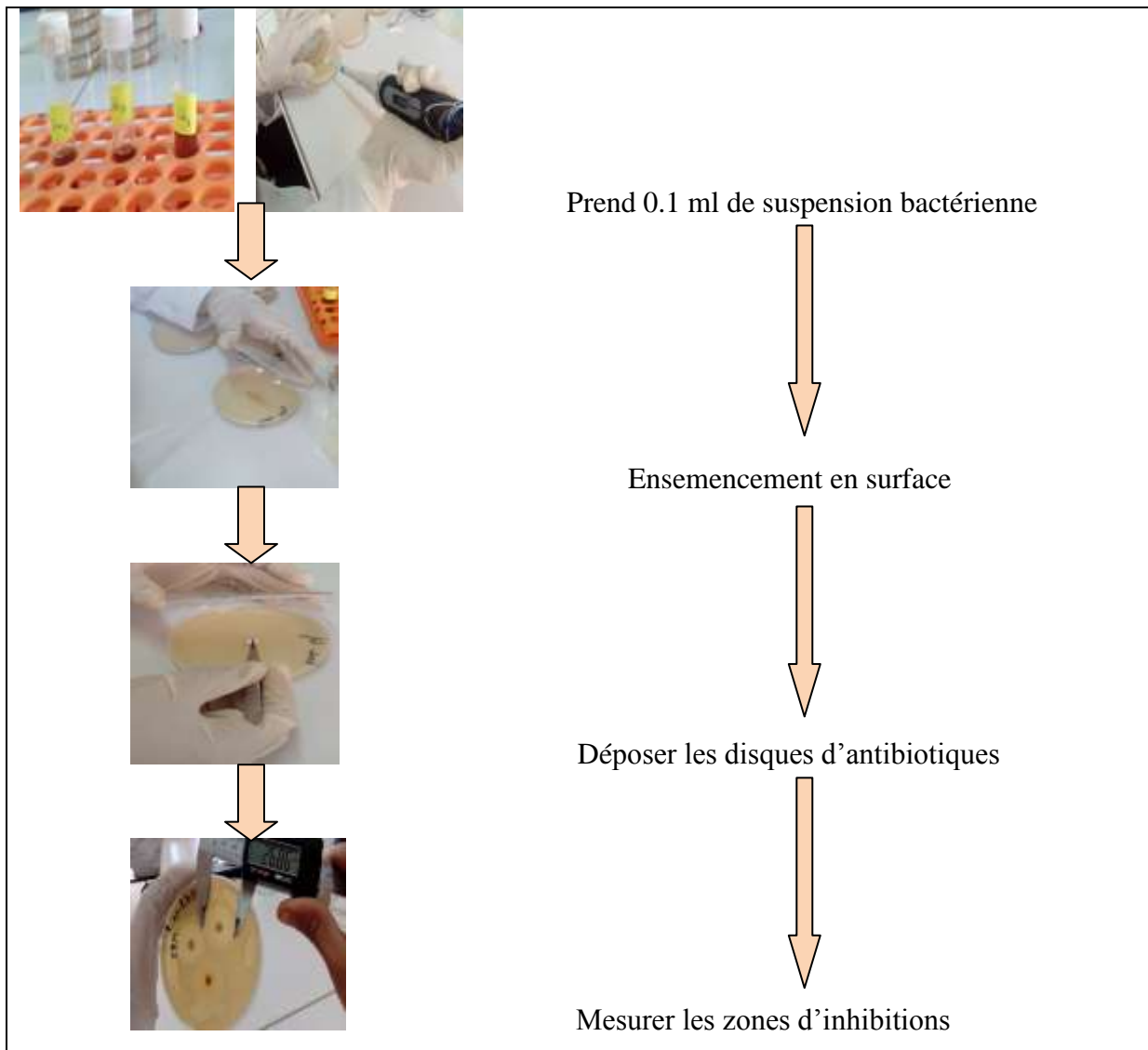


Figure 5: Protocole de l'étude du pouvoir d'antibiorésistance de *Lactobacillus* spp. sur milieu MRS agar.

1.7. L'activité hémolytique :

Le pouvoir hémolytique des lactobacilles a été mis en évidence par la méthode de **DeVuyst et al. (2003)**. La surface de la gélose au sang additionnée du sang humain à 7% (v/v) estensemencée en surface avec 0.1 ml de chaque suspension bactérienne (Zb7, Sm2 et Lb3) précédemment préparée. Après incubation à 30°C pendant 24-48 h, l'activité hémolytique est interprétée comme suit :

- Absence de réaction hémolytique autour des colonies (absence d'hémolyse): γ hémolytique,

Matériels et Méthodes

- La présence d'une zone claire d'hydrolyse autour des colonies (hémolyse totale): β hémolytique,
- La présence d'une couleur verte autour des colonies (hydrolyse partielle): α hémolytique.

Notons que, dans cet essai la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été utilisée comme un témoin de β hémolyse, et chaque boîte est répétée deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale. Cette méthode est résumée dans la figure 6:



Figure 6: Protocole de l'étude de l'activité hémolytique des *Lactobacillus* spp.

1.8. L'activité antimicrobienne:

Le pouvoir antimicrobien des lactobacilles a été testé vis-à-vis quatre souches de référence suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, proviennent de la collection du Laboratoire Régional Vétérinaire de Laghouat. *Penicillium expansum* MUCL 29192 est une souche de référence provient de la collection BCCM (Belgian Co-ordinated Collection of Micro-organisms), tandis que la souche fongique *Aspergillus parasiticus* CBS 100926 provient de la collection CBS culture collection of micro-organisms.

1.8.1. Préparation des suspensions bactériennes :

Pour avoir des cultures jeunes, les deux bactéries pathogènes ont été cultivées dans le bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) pendant 24 heures à 37 °C. Ensuite, 100 μ l de chaque culture ont été transférées dans 10 mL de solution saline stérile 0.9%. La densité optique (DO) a été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (biochrom Libra S6) à une longueur d'onde $\lambda=620$ nm pour obtenir une suspension de stock d'environ 10^8 UFC/mL.

1.8.2. Préparation des suspensions fongiques :

Pour chaque souche fongique testée, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture de 7-14 jours en milieu PDA à 25°C. Les spores ont été récupérées en imbibant un écouvillon stérile avec l'eau physiologique et le transféré dans 3 mL de solution saline stérile 0.9%. Ensuite, la densité optique a été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (biochrom Libra S6) à une longueur d'onde $\lambda=530$ nm pour obtenir une suspension de stock de $0.4-5 \times 10^6$ spores/ml.

1.8.3. Préparation de surnageant des lactobacilles :

L'activité antimicrobienne vis-à-vis les bactéries et les moisissures pathogènes a été déterminée par la méthode de diffusion en puits sur gélose décrite par **Magnusson et al., (2001)**. Brièvement, les isolats de lactobacilles sélectionnés pour cette étude (Zb7, Sm2 et Lb3) sont ensemencés dans des tubes contiennent un bouillon MRS et incubés à 30°C pendant 24-48h. Ensuite, les surnageants ont été obtenus par centrifugation de cultures de lactobacilles à 12000 rpm pendant 10 min à l'aide de centrifugeuse (eppendorf 5415 D, 22331Humberg), puis les surnageants ont été récupérés à l'aide d'une seringue et filtrés sur un filtre Millipore de 0.45 μm . Enfin, les extraits bactériens ont été conservés dans le congélateur du laboratoire à -18°C jusqu'à l'analyse.

1.8.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne :

Des puits (diamètre de 5 mm) ont été creusés à l'aide des emboues bleus dans le milieu gélosé BHI agar contenant 10^6 UFC/ml des souches bactériennes cibles, ainsi que dans le milieu PDA contenant $0.4-5 \times 10^4$ spores/ml des souches fongiques testées. Ensuite, 100 μl de surnageants ont été déposés dans ces puits (voir Figure 07). Après incubation des boîtes à 37°C pendant 24-48 h, les zones d'inhibition ont été notées et exprimées comme suit:

- ++, forte inhibition avec des zones claires détectables autour des puits,
- +, faible inhibition autour des puits,
- -, pas de zone d'inhibition.

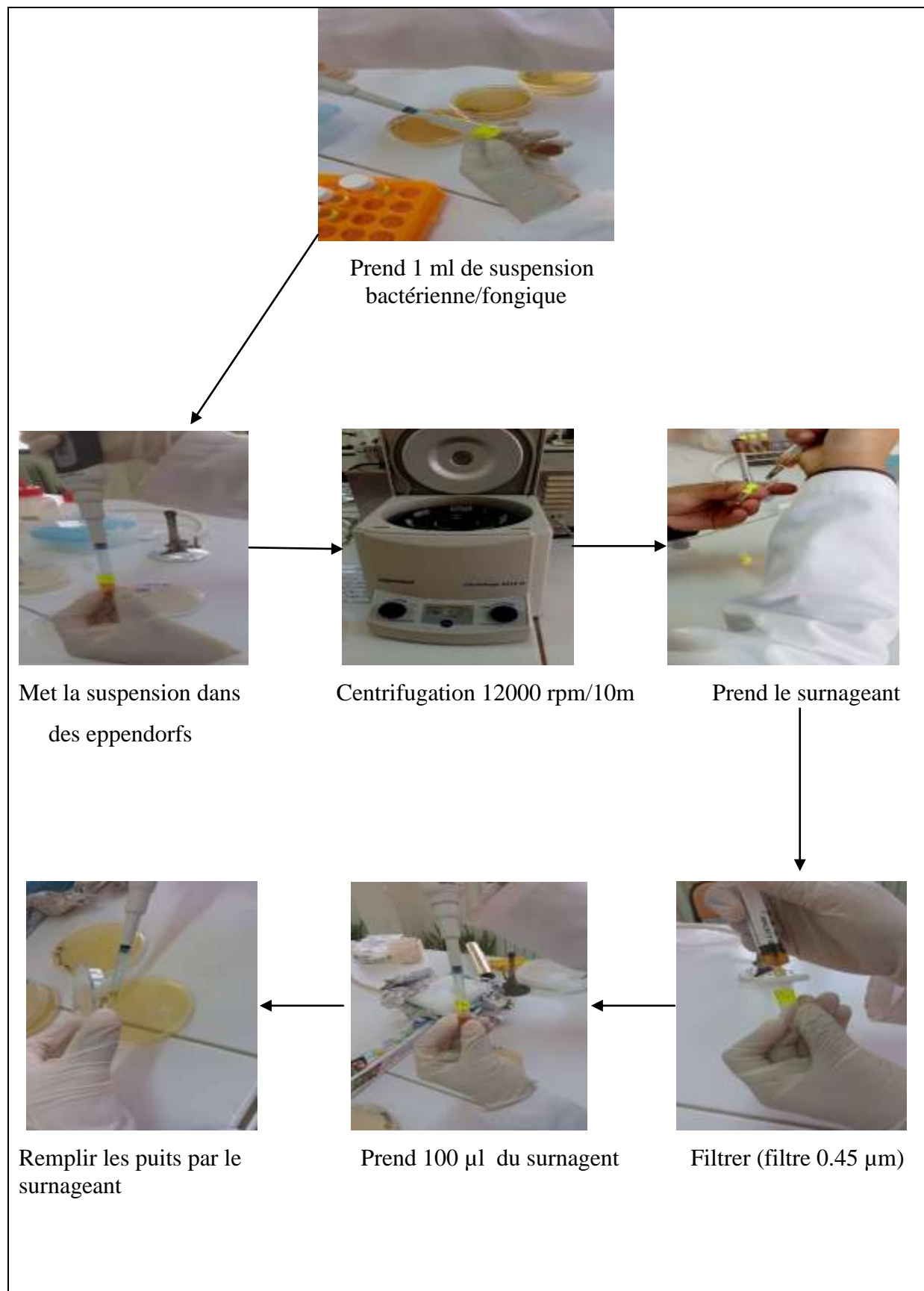


Figure 7: Protocole de la méthode des puits utilisés pour la recherche de l'activité antimicrobienne des *Lactobacillus* spp.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion :

1.1. Résultats :

Avant d'étudier le pouvoir technologique des trois isolats de *Lactobacillus* spp. (Zb7, Sm2 et Lb3) d'origine alimentaire, Ils sont re-testés par la coloration de Gram et la catalase. Ces isolats sont révélés des bacilles, Gram positives et catalase négative (Figure 8).



Figure 8 : Aspect microscopique des isolats de *Lactobacillus* spp. cultivés dans le milieu gélosé MRS après coloration de Gram ($\times 1000$) (Photo personnelle).

1.1.1. Résistance au pH acide et aux sels biliaries :

- **Résistance au pH acide :**

Les résultats de la résistance des isolats de lactobacilles (Zb7, Sm2 et Lb3) au pH 4 sont présentés en détails dans le tableau 4 et la figure 9. Avec une légère variation en fonction de l'espèce de *Lactobacillus*, les isolats testés ont été bien poussés en milieu acide à pH 4, ce qui a révélé une croissance rapide après 8 h d'incubation pour les deux isolats Lb3 et Zb7 (voir tableau 4). Néanmoins, l'isolat Sm2 a affiché un temps de tolérance pour s'adapter au pH acide, puis a commencé la croissance avec une légère augmentation après 12 d'incubation. Elle atteint sa valeur maximale de 1.1×10^9 UFC/ml équivalent d'une DO_{600} égale 1.45 après 24 d'incubation. Notons que, l'isolat *Lactobacillus* spp. Lb3 semble être la plus résistante au pH 4, car sa croissance en milieu acide est plus rapide par rapport aux autres isolats testés. Elle atteint une valeur maximale de 2×10^9 UFC/ml équivalent d'une DO_{600} égale 2.49 seulement après 6 heures d'incubation. Donc, on remarque que toutes les *Lactobacillus* spp. testées montrent une

Résultats et discussion

résistance considérable au pH 4 durant le temps d'incubation où leur croissance se stabilise après 16 heures d'incubation en milieu acide.

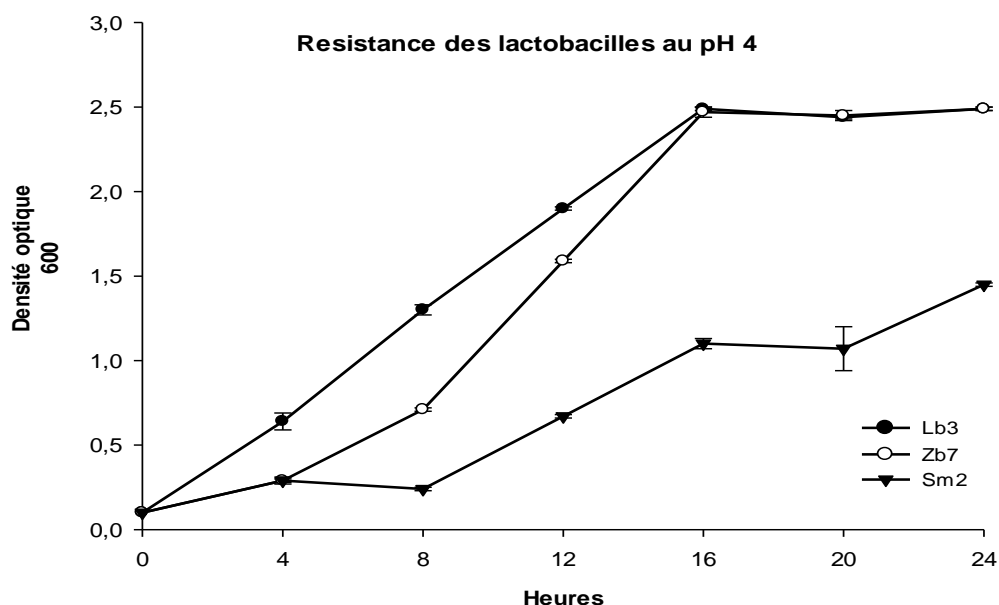


Figure 9: Résistance des lactobacilles au pH acide.

Tableau 4: Résultats de la résistance des isolats de *Lactobacillus* spp. au pH acide à la DO₆₀₀ exprimés en moyenne ± écart-type.

Isolats/Heurs	0h	4h	8h	12h	16h	20h	24h
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	0,1	0,64 ± 0,05	1,30±0,03	1,90±0,01	2,49± 0,01	2,44 ±0,01	2,49 ± 0,01
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	0,1	0,29 ± 0,01	0,71±0,01	1,59 ± 01	2,47 ±0,03	2,45 ± 0,03	2,49 ± 0,01
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	0,1	0,29 ± 0,02	0,24±0,01	0,67±0,01	1,1 ±0,03	1,07 ±0,13	1,45±0,01

- **Résistance aux sels biliaires :**

Les résultats de la résistance des isolats de lactobacilles (Zb7, Sm2 et Lb3) aux sels biliaires à 0.3% sont illustrés et détaillés dans la figure 10 et le tableau 5 :

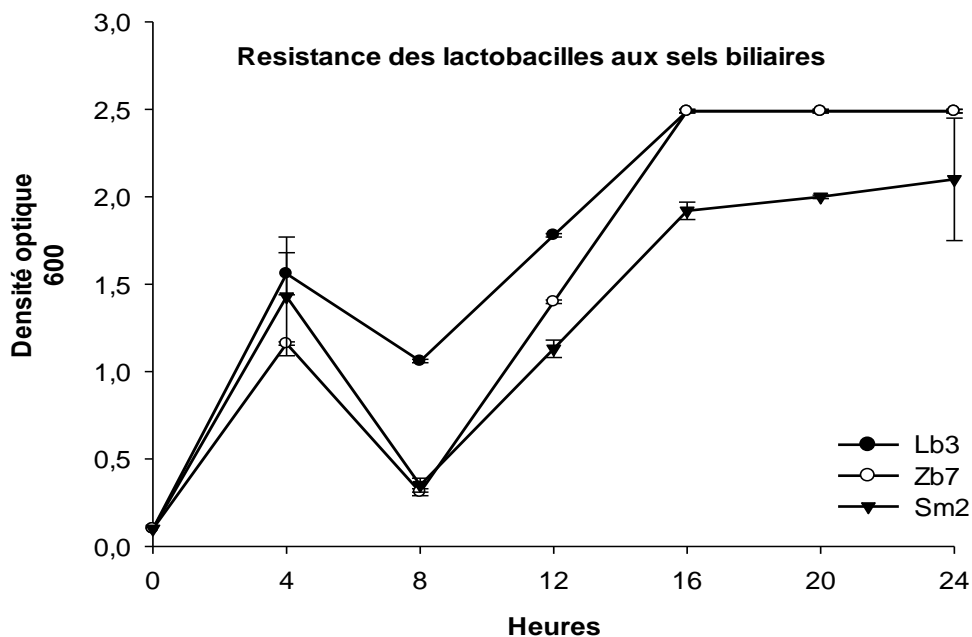


Figure 10 : Resistance des lactobacilles aux sels biliaries à 0.3%.

Dans cet essai, les isolats testés ont été bien poussés en présence des sels biliaries à 0.3%, ce qui a révélé une croissance rapide après 4 h d'incubation, suivis d'une chute importante et diminution rapide de la croissance des lactobacilles après 8 d'incubation, surtout pour les isolats Zb7 et Sm2. Cependant, tous les isolats ont affiché un temps de tolérance pour s'adapter aux sels biliaries, puis ont commencé la croissance avec une augmentation rapide après 12 d'incubation. Donc, on remarque que toutes les *Lactobacillus* spp. testées montrent une résistance considérable aux sels biliaries durant le temps d'incubation où leur croissance se stabilise après 16 heures d'incubation. Notons que, l'isolat *Lactobacillus* spp. Lb3 semble être la plus résistante aux sels biliaries, car sa croissance est plus rapide par rapport aux autres isolats testés. Elle atteint une valeur maximale de 2×10^9 UFC/ml équivalent d'une DO₆₀₀ égale 2.49 seulement après 16 d'incubation. Néanmoins, l'isolat Sm2 a montré une sensibilité considérable aux sels biliaries pendant 8 d'incubation, puis elle a commencé la croissance avec une légère augmentation qu'après 12 d'incubation. Elle atteint sa valeur maximale de 1.68×10^9 UFC/ml équivalent d'une DO₆₀₀ égale 2.1 après 24 d'incubation.

Résultats et discussion

Tableau 5: Résultats de la résistance des isolats de *Lactobacillus* spp. aux sels biliaires à la DO₆₀₀ exprimés en moyenne \pm écart-type.

Isolats/Heurs	0h	4h	8h	12h	16h	20h	24h
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	0,1	1,56 \pm 0,12	1,06 \pm 0,01	1,78 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	0,1	1,16 \pm 0,00	0,31 \pm 0,02	1,40 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01	2,49 \pm 0,01
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	0,1	1,43 \pm 0,34	0,35 \pm 0,04	1,13 \pm 0,05	1,92 \pm 0,05	2 \pm 0,02	2,1 \pm 0,35

2.1.1. La production des amines biogènes (histamine et tyramine) :

Les résultats de production des amines biogènes sont rassemblés dans le tableau 5. Après l'incubation des isolats de *Lactobacillus* spp. dans les deux milieux TDA et HDA à 30 °C pendant 24-48 h, aucun halo violet n'a été observé sur les boîtes incubées, ce qui indique une réaction négative de la production d'amines biogènes dans les milieux HDA ou TDA. Notons que, un témoin positif a été utilisé dans cet essai représenté par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.1.2. La production de Gélatinase :

Les résultats de production de gélatinase sont présentés dans le tableau 6 et figurer dans la photo 01. Après l'incubation des isolats de *Lactobacillus* spp. dans le milieu BHI contenant 10 g/l de peptone et 30 g/l de gélatine à 30 °C pendant 24-48 h, aucune zone de turbidité autour des colonies n'a été détectée sur les boîtes refroidies à 4 °C pendant 5 h, ce qui indique une réaction négative de l'hydrolyse de la gélatine. Dans cet essai, la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a été utilisée comme témoin positif.

Tableau 6 : Résultats de pouvoir de décarboxylation d'amines biogènes (histamine et tyramine) et de production de gélatinase.

Isolats	Tyramine	Histidine	Gélatinase
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	–	–	–
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	–	–	–
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	–	–	–

– : Absence de production.



Photo 31 : Absence de production de gélatinase par les isolats de lactobacilles testés.

1.1.3. Le pouvoir antibiorésistance :

Les résultats de test d'antibiorésistance des isolats de lactobacilles (Zb7, Sm2 et Lb3) sélectionnés pour cette étude sont rassemblés dans le tableau n°7 et la photo n° 02. La sensibilité des trois isolats a été évaluée sur milieu MRS agar, utilisant la méthode de diffusion en disque sur gélose décrite par la norme NCCLS (2004).



Figure 14 : Les zones de sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques mesurées à l'aide de pied à coulisse.

Selon cette norme présentée dans le tableau ci-dessous, nos résultats montrent que tous les isolats de lactobacilles testés sont sensibles à la pénicilline, l'ampicilline, l'érythromycine, et le chloramphénicol. Cependant, tous les isolats de lactobacilles testés sont résistants au vancomycine, à l'exception de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 qui a montré une sensibilité considérable à cet antibiotique. De plus, l'isolat *Lactobacillus* spp. Lb3 a montré une réponse intermédiaire à la tétracycline et une sensibilité aux autres antibiotiques, tandis que l'isolat *Lactobacillus* spp. Zb7 a présenté une réaction intermédiaire à la rifampicine, mais sensibilité considérable aux autres antibiotiques (voir Annexe 2).

Résultats et discussion

Tableau 7 : Résultat du test antibiorésistance des lactobacilles sélectionnés pour cette étude.

Isolats	TE ^a	Amp	E	C	P	R	VA
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	I ^b	S	S	S	S	S	R
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	S	S	S	S	S	I	R
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	S	S	S	S	S	S	S
Resistante (R)	≤14 ^c	≤16	≤13	≤17	≤14	≤16	≤14
Intermediaire (I)	15–18	–	14–22	18–20	–	17–19	15–16
Sensible (S)	≥19	≥17	≥23	≥21	≥15	≥20	≥17

^a TE :Tétracycline 30 µg; Amp :Ampicilline, 10 µg; E :Erythromycine 15µg; C : Chloromphenicol 30 µg; P: Pénicilline G 10µg; R : Rifampicine 30 µg; VA :Vancomycine 30µg

^b I : intermédiaire; S : sensible; R : résistant

^c Les valeurs critiques sont exprimées en millimètre (mm) selon la norme NCCLS (2004)

1.1.3. L'activité hémolytique :

Un autre rôle important dans la virulence des lactobacilles est la production d'hémolysine par ces bactéries, qui est considérée comme un facteur de risque pour la santé humaine. Le tableau n°08 montre résultats de l'activité hémolytique des isolats de *Lactobacillus* spp. sélectionnés pour cette étude. Cette activité hémolytique des isolats de lactobacilles (Zb7, Sm2 et Lb3) a été mise en évidence par la gélose au sang additionnée du sang humain à 7% (v/v) et les résultats montrent qu'aucune réaction hémolytique (γ hémolyse) n'a été détectée dans les lactobacilles testés.

Tableau 8 : Résultat de l'activité hémolytique des lactobacilles sélectionnés pour cette étude.

Isolats	Activité hémolytique
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	γ
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	γ
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	γ

Résultats et discussion

1.1.4. L'activité antimicrobienne :

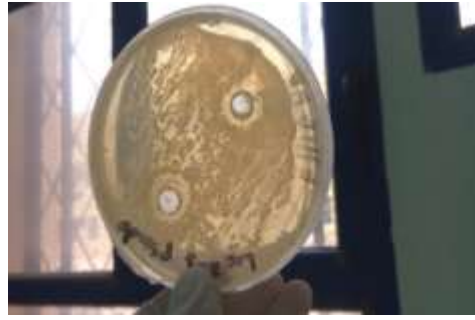
L'activité antimicrobienne est l'une des caractéristiques intéressantes des bactéries lactiques, car elles ont la capacité de ralentir et d'inhiber l'activité et la croissance des bactéries et des moisissures pathogènes par la production de facteurs inhibiteurs, notamment les bacteriocines. Les résultats de l'effet inhibiteur des trois isolats de *Lactobacillus* spp. contre quatre souches de références, deux souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et deux souches fongiques pathogènes (*Penicillium expansum* MUCL 29192, *Aspergillus parasiticus* CBS 100926), sont présentés dans le tableau ci-dessous avec des figures montrant les zones d'inhibitions.

Tableau 9: Résultat de l'activité antimicrobienne des *Lactobacillus* spp. sélectionnés pour cette étude.

Isolats	<i>S. aureus</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. expansum</i> MUCL 29192	<i>A. parasiticus</i> CBS 100926
<i>Lactobacillus</i> spp. Lb3	++	+	++	++
<i>Lactobacillus</i> spp. Zb7	–	++	++	+
<i>Lactobacillus</i> spp. Sm2	–	–	++	+

++, forte inhibition avec des zones claires détectables autour des puits; +, faible inhibition autour des puits; –, pas de zone d'inhibition

L'activité antimicrobienne vis-à-vis les microorganismes pathogènes a été recherchés par la méthode de diffusion en puits sur gélose. Tous les surnageants de *Lactobacillus* spp. testés ont inhibé totalement la croissance de *P. expansum*. L'isolat *Lactobacillus* spp. Lb3 présente une forte inhibition avec des zones claires détectables autour des puits sur la croissance de *S. aureus*, et *A. parasiticus*, tandis qu'une faible inhibition a été exercée sur la croissance de *P. aeruginosa*. Par contre, le surnageant de *Lactobacillus* spp. Zb7 a montré une faible inhibition sur la croissance *A. parasiticus*, alors que *P. aeruginosa* a été inhibée totalement par ce dernier. Cependant, l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 présente l'activité antimicrobienne la plus faible, car le surnageant de cet isolat a inhibé seulement la croissance de *A. parasiticus*. De plus, la bactérie *S. aureus* a montré une résistance considérable à l'égard des surnageants des isolats Zb7 et Sm2, tandis que *P. aeruginosa* a résisté seulement à l'activité de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2.



Photos 03 : Les zones d'inhibitions des isolats de *Lactobacillus* spp. vis à vis les souches pathogènes (Staph) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, (Pseudo) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (PE) *Penicillium expansum* MUCL 29192 et (AP) *Aspergillus parasiticus* CBS 100926.

1.2. Discussion :

L'une des conditions principales pour la viabilité d'une souche est de survivre au passage dans l'estomac (**Poolman et al., 1991**), parmi les contraintes qui affectent à la viabilité de nos isolats de lactobacilles est l'acidité gastrique. (**Bahri, 2014**) a rapporté les mêmes résultats obtenues dans la présente étude à travers ses tests sur des souches des lactobacilles (*L. plantarum* F12, *L. paracasei* B13, *L. fermentum* H2, *L. brevis* G6, *L. paracasei* sp *paracasei* A20 et *L. acidophilus* 8*) qui sont acido- résistantes. Nos résultats ont montré que l'isolat Lb3 est la plus résistante au pH acide, suivi de Sm2 puis Zb7, ce qui laisse à suggérer sa capacité à transiter l'estomac et atteindre le niveau intestinal. Les lactobacilles sont naturellement bien adaptés à des pH bas par leur production d'acide(s) organique(s) lors de la fermentation lactique. Par conséquent, chez l'homme, après ingestion, les lactobacilles rencontrent un autre environnement acide, et certaines souches peuvent s'adapter au pH stomacal très bas (**Van de Guchte et al., 2002**). Les lactobacilles peuvent réagir au stress acide par trois mécanismes (**Lim et al., 2000**) : (1) en limitant l'entrée des acides dans leur cytoplasme, (2) en alcalinisant le milieu intracellulaire grâce aux ATPases (**Poolman et al., 1991**) et (3) en protégeant les macromolécules contre les dérivés chargés par les protéines chaperonnes dont la fonction est d'assister d'autres protéines en assurant un repliement spatial adéquat (**Lim et al., 2000**).

La résistance aux sels biliaries est une caractéristique importante qui permet aux lactobacilles de survivre, multiplier et rester actifs dans l'intestin grêle (**Hyronimus et al., 2000**). Les lactobacilles sont capables de métaboliser les acides biliaries ce qui les protèges contre la bile. L'un des mécanismes de cette résistance : est la déconjugaison des acides biliaries par les enzymes *hydrolases* des sels biliaries (BSH). Cette hydrolyse libère les glycines et/ou les taurines du noyau stéroïde ce qui a pour effet de diminuer la solubilité de la bile à pH bas et de réduire ses activités détergentes (**Begley et al., 2006 ; Hamon et al., 2011**). Un autre mécanisme responsable de la résistance des lactobacilles aux sels biliaries est l'extrusion de la bile. Ce mécanisme est réalisé grâce aux systèmes *multidrug resistance* (MDR). Les MDR sont responsables de la résistance à de nombreux composés toxiques comme les antibiotiques, les solvants organiques, les détergents et les sels biliaries (**Pfeiler et al., 2009**). Notre étude a révélée que toutes les *Lactobacillus* spp. testées montrent une résistance considérable aux sels biliaries durant le temps d'incubation où leur croissance se stabilise après 16 heures d'incubation. **Song et al. (2015)** et **Adour et al. (2016)** ont montré une tolérance et une croissance de certaines souches de *Lactobacillus* spp. testés sur MRS additionné de 0.3% de sels biliaries. Cependant, **Burns et al. (2008)** ont montré que la plus part des souches de *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et

Résultats et discussion

Lb. delbrueckii ssp. *lactis* sont sensibles aux sels biliaires. Chez l'homme, les acides biliaires inhibent la prolifération de bactéries dans l'appareil digestif par désassemblage des membranes biologiques. La concentration physiologique de la bile humaine est comprise entre 0.3% et 0.5% (Song et al., 2015). En outre, le temps de passage est suggéré être de 4 heures (Parasad et al., 1998).

Pour de nombreux aliments, la formation d'amines biogènes peuvent être un problème de santé humaine, car ces composés peuvent causer des intoxications alimentaires (Askar et al., 1986 ; FAO, 2014). Les microorganismes producteurs d'amines biogènes peuvent être des contaminants, ou largement utilisés dans l'industrie laitière comme des ferments lactiques (Fernandez et al., 2004; Bonnin-Jusserand et al., 2012). Plusieurs souches appartenant de genres *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* sont producteurs des amines biogènes c'est-à-dire sont capables de décarboxyler les acides aminés, mais cette productivité dépend des nombreux facteurs tels que la température et le pH de l'environnement, l'Aéro/anaérobiose, les sources de carbone disponibles (par exemple : le glucose), la présence des facteurs de croissance et la phase de croissance cellulaire (Buncova et al., 2009). En effet, la réaction de décarboxylation des acides aminés à des amines biogènes fournit une force motrice de proton composée d'un gradient de pH (alcalin à l'intérieur de la cellule) et d'un potentiel électrique membranaire (négative à l'intérieur). Ce mécanisme a été décrit dans *Lactobacillus buchneri* (Molenaar et al., 1993) pour la production d'histamine et plus récemment dans *Lactobacillus brevis* pour la conversion de la tyrosine en tyramine (Wolken et al., 2006). On peut les trouvées dans les poissons et ces dérivées avec des aliments fermentés et des boissons telles que le fromage et le vin contenir des concentrations élevées des amines biogènes, parmi les amines biogènes les plus importants sont l'histamine et la tyramine (Linares et al., 2011). La tyramine et l'histamine sont les principales amines bioactives associés à des effets néfastes sur la santé, ces effets peuvent apparaître en cas d'ingestion élevée de ces amines ou lorsque le produit à une capacité de les métaboliser. Dans ces circonstances, ils s'accumulent dans le plasma et exercent des effets bioactifs (Paulsen et al., 2012). Les symptômes associés à cette intoxication sont similaires aux allergies, caractérisés par des effets neurologiques et détresses gastro-intestinaux aiguë tels que maux de tête, nausées, vomissements, diarrhée, prurit cutané, affleurement et urticaire, et hypotension. Dans la présente étude, le pouvoir de production des amines biogènes (histamine et tyramine) a été recherché. Les résultats obtenus montrent l'absence de production d'amines biogènes (histamine et tyramine) par les *Lactobacillus* spp. testées, ce qui pourrait signifier que nos isolats ne causerons pas des

Résultats et discussion

intoxications alimentaires. Cependant, **Joosten et al. (1989)** ont examinés quinze fromages au lait cru pour détecter la présence des lactobacilles décarboxylantes d'histidine et de tyrosine dans un milieu de dépôt différentiel. Cinq des souches de *Lactobacillus buchneri* décarboxylantes d'histidine et une souche de *Lactobacillus brevis* décarboxylante de tyrosine, mais (**Buncova et al., 2009**) ont testées la production de tyramine chez 39 souches de bactéries lactiques appartenant des genres (*Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*), par trois méthodes d'analyse (chromatographie d'échange ionique (IEC), PCR et méthode de culture avec indicateur de pH). Ils ont détectée la production de tyramine chez huit souches seulement.

La gélatinase est un métalloprotéinase (type de protéine) très important de groupe divers, ces enzymes sont largement utilisées non seulement dans les industries chimiques et médicales, mais aussi dans les sciences biologiques fondamentales et alimentaires (**Vandooren et al., 2013**). Cette enzyme est produite par un microorganisme hydrolysant la gélatine en sous composés (polypeptides, peptides et acides aminés) pouvant traverser la membrane cellulaire et être utilisés par l'organisme (**Joyce et al., 2017**). Les formes de gélatinases sont exprimées dans plusieurs bactéries, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*...etc (**Lee et al., 2008**). L'enzyme gélatinase est considérée comme un facteur de virulence, car elle peut hydrolyser les collagènes qui initient une réponse inflammatoire (**Barbosa et al., 2010**). La production de gélatinase a augmenté la pathogénicité chez un modèle animal (**Singh et al., 1998**). Cependant, dans la présente étude, tous lactobacilles testés en milieu BHI agar additionnés de 30 g de gélatine et 10 g de peptone étaient non gélatinolytiques.

Dans la sécurité sanitaire des aliments, un autre aspect important des probiotiques destinés à l'homme est le profil de la résistance aux antibiotiques (**Salminen et al., 1998**). La résistance bactériennes aux antibiotiques est naturelle mais peut être acquise chez certaines souches après modification de leur équipement génétique chromosomique ou plasmidique (**Ammor et al., 2008**). Les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique ou synthétique, souvent utilisés autant que médicaments pour empêcher la multiplication des bactéries (bactériostase) ou entraîner leur destruction (bactéricide) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie bactérienne. Cependant, la capacité de ces dernières à survivre et à s'adapter rapidement aux conditions environnementales parfois extrêmes notamment en présence d'antibiotiques, qui conduit à l'apparition de plusieurs germes à matériel génétique très évolué et diversifié résistants aux différents traitements d'antibiotiques (**Mathur et al., 2005**). Dans le présent travail, la résistance aux antibiotiques des trois isolats de *lactobacillus* spp. a été testée vis-à-vis de 7 antibiotiques,

Résultats et discussion

Ces antibiotiques appartiennent à six familles différentes, celle des bêta-lactamines (ampicilline, pénicilline G), des tétracyclines, des glycopeptides (vancomycine), des macrolides (erythromycine), des rifamycines (rifampicine) et des phénicolés (chloromphenicol). Tous les isolats de lactobacilles testés sont résistants à la vancomycine, à l'exception de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 qui a montré une sensibilité considérable à cet antibiotique. D'après **Temmerman et al. (2002)**, les lactobacilles et les autres genres des bactéries lactiques ont été signalés d'avoir une haute résistance naturelle à la vancomycine, une propriété qui est utile pour les séparer des autres bactéries à Gram positif (**Mathur et al., 2005 ; Ammor et al., 2007 et Sharma et al., 2016**). Selon ces auteurs, les espèces hétérofermentaires de lactobacilles sont naturellement résistantes à la vancomycine, alors que les espèces homofermentaires sont sensibles à cet antibiotique. Deux sur trois isolats testés sont hétérofermentaires ce qui concorde avec ces données. De plus, nos résultats montrent que tous les isolats de lactobacilles testés sont sensibles à la pénicilline, l'ampicilline, l'erythromycine, et le chloramphénicol. Des études ont rapporté que les lactobacilles sont généralement sensibles aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines, comme le chloramphénicol, l'érythromycine, la clindamycine et les tétracyclines (**Temmerman et al., 2002**) et sensibles aux antibiotiques inhibiteurs de la paroi bactérienne ou bêta lactamines comme la pénicilline, l'ampicilline et l'oxacilline (**Charteris et al., 1998; Baddour et al., 2004; D'Aimmo et al., 2005 et Kacem et al., 2006**). Cependant, certains chercheurs ont signalé des cas de résistances de *Lactobacillus* à ces antibiotiques (**Herrerros et al., 2005 ; Liasi et al., 2009 ; Khemariya et al., 2013 et Belkheir, 2017**). Cette susceptibilité aux antibiotiques enregistrées dans cette étude pourrait être liées à la concentration de chaque antibiotique d'où la nécessité de tester plusieurs concentrations pour confirmer ces résultats (**Mathur et al., 2005**).

La détermination de l'activité hémolytique est l'une des exigences de sureté des souches probiotiques. Les microorganismes probiotiques doivent être dénués de toutes formes de pathogénicité (**FAO/OMS, 2002**). En effet, les probiotiques sont des organismes vivants et de ce fait, ils peuvent être responsables théoriquement d'effets secondaires comme des risques d'infections systémiques (**Salminen et al., 1998**). L'hémolyse consiste en la destruction des globules rouges présents dans le sang. L'hémoglobine libérée lors de cette destruction colore le sérum ou le plasma, plus ou moins fortement selon son degré, en rouge orangé. Dans la présente étude, tous les isolats testés ont présenté une γ -hémolyse (non hémolytiques) ce qui indique l'aspect sécuritaire de nos isolats. Ces résultats sont en accord avec les observations rapportées

Résultats et discussion

par **(Bahri, 2014)** sur des souches de lactobacilles : *L. plantarum* F12, *L. brevis* G6 et *L. paracasei* B13 cultivées sur gélose columbia au sang humain.

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques sont dérivées de la concurrence pour les nutriments et la production d'un ou plusieurs métabolites antimicrobiennes actifs tels que les acides organiques (principalement l'acide lactique et l'acide acétique), le diacétyl le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines et les peptides antifongiques **(Onda et al., 2003)**. **Annuk et al. (2002)** et **Fernandez et al. (2002)** ont démontré clairement dans leurs études que plusieurs espèces de lactobacilles sont largement efficaces dans l'inhibition des microorganismes pathogènes. Les bactériocines sont produites par la plupart des genres des bactéries lactiques y compris *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostocs*, *Streptococcus* et *Enterococcus* **(Grosu-Tudor et al., 2014)**. L'activité antibactérienne des LAB peut être due à la production d'acides organiques, avec une réduction consécutive du pH, ou à la production de peroxyde d'hydrogène. Elle s'explique par leur diffusion passive à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée et l'acidification du cytoplasme après dissociation qui se traduit par l'inhibition de l'activité enzymatique cellulaire des pathogènes acidosensibles. Le peroxyde d'hydrogène est toxique et capable d'inhiber de nombreux germes pathogènes **(Otero et al., 2006)**. L'inhibition de la croissance des pathogènes peut également s'effectuer par un processus de restriction des nutriments. Il est évident que la capacité des microorganismes à entrer en compétition pour limiter les nutriments disponibles est un facteur non négligeable qui détermine la composition du microbiote. Ainsi, une augmentation du nombre de lactobacilles obtenue lors d'un traitement probiotique permettrait de diminuer les substrats disponibles pour l'implantation de microorganismes pathogènes **(Fooks et al., 2002)**. Dans la présente étude, tous les surnageants de *Lactobacillus* spp. testés ont inhibé avec des degrés variables la croissance des deux moisissures pathogènes *P. expansum* et *A. parasiticus*. Cependant, la bactérie *S. aureus* a montré une résistance considérable à l'égard des surnageants des isolats Zb7 et Sm2, tandis que *P. aeruginosa* a résisté seulement à l'activité de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2. L'activité antimicrobienne élevée notée dans le présent travail confirme de nombreux résultats indiquant des effets inhibiteurs de *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroi* contre des germes multirésistants appartenant à *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* **(Hernandez et al., 2005 ; Liasi et al., 2009; Maghnia, 2011 ; Benmechernene et al., 2013; Kermanshahi et al., 2014 et Belkheir, 2017)**. Selon **Batish et al. (1997)**, l'activité antifongique des bactéries lactiques semblait être liée aux acides lactique et acétique; et à l'acide propénoïque produit par l'acide propénoïque bactériale. **Vandenbergh et**

Résultats et discussion

al. (1989) a trouvé que le composé produit par *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* est une substance antifongique, polaire et de taille moléculaire inférieure à 1000 daltons, active contre *Penicillium oxalicum*, mais n'a pas de caractère protéinase ou lipidique. De plus, **Gourama et al.** (1997) ont démontré l'activité inhibitrice dans deux surnageant de *Lactobacillus casei* par la production d'acide lactique et de peroxyde d'hydrogène, sensible à la protéase et haute température (100°C). Plusieurs auteurs ont publié l'activité antifongique des souches de *Lactobacillus acidophilus* contre la croissance et la production d'aflatoxines d'*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* et *A. parasiticus*.

Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives :

Les lactobacilles ont une longue histoire d'utilisation dans l'industrie alimentaire dans le but de sélectionner de nouvelles souches de bactéries lactiques possédant des propriétés technologiques intéressantes dans différents domaines. Dans ce contexte, la présente étude a pour objectif d'étudier quelques aptitudes technologiques de trois isolats de *Lactobacillus* spp. isolées à partir des produits laitiers fermentés traditionnellement.

L'étude de la résistance des ces isolats au pH acide et aux sels biliaires a révélé que les trois isolats sont résistants à l'acidité avec une bonne tolérance des sels biliaires. De plus, aucune production des amines biogènes (histamine et tyramine) et de gélatinase n'a été détectée dans *Lactobacillus* spp. testées. Le test d'antibiorésistance a montré également une grande sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques testés. Cependant, tous les isolats de lactobacilles testés sont résistants à la vancomycine, à l'exception de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 qui a montré une sensibilité considérable à cet antibiotique. Dans cette étude, l'absence de l'activité hémolytique chez les lactobacilles testés devrait être considérée comme un critère de sélection important pour leur innocuité.

Par ailleurs, l'étude de leur pouvoir antimicrobien a révélé un profil d'inhibition intéressant chez les isolats vis-à-vis les quatre souches pathogènes testées responsables d'intoxications alimentaires. Cette activité inhibitrice peut résulter de différents mécanismes naturels tels que leur capacité de produire des métabolites actifs comme les bactériocines et les peptides antifongiques. Parmi les isolats de lactobacilles testés, un isolat (*Lactobacillus* spp. Sm2) a été sélectionné pour des études plus approfondies en fonction de leurs propriétés technologiques. Celles-ci comprenaient la résistance au pH acide et aux sels biliaires, l'absence de production d'amines biogènes, de gélatinase et d'hémolysine ainsi que l'effet antagoniste remarquable contre les bactéries et les moisissures testées, et plus particulièrement la grande sensibilité à la vancomycine, qui est considéré comme un problème de santé mondiale.

Enfin, cette étude primaire nécessite d'être poursuivie par d'autres travaux complémentaires et qui peuvent être envisagées comme perspectives :

- Confirmer génotypiquement les différents isolats de lactobacilles testés,
- Etudier d'autres aspects sécuritaires et technologiques tels que l'absence de facteurs de virulence, la confirmation génotypique de leur profil d'antibiorésistance et l'incorporation de ces bactéries dans des matrices alimentaires,
- Isoler et caractériser les composés antimicrobiens des lactobacilles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques



Abidi M. S. (2018). Isolement et identification des lactobacilles à partir des produits laitiers fermentés traditionnellement : Antibioresistance, activité antimicrobienne et hémolytique. *Mémoire de master en Agroalimentaire et contrôle de qualité*, Université Amar Theledji, Laghouat.

Adams M.R. et Moss M.O. (2000). Food Microbiology. *The Royal Society of Biochemistry éd. Second Edition*. chapter 5. Cambridge, UK , 318-323.

Adour S. et Dabouz k. (2016). Evaluation des aptitudes des probiotiques lactobacilles isolé beurre et du L'ben. *Mémoire de master microbiologie alimentaire et santé*, Université A. MIRA , Bejaia, 41-74.

Aiba Y., Suzuki N., Kabir A.M., Takagi A., Koga Y. (1998). Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *American Journal Gastroenterol*, 93, 2097-2101.

Ammor M.S. et Mayo B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as Functional starter cultures in dry sausage production. *Meat Science*, 76, 138-146.

Ammor M.S., Flórez A.B., Van Hoek A., de los Reyes-Gavilán C.G., Aarts H.J.M., Margolles A. et Mayo B. (2008). Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Journal Molecular Microbiology Biotechnology*, 14, 6–15.

Ammor S., Grégoire T., Dufour E., et Chevallier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 17, 454-461.

Annuk H.S., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M. et Mikelsaar M. (2002). Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidate. *Journal Applied Microbiology*, 94, 402- 412.

Askar A. et Treptow H. (1986). Biogene Amine in Lebensmitteln. *Ulmer Verlag, Stuttgart*, 32(4), 197.

Références bibliographiques

B

Baddour L. M., Yu V. L., Klugman K. P., Feldman C., Ortqvist A., Rello J., Morris A. J., Luna C. M., Snyderman D. R., Ko W. C., Chedid M. B. F., Hui D. S., Andremont A. et Chiou C. C. (2004). The International Pneumococcal Study Group Combination Antibiotic Therapy Lowers Mortality among Severely ill Patients with Pneumococcal Bacteremia. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine*, 170, 440-444.

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 & Technologie*, 23, 30-37.

Bahri F. (2014). Isolement et caractérisation des souches de lactobacilles caractère probiotique à partir de selles d'enfants. *Thèse de doctorat Microbiologie appliquée*, Université Constantine 1, 80- 147.

Barber M.F., et Elde N.C. (2014). Escape from bacterial iron piracy through rapid evolution of transferrin. *Science*, 346(6215), 6-136.

Barbosa S., Pratte D., Schwarz H., Pipkom R. et Singer-Kruger B. (2010). Oligomeric Dop1p is part of the endosomal Neo1p-Ysl2p-Arl1p membrane remodeling complex. *Research gate*, 11(8), 1092-106.

Batish V.K., Roy U., Lal R. et Grover S. (1997). Antifungal Attributes of Lactic Acid Bacteria - A Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17, 209-225.

Begely M., Hill C. et Gahan C.G.M. (2006). Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Application Environment Microbiology*, 72(3), 1729-1738.

Belkheir K. (2017). Caractérisation technologiques de nouvelles souches de bactéries isolées du lait de chamelle d'Algérie réalisation des ferments lactiques. *Thèse de doctorat en Génie microbiologique*, Université d'Oran 1 Ahmed Benbella, 131-198.

Benmecherrhene Z., Chentouf H. F., Yahia B., Ghazi F., Quintela-Baluja M., Calo-Mata J., et Barros-Velázquez J. (2013). Technological Aptitude and Applications of *Leuconostoc mesenteroides* Bioactive Strains Isolated from Algerian Raw Camel Milk. *BioMed Research International*. 2013, 14.

Bouvet A. (2004). Streptocoques-Entérocoques. Cours de Bactériologie Générale. *Centre National de Référence des Streptocoques, Hôtel Dieu, Université Paris VI*.

Références bibliographiques

Buncova L., Bukka F., Hlobilová M., Vakátková Z., Nováková D. et Dráb V. (2009). Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research Technology*, 229, 533–538.

Burns P., Vinderola G., Binetti A., Quiberoni A., de los Reyes-Gavilan C.G. et Reinheimer J. (2008). Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli. *International Dairy Journal*, 18, 377-385.

C

Cannon J.P., Lee T.A., Bolanos J.T. et Danziger L.H. (2005). Pathogenic relevance of *Lactobacillus* : a retrospective review of over 200 cases. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European society of clinical Microbiology*, 24(1), 31-40.

Cenatiempo Y., Robichon D., Gouin E., Debarbouille M., Cossart P. et Héchard Y. (1996). The rpoN (sigma54) gene from *Listeria monocytogenes* is involved in resistance to mesentericin Y105, an antibacterial peptide from *Leuconostoc mesenteroides*. *Journal of Bacteriology* ; 179, 7591-7594.

Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L. et Collins J.K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of Food Protection*, 61, 1636–1643.

Collins M.D., Phillips B.A. et Zanoni P. (1989). Deoxyribonucleic acid homology studies of *Lactobacillus prae-casei* sp. subsp. *prae-casei* and subsp. *paracasei* and subsp. *tolerans* and *Lactobacillus rhamnosus* sp. nov. *International Journal in Systematic Bacteriology*, 39,105-108.

D

D’Aimmo D et Modesto M. et Biavati B. (2007). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and Bifidobacterium spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 35-42.

De Man J.C., Rogosa M. et Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Application Bacteriology*, 23 (1), 130-135.

De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H. et Whitmanet W.B. (2009). Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*. *International Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes*, 3, 19-511.

Références bibliographiques

De Vuyst L., Foulquie Moreno M. R. et Revets H. (2003). Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin resistance in enterococci of different origins. *International Journal of Food Microbiology*, 84(3), 299-318.

Dellaglio F. et Felis G.E. (2007). Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 8(2), 44-61.

Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). *Lorica Uriage*, 1(2), 25-116.

Denis F., Ploy M. C., Marti C., Bengen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. *Elsevier Masson*, 105-108.

Desmazeaud M. (1996). Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, 331-343.

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

Drouault S. et Corthier G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research Communications*, 32 (2001), 101-117.

Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald D., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G.C., Shanahan F. et Collins J.K. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *American Journal Clinical Nutrition*, 73(2), 386-392.

E

Ehrmann M. A., Freiding S., et Vogel R. F. (2009). *Leuconostoc palmae* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from palm wine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 943-947.

El-Ziney, M.G, M Uyttendaele, J Debevere, et M Jakobsen. (1998). Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnology Letters*, 20, 913- 916.

Références bibliographiques

F

FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations/Organisation Mondiale pour la Santé). (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *Working Group Report*. London, Ontario, Canada.

Fenton M.P. (1987). An investigation into the sources of lactic acid bacteria in grass silage. *Journal Applied Bacteriology*, 62, 8-181.

Fernandez M., Linares D. M. et Alvarez M. A. (2004). Sequencing of the tyrosine decarboxylase cluster of *Lactococcus lactis* IPLA 655 and the development of a PCR method for detecting tyrosine decarboxylating lactic acid bacteria. *Journal Food Protection*, 67(11), 2521-2529.

Fernandez M.F., Boris S. et Barbes C. (2002). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be in the gastrointestinal tract. *Journal Applied Microbiology*, 94, 449-455.

Fooks L.J. et Gibson G. R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *Britech Journal Nutrition*, 88, 39-49.

G

Gourama H. et Bullerman L.B. (1997). Anti-aflatoxicogenic activity of *Lactobacillus casei Pseudopantarum*. *International Journal of Food Microbiology*, 34, 131-143.

Gournier-Chateau N, Larpent JP, Castellanos MI, et Larpent JL. (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Lavoisier Tec&Doc. Paris. 192p. In : (Adour S. et Dabouz k). (2016). Evaluation des aptitudes des probiotiques lactobacilles isolé beurre et du L'ben. *Mémoire de master microbiologie alimentaire et santé*, Université A. MIRA , Bejaia, 41-74.

Grosu-Tudor S.S., Stancu M.M., Peilinescu D. et Zamfir M. (2014). Characterization of some bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from fermented foods. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 30, 2459–2469.

Gurpreet-Dhaliwal M.D., Patricia A., Cornett M.D., Lawrence M., et Tierney J.R.M.D. (2004). Hemolytic Anemia. *American Family Physician*, 69(11), 2599-2606.

H

Haak D. (2018). What is Hemolysis? - Definition, Causes & Symptoms. *Natural Resource Sciences*, 7, 27-738.

Références bibliographiques

Hammes W.P. et Hertel C. (2003). The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community, Springer-Verlag, New York, 42-787.

Hamon E., Horvatovich P., Izquierdo E., Bringel F., Marchioni E., Aoude-Werner D. et Ennahar S. (2011). Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC Microbiology*, 11(63), 191-201.

Hernandez D., Cardell E., et Zarate V. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocinlike substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 77-84.

Herreros M.A., Sandoval H., Gonzalez L., Castro J.M., Fresno J.M., et Tornadijo M.E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology*, 22, 455-459

Hyrominus B., Le Marrec P., Hadj Sassi A. et Deschamps A. (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal Food Microbiology*, 61, 193-197.

I

Ispirli H., Demirbas F. et Dertli E. (2017). Characterization of functional properties of *Enterococcus* spp. isolated from Turkish white cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 75, (2017), 358-365.

J

Joosten H. M. L. J. et Northlot M. D. (1989). Detection, Growth, and Amine-Producing Capacity of Lactobacilli in Cheese. *Applied and environmental*, 2356-2359.

Joyce M., Koenig J., Bliss M., et Mariscalco M. (2017). Normal and Abnormal Neutrophil Physiology in the Newborn. *Fetal and Neonatal Physiology*, fifth edition, 2, 1216-1229.

K

Kacem M. et Karam N.E. (2006). In vitro preselction criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin. *International Journal Probiotics*, 1(1), 27-32.

Kermanshahi R. K., Goudarzi L., et Mousavinezhad Z. (2014). Antimicrobial Activity of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus* Bacteria Against *Proteus* Spices. *Advances in Environmental Biology*, 8, 1567-1572.

Kesarcodi-Watson A, Kaspar H, Lategan MJ, Gibson L (2008). Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1–14.

Références bibliographiques

Khemariya P., Singh S., Nath G. et Gulati A. K.(2013). Isolation, Identification, and Antibiotic Susceptibility of nis+ *Lactococcus lactis* from Dairy and Non-dairy Sources. *Czech Journal Food Science*, 31,323–331.

L

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M. (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulleten Society Pharmacie, Bordeaux*, 144, 237-250.

Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S. et Wright A.V. (2012). Lactic Acid Bacteria—Microbiological and functional aspects in: Genus *lactobacillus* (Barrangou R., Lahinen S., Ibrahim F., Ouwehand A.C.).Fourth edition. *Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York*, 749.

Levy S. B. et Marshall B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medecine*, 10(12), 122-129.

Liasi S. A., Azmi T. I., Hassan M. D., Shuhaimi M., Rosfarizan M., et Ariff A. B. (2009).Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, *Budu Malaysian Journal of Microbiology*, 5, 33-37.

Lim E.M., Ehrlich S.D.et Maguin E. (2000). Identification of stress-inducible proteins in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Electrophoresis*, 21, 2557-2561.

Linares D. M., Martin M. C., Ladero V., Alvarez M. A. et Fernandez M. (2011). Biogenic amines in dairy products. *Critical Reviews Food Science Nutrition*, 51(7), 691-703.

Lopez S. et Mayo B. (1997). Identification and characterization of homofermentative mesophilic *Lactobacillus* strains isolated from artisan starter-free cheeses. *Letters in Applied Microbiology*, 25, 233-238.

Luquet F.M. et Correiu G. (2005). Bactériocines de Bactéries lactiques. In: « Bactéries lactique et probiotiques ». *TEC I DOC éd.*, 113-194.

M

Maghnia D. (2011). Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériennes. *Mémoire en Microbiologie alimentaire*, Université d'Oran Es-sénia, 20-126.

Références bibliographiques

Magnusson J. et Schnürer J. (2001). *Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied Environmental Microbiology*, 67(1), 1-5.

Mangin L. (2016). Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Université de Lorraine. *Thèse de doctorat en pharmacie*, 20-125.

Marshall V. M. (1987). Lactic acid bacteria: starters for flavour. *FEMS Microbiology reviews*, 46, 327-336.

Mathur S. et Singh R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 281-295.

Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria.

In : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 3e Ed., Marcel Dekker, Inc, 73-102.

Molenaar D., Bosscher J.S., Brink B.T., Driessen A. J.M., Konings W.N. (1993). Generation of a proton motive force by histidine decarboxylation and electrogenic histidine/histamine antiport in *Lactobacillus buchneri*, *Journal Bacteriology*, 175, 2864-2870.

Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc*, 512-592.

N

NCCLS (The National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2004). Performance standards for disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. *Information supplement M31-S1, NCCLS : Wayne, Pennsylvania, USA*, 24(17).

O

Onda T., Yanagida F., Tsuji (M., Shinohara T. et Yokotsuka K. (2003). Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. strain GM005, isolated from Miso-paste. *International Journal Food Microbiology*, 87(1-2), 153-159.

Orla-Jensen A.D. (1919). The lactic acid bacteria. *Andr Fred Host & 80n, Copenhagen*, 943.

Références bibliographiques

Otero M.C. et Nader-Macias M.E. (2006). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂-producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 35-46.

P

Papamanoli E., Tzanetakis N., Litopoulos E. et Kotzekidou P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dryfermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat science*, 65, 859-867.

Parasad J., Gill H., Smart J. et Gopal P.K. (1998). Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 8, 993-1002.

Park S.h., Itoh K., Kikuchi E., Niwa H. et Fujisawa T.(2003). Identification And Characteristics Of Nisin Z-Producing *Lactococcus Lactis* Subsp. *Lactis* Isolated From Kimchi. *Curre Microbiology*, 46 (5), 385-8.

Paulsen P., Grossgut R., Bauer F. et Rauscher-Gabernig E. (2012). Estimates of maximum tolerable levels of tyramine content in foods in Austria. *Journal Food Nutrition Research*. 51, 52-59.

Pfeiler E.A. et Klaenhammer T.R. (2009). Role of transporter proteins in bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *Applied Environement Microbiology*, 75, 6013-6016.

R

Reinheimer J.A., Quiberoni A. et Tailliez P. (1996).The lactic acid microflora of natural whey starters used in Argentina for hard cheese production. *International Dairy Journal*, 6, 79 - 869.

Reuter G. (2001).The *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microflora of the intestine: composition and succession. *Current Issues International Microbiology*, 2, 43-53.

Rivas F.P., Castro M.P. Vallejo M., Marguet E. et Campos C.A. (2012). Antibacterial potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from ewes' milk and cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 428-436.

Références bibliographiques

S

Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. et Benno Y. (2004). Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In : Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. 3e Ed., Marcel Dekker, Incorporated, 73-102.

Salminen S., Von Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., de Vos W.M., Fonden R., Saxelin M., Collins K., Mogensen G., Birkeland S.E. et Mattila-Sandholm T. (1998). Demonstration of safety of probiotics - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2), 93-106.

Schegel L., Lemerle S. et Gelsin P. (1998). Lactobacillus species as opportunistic pathogens in immunocompromised patients. *European Journal of clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 17(12), 887-888.

Schleifer K.H., Kraus J., Dvorak C., Kilpper-Bälz R., Collins M.D. et Fischer W. (1985). Transfer of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* gen. *Systematic and Applied Microbiology*, 6, 183-195.

Servin A.L. (2004). Antagonistic activity of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS. Microbiology Review*, 28, 405-440.

Sharma P., Kumar Tomar S., Sangwan V., Goswami P., et Singh R., (2016). Antibiotic resistance of Lactobacillus sp. isolated from commercial probiotic preparations. *Journal of Food Safety*, 36, 38-51.

Song M., Yun B., Moon J.H., Park D.J., Lim K. et Oh S. (2015). Characterisation of selected *Lactobacillus* strains for use as probiotics. *Korean Journal food science Animal Resours*, 35 (4), 551-556.

Stirling A.C. et Whittenbury R. (1963). Sources of the lactic acid bacteria occurring in silage. *Journal Applied Bacteriology*, 26, 86-90.

Swearingen P. A., O'Sullivan D. J. et Warthesen J. J. (2001). Isolation, characterization, and influence of native, nonstarter lactic acid bacteria on Cheddar cheese quality. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 9-50.

T

Tailliez P. (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitat, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*, 6(1), 37-41.

Références bibliographiques

Temmerman R., Pot B., Huys G. et Swings J. (2002). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 1-10.

Todorov S.D. et Dicks L.M.T. (2005). Characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from spoiled black olives. *Journal Basic Microbiology*, 45, 312-322.

V

Van de Guchte M., Serror P., Chervaux C., Smokvina T., Ehrlich S.D. et Maguin E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie Van. Leeuwenhoek*, 82, 187-216.

Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. et Swings J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Reviews*, 60, 407-438.

Vanderbergh P.A. (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 221-237.

Vandooren J., Damme J.V., et Opdenakke G. (2014). Brain extracellular matrix in health and disease. *Progress in Brain Research*, 2014, 193-206.

W

Wolken W.A.M., Lucas P.M., Lonvaud-Funel A. et Lolkema J.S. (2006). The mechanism of the tyrosine transporter TyrP supports a proton motive tyrosine decarboxylation pathway in *Lactobacillus brevis*. *Journal Bacteriology*, 188: 2198–2206.

Annexes

Annexe 1

Milieu HDA et TDA

Pour un litre d'eau distillée :

Tryptone	5g
Extrait de levure	5g
Nacl	5g
Glucose	1g
Tween 80	0,5g
Sulfate de Magnesium	0,2g
Carbonate de Calcium	0,1g
Sulfate de Manganise	0,05g
Sulfate de fer	0,05g
Agar-agar	20g
Bormocresol pourpule	0,05g
Histidine ou Tyrosine	20g

pH = 5

Annexe 2

Tableau 9: Mesures des zones de résistance des lactobacilles aux antibiotiques.

souches/antibiotiques	VA 30 µg	P 10µg	E15µg	C30µg	AMP10µg	T30µg	R30µg
<i>Lactobacillus</i> spp.Sm2	41,24	35,76	29,36	34,62	29,94	24,26	31,34
<i>Lactobacillus</i> spp. LB3	7,79	30,39	21,85	24,89	23,74	17,53	24,93
<i>Lactobacillus</i> spp.ZB7	5,93	33,05	27,63	30,76	24,46	23,83	16,53

عنوان المذكرة : دراسة القوة التكنولوجية لبعض عزلات *Lactobacillus* spp. ذات مصدر غذائي

المؤطر: هويشر عبد الرحمان

الإسم: شهرزاد

اللقب: التجاني

ملخص :

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة بعض القدرات التكنولوجية لثلاثة عزلات من البكتيريا مأخوذة من منتجات الحليب المخمرة تقليديا *Lactobacillus* spp. (Lb3,Zb7 Sm2) كشفت الدراسة مقاومة هذه العزلات الثلاث لحموضة المعدة و الأملاح الصفراوية بنسبة (0.3 %) بالإضافة إلى ذلك لم يتم انتاج أي من الأمينات البيوجينية (الهستامين والتيرامين) و الجيلاتين من طرفها وتم الكشف عن غياب النشاط الانحلالي لديها كما أظهر اختبار مقاومة للمضادات الحيوية حساسية عالية لها ومع ذلك كانت جميع العزلات اللبنية مقاومة للفانكوميسين ماعدا *Lactobacillus*spp.Sm2، زيادة على ذلك أظهرت اختبارات منع نمو نوعين من الفطريات والبكتيريا المنتقاة والتي لها أثر كبير في التسبب بأمراض خطيرة مقاومة ملاحظة بدرجات متفاوتة لكلاهما *Penicillium expansum* و *Aspergillus parasiticus* في حين أن البكتيريا *Staphylococcus aureus* أبرزت مقاومة معتبرة للعزلتين اللبنييتين Zb7 و Sm2 بينما *Pseudomonas aeruginosa* قاومت نشاط العزلة اللبنية. بناء على هذه النتائج قد تم اختيار العزلة اللبنية (Sm2) لدراستها وفقا لجوانب السلامة قبل استخدام البكتيريا و/أو مستخلصها في المنتجات الغذائية.

كلمات مفتاحية: *Lactobacillus* ، الملائمة التكنولوجية ، جانب السلامة ، النشاط المضاد للميكروبات ، الأغواط.

Memory title : Study of the technological proprieties of some *Lactobacillus* spp. isolates from food origin.

Name : Tidjani

Surname : Chahrazed

Directed by : Houicher Abderrahmane.

Abstract :

The main objective of this work is to study some technological abilities of three isolates of *Lactobacillus* spp. (Zb7, Sm2 and Lb3) isolated from traditionally fermented milk products. The study of the resistance of these isolates to acidic pH and bile salts 0.3% revealed that the three Lactobacilli are acid-resistant with good bile salt tolerance. In addition, no production of biogenic amines (histamine and tyramine) and gelatinase was detected in *Lactobacillus* ssp. tested. The absence of hemolytic activity (γ -hemolysis) was also detected in the three Lactobacilli. The antibiotic resistance test also showed a high sensitivity of Lactobacilli to the antibiotics tested. However, all tested Lactobacilli isolates were resistant to Vancomycin, with the exception of the isolate *Lactobacillus* spp. Sm2 that showed considerable sensitivity to this antibiotic. In addition, all the supernatants of *Lactobacillus* spp. tested inhibited with varying degrees the growth of the two pathogenic molds *Penicillium expansum* and *Aspergillus parasiticus*. However, the bacterium *Staphylococcus aureus* showed considerable resistance to the supernatants of isolates Zb7 and Sm2, while *Pseudomonas aeruginosa* resisted only the activity of the isolate *Lactobacillus* spp. Sm2. Based on these results, an isolate (*Lactobacillus* spp. Sm2) has been selected for further study according to their safety aspects prior to the use of this bacterium and/or their extract in food matrices.

Key words: Lactobacille, Technological suitability, Safety aspect, Antimicrobial activity, Laghouat.

Titre du mémoire : Etude du pouvoir technologique de quelques isolats de *Lactobacillus* spp. d'origine alimentaire

Nom: Tidjani

Prénom: Chahrazed

Encadreur: Houicher Abderrahmane

Résumé :

Le présent travail a pour objectif principal d'étudier quelques aptitudes technologiques de trois isolats de *Lactobacillus* spp. (Zb7, Sm2 et Lb3) isolées à partir des produits laitiers fermentés traditionnellement. L'étude de la résistance des ces isolats au pH acide et aux sels biliaries 0.3% a révélé que les trois lactobacilles sont résistants à l'acidité avec une bonne tolérance des sels biliaries. De plus, aucune production des amines biogènes (histamine et tyramine) et de gélatinase n'a été détectée dans *Lactobacillus* spp. testées. L'absence de l'activité hémolytique (γ -hémolyse) a été également détectée chez les trois lactobacilles. Le test d'antibiorésistance a montré également une grande sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques testés. Cependant, tous les isolats de lactobacilles testés sont résistants au vancomycine, à l'exception de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2 qui a montré une sensibilité considérable à cet antibiotique. Par ailleurs, tous les surnageants de *Lactobacillus* spp. testés ont inhibé avec des degrés variables la croissance des deux moisissures pathogènes *Penicillium expansum* et *Aspergillus parasiticus*. Cependant, la bactérie *Staphylococcus aureus* a montré une résistance considérable à l'égard des surnageants des isolats Zb7 et Sm2, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* a résisté seulement à l'activité de l'isolat *Lactobacillus* spp. Sm2. Sur la base de ces résultats, un isolat (*Lactobacillus* spp. Sm2) a été sélectionné pour des études plus approfondies en fonction de leur aspects sécuritaires avant l'utilisation de cette bactérie et/ou leur extrait dans les matrices alimentaires.

Mots clés : Lactobacille, Aptitude technologique, Aspect sécuritaire, Activité antimicrobienne, Laghouat.