



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université ziane achour - djelfa
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie

**Projet de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master**

Option : Microbiologie appliquée

Thème

**Etude de l'activité antimicrobienne des
bactéries lactiques du lait camelin**

Présenté par :

- **Riki Hadjer**
- **Taibi Amal**
- **Touil Fatiha**

Soutenu le :

Devant le jury :

Président	Mme	Rachedi F.Z.	Univ. Djelfa
Examineur	Mr	Khaled Khodja	Univ. Djelfa
Promoteur	Mr	Mostefaoui A.	Univ. Djelfa

2022/2023



Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous tenons à remercier notre encadreur Monsieur MOSTEFAOUI ABDELLAH, pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et l'intérêt porté pour notre sujet de recherche.

Nous remercions vivement les membres du jury qui nous ont honoré de juger ce travail.

Nous remercions nos collègues.

Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants, ingénieurs et administrateurs de la faculté de sciences de la Nature et de la Vie et du département de Biologie qui nous ont aidé, guidé et encouragé, Finalement, Nous tenons à remercier nos très chers parents, nos frères et sœurs.

Nous remercions également toute personne qui nous a aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces

*Je dédie cet humble travail à chaque personne
qui s'est tenue à mes côtés, m'a aidé et a
travaillé dur avec moi.*

*A tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu
moralement pour continuer à travailler et à
relever des défis.*

*Je le dédie spécialement à mes parents, les
personnes les plus précieuses de mon cœur
FATIMA et **MUSTAFA**. Et de cette tribune,
je les remercie pour leurs efforts constants et
continus, leur amour sans fin et leur soutien
pour moi.*

*Et pour ma sœur bien-aimée **Hanane Suhaila**
et **Lamia** et tous mes amis **Fatiha** et **Amal** qui
m'a soutenu dans la préparation de ce
travail, et a toute la promotion microbiologie
appliqué 2022/2023*

Hadjer



Dédicaces

Je dédie cet humble travail à chaque personne qui s'est tenue à mes côtés, m'a aidé et a travaillé dur avec moi.

A tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu moralement pour continuer à travailler et à relever des défis.

*Je le dédie spécialement à mes parents, les personnes les plus précieuses de mon cœur **khira** et **Ahmed**. et de cette tribune, je les remercie pour leurs efforts constants et continus, leur amour sans fin et leur soutien pour moi.*

*Et pour ma sœur bien-aimée **Alaa** et **Hayat** et tous mes amis **Hadjer** et **Fatiha** qui m'a soutenu dans la préparation de ce travail, et a toute la promotion microbiologie appliqué 2022/2023*

Amal



Dédicaces

Louange à Dieu, et les prières et la paix soient sur notre maître Muhammad, sa famille et ses compagnons.

Au foyer de lumière qui m'a traversé vers l'espoir et les belles aspirations, et son cœur s'est élargi pour contenir mon rêve lorsque le monde est devenu étroit, alors il a apprivoisé les difficultés pour mon bien.

Et à celui qui rivalise de mots pour sortir exprimant son être le plus intime, à celui qui insulte l'amour et file l'espoir dans mon cœur, un oiseau vole au coin des rêves, pour que mon âme reste lumineuse tant que ses prières sont l'adresse de mon chemin et mes souhaits sont exaucés tant que son effort et sa veille me procurent du réconfort à toi, ma mère.

À ces cœurs qui battent pour moi, à ceux dont l'amour coule dans mes veines, à ceux qui m'ont préféré à eux-mêmes, à mes frères (Muhammad Abdul Qadir Bilal) et mes sœurs (Wahiba Safia), mon soutien et mon refuge après Dieu.

À qui ma note porte-t-elle vos empreintes digitales et nos souvenirs partagés (Hajar Amal) Et aux compagnons de mon chemin et de mon bonheur qui m'ont réuni avec les plus beaux jours en résidence universitaire et le plus beau sport du volley.

À tous ceux qui ont marqué ma vie et à mes proches et à ceux que mon cœur aimait et que ma plume a oubliés

Fatiha

Liste des abréviations

- ❖ BL : Bactérie Lactique
- ❖ B : Bactérie
- ❖ E : Echantillons
- ❖ G : Groupe
- ❖ E.Coli : Escherichia Coli
- ❖ NaCl : Chlorure de Sodium
- ❖ pH : Potentiel d'hydrogène
- ❖ SC : *Saccharomyces Cerevisiae*
- ❖ MH : Mueller Hinton
- ❖ MRS : de Man Rogosa et Sharpe
- ❖ % : Pourcentage.
- ❖ C° : Degré celsius
- ❖ T° : Température
- ❖ mm : millimètre
- ❖ ml : millilitre
- ❖ µL : microlitre

Liste des tableaux

Tab. 1 :	Critères morphologiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chamelle	09
Tab. 2 :	Résultats des tests physiologiques des Bactéries lactiques	10
Tab. 3 :	Résultats de l'activité antimicrobienne des Bactéries lactiques	11

Liste des figures

Fig. 1	Site de prélèvement, Al Mosran Hassi Bahbah-Djelfa	03
Fig. 2	Diagramme d'isolement et purification des bactéries lactiques.	04
Fig. 3	Colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS.	07
Fig. 4	Observation microscopiques des souches lactiques après la coloration de Gram	08
Fig. 5	Résultats des Tests de pH et NaCl des bactéries lactiques.	10
Fig. 6	Résultat de l'activité antimicrobienne.	11

Résumé

Les bactéries lactiques sont une source majeure de plusieurs produits industriels qui revêtent une grande importance, notamment dans les usines alimentaires.

Grâce à des échantillons de lait de chamelle prélevés dans la région de Al Mosran Hassi Bahbah dans la wilaya de Djelfa, et à partir de lait frais et de lait fermenté nous à permis de retenir 9 isolats de bactérie lactique, l'ensemble d'isolats présentent un Gram positif, une absence du catalase non mobiles et non sporulants et après ont à fait des tests physiologique à une température différentes de 30C°et 37 C° et 42 C° et de pH = 9 et de 6% de NaCl. Les 9 isolats de bactérie lactique ont été testées pour leur activité antimicrobienne contre les quatre jermes cibles suivant : *S.aureus* *E.coli* *S.cerevisiae* *Penicillium sp.*

Mots clés : bactéries lactiques, lait de chamelle, activité antimicrobienne.

Abstract

Lactic acid bacteria are a significant source of several industrial products, which are of great importance, especially in food processing facilities. Through samples of camel milk collected from the Mosran Hassi Bahbah region in the Djelfa province, and utilizing both fresh and fermented milk, we were able to isolate and retain 9 strains of lactic acid bacteria.

All isolates exhibited a Gram-positive staining pattern and were characterized by the absence of catalase, as well as being non-motile and non-sporulating. Subsequently, physiological tests were conducted at different temperatures (30°C and 37°C and 42°C), at a pH level of 9, and in the presence of 6% NaCl.

These 9 lactic acid bacteria isolates were further subjected to testing for their antimicrobial activity against four target microorganisms: *S. aureus*, *E. coli*, *S. cerevisiae*, and *Penicillium sp.*

Keywords: Lactic acid bacteria, camel milk, antimicrobial activity.

ملخص

تعتبر بكتيريا حمض اللبن مصدر هام للعديد من المنتجات الصناعية التي تحمل أهمية كبيرة، خصوصاً في مرافق تصنيع الأغذية. من خلال عينات حليب الإبل المجمعة من منطقة المصران حاسي بحبح في ولاية الجلفة، وباستخدام الحليب الطازج والحليب المخمر، تمكننا من عزل والاحتفاظ بتسعة عزلات من بكتيريا حمض اللبن . كانت جميع العزلات تُظهر نمط تلويح جرام إيجابي وتتميز بعدم وجود إنزيم الكاتالاز، بالإضافة إلى عدم قدرتها على الحركة وعدم تكوينها للعوائل العنقودية. بعد ذلك، تم إجراء اختبارات فيزيولوجية عند درجات حرارة مختلفة (30 درجة مئوية و 37 درجة مئوية و42 درجة مئوية)، وعند مستوى حموضة يساوي 9، وبوجود نسبة 6% من كلوريد الصوديوم. تم اختبار هذه التسعة عزلات من بكتيريا حمض اللبن لتحديد نشاطها المضاد للميكروبات ضد أربعة ميكروبات :
Penicillium sp. ، *S. cerevisiae* ، *E. coli* ، *S. aureus*

الكلمات المفتاحية : بكتيريا حمض اللبن ، حليب الإبل، النشاط المضاد للميكروبات

Table des matières

Remercîment	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction	01
Matériel et méthode	
1. Matériel utilisé	03
2. Echantillonnage de lait de chamelle	03
3. Isolement des bactéries lactiques	03
4. Etude morphologique	05
4.1. Examen macroscopique	05
4.2. Examen microscopique	05
5. Etude physiologique	05
5.1. Recherche de catalase	05
5.2. Test de température	06
5.3. Test de salinité	06
5.4. Test de pH	06
6. Activité antimicrobienne	06
Résultats et discussion	
1. Isolement des bactéries lactiques	07
2. Etude morphologiques	07
3. Etude physiologiques	09
4. Activité antimicrobienne	11
Conclusion	12
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction

Introduction

Le lait de chamelle est particulièrement riche en glucides, en protéines, en lipides, en minéraux et en vitamines (notamment la vit. C). Il possède des propriétés anti-infectieuses, anti-cancéreuses, antidiabétiques, etc. Ces allégations santé peuvent être attribuées à certains de ses composants tant sur le plan quantitatif que qualitatif (Konuspayeva et *al.*, 2004). Parmi ceux, les métabolites antimicrobiens, tels que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les bactériocines, etc., synthétisés par les bactéries lactiques qui se trouvent en abondance dans les laits fermentés. Ces bactéries sont employées depuis des millénaires dans la fabrication des aliments. Elles permettent, de part leur métabolisme, d'augmenter la qualité nutritionnelle, organoleptique et la durée de conservation des denrées alimentaires.

Les bactéries lactiques sont Gram positif, a sporulées, immobiles, anaérobies mais aérotolérantes (Achemchem, 2014), parfois classifiées en fonction de leur température optimale de croissance : 20 à 30 C° (mésophile) 40 à 45 C° (thermophile) (Joubret, 2016)

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences croissantes des consommateurs en produits alimentaires moins traités et exempts de conservateurs chimiques. Leur apports bénéfiques consistent à l'amélioration de la qualité des produits fermentés en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans altérer le goût ni l'odeur, et en augmentant leur durée de conservation. Cette préservation est conférée par la production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le diacétyle et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009; Moraes et *al.*, 2010).

Et dans le domaine thérapeutique étant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et *al.*, 2008). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan et *al.*, 2010).

Les bactéries lactiques peuvent produire de nombreux composés aromatiques, principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses (Corrieu et Luquet, 2008). Ainsi, les acides lactique et acétique produits par *Lc* (*Lactococcus*) *lactis* subsp (*Lactis* Subspecies) *lactis* et *Lc* (*Lactococcus*) *lactis* subsp (*Lactis* Subspceies) *cremoris* confèrent au laits fermentés une arôme caractéristique; celle des fromages maturés est associée à plusieurs métabolites tels que: l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et le 2-3-butylène-glycol à partir du citrate par *Lc* (*Lactococcus*) *lactis* subsp (*Lactis* Subspceies) *diacetylactis* et *Leuco nostoc* spp. (Salminen et *al.*, 2004).

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la nisine produite par les lactocoques dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium*, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacilles actives sur *Escherichia coli*, *Listeria* et certaines levures (OGUNBANWO et *al.*, 2003 ; ZAMBUNELLI et CHIAVARI, 2002), contribuant ainsi à la préservation de l'équilibre microbien et organoleptique du fromage (HARRIS et *al.*, 1989; GEORGALAKI et *al.*, 2002).

L'intérêt des bactériocines des bactéries lactiques réside d'une part dans leur effet antimicrobien à spectre large ou étroit et d'autre part dans leur sûreté pour la santé humaine, vue leur sensibilité aux protéases digestives, et leur non toxicité pour les cellules eucaryotes. Ces substances antimicrobiennes ont la capacité de cibler sélectivement les bactéries pathogènes ou altérantes, sans pour autant inhiber les bactéries indispensables. Ces substances bioactives présentent également une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Tous ces critères suggèrent que les bactériocines peuvent être un substituant idéal des conservateurs chimiques (Dortu et Thonart, 2009).

Dans ce contexte et en essayant d'apporter une modeste contribution, s'inscrit notre présente recherche. Nous avons opté pour un isolement de nouvelles souches de bactéries lactiques à partir d'une niche particulière ; le lait camelin, dans le but de faire un criblage de l'activité antimicrobienne chez les bactéries lactiques (les bactériocines).



Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel utilisé :

Barreau magnétique	Balance
Eprouvette graduée	Boîtes de Pétri
Verre de montre	Flacon
Agitateur magnétique	Micropipette
Bec Bunsen	Pipette Pasteur
Tube à vis	Incubateur
pH mètre	Bécher
Spatule	Erlen-meyer

2. Echantillonnage de lait de chamelle :

Les échantillons de lait chamelle utilisés dans notre étude, proviennent de la steppe centrale Algérienne, région de Djelfa. Le lait a été prélevé dans des flacons en verre stériles de 250 ml et transporté dans une glacière au laboratoire pour analyse. Cette opération s'est déroulée dans la localité Al Mosran Hassi Bahbah, Février 2023. (Fig1.)

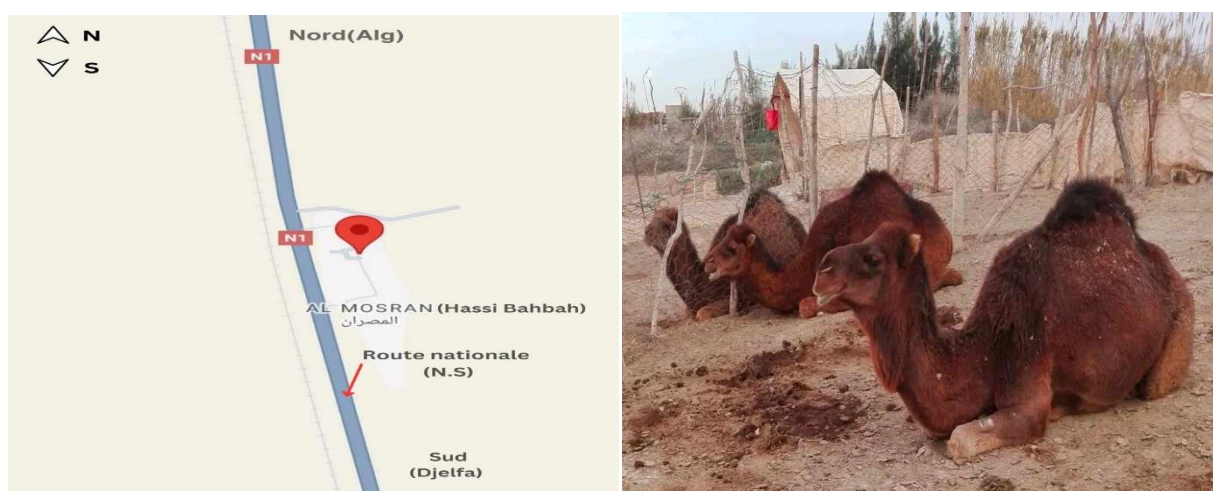


Fig. 1 : Site de prélèvement, Al Mosran Hassi Bahbah-Djelfa.

3. Isolement des bactéries lactiques :

Nous avons préparé des dilutions décimales de nos échantillons avant de procéder à l'isolement, en introduisant 10 ml de lait dans un flacon stérile contenant 90 ml d'eau physiologique.

Nous avons utilisé comme milieu d'isolement la gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe). A partir de chaque dilution homogénéisée par Vortex, on ensemence 100 μ l à l'aide d'une micropipette dans des boîtes de Pétri, de diamètre (90 mm) puis on étale à l'aide d'un étaloir sur toute la surface de la gélose. La même opération s'est reproduite pour toutes les dilutions, ceci pour augmenter la chance d'isoler diverses espèces de bactérie Lactique (Guiraud, 2003). Les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 48 à 72 h, dans des conditions semi anaérobies incubation s'est déroulée dans une boîte contenant une bougie pour éliminer l'oxygène, ce qui correspond aux conditions optimales des bactéries Lactique. (Fig.2)

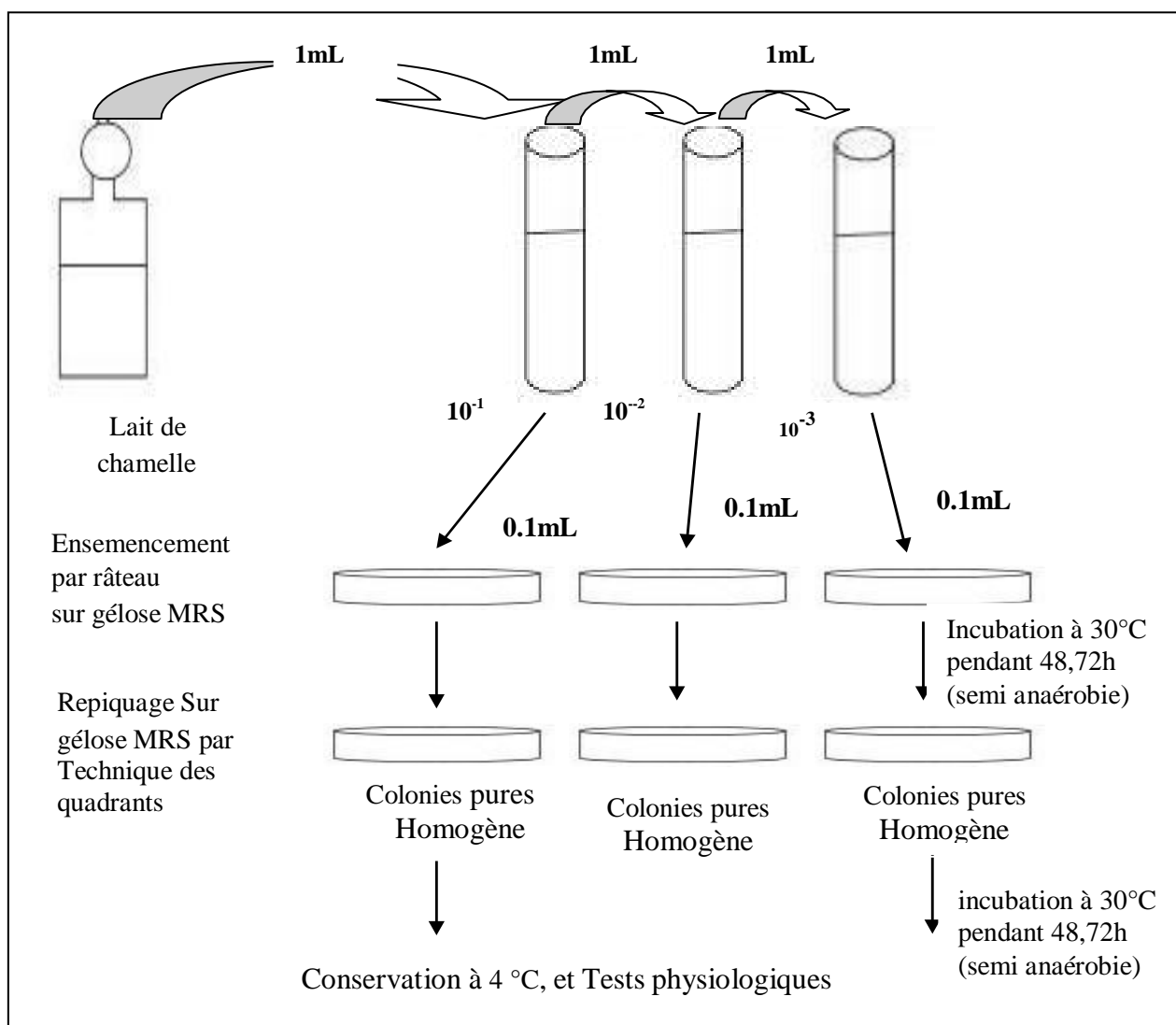


Fig. 2 : Diagramme d'isolement et purification des bactéries lactiques

Les petites colonies compactes et bombées de couleur blanche et beige ont été repérées pour un éventuel repiquage sur des nouvelles boîtes de gélose MRS. La purification des isolats se fait par des repiquages successifs sur MRS solide. Les isolats de bactérie Lactique sont vérifiés par la coloration de Gram, la production de catalase, la formation de spores et la mobilité.

La conservation des souches pures est réalisée sur MRS solide incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont conservées à 4 °C et la régénération des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines. Pour le long terme les bactéries lactiques sont maintenues dans du bouillon MRS contenant 25 % de glycérol à -20 °C (Samelis *et al.*, 1994).

4. Etude morphologique

Cette étude est basée sur l'examen macroscopique et microscopique des bactéries Lactiques.

4.1. Examen macroscopique

La détermination des caractères macroscopiques, se fait à l'œil nu sur les milieu MRS (De Man *et al.*, 1960), les caractères étudiés sont : la couleur, la forme, le relief, la surface et la transparence (Joffin et Leyral, 2006).

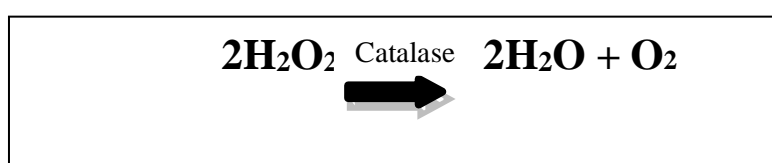
4.2. Examen microscopique

L'étude microscopique est effectuée après la coloration de Gram, qui permet de définir la forme des cellules, leur taille et leur mode de groupement (Joffin et Leyral, 2006).

5. Etude physiologique

5.1. Recherche du catalase

La catalase est une enzyme catalysant la décomposition de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène selon la réaction suivante:



Cette enzyme est produite par plusieurs microorganismes et utilisée pour l'indentification des bactéries. Une colonie isolée est prélevée de la gélose et déposée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame de verre propre. L'apparition de bulles d'air indique une réponse positive. Les bactéries retenues sont celles dépourvues de catalase (Boubekri et Ohta, 1996).

5.2. Test de température

Ce test est réalisé pour différencier les souches mésophiles et thermophiles sur gélose MRS après 24 à 72 h, les bactéries lactiques sont testées pour des températures de 30, 37 et 42 °C.

5.3. Test de salinité

Ce test est réalisé pour déterminer la tolérance au NaCl, la méthode consiste à ensemencer les bactéries Lactiques sur gélose MRS à 6 % NaCl, puis incubées à 30 °C pendant 24 à 72 h.

5.4. Test de pH

Après ensemencement sur gélose MRS à pH = 9, la culture est incubée à 30 °C pendant 24 à 72 h.

6. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne a été étudiée sur milieu MH (Mueller Hinton) solide, afin de révéler la présence de bactériocines. Pour ce test sont utilisées quatre souches cibles ; deux bactéries de Gram différent (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*), une levure (*Saccharomyces cerevisiae*) et une moisissure (*Penicillium sp.*). La méthode adoptée pour cet examen est celle des stries croisées, en préparant des cultures de bactérie Lactique sous forme de trait horizontal, puis l'incubation à 30 °C pendant 48/72 h les souches cibles sont ensemencées par traits perpendiculaires. Après incubation à 30 °C pendant 24 à 72 h, la lecture des résultats se fait par mesure des zones d'inhibition en mm.



Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Isolement des bactéries lactiques

A partir de 2 échantillons de lait de chamelle (lait frais et fermenté), 9 isolats des bactéries lactiques ont été retenus. Ces bactéries lactiques ont montré une réaction positive à la coloration de Gram, une réaction négative au test de la catalase, une absence d'endospores et ayant des petites colonies bombées, compactes, blanches et beiges (Fig. 3). Ces isolats ont fait l'objet d'une étude morphologique et physiologique par la suite en vue d'une identification préliminaire.



Fig. 3 : Colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS.

2. Etude morphologique

Selon leur morphologie les 9 isolats de bactérie lactique ont été classés dans trois groupes différents (fig. 4, tab. 1);

Le premier groupe formé de quatre isolats (B2, B6, B10, B15), ayant une forme cocci avec des cellules isolées (monocoque).

Le second groupe formé de deux isolats (B3, B12), ayant une forme cocci avec des cellules agencées en paires (diplocoque).

Le troisième groupe formé de trois isolats (B5, B7, B9), ayant une forme cocci avec des cellules groupées en chaînes (streptocoque).

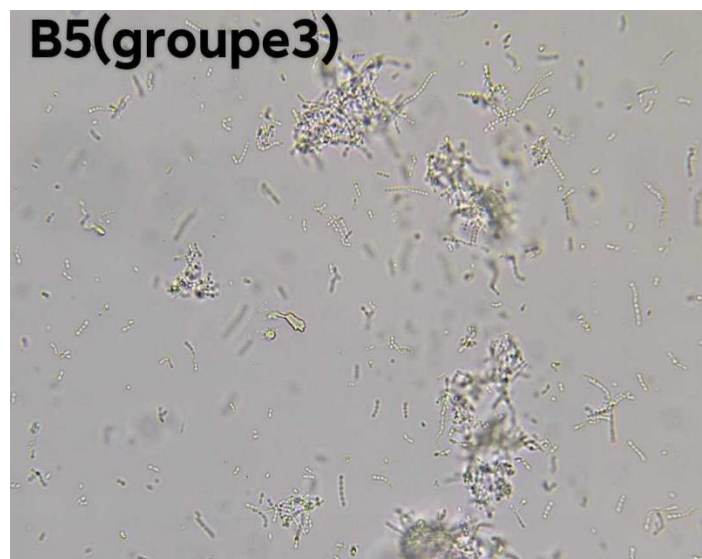
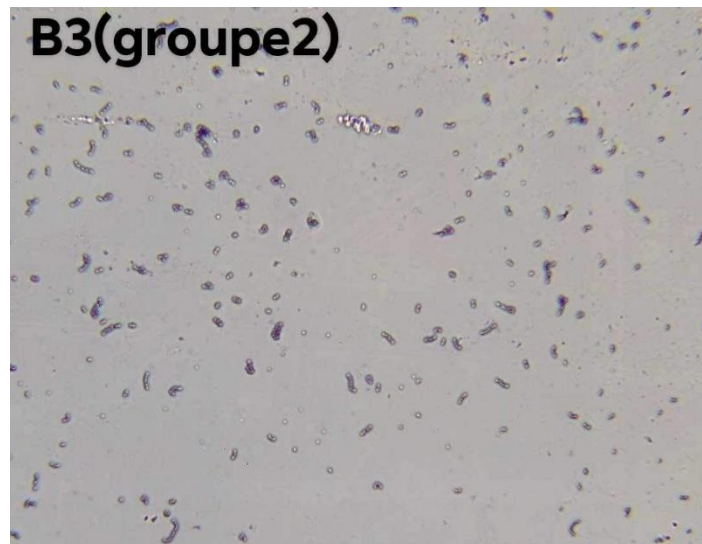
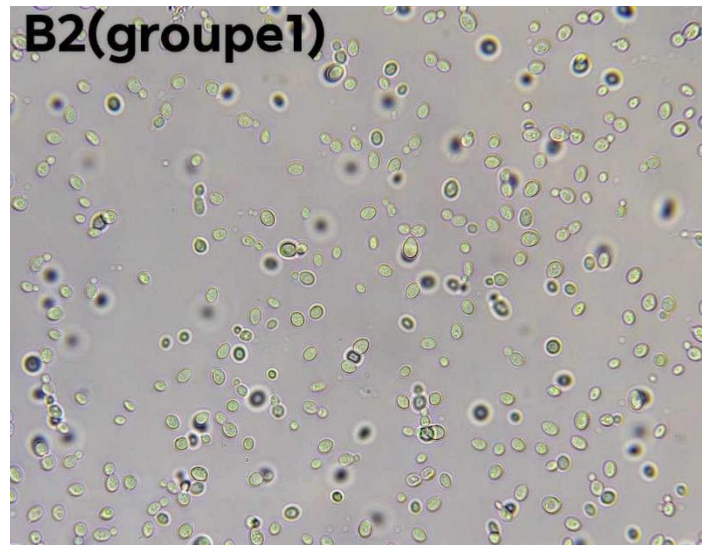


Fig. 4 : Observation microscopiques des souches lactiques après la coloration de Gram(Gx40)

Tab. 1: Critères morphologique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chamelle

Groupes	Isolats	Origine	Sporulation	Gram	Forme	Mode de groupement
G1	B2	E1	-	+	Cocci	Isolées
	B6	E2	-	+	Cocci	Isolées
	B10	E2	-	+	Cocci	Isolées
	B15	E2	-	+	Cocci	Isolées
G2	B3	E1	-	+	Cocci	En paires
	B12	E2	-	+	Cocci	En paires
G3	B5	E2	-	+	Cocci	En chaine
	B7	E2	-	+	Cocci	En chaine
	B9	E2	-	+	Cocci	En chaine

3. Etude physiologique

L'utilisation des caractères phénotypiques (morphologiques et physiologiques) étudiés (tab. 2), nous a permis de les rattacher probablement à trois taxons (genres) comme suit :

Le genre *Lactococcus* : caractérisé par des cellules en cocci, isolées (monocoque), mésophiles (température 30 °C, 37 °C, 42 °C) qui poussent à pH 9 et variables pour le NaCl 6%.

Le genre *Pediococcus* : caractérisé par des cellules en cocci, diplocoque, mésophiles qui poussent à pH 9 et sensibles à 6% d'NaCl .

Le genre *Enterococcus* : caractérisé par des cellules en cocci groupées en petites chaînes, mésophiles qui tolèrent le pH 9 et 6% de NaCl.

Tab. 2 : Résultats des tests physiologiques des bactéries lactiques.

Groupes	Isolats	Mobilité	Catalase	30 °C	37 °C	42°C	pH 9	NaCl 6%
G1	B2	-	-	+	+	-	+	+
	B6	-	-	+	-	-	+	-
	B10	-	-	+	-	-	-	-
	B15	-	-	+	+	-	+	+
G2	B3	-	-	+	-	-	+	+
	B12	-	-	+	+	-	+	+
G3	B5	-	-	+	-	-	+	+
	B7	-	-	+	+	-	+	+
	B9	-	-	+	+	-	+	+

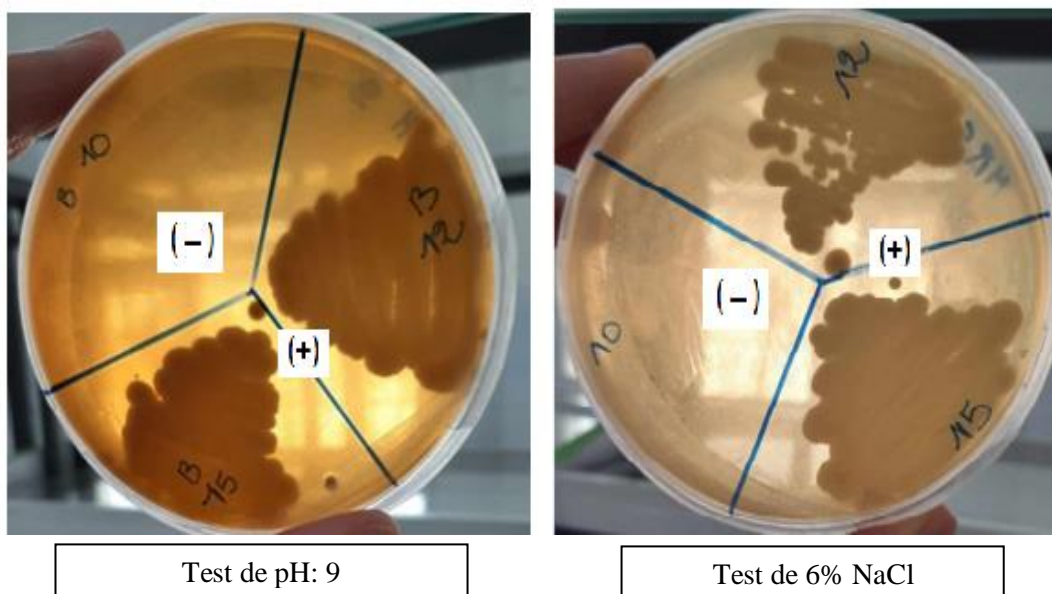


Fig. 5 : Résultats des Tests pH et NaCl des bactéries lactiques.

*(+) Présence de croissance.

*(-) Pas de croissanc

4. Activité antimicrobienne

Le criblage de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques par la méthode de diffusion sur milieu solide et en utilisant la technique des stries croisés, nous a révélé une absence de souches actives sauf quelques isolats qui montrent des activités faibles antibactérienne et antifongique (Fig. 6 et tab. 3). Le cas des bactéries B2 et B10 actives contre la levure *Saccharomyces cerevisiae* (4 et 2 mm), la bactérie B5 active contre le *Staphylococcus aureus* et *Penicillium* sp. (3 et 1 mm) et la bactérie B9 active contre les deux bactéries Gram + et Gram - (2 et 1 mm).

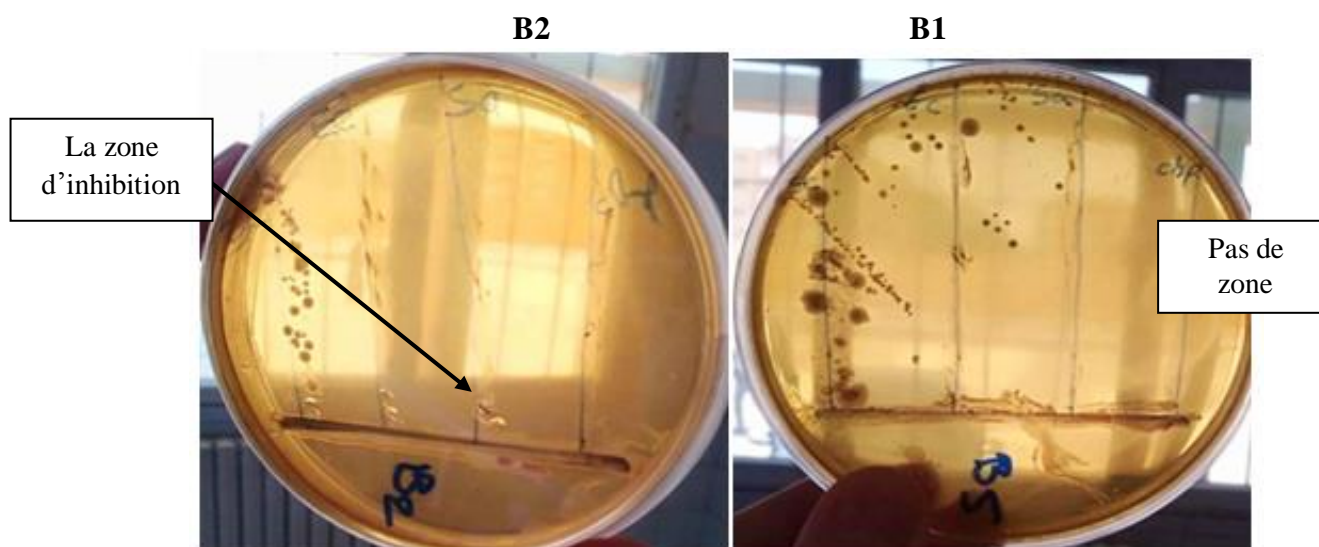


Fig. 6 : Résultat de l'activité antimicrobienne

Tab. 3: Résultats de l'activité antimicrobienne des BL (Zone d'inhibition en mm).

BL		Germes cibles			
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Penicillium</i> sp.
G1	B2	0	0	4	0
	B6	0	0	0	0
	B10	0	0	2	0
	B15	0	0	0	0
G2	B3	0	0	0	0
	B12	0	0	0	0
G3	B5	3	0	0	1
	B7	0	0	0	0
	B9	1	2	0	0



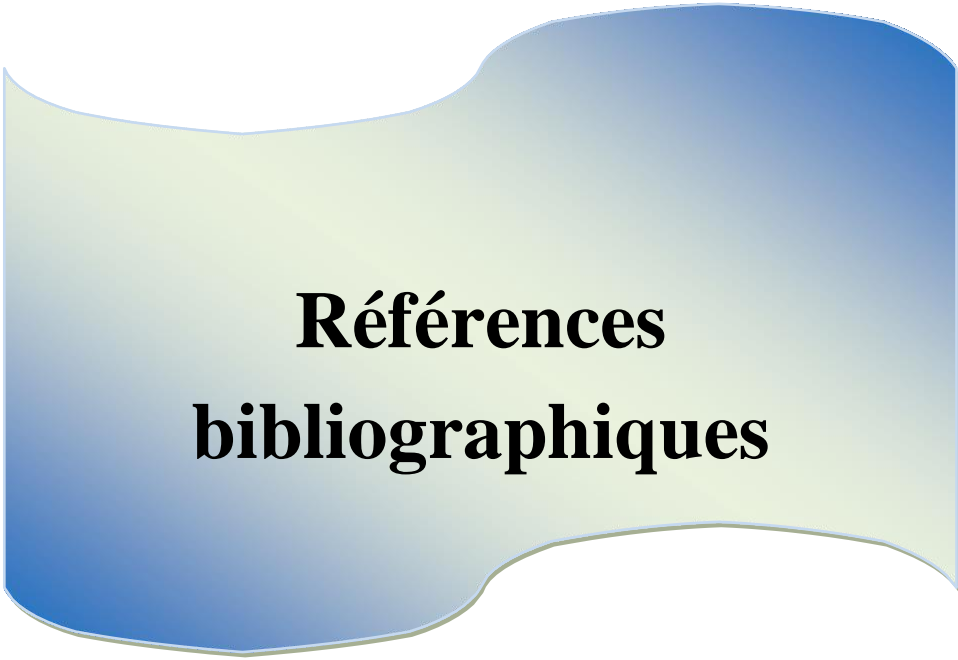
Conclusion

Conclusion

L'isolement réalisé sur deux échantillons de lait camelin provenant de la région de Hassi Bahbah (wilaya de Djelfa), nous a permis de retenir 9 isolats de bactérie lactique. L'ensemble d'isolats présentent un Gram positif, une absence du catalase, non mobiles et non sporulants. et on a fait des Tests physiologiques a une température différentes de 30 °C, 37 °C, 42 °C et de pH = 9 et NaCl de 6%

Ces bactéries lactiques ont fait l'objet d'une identification phénotypique préliminaire, qu'a abouti à un classement en trois taxons différents. Ces taxons ressemblent aux genres suivants : *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Enterococcus*.

Les neuf isolats de bactérie lactique ont été testés pour leur activité antimicrobienne contre quatre germes cibles ; deux bactéries de gram différent (*Escherichia coli* et *staphylococcus*) une levure (*saccharomyces cerevisiae*) et une moisissure (*penicillium sp.*) on a utilisé la méthode de stries croisées , en préparant des cultures de bactéries lactiques sous forme de trait horizontal , et les isolats cibles sontensemencées par truites perpendiculaires la lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition en (mm).



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

- Boubekri, K., Ohta, Y. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, el-klila. *Journal of Science and Food Agriculture*, 70: 501-505.
- Corrieu G., Luquet, F. M. (2008). *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris.
- Dortu C Et Thonart P. (2009) - Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la biopreservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13 (1), 143-154
- De Man J.C., Rogosa M. & Sharpe M.E., 1960, A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.
- Joffin, J. N., Leyral, G. (2006)- *Microbiologie technique « Tome 1 »: Dictionnaire des techniques*. CRDP Aquitaine, Bordeaux.
- Harris L., Daeschel M., Stiles M. Et Klaenhammer T. (1989). *Journal of food protection*, p 52, 384
- Guiraud J.P., 2003 - *Microbiologie Alimentaire*. Edition DUNOD. Paris. Pp: 136-139.
- Georgalaki, M.D., Papadelli, M., Anastasiou, R., Kalantzopoulos ,G., Tsakalidou, E. (2002). Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (PepX) from *Streptococcus macedonicus* and cloning of the pepX gene. *Le Lait*, p 82, 657-671.
- Konuspayeva G., Loiseau G. Et Faye B., 2004. La plus-value "santé" du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du Kazakhstan. *Renc. Rech. Ruminants*, 11.
- Achemchem F, 2014. Bactériocines de bactéries lactiques de lait et de fromage de chèvre. Presses academiques Francophones. 24-25p
- Joubert D, 2016. Les ferments lactiques. *Revue des ENIL* N° 345-12-2016. 23p
- Mkrtychyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents.*, 35: 255-260.
- Moraes, M. P., Perin, L. M., Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Viçosa, G. N., Nero, L. A. (2010). Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. *Food Sci. Technol.* , 43: 1320-1324.
- Ogunbanwo St., Sanni A.L. Et Omilude A.A. (2003). Characterization of lactobacilli in cheese. *Journal of dairy research*, p 25, 431-438.
- Samelis J., Maurogenakis F. , Metaxopoulos J. 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*. Volume 23, Issue 2, October International Journal of Food Microbiology Volume 23, Issue 2, October 1994, Pages 179-19 , Pages 179-196
- Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004). *Lactic acid bacteria. microbiological and functional aspects*. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.
- Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.* , 3: 194-199.
- Zambunelli C., Chiavari C. (2002). Effect of lactic acid bacteria autolysis on sensorial characteristics of fermented food. *Food Technol-biotechnology* 40: p 347-351



Annexes

Annexes

1. Milieux de culture

MRS (De Man Rogosa et Sharpe , 1960)

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de Levure	5 g
Glucose	20 g
Tween 80	1mL
phosphate dipotassique	2 g
Acétate de Sodium	5 g
citrate de Sodium	2 g
Sulfate de magnésium	0.2 g
Sulfate de manganèse	0.05 g
Agar Bactériologique	15 g
Eau distillé	1000 mL

pH= 6,5 autoclave à 120 °C / 20 minutes

2. Eau physiologique

Utilise pour la réalisation des dilutions.

Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000 ml

Stérilisation à 120 ° C pendant 20 min

3. Bouillon MRS (De Man Rogosa et Sharp ,1960)

Composition :

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de Levure	5 g
Glucose	20 g
Tween 80	1mL
phosphate dipotassique	2 g
Acétate de Sodium	5 g
citrate de Sodium	2 g
Sulfate de magnésium	0.2 g
Sulfate de manganèse	0.05 g
Eau distillé	1000 mL

pH= 6,5 autoclave à 120 °C / 20 minutes

4. Gélose Mueller Hinton (MH)

Peptone	17.5 g
Extrait de viande	2 g
Amidon	1.5 g
Calcium	20 mg
Magnésium	10 mg
Agar	15 g
Eau distillé	1000 mL

pH= 7.4+-0.2 autoclave à 120 °C / 20 minutes

5. Coloration de Gram :

Le matériel utilisé dans ce test est les lames et les colorants suivants : Violet de gentiane et Lugol et Fuchsine.

Nous commençons le test par réaliser un frottis (étalement), et fixer la préparation à la flamme et sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame, puis immerger la lame dans la solution de violet de gentiane pendant 1mn et immerger la lame dans Lugol pendant 30 seconde et décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée et après rincer à l'eau distillée.

Avec l'observation microscopique ont à remarqué les bactéries de Gram + sont colorées en violette, et les bactéries de Gram _ sont colorées en rose.