



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

UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme

De MASTER ACADIMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Les Bactéries lactiques du lait de chamelle productrices des bactériocines :
Isolement, caractérisation et application dans la conservation de la viande**

Présenté par

GUERROUT Fatma Zahra

HOUCHEDEI Nedjwa

Soutenu publiquement le : 24/06/2024

Devant le jury composé de :

MOSBAH Said	Encadreur	MCA	UKM Ouargla
DJAFOUR Safia	Co encadreur	Doctorante	UKM Ouargla
SOUID Wafaa	Examineur	MCB	UKM Ouargla
BOUDERHEM Amel	Président	MCB	UKM Ouargla

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la force d'entreprendre cet humble acte

Nous remercions Dieu de nous éclairer sur le chemin du succès et d'atteindre notre objectif et ainsi de réaliser le rêve

Sincères remerciements et gratitude à l'encadreur Dr. MOSBAH Said, professeur à l'université Kasdi Merbah Ouargla, qui a accepté de conduire ce travail et de nous encadrer, pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, de nous permettre de travailler sur un projet des plus intéressants. Nous tenons à lui exprimer notre gratitude pour sa grande disponibilité, ses conseils et pour son écoute attentive tout au long de l'élaboration de ce modeste travail. Merci beaucoup merci du fond du cœur

Nous remercions notre Co encadreur Melle DJAAFOUR Safia, doctorante à Kasdi Merbah Université de Ouargla, de nous avoir accompagné tout au long de ce travail et de nous avoir fourni tous les moyens nécessaires au travail, et nous la remercions pour ses conseils et commentaires, qui sont une grande aide pour nous.

Nous voudrions exprimer nos remerciements les plus vifs à Mme. BOUDERHEM Amel, Maître de conférences au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider le jury, d'évaluer et d'examiner ce mémoire. Acceptez notre plus grande gratitude et notre respect.

Mes plus sincères remerciements vont également à Madame SOUID Wafaa, Maître Assistant A à l'Université K.M. Ouargla, pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter d'examiner ce travail. Acceptez notre plus grande gratitude et notre respect.

Nous remerciant Mr. BOURICHA M'Hamed, pour leurs précieux conseils.

Nous adressons également nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont soutenus, et conseillés de près ou de loin, et à chacun de la promotion 2024 spécialité Microbiologie Appliquée, et à tous les professeurs qui ont encadré notre enseignement durant notre parcours académique.



Dédicaces

Tout d'abord, merci à Dieu pour l'exhaustivité. Je remercie Dieu et le remercie de m'avoir donné le courage et la patience de faire ce travail. Je dédie ce travail à:

À mes très chers parents Mon père *Bencherki* et ma mère *Fouzia*, qui ont été toujours à mes côtés, pour leur générosité leurs sacrifices et le courage qu'ils m'ont donné pour terminer mes études merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, merci pour tout ce que vous avez fait pour que je sois ici, Et je réalise mes rêves et mes objectifs, et que *DFU* m'aide et vous remboursé pour votre peine. Merci beaucoup et je vous aime beaucoup

À mes chères sœurs et sympathisantes *Fatima, Khadidja, nour elain.*

À mon frère *Mohamed Abdelaziz.*

Et à toute la famille *Houchedi et Benyahia*, grands et petits, chacun en son nom, et à tous ceux qui nous ont soutenus avec des mots de motivation et d'encouragement

Et à mes amis bien-aimés *Fatma Z, Amani* (Allah la préserve).

À mes encadrateurs : « *MBSBAH said et DJAFOUR Safia* »

À tous ceux qui m'aiment

HOUCHEDI Nadjwa



Dédicaces

Avant de dédier ce travail nous remercions DJFV le clément, le miséricordieux pour le courage, la patience et la santé qu'il m'a donné pour venir à bout de ce travail après Cinq ans d'étude.

C'est avec une profonde fierté immense et une joie indescriptible que je dédie humblement ce travail à mon père bien-aimé, Massoud. À ma très chère mère Djamila.

Qui est la lumière de ma vie. Tu as consacré tous tes efforts à ma réussite, faisant d'innombrables sacrifices et prodiguant tes précieux conseils. Ta présence et ton soutien constant ont été d'une aide inestimable dans ma vie. Je dédie ce travail à toi, en témoignage de ta précieuse assistance tout au long de ces années. Que Dieu te protège pour moi. Je t'aime, maman, et je te suis infiniment reconnaissante encore une fois.

À mon chère frère que j'aime beaucoup Mohamed Qui a toujours su m'encourager à leur façons, Que Dieu tu garde et tu protège et inchallah que votre chemin soit plein de succès.

À mes chères sœurs Mariem et Khadidja.

À mes encadreur MBSB et Said et DJAFVUR Safia.

À ma grande famille, et mes amis, mes collègues À tous ceux qui contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je dis merci.

GUERROU Fatma Zahra



Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation.
AGC	Acides Gras à Chaîne Courte.
ALG	Alginate de sodium.
ATP	Adénosine triphosphate.
C °	Degré Celsius.
CO ₂	dioxyde de Carbone.
D.O	densité optique.
EDTA	Acide Ethylène Diamine- Tetraacétique.
FDA	Food and Drug Administration.
FPM	Force Proton Motrice.
GRAS	Generally Recognized As Safety.
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène.
H ₂ S	Sulfure d'hydrogène.
ISO	Organisation Internationale de Normalisation.
kDa	Kilo Dalton.
LAB	Lactic Acid Bacteria
MRS	Man Rogosa et Sharpe
MRSB	Bouillon Man Rogosa et Sharpe
NaCl	Chlorure de Sodium.
NCFS	Non-Cellular Fraction Suspensions.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
pH	Potentiel d'hydrogène.
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méthicilline.
TSI	Triple Sugar Iron.
VF	Viande Foie
ZI	Zone d'inhibition

Tableau 1	Caractères phénotypiques des souches lactiques isolées.	39
Tableau 2	Les diamètres des zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.	41
Tableau 3	Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.	43
Tableau 4	Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de spot.	46
Tableau 5	Mise en évidence de la nature protéique des agents.	48
Tableau 6	Stabilité thermique des agents inhibiteurs (exprimée en diamètres des zones d'inhibition en mm).	49
Tableau 7	résultats des analyses organoleptiques.	52

Liste des figure

Figure 01	Illustration visuelle mettant en évidence les impacts positifs de la conservation de la viande de poulet qui peuvent être obtenus avec des surnageants des LAB.	12
Figure 02	séquence et structure de l'antibiotiques de type A (Nisine), B (Mersacidine) et d'un l'antibiotique « two-peptide » (Lacticine 3147A1 et A2)-Sequence and structure of a type A lantibiotic (Nisine), a type B lantibiotic (Mersacidine) and a « two-peptides» lantibiotic (Lacticine 3147 A1 and A2).	21
Figure 03	Préparation des séries de dilutions au 1/10ème des échantillons de lait de dromadaire pour isolement de bactéries lactiques.	25
Figure 04	les étapes de la conservation des bactéries lactiques.	26
Figure 05	les étapes de Test de détection indirecte (Méthode des puits).	31
Figure 06	Aspect macroscopique des souches lactiques isolées sur milieu MRS.	37
Figure 07	Aspect microscopique des souches lactiques après coloration de Gram (Grossissement x100).	37
Figure 08	Résultat négatif de test catalase pour les souches lactiques sélectionnées.	38
Figure 09	Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de spots.	42
Figure 10	Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.	43
Figure 11	les zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de disque.	45
Figure 12	les zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.	46
Figure 13	Les diamètres des zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.	47
Figure 14	Les diamètres des zones d'inhibitions des surnageant seules et avec pepsine de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits	49
Figure 15	Apparence de viande poulet traitées et non traité.	51
Figure 16	l'évolution de pH des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.	52
Figure 17	évolution des levures et moisissures des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.	53
Figure 18	évolution des bactéries lactiques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.	54
Figure 19	évolution FTAM des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.	55
Figure 20	évolution coliformes totaux des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.	56

- Figure 21** évolution des staphylocoques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré. **57**

Liste des annexes

01	Milieux de culture.	74
02	Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960) .	74
03	Milieu Mueller-Hinton.	75
04	Milieu viande foie.	75
06	Gélose standard pour dénombrement ou Plat Count Agar (PCA).	75
07	Milieu VRBL (Gélose lactosé billé au Cristal Violet et Rouge Neutre).	75
08	Milieu Chapman.	76
09	Milieu Mannitol – mobilité.	76
10	Milieu TSI.	76
11	Appareillages.	77
12	La partie expérimentale.	79
13	Analyses microbiologiques de viande de poulet (données pour les graphes).	84

Table des matières

N°	Titre	Pages
	Remerciement Dédicace Dédicace	
	Liste des abréviations	V
	Liste des tableaux	VI
	Liste des figures	VII
	Liste des annexes	IX
	Table des métiers	X
	Résumé	XII
	ملخص	XIV
	Summary	XV
	Introduction	1
Chapitre 1 synthèse bibliographique		
1.1	Bactéries lactiques	5
1.1.1	Généralités	5
1.1.2	Bactéries lactiques et fermentations alimentaires	6
1.1.3	Bactéries lactiques et santé humaine	7
1.1.4	Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques	8
1.1.5	Intérêt des bactéries lactiques	8
1.2	les bactériocines	9
1.2.1	Généralités	9
1.2.2	Classification des bactériocines	10
1.2.3	Mécanismes d'action des bactériocines	12
1.2.4	Spectre d'activité des bactériocines	13
1.2.5	Applications et intérêts des bactériocines	14
1.2.6	Les conditions des utilisations	16
1.3	Bioconservation des viandes par les bactéries lactiques	17
1.3.1	Méthodes d'application des postbiotiques dans les aliments	18
1.3.2	Méthode de trempage et de revêtement	19
1.3.3	Bio- préservation des viandes par LAB.	19
Chapitre 2 Matériel et Méthodes		
2.1	Matériel.	23
2.2	Méthodes.	25
2.2.1	Isolement et purification des bactéries lactiques.	25
2.2.2	Purification des bactéries lactiques.	25
2.2.3	Conservation des bactéries lactiques.	26
2.2.4	Tests de préidentification des bactéries lactiques	26
2.2.4.1	Examen microscopique.	27
2.2.4.2	Recherche de la catalase.	27
2.2.4.3	Tests physiologiques.	27
2.2.4.4	Tests biochimiques.	28
2.3	Mise en évidence de l'effet antagoniste.	29

Table des matières

2.3.1	Test des interactions directes (par spots).	29
2.3.2	Test de détection indirecte (Méthode des puits).	30
2.4	Essai de bio conservation.	31
2.4.1	Application de revêtements comestibles et tests de stockage.	31
2.4.2	Préparation de la Solution d'Alginate de Sodium.	31
2.4.3	Préparation de la Culture de Bactéries Lactiques Produisant des Bactériocines.	32
2.4.4	Incorporation des Bactériocines dans la Solution d'Alginate.	32
2.4.5	Préparation du Revêtement.	32
2.5	Analyses physico-chimiques de la viande.	33
2.5.1	Détermination du Ph.	33
2.6	Analyse microbiologique de viande de poulet.	33
2.6.1	Recherche et dénombrement la Flore aérobies mésophiles totale (FMAT).	33
2.6.2	Recherche et dénombrement des coliformes totaux.	33
2.6.3	Recherche et dénombrement des bactéries lactiques.	34
2.6.4	Recherche et dénombrement des levures et moisissures.	34
2.6.5	Recherche et dénombrement des staphylocoques.	34
Chapitre 3 résultats et discussions		
3	Résultats	37
3.1.	Isolement et purification.	37
3.2.	Identification des souches lactiques.	37
3.2.1.	Caractères morphologiques.	37
3.2.2.	Caractères biochimiques et physiologiques.	41
3.3	Etude des substances antimicrobiennes produites par les isolats.	41
3.3.1.	Effet antibactérien des souches lactiques isolées.	41
3.3.1.1	La méthode de Spot (méthode directe).	41
3.3.1.2	La méthode de diffusion en puits.	42
3.3.1.3	La méthode de disque.	44
3.4	Caractérisation de l'agent antagoniste.	45
3.4.1	Mise en évidence de la nature protéique des agents inhibiteurs.	48
3.4.2	Stabilité thermique des agents inhibiteurs	49
3.5	Essai de bioconservation.	50
3.6	Application de surnageant de bactériocinogène LAB et de revêtements comestibles et tests de stockage de viande de poulet.	50
3.6.1	Analyses sensorielles.	50
3.6.2	Analyses physicochimiques.	52
3.6.3	Analyses microbiologiques	53
	Conclusion générale	59
	Références	62
	Annexe	74

Les Bactéries lactiques du lait de chamelle productrices des bactériocines : Isolement, caractérisation et application dans la conservation de la viande.

Résumé

Cette étude porte sur l'isolement et la purification de bactéries lactiques présentant des activités antibactériennes à partir du lait de chamelle, et leur application dans la conservation de la viande de poulet. À partir d'une identification phénotypique, 10 bactéries lactiques ont été isolées. Pour démontrer leur effet antagoniste, nous avons étudié in vitro leur pouvoir inhibiteur contre quatre bactéries pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas* en utilisant les méthodes des spots, des puits et des disques.

L'étude a montré que toutes les bactéries lactiques sélectionnées testées produisent des bactériocines. Pour valoriser ces souches bactériocinogènes, l'étude de l'activité antibactérienne a été complétée par des essais de conservation de viande de poulet utilisant des postbiotiques de souches bactériocinogènes sélectionnées (DS12). La viande a été analysée sous les angles physico-chimique, sensoriel et microbiologique pour évaluer l'efficacité de la conservation. Les résultats suggèrent que les traitements avec surnageant et polymère peuvent ralentir la prolifération microbienne à court terme, mais ne sont pas suffisants pour un contrôle à long terme sous les conditions testées. Pour une conservation prolongée, des méthodes supplémentaires ou améliorées pourraient être nécessaires pour maintenir la qualité microbiologique du poulet en réfrigération.

Cette analyse souligne l'importance de tester et d'optimiser les traitements de conservation pour contrôler efficacement la croissance des microorganismes dans les produits alimentaires.

Mots-clés : lait de chamelle, bactéries lactiques, bioconservation, activités antibactériennes, viande de poulet, bactériocines.

بكتيريا حمض اللاكتيك في حليب الابل المنتجة للبكتيريوسينات : عزل، توصيف وتطبيقها في الحفظ الغذائي للحوم

المخلص

تتعلق هذه الدراسة بعزل وتنقية البكتيريا اللاكتيكية من الحليب الخام للإبل التي تظهر نشاطاً مضاداً للبكتيريا وتطبيقها في الحفظ الحيوي للحوم الدجاج. بالاعتماد على تحديد الأجناس بناءً على الخصائص الظاهرية، تم عزل 10 بكتيريا من بكتيريا حمض اللاكتيك لإظهار تأثيرها العكسي قمنا بدراسة قوتها التثبيطية في المختبر ضد أربعة بكتيريا المسببة للأمراض المعروفة: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas*. باستخدام أساليب البقع والأبار والأقراص. أظهرت الدراسة أن جميع البكتيريا حمض اللاكتيك المختارة المختبرة تنتج بكتيريوسينات.

لتقييم تأثير البكتيريوسينات المختارة، تم إكمال دراسة النشاط المضاد للبكتيريا بتجارب الحفظ لحم الدجاج باستخدام البوستبيوتيك من السلالات البكتيريوسينية المختارة (DS12). تم تحليل اللحم من النواحي الفيزيائية والكيميائية والحسية والميكروبيولوجية لتقييم فعالية الحفظ. تشير النتائج إلى أن المعالجات بالسوائل العلوية والبوليمر يمكن أن تبطئ تكاثر الكائنات الدقيقة على المدى القصير، ولكنها ليست كافية للسيطرة على المدى الطويل تحت الظروف المختبرة. قد تكون طرق إضافية أو تحسينات مطلوبة للحفاظ على الجودة الميكروبيولوجية للدجاج في التلاجة لفترات زمنية أطول. تؤكد هذه التحليلات أهمية اختبار وتحسين طرق الحفظ للتحكم بفعالية في نمو الكائنات الدقيقة في المنتجات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: حليب الابل، بكتيريا لاكتية، حفظ الأغذية، أنشطة مضادة للبكتيريا، لحم الدجاج، بكتيريوسينات.

Lactic acid bacteria from camel milk producing bacteriocins: Isolation, characterization, and application in meat preservation

Summary

This study focuses on isolating and purifying lactic acid bacteria with antibacterial activities from raw camel milk and their application in chicken meat preservation. Based on phenotypic identification using morphological, physiological, and biochemical characteristics, 10 lactic camel milk, rich in essential nutrients, is a potent source of antibacterial activities, making it ideal for biopreservation of foods. This study focuses on isolating and purifying lactic acid bacteria exhibiting antibacterial activity from raw camel milk, and applying them in the biopreservation of chicken meat. Based on phenotypic identification, 10 lactic acid bacteria were isolated and their antagonistic effects were studied in vitro against four known pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas* using spot, well, and disc methods.

The study demonstrated that all selected lactic acid bacteria produced bacteriocins. To assess the efficacy of these Bacteriocin producing strains, antibacterial activity studies were complemented with chicken meat preservation trials using postbiotics from selected bacteriocinogenics strains (DS12). Chicken meat was analyzed for physicochemical, sensory, and microbiological aspects to evaluate preservation effectiveness. Results suggest that treatments with supernatant and polymer can temporarily slow microbial proliferation but are insufficient for long-term control under tested conditions. Additional or enhanced methods may be required for prolonged preservation to maintain microbiological quality of chicken under refrigeration.

This analysis underscores the importance of testing and optimizing preservation treatments to effectively control microbial growth in food products.

Keywords: camel milk, lactic acid bacteria, food preservation, antibacterial activities, chicken meat, bacteriocins.

Introduction

Le lait de chamelle constitue une source vitale de nutriments pour les populations des régions arides. Il est une excellente source de vitamines, d'acides gras et de minéraux essentiels tels que le calcium et le fer. Le lait de chamelle contient également une diversité de bactéries lactiques, ce qui contribue à sa richesse microbiologique (**Mohammed, Al Haj et al., 2021**).

Une caractéristique remarquable du lait de chamelle est sa compatibilité avec les conditions arides et désertiques, où les autres sources alimentaires sont souvent limitées (**ALHAJ et al., 2015**). Selon **FAYE (2018)**, les chameaux sont bien adaptés à ces environnements hostiles, produisant du lait même dans des conditions de chaleur extrême et de pénurie d'eau. Cette adaptabilité fait du lait de chamelle une ressource nutritionnelle cruciale pour les populations nomades qui dépendent des chameaux pour leur subsistance.

La conservation des aliments est un défi majeur pour l'industrie alimentaire. Le gaspillage alimentaire est un problème croissant dans de nombreux pays, et des études ont montré que la dégradation des aliments est souvent causée par des bactéries, des levures et des moisissures.

FARNWORTH (2008) a indiqué que les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle ont attiré l'attention en raison de leurs propriétés uniques et de leur potentiel d'application dans la bioconservation qui fait référence à la préservation des produits alimentaires par diverses méthodes pour prolonger leur durée de vie et garantir leur sécurité. Ils ont été largement utilisés dans la bioconservation en raison de leur capacité à produire des acides organiques, des bactériocines et d'autres composés bioactifs qui inhibent la croissance des microorganismes responsables de la détérioration et des pathogènes (**AHMED et al., 2015**).

La bioconservation, qui consiste à utiliser des microbiotes naturels ou contrôlés ou des antimicrobiens, est une approche prometteuse pour prolonger la durée de conservation des aliments tout en maintenant leur qualité et leur sécurité. L'utilisation de souches bactériennes probiotiques, telles que celles isolées du lait de chamelle, est une méthode innovante pour prévenir la détérioration des aliments. Des études récentes ont montré que les bactéries lactiques du lait de chamelle possèdent des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques. Ces propriétés sont essentielles pour contrôler la croissance des microorganismes responsables de la détérioration (**YAGOUB et al., 2020**).

Dans l'industrie alimentaire, les postbiotiques ont des applications potentielles, notamment la production d'aliments fonctionnels, l'utilisation de postbiotiques comme inhibiteurs et éliminateurs de biofilms (**HOSSAIN et al., 2021 ; REZAEI et SALARI, 2021 ; REZAEI et KHANZADI, 2022**), et l'incorporation de postbiotiques dans les formulations alimentaires et les matériaux d'emballage pour garantir la sécurité et la qualité des aliments(**ABBASI et al., 2018**).

Les postbiotiques contiennent des vitamines, des acides organiques, des acides gras à chaîne courte (AGCC), des peptides bioactifs, des bactériocines, des biosurfactants, des enzymes, des peptides antimicrobiens et de l'acide linoléique conjugué (**AGUILAR-TOALA et al., 2018**). De plus, les postbiotiques possèdent des caractéristiques antioxydantes et antibactériennes, sont sûrs pour les cellules eucaryotes, efficaces sur une large gamme de pH et peuvent survivre à diverses conditions, telles que la température et la lumière (**HOSSEINI et al., 2021**). Des études récentes ont montré que les postbiotiques dérivés de *Pediococcus acidilactici* et de *Lactilactobacillus sakei* contiennent des flavonoïdes et des composés phénoliques, ainsi que leurs métabolites, capables de réduire significativement les agents pathogènes d'origine alimentaire dans les aliments (**İNCILI TEKIN et al., 2022 ; İNCILI GÜNGÖREN et al., 2022**).

La demande de conservateurs alimentaires naturels et sûrs est en constante augmentation en raison des préférences des consommateurs pour des produits alimentaires peu transformés et sans produits chimiques. Les bactériocines, des peptides antimicrobiens produits par les bactéries lactiques (LAB), offrent une alternative prometteuse aux conservateurs chimiques traditionnels. Ces peptides sont efficaces contre un large éventail de microorganismes pathogènes d'origine alimentaire et de micro-organismes responsables de l'altération des aliments (**DESRIAC et al.,2020**).

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'explorer le potentiel des bactéries lactiques isolées du lait de chamelle pour produire des bactériocines et de les utiliser comme agents naturels de conservation de la viande de poulet. Par :

- Isolement et identification des bactéries lactiques productrices de bactériocines à partir du lait de chamelle.

- Caractérisation des surnageants produites, y compris leur spectre d'activité antimicrobienne et leurs propriétés physico-chimiques
- Applications alimentaires : Évaluer le potentiel des LAB productrices de bactériocines (surnageant) en tant qu'additifs alimentaires ou revêtements bioactifs pour la viande de poulet et évaluer leur efficacité dans la prolongation de la durée de conservation et l'amélioration de la sécurité alimentaire

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1.1 Bactéries lactiques

1.1.1 Généralités

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par ORLA-JENSEN (1919) et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. (GÄNZLEET *al.*, 2016).

Les bactéries lactiques situées dans des habitats riches en nutriments. Elles peuvent coloniser de nombreux produits alimentaires tels que les produits laitiers, y compris le lait maternel (MARTIN *et al.*, 2003). la viande, les poissons, les végétaux, les légumes, les céréales, les boissons, les eaux et le miel. Les bactéries lactiques font partie de la flore buccale, intestinale, et vaginale humaine ou animale (LASZTITY, 2009 ; ROKOP *et al.*, 2015 ; ZAROOUR *et al.*, 2017 ; ZHENG *et al.*, 2020 ; LAVERMICOCCA *et al.*, 2021). Les bactéries lactiques sont un groupe de coques, bacilles ou coccobacilles. Leurs principales caractéristiques sont les suivantes : GRAM positif, généralement immobiles, sporulés, anaérobies mais aérotoleérantes, dépourvus de cytochromes-oxydase et de nitrate-réductase, ne possède pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase). Pour se développer, elles ont besoin de sources de carbone organique (glucides fermentes cibles). (HAMMES *et al.*, 2009).

Toutefois, de nombreuses bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés ou les peptides, les vitamines et les acides gras. (CORSETTI *et al.*, 2007).

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme fermentaire. (ZHENG *et al.*, 2020).

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites :

- Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose ;
- Hétérofermentaires facultatif : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique ;

- Hétérofermentaires strict : elles produisent, en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (Gänzle, 2015).

Les bactéries lactiques sont divisées en trois familles :

- Famille des *Lactobacillaceae* comportant les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus* ;
- Famille des *Leuconostocaceae* contenant les *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* ;
- Famille des *Streptococcaceae* comprenant les *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum*. (SUN et al., 2015). La classification actuelle des bactéries lactiques fait apparaître douze genres qui incluent : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (ZHENG et al., 2020).

1.1.2 Bactéries lactiques et fermentations alimentaires

L'utilisation de la fermentation par l'Homme remonte à des temps très anciens. Les ferments lactiques, contenant une ou plusieurs cultures pures en proportions définies de différentes bactéries lactiques, sont largement utilisés en agroalimentaire. (HUGENHOLTZ et al., 2020).

Les bactéries lactiques interviennent dans de nombreuses transformations du lait (crème maturée, laits fermentés comme le yaourt, fromages frais et affinés), mais également dans la vinification (fermentation malolactique), la fabrication des salaisons, la fermentation des végétaux (choucroute et ensilages) et en boulangerie traditionnelle. (HUGENHOLTZ et al., 2020).

Les bactéries lactiques ont plusieurs rôles dans la production de produits fermentés. Elles permettent de changer la saveur et la texture de l'aliment. Ces changements sont dus notamment à l'acide lactique produit au cours de leur croissance. D'autre part, les bactéries lactiques produisent des peptides et des molécules comme l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétyle ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliment.(NIELSEN et al., 2018).

Le domaine d'application le plus courant des fermentations lactiques est l'industrie laitière. (LEE et al., 2020). Les ferments lactiques naturels ou commerciaux interviennent dans l'élaboration de tous les produits laitiers fermentés. Ces micro-organismes assurent plusieurs fonctions telles que la protéolyse pour donner aux fromages leurs caractères rhéologiques et la production d'agents épaississants pour améliorer la texture du fromage. (HANNON et al., 2018).

Les bactéries lactiques sont souvent utilisées en association, par exemple la fabrication du yaourt fait appel aux deux espèces lactiques : *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (De ALMEIDA et al., 2018).

Dans les produits carnés, les bactéries lactiques améliorent la qualité hygiénique et marchande en réduisant d'avantage les risques de croissance de microorganismes indésirables. (HOLCK et al., 2017).

Les bactéries lactiques interviennent aussi dans la préparation de nombreux produits végétaux fermentés. L'exemple le plus connu est la choucroute, elle fait intervenir quatre espèces lactiques : *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* et *Pediococcus damnosus* (SUN et al., 2020).

1.1.3. Bactéries lactiques et santé humaine

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des micro-organismes vivants dont l'application à l'Homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. (MARKOWIAK et al., 2017). Les espèces couramment utilisées sont *Lb. Acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbruecki, subsp bulgaricus*. (BINDA et al., 2020). Les souches lactiques sont également utilisées dans le traitement de certaines affections telles que les diarrhées, les allergies alimentaires. D'autres effets, comme la prévention des gastro-entérites nosocomiales chez le nourrisson, des propriétés anticancérigènes, antihypercholestérolémiques, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori*, prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (SUEZ et al., 2019).

1.1.4. Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques

Il est reconnu depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antibactériennes leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes (PIEWNGAM *et al.*, 2018).

Cette activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés tels que : l'acide lactique et autre acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl, la reutérine, les bactériocines...etc (HANCHI et HAMMAMI, 2019).

1.1.5. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique (MARCO *et al.*, 2017).

Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus* *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (WANG *et al.*, 2021).

Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (NEETOO *et al.*, 2019). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (LINARES *et al.*, 2017).

Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (RAUCH *et al.*,2015).

Alors que, 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 (VINDEROLA *et al.*, 2019). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que

curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (SANDERSET *al.*, 2019). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (BLAZQUEZ *et al.*, 2020).

MACKLAIM *et al.* (2015) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

1.2. Les bactériocines

1.2.1. Généralités

Les bactéries lactiques produisent une variété de peptides ou des protéines ayant une activité antibactérienne. (LE MARÉCHAL *et al.* , 2021). Différentes définitions des bactériocines ont été données au cours du temps. Cependant, la définition qui reste la plus largement acceptée est celle de KLAENHAMMER (1988) qui définit les bactériocines comme des protéines, ou des complexes protéiques.

Leur spectre d'action envers des espèces, pathogènes en l'occurrence, est étroit et est limité aux espèces taxonomiquement proches du producteur. (Mathur *et al.*, 2017). Pour se protéger contre sa propre bactériocine, une bactérie productrice synthétise une protéine d'immunité. (ŠMAJS *et ŠMARDÁ*, 2013).

Elles représentent une large classe de substances antagonistes qui varie considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action. (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016).

Elles présentent un optimum de stabilité, de solubilité et d'activité à pH acide. Thermostables, elles sont inactivées par les protéases du fait de la rapidité de leur digestion dans le tractus digestif humain. (ALVAREZ *et al.*, 2016).

Ces substances représentent un intérêt dans la conservation des denrées alimentaires par leur capacité à réguler la microflore existant dans les produits fermentés et à inhiber la croissance des germes pathogènes. (ÁVILA *et al.*, 2021).

En agro-alimentaire seule la nisine synthétisée par l'espèce *Lactococcus lactis* est utilisée comme additif alimentaire afin d'inhiber la croissance des espèces nuisibles responsables des intoxications. Son efficacité a été mise en évidence contre les germes pathogènes tels que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tyrobutiricum* (GALVEZ et al., 2021).

1.2.2. Classification des bactériocines

On trouve des souches productrices de bactériocines chez tous les genres de bactéries lactiques (PEREZ et al., 2018). Le nombre de bactériocines des bactéries lactiques caractérisées a augmenté de façon exponentielle depuis une dizaine d'années en raison de l'intérêt tant fondamental qu'appliquer qu'elles suscitent (DRIDER et al., 2016).

D'après (RIOS et al., 2020). Leur structure primaire a permis de définir une classification en quatre classes :

- Classe I : Les lantibiotiques

Il s'agit de peptides de taille réduite (< à 5 kD), stables à la chaleur. Ils peuvent être divisés en deux types : la classe **Ia** qui contient des peptides cationiques hydrophobes allongés contenant jusqu'à 34 acides aminés et la classe **Ib** qui contient les peptides globulaires chargés négativement ou sans charge nette et contenant jusqu'à 19 acides aminés. La Nisine, la subtilise, la duramycine ainsi que la cytolysine L1 sont des exemples de lantibiotiques Field et al., (2016).

Classe II

La classe II est caractérisée par des petits peptides (< 10 kDa). Ces peptides demeurent également stables après un traitement à la chaleur et sans modification post-traductionnelle. Ces peptides sont le plus souvent produits sous forme de pré-peptides dont le leader N-terminal sera clivé au niveau d'un doublet glycine. Cette classe est divisée en trois sous classes. (RIOS et al.,2020).

Sous classe IIa : bactériocines actives contre l'espèce *Listeria monocytogenes*. Ils contiennent entre 27 et 48 acides aminés et ont toutes une partie N-terminale hydrophobe

contenant la séquence consensus YGNGV ainsi qu'un pont disulfure et une partie C-terminale moins conservée, hydrophobe ou amphiphile qui détermine la spécificité d'action.

Ces bactériocines semblent par ailleurs avoir une meilleure activité antimicrobienne, un spectre d'action plus large et une meilleure résistance à l'exposition à des hautes températures. (CHENG *et al.*, 2016)

Sous classe IIb : correspond à des bactériocines à deux composants. Elles ont pour trait commun la nécessité de la mise en commun de plusieurs petits peptides aboutissant à un ensemble biologiquement actif. Cette catégorie englobe diverses lactococcines, plantaricines ou encore la lactacine F. (BASTOS *et al.*, 2015).

Sous classe IIc : Peptides thiol-actives requérant la réduction du résidu cystéine pour être actif. Les bactériocines de classe II n'appartenant pas aux sous-classes IIa et IIb seront considérées comme étant de sous-classe IIc. (BASTOS *et al.*, 2015).

Classe III

Les bactériocines de classe III sont caractérisées par leur grande taille. Il s'agit de protéines dont la masse est supérieure à 30 kDa et thermosensible. Ils sont en effet détruits par un chauffage de 10 à 15 min à 60°C.

La plupart d'entre elles sont produites principalement par des souches de lactobacilles. L'helveticin est produite par *Lactobacillus helveticus* A, l'enterolysin A est produite par *Enterococcus faecium*, la zoocin A est produite par *Spreptococcus zooepidemicus* et la millericin B est produite par *Streptococcus milleri* (CHIKINDAS *et al.*, 2018).

Classe IV

Cette classe englobe les bactériocines qui nécessitent une partie non protéique pour être active. Cette classe comporte des bactériocines complexes qui exigent des carbohydrates ou des fractions lipidiques pour leur activité biologique (BASTOS *et al.*, 2015). Ces bactériocines présentées par KLAENHAMMER (1993) a été contestée par la suite par de nombreux auteurs, puisque aucun de ces peptides n'a été co-purifié avec sa partie glucidique ou lipidique. (Mathur *et al.*, 2017).

provoquant un déséquilibre ionique et une fuite de phosphate inorganique et d'autre part par une perte de la force Proton Motrice (FPM) qui implique la dissipation totale du potentiel transmembranaire et du gradient de pH. Cette FPM joue un rôle central dans la synthèse de l'ATP, le transport actif et la mobilité bactérienne. D'autres bactériocines ont un autre mode d'action : la perturbation du fonctionnement de la cellule. Différentes cibles peuvent être attaquées, ce qui contribue à perturber le fonctionnement cellulaire. L'épidermine, la mersacidine, ainsi que la nisine se lient au lipide II et inhibent la transglycosylation, étape clé de la biosynthèse de la paroi bactérienne. D'autres peptides antimicrobiens peuvent inhiber la synthèse des acides nucléiques, comme la pleurocidine et la dermaseptine S1, ou inhiber la synthèse protéique ou encore inhiber certaines fonctions enzymatiques. (PEREZ *et al.*, 2018).

1.2.4. Spectre d'activité des bactériocines

La plupart des bactériocines de la classe I, ont un spectre d'activité relativement large, touchant à la fois à des bactéries lactiques elles-mêmes mais aussi des espèces pathogènes, tel que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, et *Clostridium botulinum*. (EGAN *et al.*, 2016).

Plusieurs bactériocines dans cette classe, tel que la nisine et la thermophiline 13, empêchent la germination des spores de *Bacillus cereus* et *Clostridium botulinum*. La plantaricine LP84 (produite par *Lactobacillus plantarum* NCIM 2084) a montré un antagonisme contre *Escherichia coli*.

La plupart des bactériocines de la classe IIa, ont des spectres d'activité étroits et inhibent seulement des bactéries à GRAM positif apparentées. En général, les membranes du genre *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* sont sensibles à cette classe, et les membranes du genre *Lactococcus* en sont résistantes. (O'CONNOR *et al.*, 2020).

Quelques unes des bactériocines IIa, tel que la pediocine PA-1, possèdent des spectres inhibiteurs assez larges, pouvant inhiber des bactéries, tel que *S. aureus*, et des cellules végétatives de *Clostridium* sp. et de *Bacillus* sp. (MAHLAPUU *et al.*, 2016).

Quelques bactériocines de la classe IIa, tel que la mundticine produite par *Enterococcus mundtii*, empêche la germination des spores de *Clostridium botulinum*. (ARGÜELLO *et al.*, 2019).

Les bactériocines de la classe IIa, sont généralement actives contre *Listeria monocytogenes*. (CHIKINDAS *et al.*, 2018).

Dans une comparaison directe, Il a été montré que la nisine a un spectre d'inhibition plus large contre *Listeria monocytogenes* que la pediocin PA-1.7 (CAVERA *et al.*, 2015).

1.2.5. Applications et intérêts des bactériocines

* Applications dans le domaine agro-alimentaire

Plusieurs travaux ont permis de montrer l'efficacité des bactériocines ou de souches productrices de bactériocines dans différentes matrices alimentaires. (WU *et al.*,2020).

En 1998, ENNAHAR *et al.*, ont montré que *Listeria. monocytogenes*, présente dans le fromage Munster, était inhibée par l'addition de *Lactobacillus plantarum* WHE 92, une souche productrice de pédiocine PA-1. La même souche de *L. monocytogenes* a également été inhibée par l'enterocine 81 produite par *Enterococcus faecium* (NOWROOZI *et al.*,2014).

WHE *et al.*, (2009), en utilisant cette même souche d'*Enterococcus faecium* WHE 81, comme culture de surface au début de la maturation du fromage Munster ont également empêché le développement de *L. monocytogenes*. De même, il a été démontré que la pédiocine PA-1 incorporée dans un film d'emballage permet de réduire significativement la charge initiale de *Listeria monocytogenes* sur la surface de la viande. De leur côté, ANANOU *et al.*, (2010), en additionnant l'entérocyne AS-48 sous forme lyophilisée à du lait écrémé, ont pu inhiber la prolifération de *L. monocytogenes* et réduire progressivement la population de *S. aureus* . MARTINEZ *et al.*, (2015) ont montré l'inhibition de la croissance de deux souches de *Listeria monocytogenes* dans un fromage à tartiner en utilisant la souche *Lactobacillus*, présentant une bonne capacité bactériocinogénique et probiotique ainsi qu'une adaptation à la matrice laitière testée. Cette même souche, encapsulée dans des nano-vésicules liposomiques et introduite dans du lait de chèvre a retardé la croissance de *L. monocytogenes* pendant plusieurs jours. Des chercheurs utilisant la souche *Lactobacillus curvatus* 54M16, une souche multi-productrice de bactériocines (les sakacines X, T et P), ont montré une activité inhibitrice permettant l'amélioration de la qualité sanitaire de saucisses fermentées traditionnelles.(LÜCKE, 2015). En effet, ces trois sakacines ont permis l'inhibition des souches pathogènes testées telles que *L. monocytogenes* et *Bacillus cereus*. AHMED *et*

FODA (2017). Cependant, aucune bactérie à GRAM négatif n'a montré de sensibilité à ces bactériocines. **GHARSALLAOUI et al., (2016)**.

L'utilisation de la technologie des barrières Hurdle Technology qui consiste en une combinaison de bactériocines avec d'autres méthodes de conservation des aliments a donné des résultats prometteurs. **HOLCK et al., (2020)**. En effet, cette technologie permet de minimiser le développement des souches résistantes, dans la mesure où les peptides antimicrobiens ont un effet additif ou synergique lorsqu'ils sont utilisés conjointement avec des traitements physiques par exemple. Ainsi, un traitement à haute pression hydrostatique combiné à l'utilisation de bactériocines a montré d'importants dommages de la membrane cytoplasmique de la population microbienne cible. **WORAPRAYOTE et al., (2016)**. En outre, les bactériocines ont une plus grande possibilité de cibler les agents pathogènes à GRAM négatif en présence des agents chélatants. Ainsi, l'application de la nisine avec de l'EDTA a inhibé efficacement *E.coli*, *Salmonella spp* et *L. monocytogenes*. **MARTINEZ et al., (2019)**.

Plusieurs autres travaux des applications alimentaires des bactériocines combinées à d'autres barrières chimiques ont été réussis, telles que : la nisine Z combinée au thymol pour inhiber *L. monocytogenes*, l'enterocine AS-48 combinée avec de NaCl pour inhiber *S. aureus*. **WORAPRAYOTE et al., (2016)**.

* Applications dans le domaine médical

En 2014, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé que 25 000 décès annuels en Europe sont attribués à l'émergence progressive de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (**TACCONELLI et al., 2018**).

Compte tenu de l'importance de ce problème, les recherches s'intensifient en direction de substances dotées d'activités antibactériennes capables d'aider à la lutte contre les souches multi-résistantes (**GHOSH et al., 2020**). A ce titre, les bactériocines produites par les bactéries lactiques semblent être des molécules de choix. Leur activité antimicrobienne importante in vitro et in vivo, la variété de spectres d'activité qu'elles offrent, leur faible toxicité, et la capacité de certains probiotiques à en produire in vivo chez l'Homme font que les peptides antimicrobiens peuvent constituer une alternative aux antibiotiques (**FIELD et al., 2018**). Ainsi, des tests in vivo effectués chez des chiens ont montré l'inhibition par la

nisine de biofilms de *Staphylococcus* ou de *Streptococcus* responsables des infections de plaques dentaires et des gingivites (AL-MAFLEHI et al., 2020).

Les souches de *Staphylococcus aureus* multi-résistantes à la méthicilline (SARM) constituent depuis longtemps un problème majeur, en raison d'infections nosocomiales cutanées (FARON et al., 2016). Or, plusieurs bactériocines ont montré des effets bactéricides contre ces SARM, notamment, la lacticine 3147 et la mersacidine. Il s'agit là d'une voie de recherche prometteuse (OMARDIEN et al., 2016). Une autre étude a permis de prévenir le développement de listériose chez des patients à risque, par l'administration d'un probiotique, *Lactobacillus salivarius* UCC118, produisant la bactériocine UCC118 de classe IIb (MOHAN et al., 2020).

1.2.6. Les conditions des utilisations

Les conditions de croissance de la souche productrice, l'action de la bactériocine produite contre les bactéries indésirables, ainsi que les effets éventuels sur les ferments utilisés sont les principales caractéristiques à prendre en considération lors de la sélection de souches productrices de bactériocines pour des applications dans l'industrie alimentaire (DRAPER et al., 2015). Les bactériocines peuvent alors être incorporées directement dans les aliments selon différentes formulations : une préparation de bactériocines sous forme purifiée ou semi purifiée lyophilisée, ou alors un concentré obtenu après fermentation par la souche productrice comme c'est le cas de la pédiocine PA-1. Il s'agit d'une bactériocine de sous-classe IIa produite par une souche de *Pediococcus acidilactici* et commercialisée sous le nom d'Alta 2341. Son utilisation est couverte par plusieurs brevets américains et européens (DICKS et al., 2018).

Les bactériocines peuvent également être incorporées indirectement en appliquant la souche productrice dans le produit alimentaire (production in situ), en substituant tout ou une partie du ferment, C'est l'approche la plus utilisée (RAMIREZ et al., 2021). Cette application avec production in situ offre plus d'avantages par rapport à une utilisation ex situ de par son efficacité et son faible coût (ZHANG et al., 2021). Les bactéries lactiques jouissent du statut GRAS (Generally Recognized As Safety) par la Food and Drug Administration (FDA). Leur utilisation en tant que ferments et producteurs de bactériocines est ainsi très répandue, étant donné qu'elles ne nécessitent pas l'obtention d'une autorisation réglementaire particulière (MARCO et al., 2017).

L'utilisation des cellules immobilisées dans des billes d'alginate permet d'améliorer la survie des bactéries productrices et la stabilité des bactériocines produites (MARTINEZ *et al.*, 2020). Des microsomes, minuscules réservoirs contenant la bactérie productrice, assurent la libération progressive de la bactériocine tout en la protégeant des protéases et des inactivations dues aux interactions avec les aliments (LEE *et al.*, 2020).

Enfin, un autre moyen de diffusion est l'enrobage de la surface des emballages alimentaires par des bactériocines (ANANOU *et al.*, 2021).

1. 3. Bioconservation des viandes par les bactéries lactiques

Le terme « biopréservation » se réfère à l'utilisation d'agents biologiques, tels que des micro-organismes et leurs métabolites, des phages, des enzymes ou des antimicrobiens naturels, pour protéger et prolonger la durée de conservation des aliments périssables (LÜCKE, 2023). La biopréservation est actuellement une solution potentielle pour répondre à la demande croissante des consommateurs pour des produits alimentaires naturels et de haute qualité. De plus, l'utilisation de biopréservateurs réduit le gaspillage alimentaire tout en maintenant les aspects nutritionnels et sensoriels des différents aliments (UDAYAKUMAR *et al.*, 2022). Utiliser des micro-organismes viables pour conserver les aliments est une méthode efficace de biopréservation

Des souches sélectionnées de bactéries lactiques (LAB), *Bacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., et *Saccharomyces cerevisiae* sont des probiotiques ou des cultures alimentaires couramment utilisées à cette fin (SINGH *et al.*, 2022), en raison de leurs rôles historiques dans la production d'aliments fermentés, de leur capacité à produire des métabolites antimicrobiens et de leur sécurité pour la consommation (LEYVA *et al.*, 2017). Les probiotiques présentent des avantages potentiels pour les humains, mais peuvent également présenter des inconvénients potentiels, notamment la possibilité de provoquer des réactions indésirables chez certaines personnes, l'incertitude quant à leurs effets sur le microbiome, les préoccupations concernant la qualité et la viabilité des suppléments de la pré- à la post-transformation, et le risque de résistance aux antibiotiques en cas de surutilisation (KOTHARI *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2022).

Les postbiotiques, également appelés métabiotiques, biogéniques ou surnageants sans cellules, gagnent du terrain en tant que point central de recherche en biopréservation

alimentaire. Les micro-organismes bénéfiques, en particulier les probiotiques produisent des postbiotiques dans les milieux de culture (ou fermentats), les aliments ou le tractus gastro-intestinal (GIT) (TEAME *et al.*, 2020 ; VALLEJO *et al.*, 2020). Les postbiotiques contiennent un mélange complexe d'acides organiques, d'exopolysaccharides (EPS), de bactériocines, de peptides bioactifs, d'enzymes et d'autres composants (AGUILAR *et al.*, 2018; CUEVAS *et al.*, 2020; MORADI *et al.*, 2020; TSILINGIRI *et al.*, 2013). Lors de la consommation de ces postbiotiques par le biais des aliments, ils sont absorbés par le corps et modulent de nombreux processus physiologiques, tels que le métabolisme énergétique, la fonction immunitaire et l'intégrité de la barrière GIT (ABBASI *et al.*, 2022).

1.3.1 Méthodes d'application des postbiotiques dans les aliments

Les postbiotiques ont été dérivés et utilisés sous forme liquide ou lyophilisée dans diverses études, et la méthode d'utilisation variait en fonction du type d'aliment et de la forme des postbiotiques tel que décrit par COSTANTINI *et al.* (2013).

Dans les formulations d'aliments tels que le poisson, la viande hachée, le fromage, la boulangerie et les aliments liquides, les postbiotiques sous forme sèche ont été utilisés soit sous forme libre soit encapsulée.

D'autre part, pour les filets de poisson et de viande, la volaille, les fruits et les légumes, des solutions de postbiotiques ont été appliquées sous forme de pulvérisation ou incorporées dans un revêtement/film.

Les avantages et les inconvénients de chaque méthode sont influencés par divers facteurs, tels que les caractéristiques de l'aliment, la forme des postbiotiques et les propriétés physiques des solutions de film et de revêtement.

1.3.2. Méthode de trempage et de revêtement

Cette méthode implique de tremper des aliments coupés ou entiers dans une solution de postbiotiques pendant une durée spécifiée, ce qui est pratique pour divers types d'aliments comme la viande, le fromage, les fruits et les légumes (PUNIA *et al.*, 2021). Cependant, elle

présente des limitations telles que la modification possible de la surface des aliments et des problèmes de gaspillage élevé et de dilution du revêtement. Un autre inconvénient est la libération immédiate des métabolites postbiotiques dans les aliments (INCILI *et al.*, 2022). selon ABBASI et SABAHI, 2022, Pour améliorer cette méthode, l'ajout de biopolymères comme le chitosane renforce les propriétés antimicrobiennes, tandis que l'utilisation de mucilage agit comme une barrière contre l'oxygène et prévient la croissance des micro-organismes dans les produits alimentaires (LEE *et al.*, 2016).

1.3.3. bio- préservation de la viande par LAB

En plus des effets nutritionnels positifs des bactéries lactiques (LAB) et des probiotiques, des enquêtes récentes ont confirmé le potentiel des probiotiques à réduire la croissance des agents pathogènes d'origine alimentaire dans les produits carnés (MUNEKATA *et al.*, 2022).

Les LAB étaient couramment utilisées dans la préparation de postbiotiques pour les applications dans les viandes, volailles et fruits de mer. Il semble qu'il n'y ait pas de souches spécifiques approuvées pour un aliment particulier, car les chercheurs ont utilisé différentes souches en fonction de leurs propriétés antimicrobiennes. Dans le cas des viandes, produits carnés et fruits de mer, *L. plantarum*, *L. lactis* et *P. acidilactici* figuraient parmi les LAB les plus étudiées pour la production de postbiotiques, tandis que pour la volaille, différentes souches de LAB ont été utilisées. De nombreuses souches de *L. plantarum* produisent des substances antibactériennes (bactériocines) appelées plantaricines, qui sont très efficaces contre les agents pathogènes d'origine alimentaire (HAMAD *et al.*, 2022) et les micro-organismes responsables de l'altération. Ce composé présente une large gamme d'activités et de structures et reste stable et actif même à des températures élevées, telles que 121 °C. *L. paracasei* est une autre souche couramment utilisée dans les produits carnés fermentés tels que les saucisses cuites, la volaille, le poisson, les agneaux et les viandes fraîches, et ses postbiotiques ont un impact significatif sur les agents pathogènes de la viande. Des études antérieures ont démontré que l'activité antimicrobienne de *L. paracasei* était associée à des peptides, des acides organiques, et divers flavonoïdes et composés phénoliques (HAMAD *et al.*, 2022).

Des études antérieures ont montré que lorsque les postbiotiques étaient appliqués à une matrice de viande contenant des matières grasses, l'activité antimicrobienne diminuait de 50%

pendant le stockage (**RIVAS et al., 2014**). Par conséquent, pour atténuer les effets de la matrice et améliorer l'efficacité antibactérienne dans les systèmes alimentaires, des méthodes d'application alternatives telles que l'encapsulation ou l'utilisation de films d'emballage antibactériens pourraient être des approches prometteuses (**BUNGENSTOCK et REICH, 2021**). Par exemple, les postbiotiques de *L. paracasei* ATCC 55544 ont été préparés dans un bouillon MRS, lyophilisés, puis combinés avec de la mucilage de graines de *Malva sylvestris* comme solution de revêtement pour la viande d'agneau. La solution de revêtement avec 8 % de postbiotiques a montré la plus forte efficacité antimicrobienne (réduction de 9,7,5,88, 3,71, 3,57 et 3,64 log CFU/g dans le compte total des micro-organismes viables, le compte psychrotrophe, *E. coli*, *S. aureus* et les populations fongiques) après 10 jours de stockage à 4 °C (**ABBASI et SABAHI, 2022**).

La viande, résultat de la transformation des muscles animaux en délices culinaires, occupe une place essentielle dans les régimes alimentaires et les cultures humaines à travers le monde. La transformation du muscle en viande par des changements physiques et biochimiques post-mortem sophistiqués, qui se produisent peu après la mort et pendant le vieillissement, confère les qualités sensorielles attendues par les consommateurs. En effet, la viande est riche en nutriments essentiels tels que protéines, vitamines et minéraux, tous cruciaux pour la santé humaine (**SHAH et al., 2014 ; GELDENHUYS et al., 2015**). Parmi les différentes viandes, la volaille se distingue par sa composition nutritionnelle avantageuse, ce qui la rend très prisée pour une alimentation saine (**JILO et HASAN, 2022**). Elle contient moins de graisses que la viande rouge et est principalement composée d'acides gras insaturés (**SALEH et al., 2020 ; HAILEMARIAM et al., 2022**). En général, la viande de poulet et ses produits dérivés sont abordables, exempts de contraintes religieuses et possèdent des caractéristiques technologiques précieuses, ce qui en fait une source largement consommée de protéines animales (**LIU et al., 2012 ; VRANIC et al., 2014**).

Malgré ces nombreux avantages, l'industrie est confrontée à la fragilité de la viande de poulet, qui peut se détériorer en 4 à 8 jours en raison de la structure des muscles blancs, de l'état de santé général de l'animal et des conditions d'abattage (**ABDEL et al., 2017 ; ALESSANDRONI et al., 2021**). Le taux de détérioration est en outre exacerbé par la manipulation post-abattage lors de la phase de vente au détail, en raison des ruptures de la chaîne du froid pendant le transport et des températures de stockage inappropriées (**RANI et al., 2017**).

L'incorporation de conservateurs naturels issus de LAB dans la conservation de la viande de poulet offrirait de nombreux avantages. Pour l'industrie, cela représente une alternative écologique aux additifs synthétiques, en accord avec la demande croissante pour une production alimentaire plus durable. L'utilisation de conservateurs d'origine végétale peut également réduire les coûts de production et améliorer l'efficacité de la chaîne d'approvisionnement, augmentant ainsi la rentabilité. De plus, cela améliore la qualité des produits, réduit le gaspillage alimentaire tout en garantissant des produits sûrs et sains (SEIDAVI *et al.*, 2021). Pour les consommateurs, l'impact est significatif, car ils bénéficient de produits de poulet exempts d'additifs synthétiques potentiellement nocifs, ce qui améliore la sécurité alimentaire et le bien-être général. Cette approche soutient une industrie alimentaire plus saine et plus durable, satisfaisant à la fois les producteurs et les consommateurs (VINCI *et al.*, 2022; PINTO *et al.*, 2023)

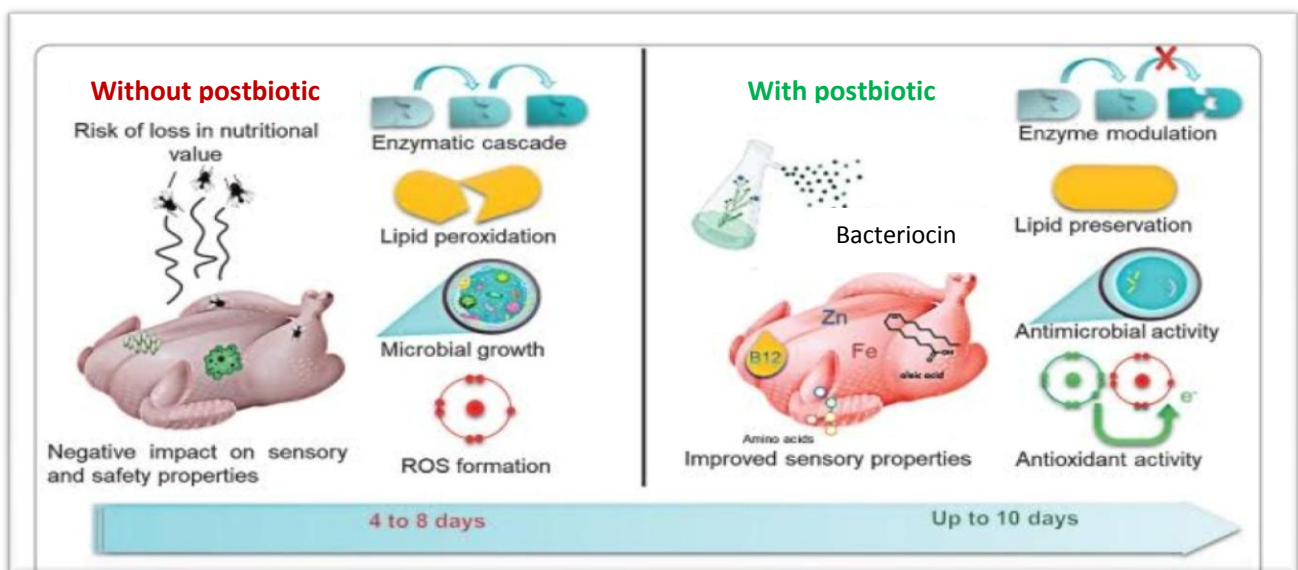


Figure 2: Illustration visuelle mettant en évidence les impacts positifs de la conservation de la viande de poulet qui peuvent être obtenus avec des surnageants des LAB.

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2. Matériel et Méthodes

L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'Université d'Ouargla et le CRAPC de Ouargla, durant la période mars – juin de l'année 2024.

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- isolement purification et caractérisations des bactéries lactiques du lait de chamelle ;
- Sélection des bactéries lactiques productrice de bactériocines ;
- Essai de Bioconservation du viande de poulet par les bactéries lactiques productrice de bactériocine.

2.1. Matériel

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, nous nous sommes servis du matériel suivant :

2.1.1. Matériel biologique

2.1.1.1. Lait : Au total, 03 échantillons de lait cru camelin (la première de Ain Baida, la deuxième route de Hassi Messaud, la troisième de Beni-Thour) ont été recueillis dans des conditions d'hygiène parfaites à partir de régions de Ouargla. Les prélèvements effectués dans des flacons stériles de 200 ml ont été par la suite acheminés au laboratoire pour être analysés en respectant les conditions de conservation adéquates (+ 4 °C).

2.1.1.2. Viande de poulet : Des filets de poitrine de poulet frais ont été achetés dans une boucherie commerciale à Sidi-Bel-Abbès Ouargla, en, provenant de volailles abattues la veille, puis transportés à 4°C pour les tests.

2.1.1.3. Bactéries lactiques

Quatre bactéries lactiques ont été choisies, parmi une collection de bactéries lactiques qui ont été isolées à partir du lait de chamelle.

2.1.1.4. Souches indicatrices : Il s'agit de quatre souches indicatrices représentées par les espèces suivantes :

- *Staphylococcus aureus* ATCCA3300 ;
- *Escherichia coli* ATCC25922 ;
- *Bacillus subtilis* ATCC6633 ;
- *Pseudomonas* ATCC9027.

2.1.1.5. Protéases

Nous avons utilisées : la pepsine.

2.1.2. Milieux de culture

- **Géloses** : MRS (de Man-Rogosa et Sharp), MH (Mueller-Hinton), Chapman, VRBL (Bilié au cristal Violet et au Rouge neutre), PCA (Plate Count Agar), VF (Viande Foie) , TSI (Triple Suger Iron.), mannitol mobilité, Sabouraud

- **Bouillons** : MRS

2.1.3. Produits chimiques et réactifs

-**Colorants** : Violets de Gentiane, fuschine, cristal violet, phénolphtaléine à 1% ; - Acides et bases : Soude dornic N/9,

- **Alcool et autres** : Ethanol 95%, lugol, eau oxygénée,

2.1.4. Appareillages

- Agitateur électrique ;
- Autoclave (raypa steam sterilizer) ;
- Bain-marie (lauda e40s) ;
- Balance analytique de précision (adventurer ohaus) ;
- Centrifugeuse électrique (rotina 380 p zentrifugen hettich) ;
- Etuve ;
- Microscope optique ;
- pH-mètre ;
- Plaque chauffante (VELP) ;

- Jarre d'anaérobie utilisée pour la culture des bactéries lactiques ;
- Réfrigérateur, congélateur et glacière ;
- Densitomètre ;
- Filtre de 0.22um ;
- Incubateur (memmert).

2.2. Méthodes

2.2.1. Isolement et purification des bactéries lactiques

A partir de chaque échantillon de lait de dromadaire, 10 ml ont été homogénéisés avec 90 ml d'eau peptonée stérile à 0,1 % (m/v), obtenant ainsi une dilution au 1/10. Puis, des dilutions décimales successives allant de 10^{-1} à 10^{-5} ont été par la suite réalisées avec le même milieu. Une fraction de 01 ml des échantillons dilués a été prélevée et ensemencée en profondeur en boîte de Pétri dans laquelle a été coulé le milieu MRS fondus (**DE MAN et al., 1960**). Après incubation à 30°C pendant 48 h, les boîtes contenant des colonies bien séparées ont été choisies pour l'isolement et la purification des isolats à partir du milieu MRS.

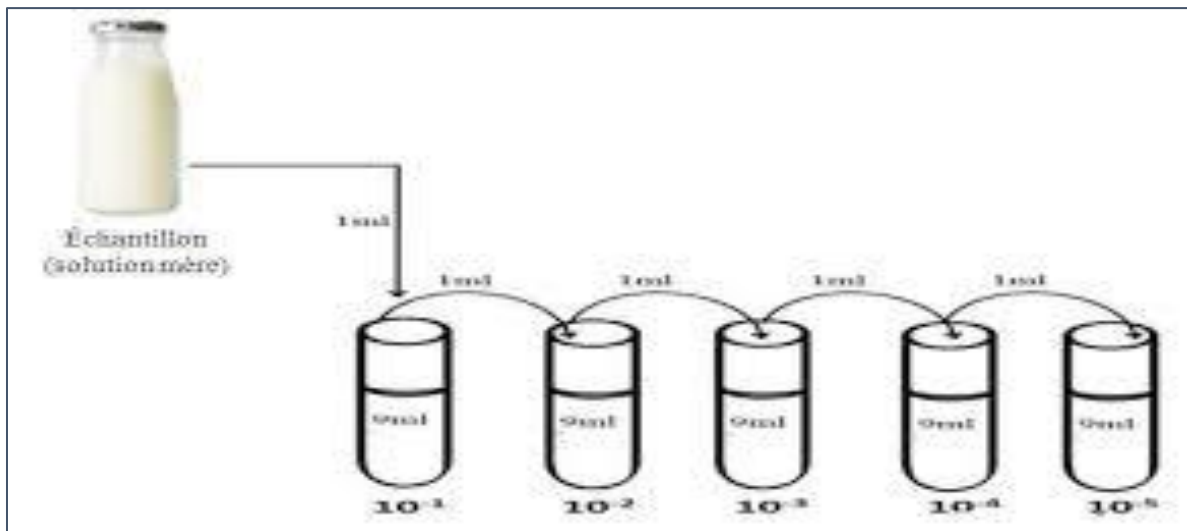


Figure 03 : Préparation des séries de dilutions au 1/10ème des échantillons de lait de dromadaire pour isolement de bactéries lactiques.

2.2.2. Purification des bactéries lactiques

Après incubation, les colonies isolées ont été purifiées par la méthode des stries (isolement et repiquage sur le milieu gélosé spécifique). La pureté de chaque culture a été vérifiée par la détermination des caractères morphologiques macroscopique et microscopique. Les isolats purs à Gram positif et catalase négative, ont été retenus.

2.2.3. Conservation des bactéries lactiques

La conservation des bactéries lactiques était réalisée par deux méthodes :

- Courte durée : les bactéries lactiques sontensemencées sur gélose MRS incliné en tube. Après incubation à 30 °C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à 4°C. Les repiquages se font toutes les trois ou quatre semaines (**BADIS et al., 2004**).

- Longue durée : A partir des jeunes cultures (18 h) sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tr / min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation (70% lait écrémé et 30% de glycérol) sur le culot. Les cultures sont conservées en micro tubes « eppendorfs » à -20 °C (**BADIS et al., 2004**).

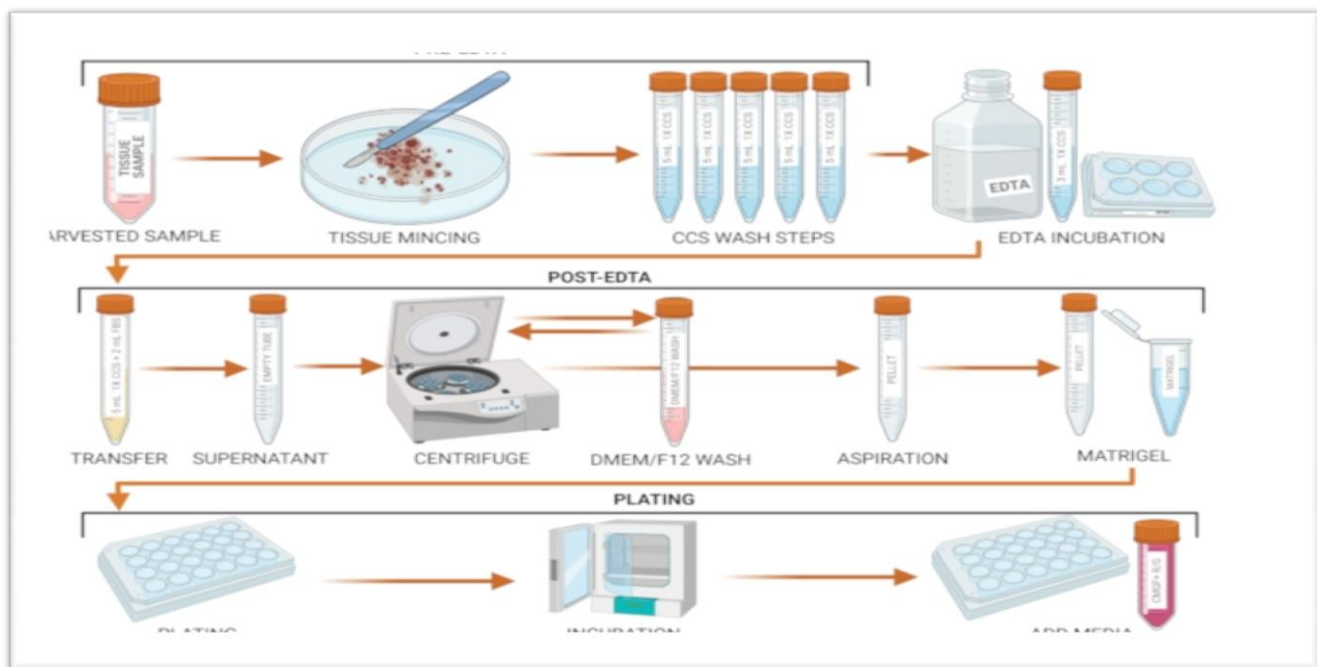


Figure 04: les étapes de la conservation des bactéries lactiques.

2.2.4. Tests de préidentification des bactéries lactiques

La préidentification des bactéries lactique sa été réalisée par l'application d'un examen macroscopique, microscopique, recherche de la catalase, croissance à différentes températures et culture sur milieu hyper salé (**LARPENT, 1997 ; IDOUI et KARAM, 2008; GUSILS et al., 2010**).

2.2.4.1. Examen microscopique

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram, celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif (en violet) de celles à Gram négatif (en rose), les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement.

2.2.4.2 - Recherche de la catalase

La catalase a été mise en évidence en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester.

2.2.4.3-Tests physiologiques :

❖ Croissance à différentes températures

La croissance bactérienne est déterminée par l'observation d'un trouble dans le milieu MRS liquide après une incubation de 5 jours à différentes températures : 4°C, 30°C, 37°C et 42°C (GUESSAS et KIHAL, 2004).

❖ Thermoresistance

La résistance thermique des bactéries a été évaluée en l'exposant à une température de 63°C dans un bain-marie pendant 30 minutes, suivie d'une incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures (GUIRAUD, 1998).

Ces tests nous permettront de différencier les souches mésophiles des thermophiles, ainsi que des souches thermorésistantes.

❖ Résistance à la salinité

Ce test est utilisé pour rechercher les souches tolérantes à la salinité, appelées halophiles. Les isolats sontensemencés dans un milieu MRS liquide contenant 3% et 6,5% de chlorure de sodium (NaCl), puis incubés à 30°C avec un témoin MRS liquide sans sel pendant

2 à 3 jours (GUESSAS et KIHAL, 2004 ; BADIS *et al.*, 2004). La croissance des bactéries est évaluée par l'apparition de turbidité dans le tube (LEVEAU et BOUIX, 1980).

❖ Croissance à différents pH

A partir d'une culture jeune des isolats (culture de 18h à 30°C), nous avons réalisé un Ensemencement dans le milieu MRS liquide à différents pH : 4 ; 6,8 et 9,6 puis incubé à 30°C pendant 2 à 3 jours (GUESSAS et KIHAL, 2004).

Ces tests visent à déterminer les microorganismes acidophiles, basophiles et neutrophiles.

2.2.4.4 Tests biochimiques

❖ Recherche de type fermentaire

Ce test pour but de déterminer le type de métabolisme (homofermentaire ou hétérofermentaire) utilisé pour transformer le substrat carboné, ainsi que la production de gaz résultant de la dégradation du glucose (HANSAL, 2015).

Les souches isolées ont été ajoutées à du bouillon MRS avec les cloches de Durham, puis incubées à 30°C pendant 2 jours. L'absence de gaz dans les cloches indique un métabolisme homofermentaire, tandis que la présence de gaz indique un métabolisme hétérofermentaire (BOUMEDIENE, 2013).

❖ Test de mobilité

Le milieu de Mannitol-mobilité est un milieu semi-solide contenant du mannitol et du rouge de phénol comme indicateur de pH.

La souche à tester estensemencée au fond du tube par pique centrale à l'aide d'une anse de platine. Ensuite, le tube est incubé à 37°C pendant 24 heures afin d'évaluer la capacité de la souche à utiliser le mannitol et sa mobilité (GUIRAD, 2003).

❖ Test de TSI

La recherche de la fermentation du glyucose et du lactose et la production de gaz est effectuée sur le milieu TSI.

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des bactéries par la mise en évidence de la fermentation de 03 sucres : lactose, glucose, saccharose avec ou sans production de gaz et ou production de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Ensemencer le culot du milieu TSI contenu en tube par piqure profonde et la pente par une strie médiane puis incubé 24h à 30 °C.

- Fermentation de glucose : Culot jaune ;
- Fermentation de lactose : Pente inclinée jaune ;
- Production de gaz : Apparition de gaz dans le culot ;
- Formation d'H₂S : Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqure.

❖ Profil fermentaire des sucres sur galerie API20E

Nous avons utilisé des galeries API 20E en parallèle pour détecter la fermentation des sucres. Cette méthode repose sur des tests enzymatiques qui sont inoculés avec une suspension dense de bactéries provenant d'une culture pure pour reconstituer les milieux. Les réactions qui se produisent pendant l'incubation entraînent des changements de couleur spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs. Ces tests enzymatiques permettent ainsi de détecter la fermentation des sucres par les bactéries.

2.3. Mise en évidence de l'effet antagoniste :

2.3.1. Test des interactions directes (par spots)

La méthode de détection du pouvoir antimicrobien selon **TAGG et al., (1971)** et **FLEMING et al., (1975)**, est utilisée pour la détection des inhibitions. Ce test consiste à Ensemencer par spot de la culture fraîche de 18h de chaque souche sur une gélose MRS. Les Boîtes sont laissées à température ambiante pour permettre le séchage des spots, avant de les Incuber à 30°C pendant 24h. Les géloses sont ensuite recouvertes avec un volume de 7 ml de Gélose molle MH, préalablement ensemencée avec un volume de 0.1 ml de la suspension Bactérienne de la souche indicatrice de l'activité inhibitrice. La densité optique est ajustée à 0.2±0.05, mesurée à une longueur d'onde de 600 nm puis incubées à 37°C pendant 24heures. L'activité antimicrobienne est révélée par la formation de la zone autour des colonies des isolats.

2.3.2. Test de détection indirecte (Méthode des puits)

Selon la méthode de **PATRIGNANI et al., (2015)**, des cultures bactériennes jeunes de 24h ont été soumises à une centrifugation de 3000 rpm pendant 15min. L'activité antimicrobienne par les acides organiques produite par les bactéries lactiques a été supprimée

par l'ajustement du pH du surnageant natif à pH égale à 7,0 avec le NaOH (1N) pour obtenir un surnageant neutre. Le surnageant est incubé à 37°C pendant 1 h, puis filtrés sur un millipore de 0,22 µm et conservé à 4°C.

Les boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton, préalablement coulée et solidifiée, ont été inondées par la souche indicatrice (0.1ml) puis des puits de 5 mm de diamètre ont été confectionnés. Chaque puits a reçu 100 µl du surnageant. Après incubation 24h à 37° C, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés. La recherche d'éventuelle production de substances inhibitrices par les bactéries lactiques sélectionnées est réalisée en milieu solide. Pour s'assurer de la nature protéique des substances inhibitrices, on utilise des enzymes protéolytiques : la pepsine. Le but de ce test est de prouver la nature de la substance antimicrobienne élaborée par les isolats lactiques. Un volume de 1 mL de surnageant brut est ajouté à 100 µl de pepsine (1 mg d'enzyme + 1 ml d'eau distillé stérile). Le tout est incubé à 37°C pendant 1h. Dans les puits 50 µl ont été déposés :

- Surnageant neutralisé dans le premier ;
- Surnageant + pepsine (**BOURICHA, 2022**).

Dans le but de déterminer la stabilité thermique de l'agent responsable de l'activité antagoniste, les surnageants sont traités à différentes températures, 70 et 90°C pendant 30 mn et à 120°C pendant 20 mn (**HAMMAMI et al., 2012**). Après refroidissement, l'activité antagoniste est mise en évidence vis-à-vis des bactéries indicatrices. La lecture des résultats se fait par la comparaison entre ceux obtenus par les surnageants traités et le surnageant non traité thermiquement.

La mesure du diamètre d'inhibition (Z_i) est réalisée en utilisant la formule suivante :

$$Z_i \text{ (mm)} = D1 \text{ (mm)} - D2 \text{ (mm)}$$

D1 : diamètre de la zone d'inhibition obtenue

D2 : diamètre du puits

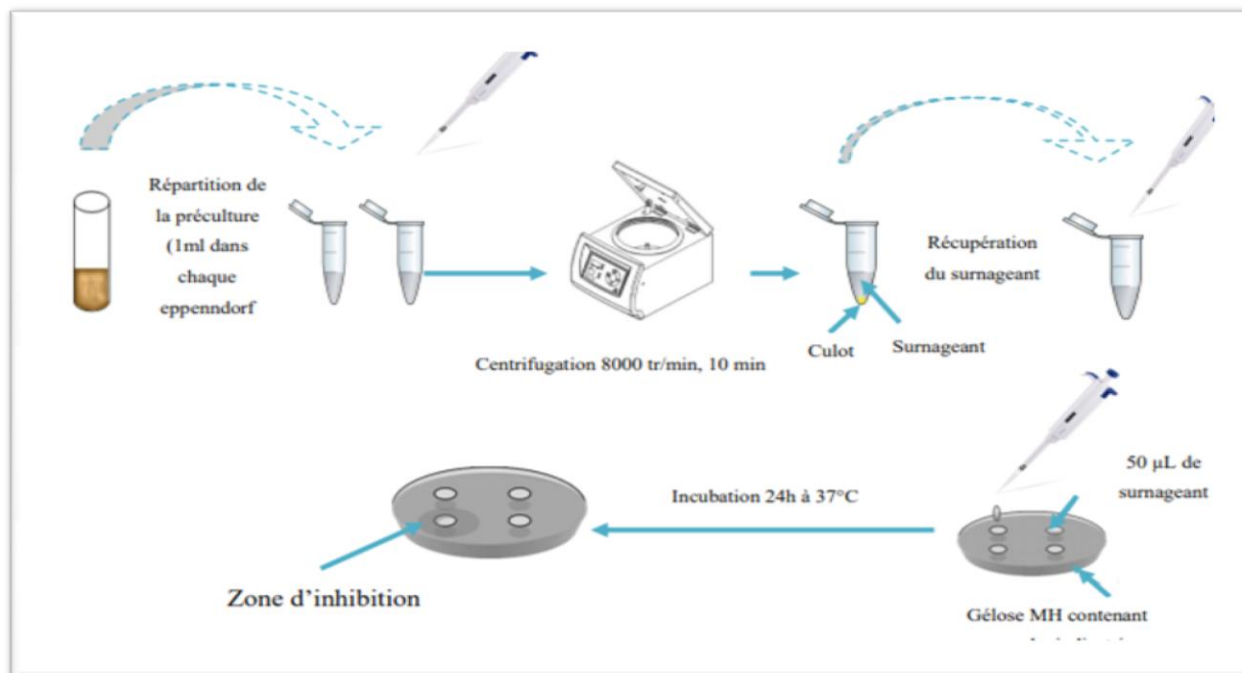


Figure 05: les étapes de Test de détection indirecte (Méthode des puits).

2.4. Essai de bioconservation

2.4.1. Application de revêtements comestibles et tests de stockage

Tout d'abord, 100 ± 20 g de filets de poitrine de poulet réparties en morceaux de 10 g ont été revêtus par la méthode de trempage pendant 1 min avec la solution de formation de revêtement ALG, préparée comme décrit ce dessous, en égouttant l'excès de solution de revêtement pendant 40 secondes. Des échantillons témoins (sans revêtement). Et des échantillons sont trempés dans le surnageant seul de culture de bactérie lactique productrice de bactériocine (DS12) (ROJAS *et al.*, 2007).

2.4.2. Préparation de la Solution d'Alginate de Sodium

Pour préparer la solution d'alginate de sodium, commencez par dissoudre la poudre d'alginate dans de l'eau distillée stérile à la concentration 2 % (p/v) pour les formulations de revêtement. Utilisez un agitateur magnétique pour mélanger la solution jusqu'à ce que la poudre d'alginate soit complètement dissoute. En option, pour améliorer la flexibilité et les propriétés mécaniques du revêtement, vous pouvez ajouter du glycérol comme plastifiant. Les

concentrations typiques de glycérol ajoutées varient de 10 à 20 % (p/p) de la solution d'alginate (FANG *et al.*, 2008).

2.4.3. Préparation de la Culture de Bactéries Lactiques Produisant des Bactériocines

Pour préparer la culture de bactéries lactiques produisant des bactériocines, commencez par cultiver ces bactéries dans un milieu de croissance MRSB sous des conditions optimales jusqu'à ce qu'elles atteignent la densité cellulaire désirée. Ensuite, centrifugez la culture bactérienne pour séparer les cellules bactériennes du surnageant contenant les bactériocines. Collectez ce surnageant contenant les bactériocines et filtrez-le à travers un filtre stérile pour éliminer toutes les cellules bactériennes ou les débris restants. (OGUNBANWO *et al.*, 2003).

2.4.4. Incorporation des Bactériocines dans la Solution d'Alginate

Pour incorporer les bactériocines dans la solution d'alginate, commencez par mélanger soigneusement le surnageant filtré contenant les bactériocines avec la solution d'alginate de sodium. Assurez-vous ensuite de remuer le mélange de manière approfondie pour garantir une répartition uniforme des bactériocines dans la solution d'alginate (COMA, 2008).

2.4.5. Préparation du Revêtement

Pour préparer le revêtement, plongez le substrat alimentaire (viande de poulet) dans la solution d'alginate contenant les bactériocines pendant 1-2 min, en veillant à ce qu'il soit uniformément couvert.

Pour réticuler le revêtement d'alginate, préparez une solution de chlorure de calcium à une concentration de 2 % (p/v). Ensuite, trempez le substrat alimentaire revêtu dans la solution de chlorure de calcium pendant 1 à 2 minutes pour permettre la réticulation du revêtement d'alginate. Retirez ensuite le substrat alimentaire revêtu de la solution de chlorure de calcium et laissez-le sécher à l'air.

Pour le séchage et le stockage, placez le substrat alimentaire revêtu sur une surface stérile et laissez-le sécher complètement à l'air. Ensuite, les échantillons ont été stockés à 4 ± 2 °C pendant 10 jours, en mesurant les changements de différentes propriétés physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles tous les trois jours jusqu'à la fin de l'essai. Toutes

les mesures ont été effectuées en triplicata, en rapportant la valeur moyenne de chaque propriété mesurée (XU *et al.*, 2005).

2.5. Analyses physicochimiques de la viande

2.5.1. Détermination du pH

5 grammes de viande de poulet ont été broyés et mélangés avec 45 ml d'eau distillée. Après filtration à travers du papier filtre, le mélange a été soigneusement homogénéisé. Le pH de l'échantillon est déterminé, en utilisant un pH-mètre numérique où l'électrode a été introduite directement dans l'échantillon. La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil avec deux répétitions.

2.6. Analyse microbiologique de viande de poulet

2.6.1. Recherche et dénombrement la Flore aérobies mésophiles totale (FMAT)

La F.M.A.T. est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la propreté des installations (GUIRAUD, 1998). Leur dénombrement est effectué par la méthode classique en milieu gélosé Plate Count Agar (PCA) dont les ensemencements sont réalisés en surface, à partir des dilutions 10^{-4} à 10^{-6} dans deux boîtes. L'incubation se fait à 30°C pendant 24h. Tous les ensemencements se font en double (GUIRAUD, 1998).

2.6.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

Le milieu gélosé bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est le milieu utilisé pour la recherche de cette flore préconisé par l'AFNOR (1974). Pour commencer, transférez aseptiquement 1 ml de la dilution 10^{-1} ou des dilutions décimales dans une boîte de Pétri stérile. Ensuite, ajoutez le milieu VRBL surfondu à l'inoculum à raison de 15 à 18 ml par boîte. Mélangez le contenu de manière homogène en effectuant des mouvements de rotation sous forme de figure en "8". Laissez ensuite le milieu de culture se solidifier sur la paillasse. Après solidification, incubez les boîtes de Pétri avec les couvercles vers le bas à 37 °C pendant 24 à 48 heures pour les coliformes totaux.

II.6.3. Recherche et dénombrement des bactéries lactiques :

L'ensemencement sur le milieu de culture gélosés en masse, le MRS. Pour ce faire, on transfère stérilement 1 ml de chaque dilution dans des boîtes de Pétri vides et stériles. Ensuite, environ 15 ml de milieu gélosé MRS est versé dans chaque boîte de Pétri. La gélose MRS est utilisée pour la culture et le dénombrement des *Lactobacillus* dans les produits alimentaires des animaux. Pour assurer une répartition homogène du contenu, il est nécessaire d'homogénéiser parfaitement le milieu en effectuant des mouvements circulaires ou des va-et-vient en forme de 8 (GUIRAUD, 1998). Une fois le milieu de culture ensemencé, il faut le laisser solidifier sur une surface fraîche et horizontale. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées en position inversée (couvercles en bas) et incubées à une température bas de 30 °C pendant 48 heures.

2.6.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Elle est effectuée sur le milieu Sabouraud à partir des dilutions décimales. 0,1 ml sont portées aseptiquement dans une boîte de Pétri vide et stérile et sont étalés à l'aide d'un râteau stérile, puis incubés 5 jours à 25°C comme décrit par LEBRES *et al.* (2002).

2.6.5 Recherche et dénombrement des staphylocoques

Staphylococcus aureus est recherchée sur milieu Chapman par étalement de 0.1 ml des dilutions de 10^{-1} et 10^{-2} en surface, puis incubées à 37°C pendant 24 h. La détection est faite par la présence et l'apparition de colonies dorées avec un changement de couleur du milieu (BENHEDANE, 2012).

Lecture et expression des résultats

Après l'incubation, toutes les boîtes contenant plus de 300 colonies ou moins de 30 colonies sont écartées.

La formule mathématique suivante est utilisée pour le dénombrement des colonies contenues dans les boîtes contenant un nombre de colonies de 30 à 300 et le résultat obtenu est rendu en UFC/g (selon la norme ISO).

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

N: Nombre d'UFC par gramme ou par mL de produit initial

Σ colonies : Somme des colonies des boites interprétables

V (ml) : volume de solution déposée (1ml)

n1 : nombre de boites considérées à la première dilution retenue

n2 : nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue

d1: facteur de la première dilution retenue

Chapitre 3

Résultats et discussions

3. Résultats

3.1. Isolement et purification

Un total de dix (10) souches de bactéries lactiques ont été isolés parmi les 31 souches sélectionnées à partir de 3 échantillons de lait de chamelle sur milieu sélectif MRS. Ils sont désignés par un code constitué de deux lettres et d'un chiffre: DS1, DS2, DS3, DS5, DS6, DS8, DS10, DS11, DS12 et DS13.

3.2. Identification des souches lactique

Les dix (10) isolats ont été identifiés en se basant sur leurs caractères morphologiques et biochimiques. Les résultats sont résumés dans le **tableau I**.

3.2.1. Caractères morphologiques

L'observation macroscopique des colonies obtenues sur gélose MRS à montrer quelles sont de couleur blanchâtres, rondes à contour régulier avec un diamètre variant entre 1 à 2mm (**Figure 06**).



Figure 06: Aspect macroscopique des souches lactiques isolées sur milieu MRS.

L'examen microscopique à révéler que les souches sont des bacilles longs à Gram positif, isolés ou disposés en chaîne seule la souche DS5 est une coque (**Figure 07**).

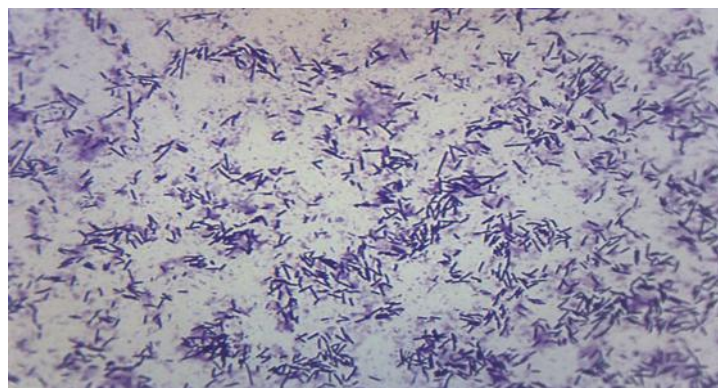


Figure 07: Aspect microscopique des souches lactiques après coloration de Gram
(Grossissement x100).

❖ Test de catalase

Toutes les souches isolées ne représentent pas d'effervescence lors de l'ajout d'une goutte de H₂O₂, ce qui s'explique par le fait que ces bactéries ne possèdent pas d'activité catalasique (**Figure 08**).

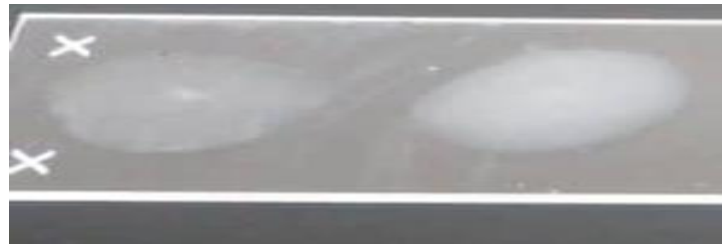


Figure 08 : Résultat négatif de test catalase pour les souches lactiques sélectionnées.

3.2.2. Caractères biochimique et physiologiques

Les tests biochimiques des dix isolats obtenus montrent qu'ils sont tous des bactéries à Gram positif, immobiles, catalase négative (**Tableau 1**).

Les souches DS1, DS13, DS6 sont probablement *Lactobacillus plantarum*. Elles sont homofermentaires capables de fermenter le saccharose, le lactose et le glucose. Il pousse à 37°C et 40°C, mais pas à 10°C ou 60°C. Il tolère 3% de NaCl, mais pas 6,5% ou 8%. Ils produisent du glucose, de l'amylose, de l'arabinose **AXELSSON (2004), HAMMES HERTL (2009)**.

Il apparaît également que les souches DS2 et DS10 sont des *Lactobacillus casei* qui se sont bien développées à 37°C et à 40°C, et fermentent le glucose, mais pas toujours le saccharose ou le lactose (**COLLINS, 1984 ; KANDLER WEISS, 1986**).

Les souches DS3 et DS12 sont considérées comme des *Lactobacillus pentosus* qui fermentent divers glucides, y compris le sorbitol et le rhamnose (**KANDLER et WEISS, 1986 ; HOLZAPFEL et al., 2001**).

Egalement, la souche DS5 peut être du *Lactococcus lactis* ayant la forme typique en coque, fermentant le glucose et le lactose, et le test de la catalase est négatif (**AXELSSON, 2004, WOOD et HOLZAPFEL, 1995**).

Les souches DS8 et DS11 sont *Lactobacillus fermentum* fermentent le glucose et produisent du gaz (CO₂), bien que cette caractéristique puisse parfois varier (**COLLINS et HALL, 1984 ; HERTEL, 2009**).

Tableau 1 : Caractères phénotypiques des souches lactique isolées.

Caractères	DS1	DS2	DS3	DS5	DS6	DS8	DS10	DS11	DS12	DS13
Forme	ba- cille	ba- cille	bacille	coque	bacille	ba- cille	ba- cille	ba- cille	ba- cille	bacille
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à 10C°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à 37C°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 40C°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 60C°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tolérance 3 NaCL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tolérance 6.5 NaCL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tolérance 8 NaCL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de CO2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fermentation du glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Fermentation de saccharose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentation de lactose	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
HS ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol mobilité	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de dextrine	-	-/+	-	+	-	-/+	-	-	-/+	-
GLU	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
MAN	+	-	+	-	-	+	+	+	-/+	+
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	+	-	-	+	+	+	-/+	-
RHA	-	-	+/-	-	-	-	-	-	+	-
SAC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
AMY	+	+	+/-	+	-	+	+	+	-	-
ARA	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+
ADH	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

CIT	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Genre	lactobacillus			Lacto-coccus	lactobacillus					

3.3. Etude des substances antimicrobiennes produites par les isolats

3.3.1. Effet antibactérien des souches lactiques isolées

Les souches isolées de lait de chamelle ont été testées pour leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes, Gram négatif *Pseudomonas*, *E coli*, et Gram positif tels que *B. subtilis*, *S.aureus*.

3.3.1. 1. La méthode de Spot (méthode directe)

Le criblage primaire a indiqué que les dix souches lactiques étudiées, manifestent une activité antagoniste vis-à-vis de la totalité des germes cibles testés en formant des zones d'inhibition autour des points de culture avec une différence de taux d'activité inhibitrice qui varie d'une souche à une autre ces souches sélectionnée sont inhibé la croissance des bactéries à Gram positif ainsi celles à Gram négatif.

Les résultats des tests d'antagonisme des différentes souches sélectionnées vis-à-vis des germes ciblent, exprimés en mm, sont présentés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de spot

souches	<i>E.coli</i>	<i>staph</i>	<i>pseudomonas</i>	<i>bacillus</i>
DS1	10	13	12	8
DS2	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
DS3	7	10	11	6
DS5	10	14	7	5
DS6	12	12	13	6
DS8	10	11	9	4
DS10	9	11	10	5
DS11	11	10	10	7
DS12	12	13	14	5

DS13	11	10	12	4
------	----	----	----	---

Les résultats suggèrent que certaines souches lactiques, notamment DS6 et DS12 sont particulièrement efficaces contre plusieurs pathogènes, en particulier *E. coli*, *Staphylococcus*, et *Pseudomonas*. Cependant, l'efficacité contre *Bacillus* est généralement plus faible pour toutes les souches.

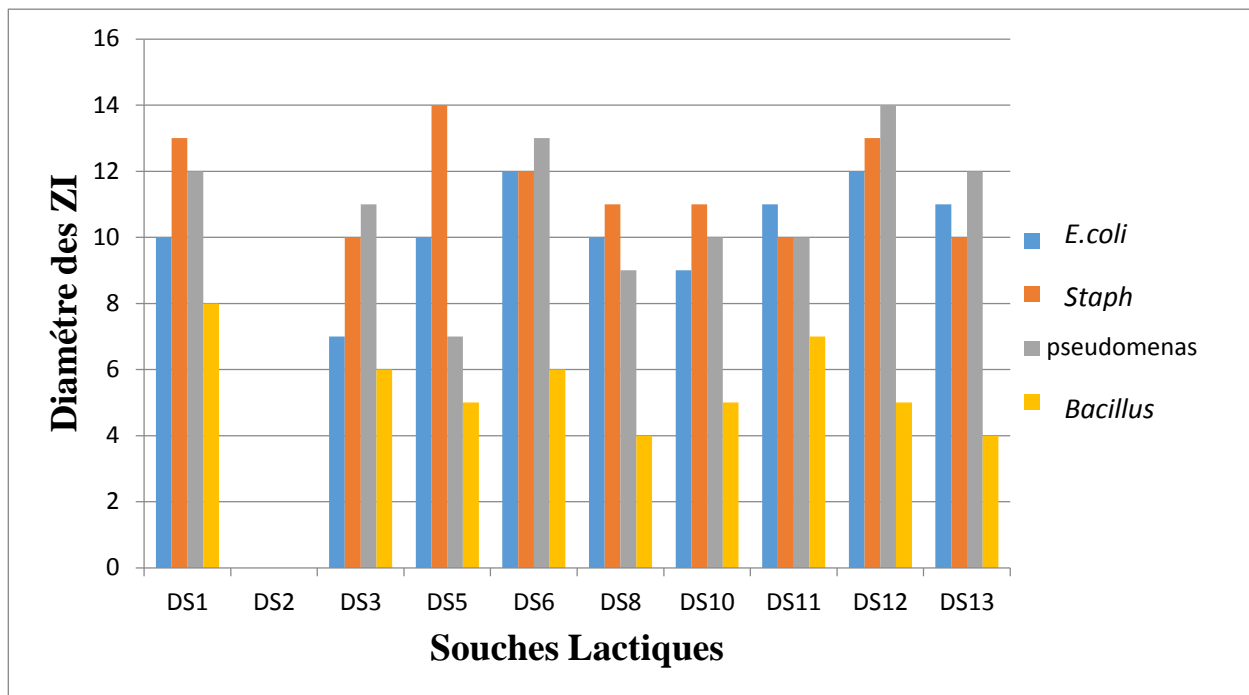


Figure 09 : Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de spot.

Ces observations peuvent orienter le choix des souches lactiques pour des applications antimicrobiennes spécifiques, en tenant compte des pathogènes cibles et de l'efficacité relative des souches.

2.1.1.2. Méthode de diffusion en puits

Notre choix porte donc sur une technique largement décrite dans la littérature notamment celle de **BAREFOOT et KAENHAMMER (1983)** qui nous a permis de faire une sélection des souches lactiques antibactériennes.

Les résultats de l'interaction obtenue, révèlent la présence d'un halo clair autour des puits. Les résultats des tests d'antagonisme des différentes souches sélectionnées vis-à-vis des germes cibles, exprimés en mm sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Les diamètres des zones d’inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

souches	<i>E. coli</i>	<i>Staph</i>	<i>Pseudomonas</i>
DS1	10	9	7
DS2	8	12	14
DS3	13	16	15
DS5	14	15	16
DS6	13	14	12
DS8	12	13	17
DS10	9	9	8
DS11	11	12	13
DS12	15	19	18
DS13	14	15	16

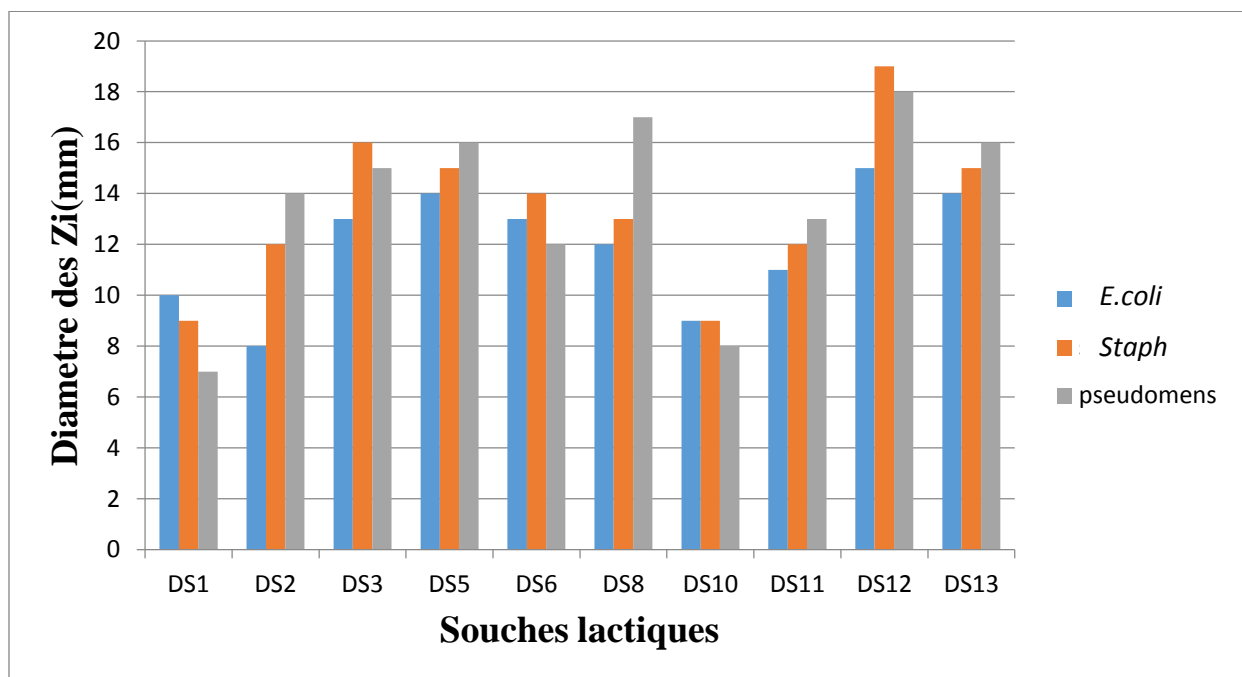


Figure 10 : Les diamètres des zones d’inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

Les données du **Figure 10** mettent en évidence la variabilité de l'activité antibactérienne parmi différentes souches lactiques contre *E. coli*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas*.

DS12 montre systématiquement les plus grandes zones d'inhibition pour les trois pathogènes, ce qui en fait la souche lactique la plus efficace parmi celles testées.

DS1 et **DS10** montrent généralement des zones d'inhibition plus petites, indiquant des propriétés antibactériennes plus faibles.

Les zones d'inhibition pour *Pseudomonas* sont généralement plus grandes comparées à celles pour *E. coli* et *Staphylococcus* pour la plupart des souches, ce qui suggère que ces souches lactiques pourraient être plus efficaces contre *Pseudomonas*.

La performance constante de DS12 à travers tous les pathogènes met en évidence son potentiel en tant qu'agent antibactérien à large spectre.

La variation des zones d'inhibition suggère que différentes souches lactiques ont des mécanismes ou des efficacités variés dans la production de composés antimicrobiens efficaces contre ces pathogènes.

Implications Pratiques :

- **Utilisation Potentielle dans les Probiotique :** Les souches comme DS12 avec une activité antibactérienne à large spectre pourraient être des candidates prometteuses pour développer des formulations probiotiques visant à contrôler les bactéries pathogènes dans l'intestin ;
- **Sécurité et Conservation Alimentaire :** Ces souches lactiques, en particulier DS12, pourraient être utilisées dans la conservation des aliments pour inhiber la croissance de pathogènes alimentaires courants ;
- **Applications Médicales :** L'application de ces souches lactiques, particulièrement celles avec des effets inhibiteurs élevés, pourrait s'étendre à des usages thérapeutiques, tels que le traitement d'infections causées par ces pathogène.

3.3.1.3. La méthode de disque

Pour ce test, on constate l'absence totale d'activités inhibitrices de tous les surnageant vis-à-vis de toutes les souches cibles.



Figure 11 : les zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de disque.

La disparition de la zone d'inhibition lors de l'utilisation de la méthode du disque comparée à la méthode de puits peut être due à plusieurs facteurs. La méthode de puits permet une diffusion plus efficace des composés antimicrobiens directement dans le milieu, tandis que la méthode du disque dépend de la libération de ces composés à partir du disque en papier. Une concentration insuffisante des composés sur le disque, une mauvaise diffusion due aux propriétés physico-chimiques des composés, et des interactions avec le matériau du disque peuvent limiter l'efficacité de cette méthode. De plus, les conditions expérimentales comme le volume et le temps de diffusion peuvent influencer les résultats. Pour obtenir des résultats cohérents, il est crucial d'optimiser ces paramètres et de comprendre les propriétés spécifiques des composés antimicrobiens utilisés.

3.4. Caractérisation de l'agent antagoniste

Cette méthode permet de détecter l'activité antagoniste dans les surnageants de culture des souches inhibitrices. C'est-à-dire de détecter seulement les inhibitions dues à la production d'agents antibactériens sécrétés et d'éliminer celles dues au contact cellulaire. Il est souvent admis que le pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques est très lié à leur pouvoir acidifiant.

Dans le but d'éliminer la possibilité d'antagonisme par les acides organiques et H₂O₂, nous avons utilisé un surnageant neutralisé par NaOH d'une préculture en anaérobiose, en utilisant la méthode directe et la méthode de diffusion en puits.

Ces résultats montrent que les souches DS12 /DS6/DS8/DS5 possèdent la capacité de produire d'autres substances inhibitrices, principalement protéiques, en plus de la production des acides organiques.

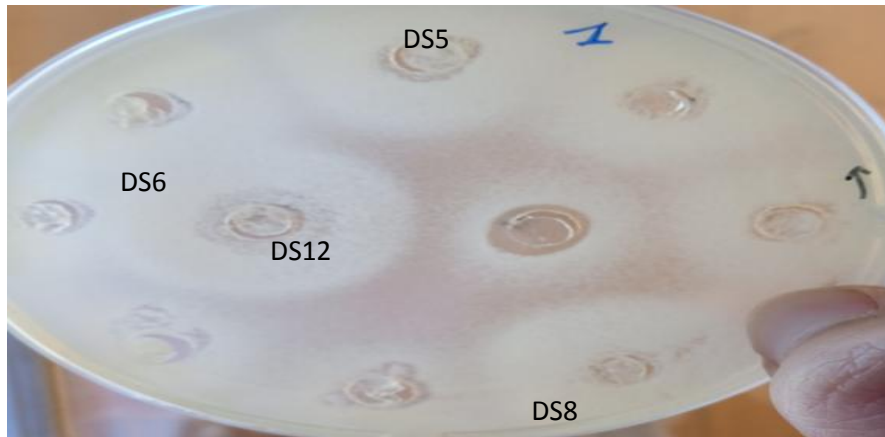


Figure 12: les zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

Tableau 4 : Les diamètres des zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

Souches	<i>E. coli</i>	<i>Staph</i>	<i>Pseudomonas</i>
DS5	25	30	19
DS6	21	16	13
DS8	17	23	11
DS12	32	21	15

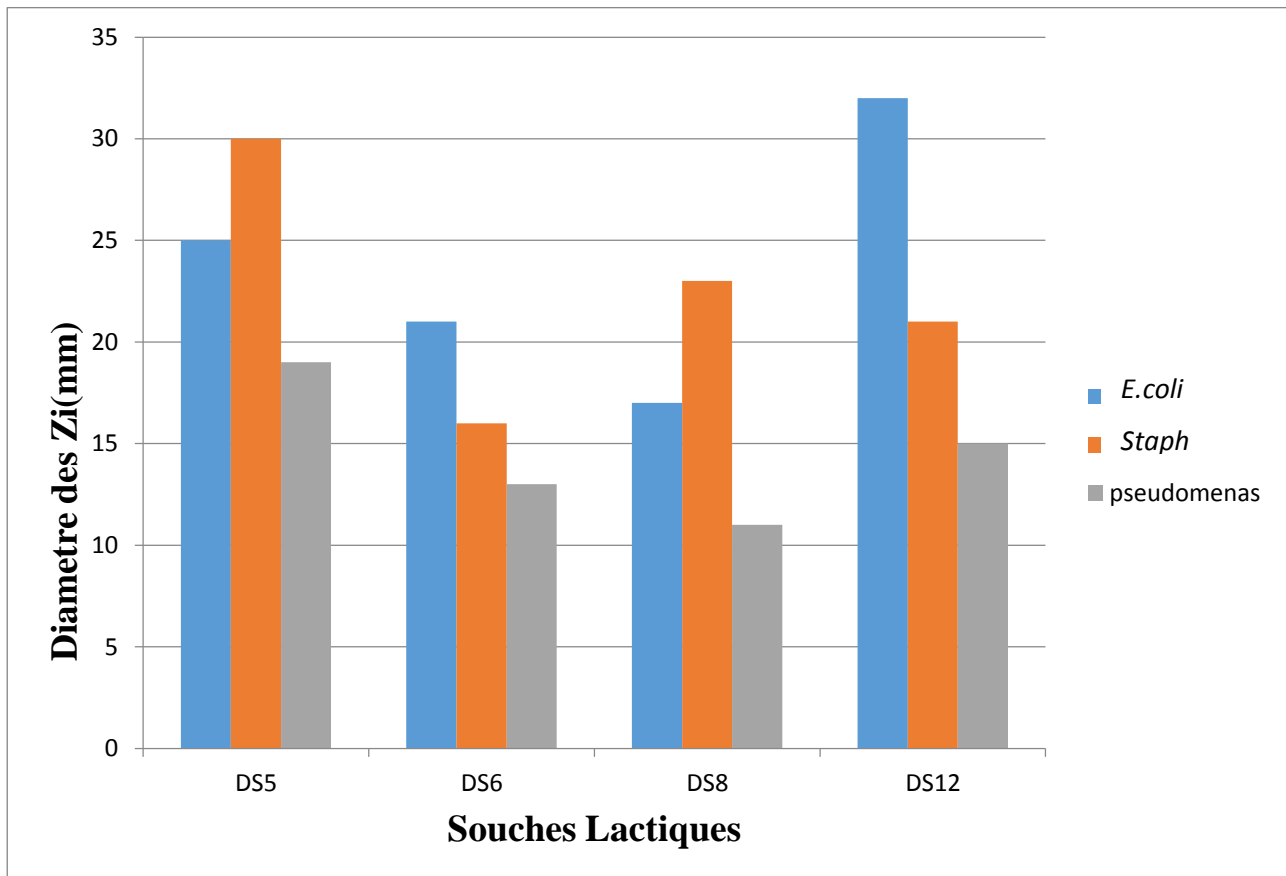


Figure 13: Les diamètres des zones d'inhibitions des surnageant neutralisé de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

Les surnageants neutralisés montrent généralement une plus grande zone d'inhibition contre *E. coli* et *Staphylococcus* par rapport aux surnageants non neutralisés. L'augmentation des zones d'inhibition après neutralisation suggère que les composés acides produits par les souches lactiques (comme l'acide lactique) ne sont pas les seuls responsables de l'activité antimicrobienne. La neutralisation élimine l'effet des acides.

Pour *Pseudomonas*, les résultats sont plus variés. Par exemple, DS8 montre une diminution significative de la zone d'inhibition après neutralisation (de 17 mm à 11 mm), indiquant que l'acidité joue un rôle majeur dans son activité contre ce pathogène. et permet de voir l'impact des autres substances antimicrobiennes.

Les surnageants neutralisés des souches lactiques montrent une efficacité antibactérienne variable par rapport aux surnageants non neutralisés. L'augmentation des zones d'inhibition après neutralisation pour la plupart des pathogènes suggère l'existence de composés antimicrobiens non acides efficaces produits par ces souches. Cependant, pour

Pseudomonas, l'acidité semble jouer un rôle clé dans l'inhibition, comme le montre la réduction de la zone d'inhibition après neutralisation pour certaines souches.

La mise en évidence de la nature protéique de l'agent inhibiteur a été effectuée à l'aide d'un surnageant neutralisé, en présence d'enzymes protéolytiques de type pepsine. Les agents inhibiteurs produits par les souches sélectionnées, engendrent des halos d'inhibition dans les puits témoins non neutralisés et neutralisés, respectivement. Cette activité a disparu après traitement par la pepsine. Ces résultats permettent de conclure que les substances antibactériennes produites par nos souches sont de nature protéique et sont donc selon toute vraisemblance des bactériocines.

Pour étudier la stabilité de la substance à la température, les surnageants neutralisés sont traités par différentes températures (70°C, 90°C et 120°C) et les résultats permettront de sélectionner les souches productrices de bactériocines.

3.4. 1-Mise en évidence de la nature protéique des agents inhibiteurs dans

Tableau 5 : Nature protéique, des agents inhibiteurs, exprimée par les diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches	<i>E. coli</i>	<i>Staph</i>	<i>Pseudomonas</i>
DS5	25	30	19
DS5+Pepsine	8	6	6
DS6	21	16	13
DS6+Pepsine	7	6	6
DS8	17	23	11
DS8+Pepsine	5	7	4
DS12	32	21	15
DS12+pepsine	6	5	7

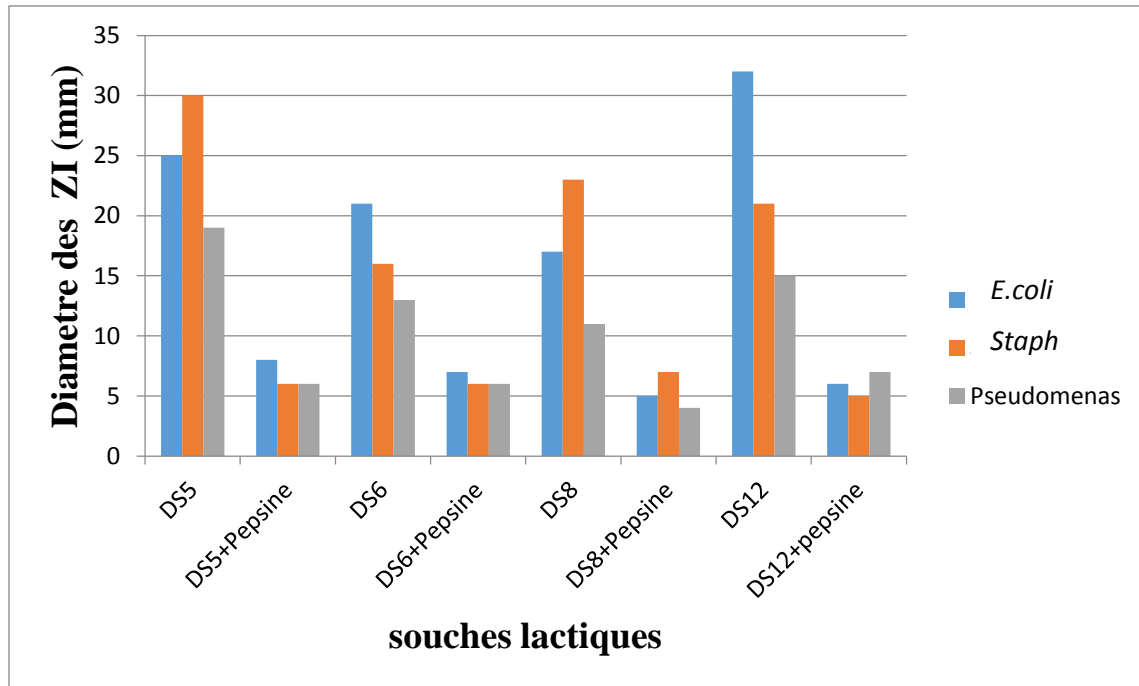


Figure14 : Les diamètres des zones d’inhibitions des surnageant seules et avec pepsine de quelques souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de puits.

Les diminutions significatives des zones d'inhibition après traitement à la pepsine confirment que les agents inhibiteurs sont des protéines, très probablement des bactériocines. La présence de petites zones d'inhibition résiduelles après traitement à la pepsine pourrait indiquer l'existence de composés non protéiques ou la présence de fragments protéiques encore actifs.

3.4.2. Stabilité thermique des agents inhibiteurs

Tableau 06 : Stabilité thermique des agents inhibiteurs exprimée par les diamètres des zones d’inhibitions (en mm).

Souches	Température	<i>E. coli</i>	<i>Staph</i>	<i>Pseudomonas</i>
DS5	70°C	24	29	18
DS5	90°C	22	27	17
DS5	120°C	20	25	15
DS6	70°C	20	15	12
DS6	90°C	18	14	11
DS6	120°C	16	12	10
DS8	70°C	16	22	10
DS8	90°C	14	20	9
DS8	120°C	12	18	8

DS12	70°C	30	20	14
DS12	90°C	28	18	12
DS12	120°C	25	15	10

- Les tests de stabilité thermique montrent une diminution progressive des zones d'inhibition avec l'augmentation de la température pour toutes les souches, bien que l'activité antibactérienne soit toujours présente à 120°C, indiquant une certaine stabilité thermique.
- **DS12** : Montre une stabilité thermique particulièrement bonne, avec des zones d'inhibition significatives même après traitement à 120°C, ce qui en fait une candidate idéale pour des applications nécessitant une résistance à la chaleur.
- **DS5** et **DS6** : Montre une bonne stabilité thermique, mais avec une légère diminution de l'activité antibactérienne à des températures plus élevées.
- **DS8** : Présente une activité antibactérienne modérée et une diminution progressive avec l'augmentation de la température, suggérant une stabilité thermique inférieure comparée aux autres souches.

Les résultats montrent que les agents inhibiteurs produits par les souches lactiques DS5, DS6, DS8 et DS12 sont de nature protéique, probablement des bactériocines, comme l'indique la perte d'activité après traitement à la pepsine. En termes de stabilité thermique, DS12 se distingue par sa robustesse exceptionnelle, conservant une activité significative même à 120°C, tandis que DS5 et DS6 montrent également une bonne stabilité thermique. Ces caractéristiques suggèrent que DS12, ainsi que DS5 et DS6, pourraient être particulièrement utiles pour des applications industrielles nécessitant une résistance à la chaleur, comme dans les secteurs alimentaires et pharmaceutiques.

3.5. Essai de bioconservation

3.5.1. Application de surnageant de bactériocinogène LAB et de revêtements comestibles et tests de stockage de viande de poulet

3.5.1. 1. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est une méthode cruciale pour évaluer les caractéristiques organoleptiques des aliments, telles que la couleur, l'odeur, la texture et le goût. Dans le cadre de la bioconservation, l'application de revêtements comestibles enrichis en postbiotiques riche en bactériocine représente une stratégie prometteuse pour prolonger la durée de conservation de la viande de poulet tout en maintenant ses qualités sensorielles. La présente étude se concentre sur l'évaluation sensorielle de la viande de poulet traitée avec des revêtements à base

d'alginate de sodium et de surnageant riche en bactériocine, comparée à de la viande non traitée.



Figure 15 : Apparence de viande poulet traitées et non traitée.

Les observations des changements de couleur et d'odeur sur différentes périodes montrent que, jusqu'au jour 1 et 3, tous les échantillons sont restés blancs avec une odeur agréable, indiquant la fraîcheur initiale (tableau 7). Au jour 5, l'échantillon non traité est devenu jaune avec une odeur désagréable, tandis que l'échantillon traité est resté blanc avec une odeur agréable, suggérant l'efficacité du traitement pour retarder la détérioration.

Au jour 10, l'échantillon non traité a montré une détérioration avancée avec une couleur verte et une odeur désagréable, tandis que l'échantillon traité, bien que jaune avec une odeur désagréable, présentait une détérioration moins intense que l'échantillon non traité. L'échantillon traité par le surnageant a maintenu une odeur agréable jusqu'au jour 10 malgré une légère détérioration indiquée par sa couleur jaune.

Tableau 7 : résultats des analyses organoleptiques

Les jours	Couleur			Odeur		
	T	S	P	T	S	P
01	blanche	blanche	blanche	agréable	agréable	Agréable
03	blanche	blanche	blanche	agréable	agréable	Agréable
05	jaune	blanche	blanche	Désagréable	agréable	Désagréable
10	vert	jaune	jaune	Désagréable	agréable	Désagréable

Les observations montrent que les échantillons de viande traités avec le surnageant et la solution d'alginate contenant les bactériocines conservent mieux leur couleur et leur odeur agréables par rapport aux témoins non traités.

3.5.1.2. Analyse physicochimiques

Changement dans le pH des échantillons de filets de poulet pendant le stockage :

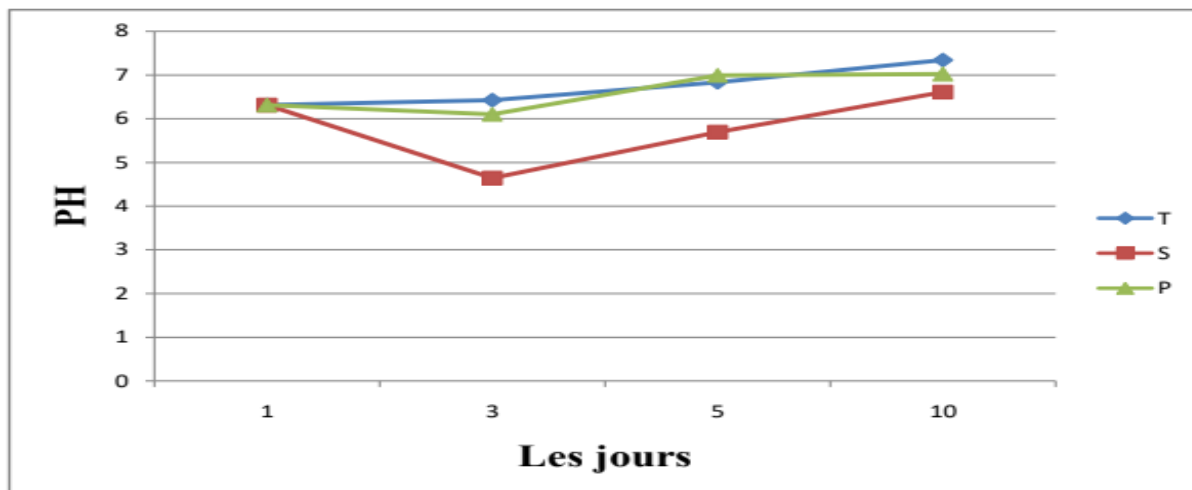


Figure 16: Evolution de pH des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

Les données fournissent un aperçu de l'évolution du pH dans la viande de poulet sous différents traitements : témoin (T), surnageant (S) et polymère (P). Initialement, le pH reste stable pour tous les échantillons, mais des variations significatives sont observées par la suite.

De jour 0 à jour 3, le témoin montre une légère augmentation du pH, tandis que le surnageant subit une baisse marquée, indiquant une fermentation lactique intense, et le polymère présente une diminution modérée. De jour 3 à jour 5, le pH continue d'augmenter légèrement pour le témoin, tandis que dans le surnageant, il remonte progressivement, et dans le polymère, il augmente de manière significative, suggérant un effet tampon ou inhibiteur.

Enfin, de jour 5 à jour 10, une augmentation significative du pH est observée pour tous les échantillons, indiquant une activité microbienne et une dégradation accrues. En conclusion, le surnageant favorise une fermentation initiale intense, tandis que le polymère semble atténuer cette activité.

Ces résultats soulignent l'importance des conditions de traitement dans la conservation de la viande de poulet réfrigérée, avec le potentiel du polymère pour offrir une protection modérée contre la prolifération microbienne et les variations de pH, ce qui pourrait prolonger la durée de conservation du produit.

3.5.1.3. Analyses microbiologiques

Le travail des analyses microbiologiques est suivi chaque 2 ou 3 jours pendant la durée de la conservation (10 jours).

La cinétique de croissance des levures et moisissures des échantillons de filets de poulet pendant le stockage est indiquée dans la figure suivante.

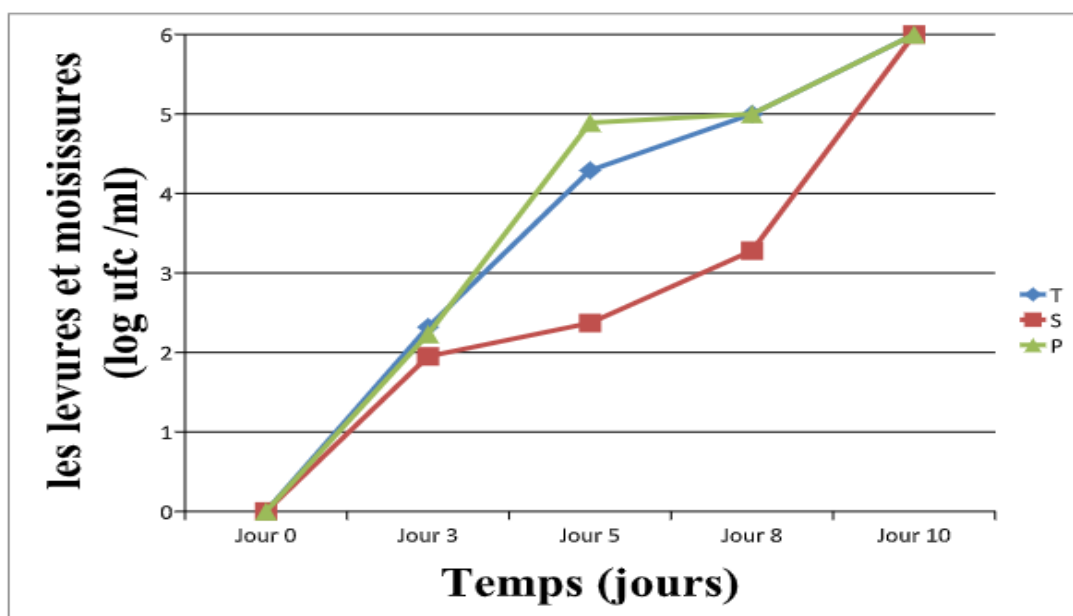


Figure 17 : Evolution des levures et moisissures des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

Les données analysent la croissance des levures et moisissures sur de la viande de poulet conservée en réfrigération avec trois traitements différents : le témoin (T) sans

traitement, le traitement avec surnageant (S) et le traitement avec surnageant et polymère (P). De jour 0 à jour 3, le témoin montre une croissance significative, passant de 0 à 2,32 log UFC, tandis que le surnageant et le polymère affichent des croissances de 1,95 et 2,23 log UFC respectivement, suggérant un effet inhibiteur initial du surnageant sur la croissance des levures et moisissures.

Du jour 3 à jour 5, le témoin connaît une augmentation rapide à 4,29 log UFC, tandis que le surnageant limite cette croissance à 2,37 log UFC et le polymère la dépasse à 4,89 log UFC, indiquant potentiellement une promotion de la croissance par le polymère. De jour 5 à jour 8, tous les traitements atteignent un plateau de saturation, avec des niveaux de "tapis", montrant une croissance maximale.

En conclusion, le surnageant retarde significativement la saturation des levures et moisissures par rapport au témoin, tandis que l'ajout de polymère semble neutraliser cet effet, permettant une croissance rapide similaire au témoin, soulignant l'importance de ces résultats pour la conservation de la viande de poulet.

La cinétique de croissance des bactéries lactiques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage est montrée dans la figure suivante.

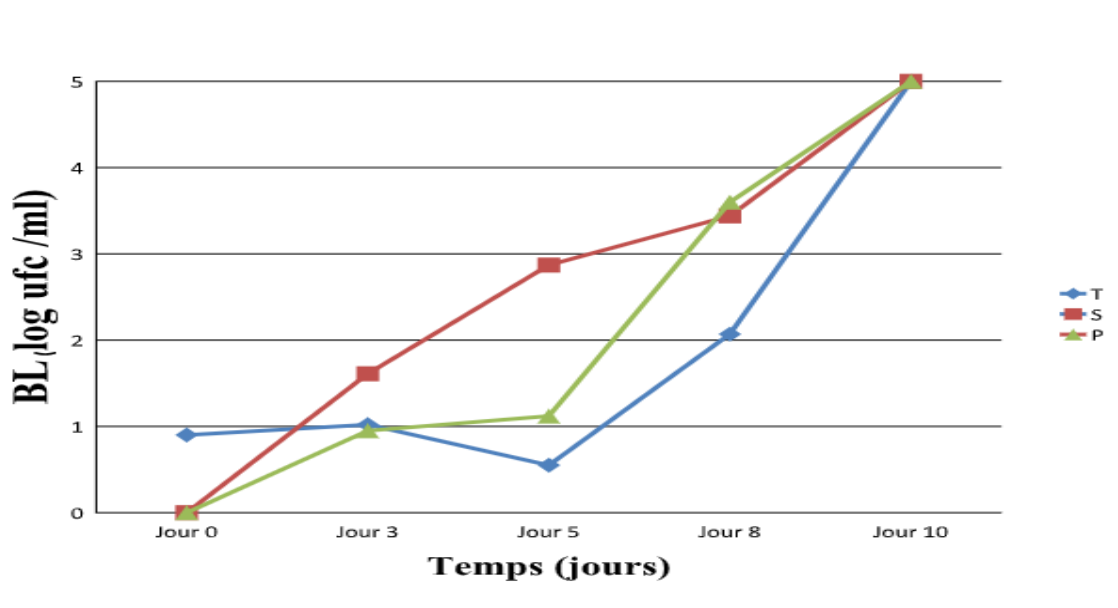


Figure 18 : Evolution des bactéries lactiques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

Les résultats montrent que la viande de poulet non traitée (T) présente une croissance modérée des bactéries lactiques (BL), passant de 0,9 à 1,02 log UFC de jour 0 à jour 3, puis diminuant à 0,55 log UFC au jour 5, avant de remonter à 2,07 log UFC au jour 8 et atteignant finalement un plateau maximal au jour 10.

La viande trempée dans un surnageant (S) favorise une croissance significative des BL, avec une augmentation de 0 à 1,61 log UFC de jour 0 à jour 3, atteignant 2,87 log UFC au jour 5, et 3,44 log UFC au jour 8, avant d'atteindre également un plateau maximal au jour 10.

La viande trempée dans le surnageant avec un polymère (P) montre une croissance initialement modérée (0 à 0,95 log UFC de jour 0 à jour 3), puis une augmentation légère à 1,12 log UFC au jour 5 et atteignant 3,6 log UFC au jour 8, avant d'atteindre un plateau maximal au jour 10.

En résumé, le surnageant favorise initialement la croissance des BL, tandis que le polymère modère cette croissance au début, mais finit par atteindre des niveaux similaires ou supérieurs à ceux du surnageant seul à long terme, indiquant des conditions environnementales ou compétitives communes influençant la croissance des BL dans toutes les conditions au jour 10.

la cinétique de croissance des FTAM des échantillons de filets de poulet pendant le stockage est montrée dans la figure suivante.

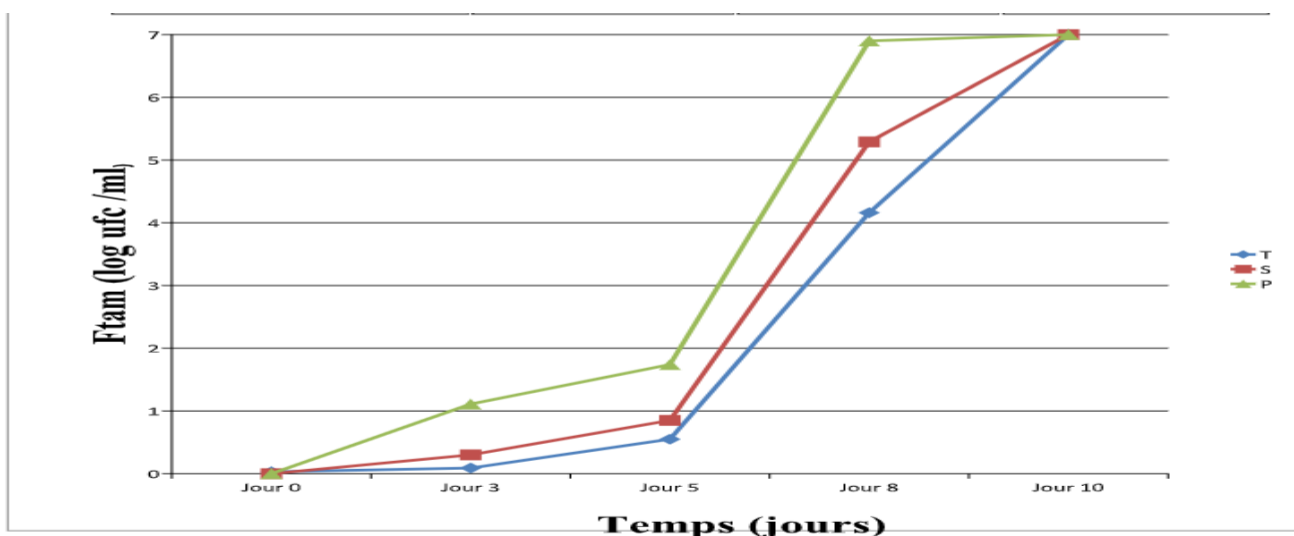


Figure 19 : Evolution des FTAM des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

Les résultats examinent la croissance des microorganismes mésophiles et psychrotrophes (FMAT) dans de la viande de poulet conservée en réfrigération avec trois traitements différents : le témoin (T) sans traitement, le surnageant (S) et le polymère (P).

Au jour 0, le témoin présente une faible contamination initiale (0,03), tandis que les autres échantillons n'ont pas de données initiales. De jour 3 à jour 8, une augmentation significative des FMAT est observée dans tous les échantillons, avec une croissance plus rapide dans le surnageant et le polymère par rapport au témoin.

Au jour 10, tous les échantillons atteignent un niveau de "tapis", indiquant une prolifération maximale. En conclusion, bien que le surnageant et le polymère montrent une inhibition initiale de la croissance des FMAT, cet effet diminue avec le temps.

Des stratégies supplémentaires seraient nécessaires pour prolonger la durée de conservation et assurer la sécurité microbiologique du poulet.

La cinétique de croissance des coliformes totaux des échantillons de filets de poulet pendant le stockage est indiquée dans la figure suivante.

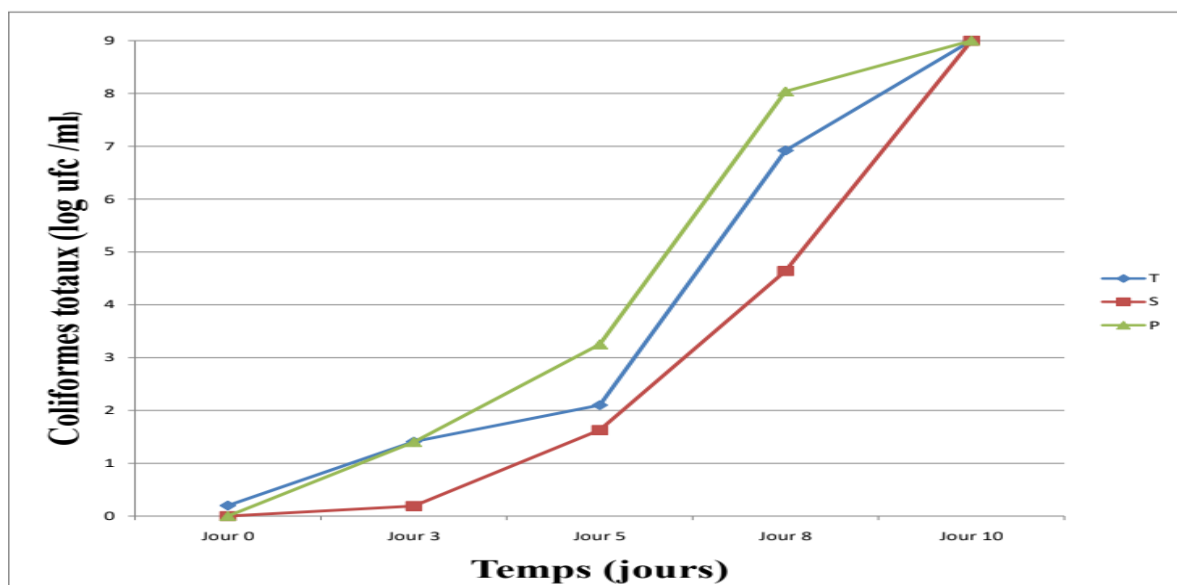


Figure 20 : Evolution des coliformes totaux des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

Les résultats analysent la croissance des coliformes totaux sur de la viande de poulet conservée en réfrigération avec trois traitements différents : le témoin (T) sans traitement, le traitement avec surnageant (S) et le traitement avec surnageant et polymère (P).

De jour 0 à jour 3, le témoin montre une croissance significative, passant de 0,2 à 1,41 log UFC, tandis que le surnageant et le polymère affichent des concentrations de 0,19 et 1,4 log UFC respectivement, suggérant une forte inhibition initiale du surnageant sur la croissance des coliformes.

De jour 3 à jour 5, le témoin connaît une augmentation continue à 2,1 log UFC, tandis que le surnageant et le polymère affichent des croissances plus lentes à 1,63 et 3,25 log UFC respectivement, avec une croissance plus rapide du polymère que du témoin.

De jour 5 à jour 8, tous les traitements atteignent un plateau de saturation, avec des niveaux de "tapis", montrant une croissance maximale. En conclusion, le surnageant inhibe

initialement la croissance des coliformes, mais cet effet diminue avec le temps, retardant la saturation par rapport au témoin.

Cependant, l'ajout de polymère semble favoriser une croissance plus rapide des coliformes par rapport aux autres traitements, soulignant la nécessité d'ajustements pour éviter une croissance microbienne excessive à long terme.

La cinétique de croissance des staphylocoques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage indiqué dans la figure suivante.

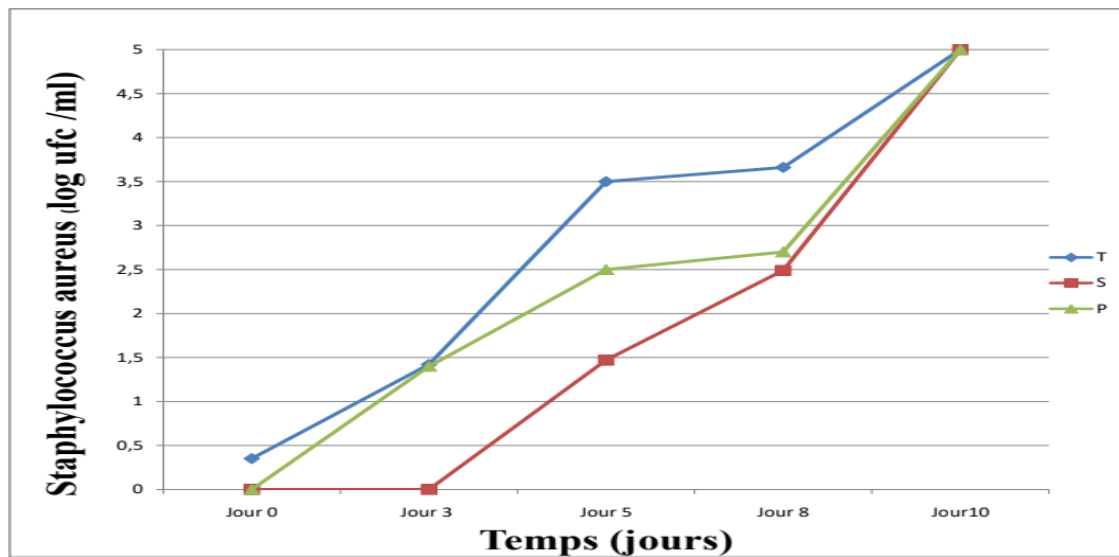


Figure 21: Evolution des staphylocoques des échantillons de filets de poulet pendant le stockage réfrigéré.

La croissance de *Staphylococcus aureus* montre que le témoin (T) a une augmentation notable de 0,35 à 1,42 au début, atteignant rapidement la saturation au jour 5.

Le surnageant (S) inhibe fortement la croissance initiale (0 à 0), mais cette inhibition se dissipe après le jour 3 avec une augmentation à 1,47 et atteint la saturation maximale par la suite. Le polymère (P) ne montre pas d'inhibition initiale, avec une croissance similaire au témoin de 0 à 1,4 et atteignant également la saturation au jour 5.

En résumé, le témoin montre une prolifération rapide et atteint rapidement la saturation, le surnageant inhibe initialement la croissance de *St. aureus* mais permet une prolifération après le jour 3, et le polymère n'empêche pas une prolifération rapide, atteignant la saturation au jour 5.

Conclusion

La protection et la préservation des aliments sont d'une importance capitale pour maintenir la qualité et la sécurité des produits alimentaires.

L'utilisation de composés naturels tels que les bactériocines des LAB a suscité un intérêt significatif en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et de leur capacité à prolonger la durée de conservation des aliments.

Cette proposition de recherche vise à évaluer le potentiel des surnageants des LAB productrices de bactériocines en tant que revêtements bioactifs.

Évaluer l'efficacité de différentes techniques de biopréservation impliquant des surnageants des LAB bactériocinogènes, notamment l'inoculation directe ou combiné avec polymère.

Dans le présent travail, Dix (10) isolats des bactéries lactiques ont été isolées et purifiées sur la base de la coloration de Gram, le test de catalase, tests physiologiques et phénotypiques, 04 isolats bactériocinogènes ont été sélectionnés pour leur activité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes à Gram positif et à Gram négatif.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des bactéries lactiques par la méthode de diffusion en puits et par celle des spots a montré que les 10 isolats exercent une activité inhibitrice dirigée contre des souches indicatrices Gram positifs et Gram négatifs testées.

La performance constante de DS12 à travers tous les pathogènes met en évidence son potentiel en tant qu'agent antibactérien à large spectre.

Les résultats indiquent que les agents inhibiteurs produits par les souches lactiques DS5, DS6, DS8 et DS12 sont de nature protéique, probablement des bactériocines, comme le montre la perte d'activité après traitement à la pepsine. DS12 se distingue par une stabilité thermique exceptionnelle, conservant une activité significative même à 120°C, tandis que DS5 et DS6 montrent également une bonne stabilité thermique. Ces propriétés suggèrent que DS12, DS5 et DS6 pourraient être particulièrement utiles pour des applications industrielles nécessitant une résistance à la chaleur, notamment dans les secteurs alimentaires et pharmaceutiques.

Les résultats suggèrent que les traitements avec surnageant et polymère peuvent ralentir la prolifération microbienne à court terme, mais ne sont pas suffisants pour un contrôle

à long terme sous les conditions testées. Pour une conservation prolongée, des méthodes supplémentaires ou améliorées pourraient être nécessaires pour maintenir la qualité microbiologique du poulet en réfrigération. Cela indique que bien que le surnageant ait un effet bénéfique sur la conservation initiale, le polymère pourrait nécessiter des ajustements pour ne pas favoriser une croissance microbienne excessive à long terme.

Les conditions de réfrigération seules ne sont pas suffisantes pour maintenir des niveaux bas de microorganismes, et des stratégies supplémentaires seraient nécessaires pour prolonger la durée de conservation et assurer la sécurité microbiologique du poulet.

Ces résultats mettent en lumière l'importance de combiner différentes stratégies pour contrôler la prolifération microbienne dans la viande de poulet conservée en réfrigération, telles que l'utilisation de conservateurs additionnels ou des méthodes de traitement plus efficaces.

Références

1. Abbasi, A., A. H. Rad, Z. Ghasempour, S. Sabahi, H. S. Kafil, P. Hasannezhad, Y. Rahbar Saadat, and N. Shahbazi. 2022. The biological activities of postbiotics in gastrointestinal disorders. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62 (22):5983–6004.
2. Aguilar-Toalá, J. E., R. Garcia-Varela, H. S. Garcia, V. Mata-Haro, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Cordoba, and A. Hernández-Mendoza. 2018. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology* 75:105–114.
3. Ahmed MO, et al. (2015) Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from camel milk. *Microbiology Research Journal International* 5(3), 117-124.
4. Ahmed, A., & Foda, M. S. (2017). Antimicrobial activity of bacteriocin from *Lactobacillus acidophilus* against *Listeria monocytogenes* in Tissue Culture. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 8(4), 575-581.
5. Al-Maflehi, N. S., Abd El-Hack, M. E., Alshahrani, O. A., Alkhatib, F. M., Elnesr, S. S., Taha, A. E., ... & El-Tarabily, K. A. (2020). Nisin and Avian-Derived Biological Agents: Insights into Antimicrobial Potential and Effects on Performance, Immunity, and Gut Health in Broilers. *Animals*, 10(12), 2383.
6. Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., & Kuipers, O. P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(7), 2939-2951
7. Ananou, S., Gálvez, A., Martínez-Bueno, M., Maqueda, M., Valdivia, E., & Montoro, B. P. (2010). Effect of milk protein hydrolysates on the growth of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Dairy Journal*, 20(10), 724-730
8. Ananou, S., Garriga, M., & Maqueda, M. (2021). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria as bioprotective cultures for dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 219-238
9. Argüello, H., Esteban-Torres, M., Duarte, J., & Rodríguez, J. M. (2019). Enhanced production of the class IIa bacteriocin enterocin CRL35 in mammalian cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(2), 833-844.
10. Ávila, M., Gómez-Torres, N., Hernández-Mendoza, A., & García, H. S. (2021). Bacteriocins in Food Biopreservation. In *Bacteriocins: Recent Trends and Potential Applications* (pp. 249-279). Springer, Cham.
11. Bastos, M. D., & Coelho, M. L. (2015). Résistance aux bactériocines produites par des bactéries Gram-positives. *Microbiologie*, 161(4), 683-700.

12. Bastos, M. D., Coelho, M. L., & Santos, O. C. (2015). Resistance to bacteriocins produced by Gram-positive bacteria. *Microbiology*, 161(4), 683-700.
13. Bastos, M. D., Coelho, M. L., & Santos, O. C. (2015). Resistance to bacteriocins produced by Gram-positive bacteria. *Microbiology*, 161(4), 683-700.
14. Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., ... & Ventura, M. (2020). Criteria to qualify microorganisms as "probiotic" in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662.
15. Blázquez, A. B., Berin, M. C., & Hepworth, M. R. (2020). Insights into the mechanisms of food allergen tolerance. *Immunological Reviews*, 287(1), 93-113.
16. -Bungenstock, L., A. Abdulmawjood, and F. Reich. 2021. Suitability of lactic acid bacteria and deriving antibacterial preparations to enhance shelflife and consumer safety of emulsion type sausages. *Food Microbiology* 94:103673.
17. Cavera, V. L., Arthur, T. D., Kashtanov, D., & Chikindas, M. L. (2015). Bacteriocins and their position in the next wave of conventional antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(5), 494-501.
18. Cheng, W., Deng, L., Wang, Y., Cao, M., You, X., Peng, X., & Yuan, H. (2016). *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 in 2016: The gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2147.
19. Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A., & Dicks, L. M. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23-28.
20. -Coma, V. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science*, 78(1-2), 90-103.
21. Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). "Lactic acid bacteria in sourdough fermentation". *Food Research International*, 40(5), 539-558.
22. Costantini, A., R. Pietroniro, F. Doria, E. Pessione, and E. Garcia-Moruno. 2013. Putrescine production from different amino acid precursors by lactic acid bacteria from wine and cider. *International Journal of Food Microbiology* 165 (1):11–17.
23. Cuevas-González, P. F., A. M. Liceaga, and J. E. Aguilar-Toalá. 2020. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Research International* 136:109502.
24. Dayakumar, S., D. M. D. Rasika, H. Priyashantha, J. K. Vidanarachchi, and C. S. Ranadheera. 2022. Probiotics and beneficial microorganisms in biopreservation of plantbased foods and beverages. *Applied Sciences* 12 (22):11737.

25. De Almeida, S. R. M., Vasconcelos, A. L. S., Souza, M. R. S., Olivera, D. A., & Vandenberghe, L. P. S. (2018). Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health: benefits, standards, safety aspects and trends – a review. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61.
26. Desriac, F., Defer, D., Bourgougnon, N., & Brillet, B. (2020). "Bacteriocins as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: Inventory and potential applications as an aquaculture probiotic." *Marine Drugs*, 18(9), 472.
27. Dicks, L. M., Heunis, T. D., van Staden, D. A., Brand, A., & Noll, K. S. (2018). Engineering bacteriocins for safe and effective therapeutic applications. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-8.
28. Draper, L. A., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2015). Lantibiotic resistance. *Microbial Biotechnology*, 8(6), 901-915.
29. Drider, D., Bendali, F., Naghmouchi, K., & Chikindas, M. L. (2016). Bacteriocins: not only antibacterial agents. In *Probiotics and Plant Health* (pp. 219-256). Springer, Cham.
30. Ennahar, S., Deschamps, N., Richard, J., & Prevost, H. (1998). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different origins. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(1), 132-135.
31. Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292-303
32. Fang, Y., Al-Assaf, S., Phillips, G. O., & Nishinari, K. (2008). Investigation of the network formation of sodium alginate and calcium ions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(3), 209-213.
33. FAO. (2011). *Global Food Losses and Food Waste – Extent, Causes and Prevention*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/mb060e/mb060e00.pdf>
34. Farnworth ER. (2008) *Handbook of Fermented Functional Foods*. CRC Press. 8.
35. Faron, M. L., Ledebor, N. A., & Buchan, B. W. (2016). Resistance mechanisms, epidemiology, and approaches to screening for vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(10), 2436-2447.
36. Field, D., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2015). Bioengineering lantibiotics for therapeutic success. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1363.
37. Field, D., Ross, R. P., & Hill, C. (2016). Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. *Current Opinion in Food Science*, 10, 20-28.

38. Field, D., Ross, R. P., & Hill, C. (2018). Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. *Current Opinion in Food Science*, 20, 1-6.
39. Gálvez, A., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M., & Valdivia, E. (2021). Bacteriocins as biopreservatives. In *Microbial Biofilms in Food and Beverage Production* (pp. 337-362). Woodhead Publishing.
40. Gänzle, M. G. (2015). "Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage". *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117.
41. Gänzle, M. G., & Ripari, V. (2016). "Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality". *International Journal of Food Microbiology*, 239, 19-25.
42. Gänzle, M., & Holzapfel, W. H. (2012). Biopreservation of Foods Using Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3), 173-180
43. Lücke, F.-K. 2023. Overview of biopreservation. In *Reference Module in Food Science*.
44. Gharsallaoui, A., Oulahal, N., Joly, C., & Degraeve, P. (2016). Nisin as a food preservative: Part 1: Physicochemical properties, antimicrobial activity, and main uses. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(8), 1262-1274.
45. Ghosh, C., Sarkar, P., Issa, R., Haldar, J., & Banerjee, C. (2020). Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 232.
46. Hamad, G., R. A. Ombarak, M. Eskander, T. Mehany, F. R. Anees, R. A. Elfayoumy, S. A. Omar, J. M. Lorenzo, and S. A.-E. Abou-Alella. 2022. Detection and inhibition of *Clostridium botulinum* in some Egyptian fish products by probiotics cell-free supernatants as bio-preservation
47. Hammes, W. P., & Hertel, C. (2009). "The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*". In *The Prokaryotes* (pp. 320-403). Springer.
48. Hanchi, H., & Hammami, R. (2019). Gingivitis and probiotics: a systematic review. *Microorganisms*, 7(9), 319
49. Hannon, J. A., & Wilkinson, M. G. (2018). The use of traditional and innovative processing technologies to enhance the functionality of dairy protein. *International Dairy Journal*, 89, 21-29.
50. Holck, A. L., Axelsson, L., & Rode, T. M. (2020). Hurdle technology: A natural approach for enhanced food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 271-281.
51. Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., & Rode, T. M. (2017). Microbial ecology of meat and meat

52. Hosseini, S. A., A. Abbasi, S. Sabahi, and N. Khani. 2021. Application of postbiotics produced by lactic acid bacteria in the development of active food packaging. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 12:6164–83.
53. Hugenholtz, J., & Smid, E. J. (2020). "Nutritional genomics of lactic acid bacteria: Molecular mechanisms of stress response and the impact on food safety". *Advanced Nutrition*, 11(2), 381-395.
54. Hütt, P., Shchepetova, J., Lõivukene, K., Kullisaar, T., Mikelsaar, M., & Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1324-1332.
55. İncili, G. K., P. Karatepe, M. Akgöl, A. Güngören, A. Koluman, O. İ. İlhak, H. Kanmaz, B. Kaya, and A.-A. Hayaloğlu. 2022. Characterization of lactic acid bacteria postbiotics, evaluation in-vitro antibacterial effect, microbial and chemical quality on chicken drumsticks. *Food Microbiology* 104:104001.
56. İncili, G. K., P. Karatepe, M. Akgöl, A. Tekin, H. Kanmaz, B. Kaya, M. Çalıcıoğlu, and A. A. ----Hayaloğlu. 2022. Impact of chitosan embedded with postbiotics from *Pediococcus acidilactici* against emerging foodborne pathogens in vacuum-packaged frankfurters during refrigerated storage. *Meat Science* 188:108786.
57. Izquierdo, E., Bednorz, C., Zhang, J., Remy, M., Mallet, A., Delbes-Paus, C., & Le Roux, Y. (2009). Cheese rind microbial communities: diversity, composition and origin. *FEMS Microbiology Letters*, 291(1), 105-112.
58. Joshi, V. K., Pathak, S., et al. (2019). Food Preservation and Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1522-1545.
59. K., Field, D., Rea, M. C., Ross, R. P., & Hill, C. (2016). Cotranslational leaders act as temporal integrators in regulation of the periodontal pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *mBio*, 7(1), e02267-15.
60. Klaenhammer, T. R. (1988). Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Biochimie*, 70(3), 337-349.
61. Kothari, D., S. Patel, and S.-K. Kim. 2019. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy=Biomedecine & Pharmacotherapie* Teame, T., A. Wang, M. Xie, Z. Zhang, Y. Yang, Q. Ding, C. Gao, R. E. Olsen, C. Ran, and Z. Zhou. 2020. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: A Review. *Frontiers in Nutrition* 7:570344

62. Le Maréchal, C., Peton, V., & Plé, C. (2021). "Production of Antimicrobial Peptides by Lactic Acid Bacteria: An Overview." *Microorganisms*, 9(5), 913. Cette revue passe en revue la production de peptides antimicrobiens par les bactéries lactiques, en mettant l'accent sur leurs mécanismes et leur potentiel d'application.
63. Lee, J. Y., Salminen, S., Jääskeläinen, E., & Lee, J. H. (2020). Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human- mucus binding protein. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11168-11179.
64. Lee, K. J., H. W. Park, E. J. Choi, and H. H. Chun. 2016. Effects of CFSs produced by lactic acid bacteria in combination with grape seed extract on the microbial quality of ready-to-eat baby leaf vegetables. *Cogent Food & Agriculture* 2 (1):1268742.
65. Lee, K. Y., Lee, S. H., Kim, D. H., Kim, K. N., Yoon, K. Y., & Lee, H. G. (2020). Controlled release of nisin from calcium pectinate gel and its antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes*. *Food Science and Biotechnology*, 29(7), 921-928.
66. Leyva Salas, M., J. Mounier, F. Valence, M. Coton, A. Thierry, and E. Coton. 2017. Antifungal microbial agents for food biopreservation—A review. *Microorganisms* 5 (3):37
67. Linares, D. M., Gómez, C., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., & Ross, R. P. (2017). Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 8, 846.
68. Lücke, F. K. (2015). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 109, 49-55..
69. Macklaim, J. M., Clemente, J. C., Knight, R., Gloor, G. B., & Reid, G. (2015). Changes in vaginal microbiota following antimicrobial and probiotic therapy. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 27799.
70. Mahlapuu, M., Håkansson, J., Ringstad, L., & Björn, C. (2016). Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 194.
71. Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., ... & Smid, E. J. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102.
72. Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.

73. Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M. L., Xaus, J., & Fernández, L. (2003). "Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut". *Journal of Pediatrics*, 143(6), 754-758.
74. Martínez, B., Böttiger, T., & Sánchez, J. (2019). The potential of the bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* CECT 539 to control *Listeria monocytogenes* in raw ewe's milk cheese. *Food Control*, 100, 95-100.
75. Martinez, R. C. R., Staliano, C. D., Vieira, A. D. S., Villarreal, M. L. M., Todorov, S. D., & Saad, S. M. I. (2015). Bacteriocin production and inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in a potentially synbiotic cheese spread. *Food Microbiology*, 48, 143-152.
76. Martínez-Ávila, O., Paredes, J., Cárdenas, N., Revilla, J., & Cháfer, M. (2020). Recent advances in alginate based materials for biosensors and biotechnology: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1100-1112
77. Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Fighting biofilms with lantibiotics and other groups of bacteriocins. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 3(1), 9
78. Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Bacteriocin-antimicrobial synergy: a medical and food perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1205.
79. Mohan, K. V., & Muller, L. M. (2020). An overview of the safety of probiotics in the paediatric population. *Pediatric Drugs*, 22(1), 1-17.
80. Mohammed A. Al Haj et al. (2021). "The Role of Camel Milk in the Control of Diabetes and Its Complications: An Update." *Journal of Diabetes Research*.
- 81.
82. Moradi, M., S. Kousheh, H. Almasi, A. Alizadeh, J. Guimarães, N. Yilmaz, and A. Lotfi. 2020. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19 (6):3390–415.
83. Munekata, P. E. S., M. Pateiro, I. Tomasevic, R. Domínguez, A. C. da Silva Barretto, E.M. Santos, and J. M. Lorenzo. 2022. Functional fermented meat products with probiotics—A review. *Journal of Applied Microbiology* 133 (1):91–103
84. Neetoo, H., Mahomoodally, M. F., & Zeng, X. A. (2019). Use of Lactic Acid Bacteria (LAB) as Potential Biocontrol Agents against Spoilage and Pathogenic Microorganisms: A Review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(17), 2740-2753..

85. Nielsen, D. S., Jacobsen, T., Jespersen, L., & Koch, A. G. (2018). Role of starter cultures in flavour development of fermented foods. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(1), 1065-1076.
86. Nowroozi, J., & Mirzaei, K. (2014). Purification and characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* strain J23 isolated from traditional dairy products. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6(3-4), 165-173.
87. O'Connor, P. M., O'Shea, E. F., Guinane, C. M., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2015). Nisin H is a new nisin variant produced by the gut-derived strain *Streptococcus hyointestinalis* DPC6484. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(11), 3953-3960.
88. O'Connor, P. M., Ross, R. P., Hill, C., & Cotter, P. D. (2020). Antimicrobial antagonists against food pathogens: a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Food Science*, 31, 33-40.
89. Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., & Onilude, A. A. (2003). Characterization of Bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*, 2(8), 219-227.
90. Omardien, S., Brul, S., & Zaat, S. A. (2016). Antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides against gram-positives: current progress made in understanding the mode of action and the response of bacteria. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 102.
91. Ozma, M. A., A. Abbasi, and S. Sabahi. 2022. Characterization of postbiotics derived from *Lactobacillus paracasei* ATCC 55544 and its application in *Malva sylvestris* seed mucilage edible coating to the improvement of the microbiological, and sensory properties of lamb meat during storage. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 13 (3):267.
92. **Patrignani, F., Siroli, L., Serrazanetti, D. I., Braschi, G., Betoret, E., Reinheimer, J. A., Lanciotti, R. (2015).** "Effect of high pressure homogenization on microbial counts and textural and structural properties of probiotic yogurt during refrigerated storage." *Food Control*, 50, 779-785.
93. Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2018). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1-22.
94. Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2018). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1-20.
95. Piewngam, P., Zheng, Y., Nguyen, T. H., Dickey, S. W., Joo, H. S., Villaruz, A. E., ... & Otto, M. (2018). Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference. *Nature*, 562(7728), 532-537.

96. products. In Handbook of meat and meat processing (pp. 133-162). CRC Press.
97. Punia Bangar, S., V. Chaudhary, N. Thakur, P. Kajla, M. Kumar, and M. Trif. 2021. Natural antimicrobials as additives for edible food packaging applications: A Review. *Foods* 10 (10):2282.
98. Ramírez-Sárceno, M. M., García-Morales, L. J., Rodríguez-Serrano, G., & López-Malo, A. (2021). Bacteriocins in food: Trends, challenges, and perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2071-2102.
99. Rauch, M. E., & Lynch, K. M. (2015). Lactic acid bacteria in artisanal cheese: Isolation, characterization, and antibiotic resistance. *Journal of Food Science*, 80(10), M2045-M2052.
100. Rezaei, Z., S. Khanzadi, and A. Salari. 2021. Biofilm formation and antagonistic activity of *Lactocaseibacillus rhamnosus* (PTCC1712) and *Lactiplantibacillus plantarum* (PTCC1745). *AMB Express* 11 (1):156.
101. Ríos Colombo, N. S., Rodríguez Vaquero, M. J., & Burgos, J. (2020). Bacteriocins from lactic acid bacteria: a literature review. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(2), 144-161.
102. Rivas, F. P., M. P. Castro, M. Vallejo, E. Marguet, and C. A. Campos. 2014. Sakacin Q produced by *Lactobacillus curvatus* ACU-1: Functionality characterization and antilisterial activity on cooked meat surface. *Meat Science* 97 (4):475–9.
103. -Rojas-Graü, M. A., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P. R., Martín-Belloso, O., & McHugh, T. H. (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81(3), 634-641.
104. Sanders, M. E., & Merenstein, D. J. (2019). Ou sont les preuves? A systematic examination of the use of probiotics in human infectious diseases. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 45-50.
105. Singh, M. P., P. Nikhanj, P. Singh, R. K. Singh, and A. Sharma. 2022. Chapter 20 - Biopreservation: An alluring method to safeguard food from spoilage. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*, ed. H. B. Singh and A. Vaishnav, 449–76. Amsterdam: Elsevier.
106. Šmajš, D., & Šmarda, J. (2013). Bacteriocins and their immunity proteins. *Folia Microbiologica*, 58(6), 459-467.
107. Suez, J., Zmora, N., Segal, E., & Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25(5), 716-729.

108. Sun, J., Liang, F., Bin, W., Li, Z., & Cui, C. (2020). Understanding the fermentation process of vegetable fermentations from the microbial perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(5), 2690-2715.
109. Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., ... & O'Toole, P Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., & Cooke, J. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327.
110. Tsilingiri, K., and M. Rescigno. 2013. Postbiotics: What else? *Beneficial Microbes* 4(1):101–7.
111. Vallejo-Cordoba, B., C. Castro-López, H. S. García, A. F. González-Córdova, and A.Hernández-Mendoza. 2020. Postbiotics and paraprobiotics: A review of current evidence and emerging trends. In *Probiotic and prebiotics in foods: Challenges, innovations and advances*, ed. E. S. Prudencio, E. A. Esmerino, M. C. da Silva, and A. G. da Cruz, 1–34. Academic Press
112. Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S., Von Wright, A., & Reinheimer, J. (2019). Usefulness of probiotics and prebiotics for the skin and oral mucosa. In *Microbiota in health and disease* (pp. 255-282). Springer,.
113. Cham.W. (2015). "Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera". *Nature Communications*, 6(1), 1-13.
114. Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., & Jiang, L. (2021). Characterization of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from home-made yogurts and cheeses in China: taxonomy, fermentation, and antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 12, 740.
115. Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Effect of nisin in combination with Thai spice extracts on inhibition of foodborne pathogens and biogenic amines in dry-salted fish. *Food Control*, 62, 159-167
116. Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Effect of nisin in combination with Thai spice extracts on inhibition of foodborne pathogens and biogenic amines in dry-salted fish. *Food Control*, 62, 159-167.

117. Wu, C., & Labbé, R. G. (2020). Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 86, 103327.
118. Xu, C., Q. Ban, W. Wang, J. Hou, and Z. Jiang. 2022. Novel nano-encapsulated probiotic agents: Encapsulate materials, delivery, and encapsulation systems. *Journal of Controlled Release* 349:184– 205
119. Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A., & Nag, D. (2005). Chitosan-starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and Products*, 21(2), 185-192.
120. Yagoub Ali Garelnabi et al. (2020). "Antioxidant and Antimicrobial Activities of Camel Milk Lactic Acid Bacteria: A Review." *Journal of Food Protection*.
121. Zhang, L., Gao, M., Zhang, T., Zhang, C., Li, J., Xiao, J., & Zhang, Q. (2021). Next-generation probiotics in a scenario of microecological disarrangement: perspectives on mechanisms, application, and prospects. *Science China Life Sciences*, 64(7), 1086-1101.
122. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., & Walter, J. (2020). "A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858.

Annexes

Les annexes**Milieux de culture****Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande.....	10g
Polypeptone.....	10g
Citrate de sodium.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Glucose.....	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.25g
MnSO ₄	0.05g
Agaragar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	6.8

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

Milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker, 1962)

Tryptone.....	20g
Gélatine.....	2.5g
Extrait de levure.....	5g
Saccharose.....	100g
Glucose.....	5g
Citrate de sodium.....	1g
Azide de sodium.....	0.075g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	6.8

Autoclavage 120°C/20minutes

Milieu Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	3000 cm ³
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5 g
Agar-agar.....	17 g
Eau distillé.....	1000ml
pH	7.4

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

Milieu viande foie

Viande digérée dans la peptone tryptique.....	10 g
Extrait de viande.....	10 g
Extrait de levure.....	1,5 g
Amidon.....	1 g
Acétate de sodium hydraté.....	5 g
Glucose.....	1 g
Chlorhydrate de L – cystine.....	0,5 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH	7

Autoclavage 120°C/20 min

Gélose standard pour dénombrement ou Plat Count Agar (PCA)

• Peptone.....	.5g
• Extrait de levure.....	2.5g
• 1 Agar.....	15g
• Eau distillée.....	1000ml

Milieu VRBL (Gélose lactosé billé au Cristal Violet et Rouge Neutre)

• Peptone (digeste enzymatique de tissus animaux)	
• Extrait de levure.....	7g
• Lactose.....	3g
• Sels biliaires.....	1.5g

- Chlorure de sodium..... .5g
- Rouge neutre..... 30mg
- Cristal violet..... 2mg
- Agar-agar..... 12à18g
- Eau distillée..... 1000ml

Milieu Chapman

- Extrait de viande..... . 3g
- Extrait de levure..... 3g
- Tryptone..... 5g
- Peptone bactériologique..... 10g
- Chlorure de sodium..... 70g
- Mannitol..... 10g/l
- Rouge de phénol..... 0.05g/l
- Agar..... 18g/l
- Eau distillée..... 1000ml

Milieu Mannitol - mobilité

- hydrolysattrypsique de caséine:..... 10,0 g
- mannitol:..... 7,5 g
- rouge de phénol:..... 0,04 g
- nitrate de potassium:..... 1,0 g
- agar:..... 3,5 g
- pH 7,6

Milieu TSI

- Extrait de viande..... 3g/l
- Extrait de levure..... 3g/l
- Peptone 20g/l
- Chlorure de sodium..... 5g/l
- Lactose..... 10g/l
- Saccharose..... 10g/l

- Glucose 1g/l
- Sulfates ferreux ammoniacal..... 300mg/l
- Rouge de phénol..... 24mg/l
- Thiosulfate de sodium anhydre..... 300mg/l
- Agar..... 11g/l

Appareillages



Autoclave (raypa steam sterilizer).



Bain-marie (lauda e40s).



Microscope optique



Centrifugeuse électrique(rotina 380 p zentrifugen hettich).



Plaque chauffante (VELP)

Annexes



Jarre d'anaérobiose utilisée pour la culture des bactéries lactiques.



Incubateur (incubateur memmert).



pH-mètre



Densitomètre



Balance analytique de précision (adventurer ohaus).



Bec bunsen

La partie expérimentale



Croissance bactérienne des souche lactique sur milieu MRS liquide .



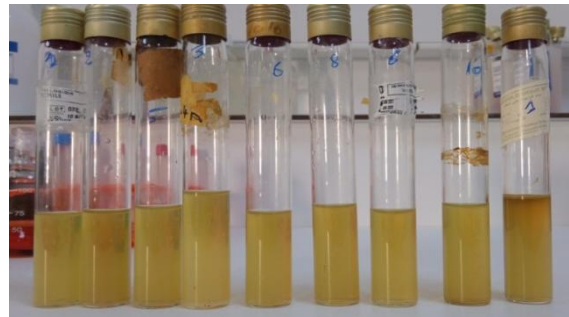
Croissance bactérienne des souche lactique sur milieu MRS liquide a déférente PH



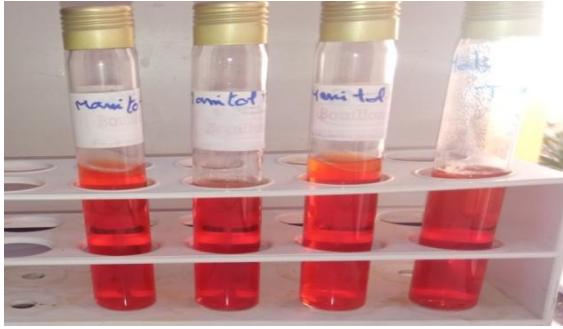
Thermoresistance des souches lactiques



Croissance bactérienne des souches lactiques sur milieu TSI.



Croissance bactérienne des souches lactique sur milieu VF.



Croissance bactérienne des souches lactiques sur milieu mannitol mobilité

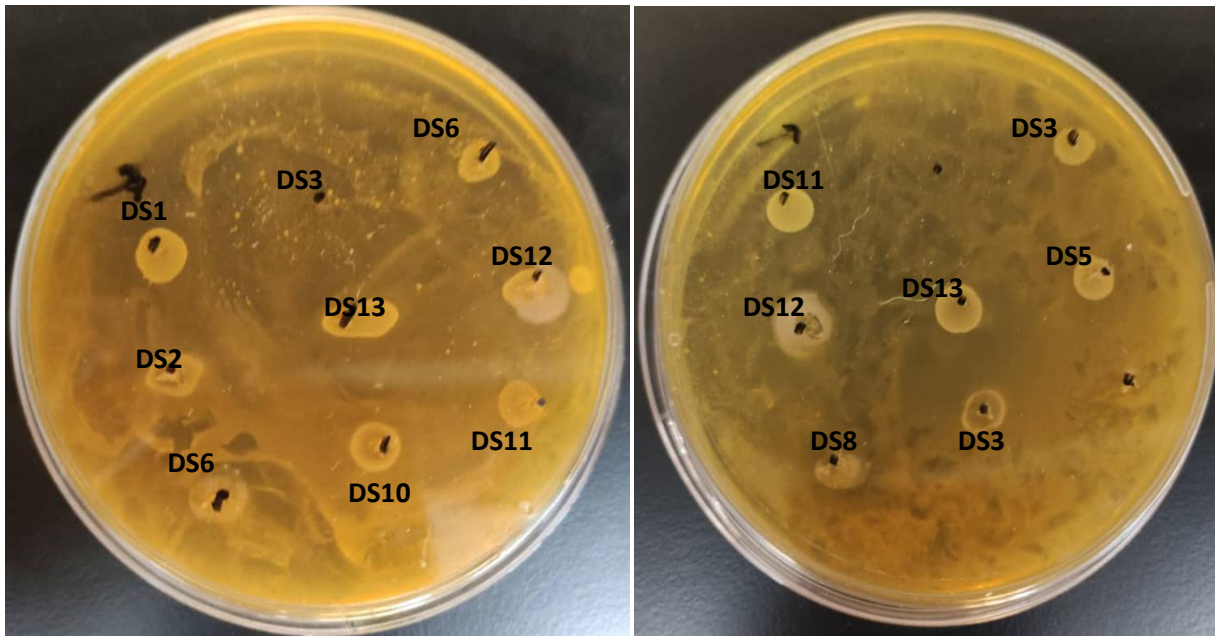
Production de biomasse cellulaire



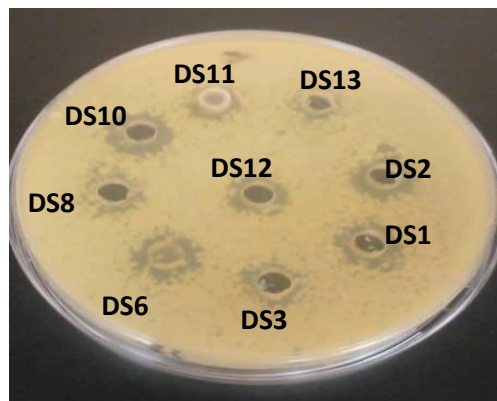
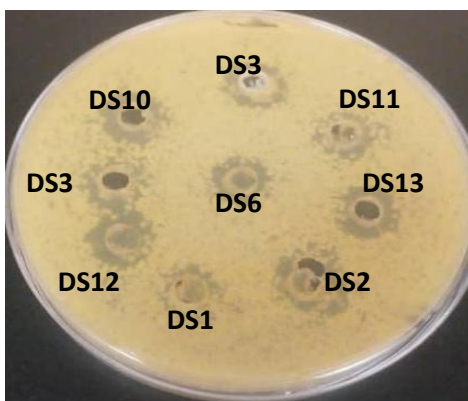
Mesure de la densité optique (D.O.)



Mesure de la production d'acide lactique

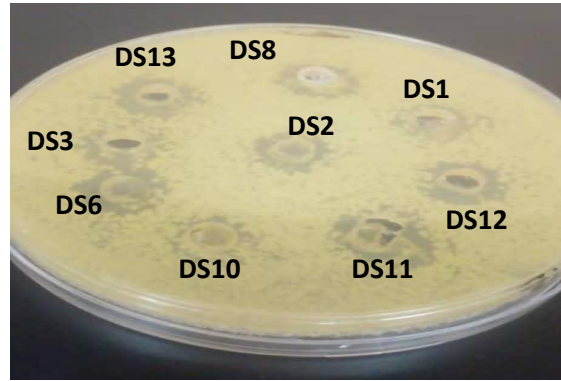
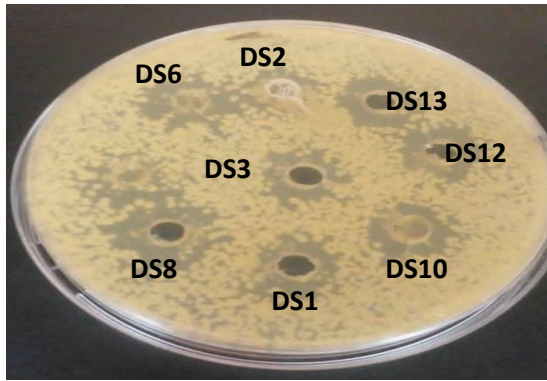


Effet antibactérien des souches *lactiques* isolées par la méthode de Spot (méthode directe)



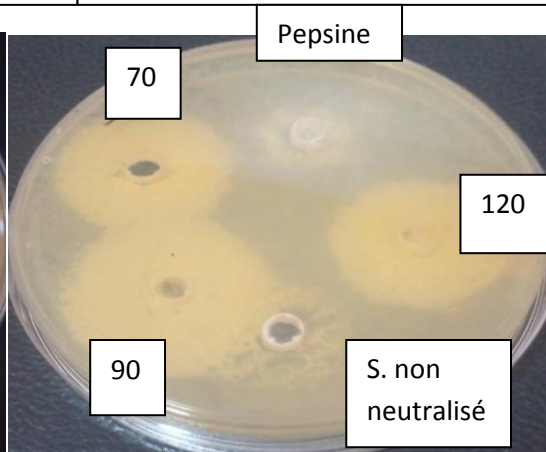
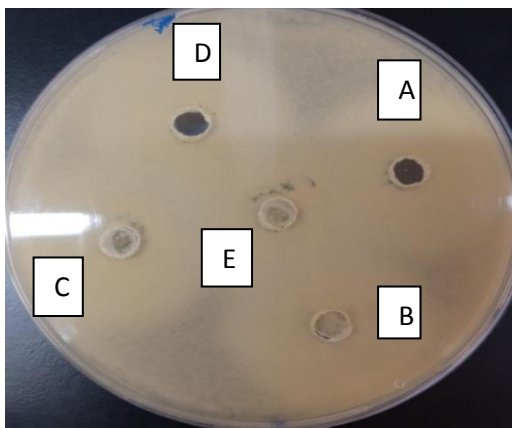
Effet antibactérien des souches *lactiques* isolées par La méthode de diffusion en puits vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCCA3300

Effet antibactérien des souches *lactiques* isolées par La méthode de diffusion en puits vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC25922



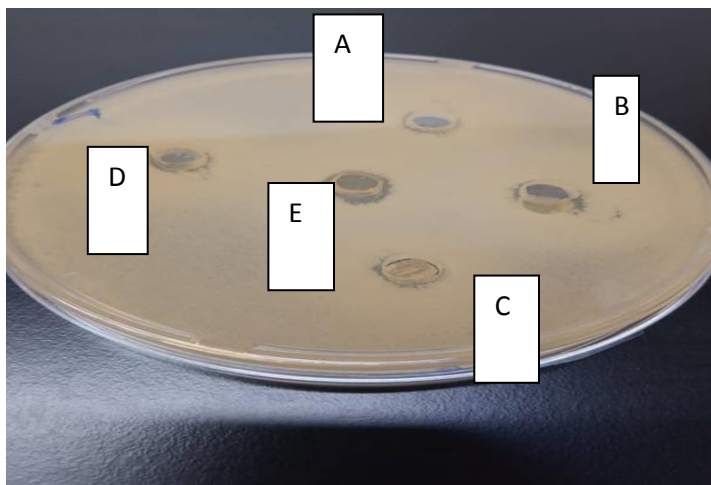
Effet antibactérien des souches *lactiques* isolées par La méthode de diffusion en puits vis-à-vis *Bacillus aubtilis* ATCC6633.

Effet antibactérien des souches *lactiques* isolées par La méthode de diffusion en puits vis-à-vis *Pseudomonas* ATCC9027.



Caractérisation de l'agent inhibiteur contre *Escherichia coli* ATCC25922.

Caractérisation de l'agent inhibiteur contre *Staphylococcus aureus* ATCCA3300 .

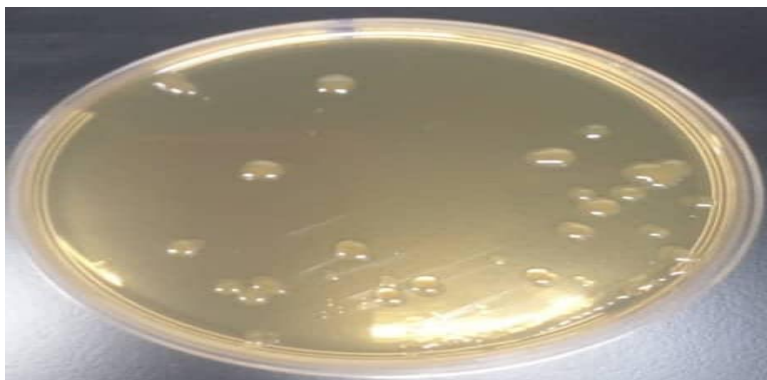


A : S non neutralisé
 B : S neutralisé traité 70
 C : S neutralisé traité 90
 D :S neutralisé traité 120
 E : S neutralisé traité pepsine
 S (surnageant)

Caractérisation de l'agent inhibiteur contre *Pseudomonas* ATCC9027.

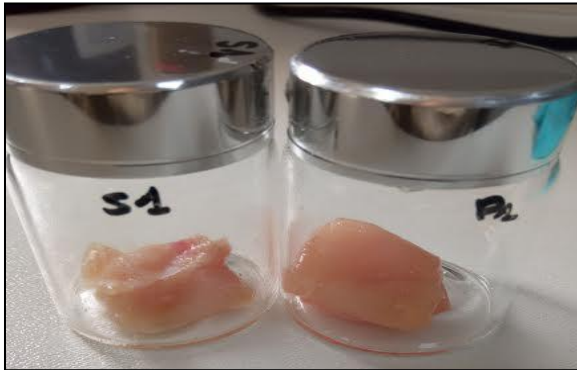


Resultats des tests sur API20E de quelques souches lactiques isolées .



L'aspect des colonies productrices de dextrane sur gélose MSE.

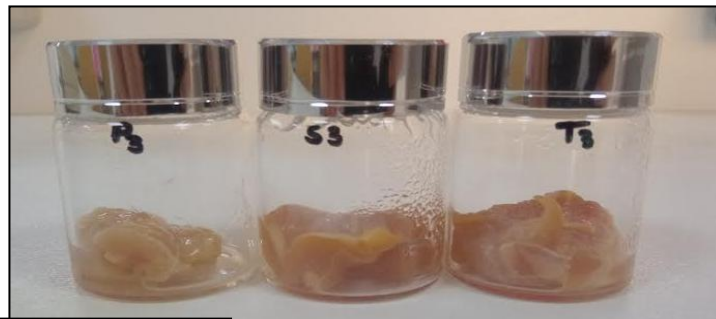
Control visuel de viande de poulet



Après 3 iours



Après 5 iours



Après 10 iours

Analyse microbiologique de viande de poulet (données pour les graphes):

Données pour les bactéries lactiques (BL) :

Jour	T	S	P
Jour 0	0.9	0	0
Jour 3	1.02	1.61	0.95
Jour 5	0.55	2.87	1.12
Jour 8	2.07	3.44	3.6
Jour 10	Tapis	Tapis	Tapis

Données pour les levures et moisissures :

Jour	T	S	P
Jour 0	0	0	0
Jour 3	2.32	1.95	2.23
Jour 5	4.29	2.37	4.89
Jour 8	Tapis	3.28	Tapis
Jour 10	Tapis	Tapis	Tapis

Données pour Coliformes totaux

Jour	T	S	P
Jour 0	0.2	0	0
Jour 3	1.41	0.19	1.4
Jour 5	2.1	1.63	3.25
Jour 8	6.92	4.64	8.04
Jour 10	tapis	tapis	tapis

Données pour Staphylococcus aureus :

Jour	T	S	P
Jour 0	0.35	0	0
Jour 3	1.42	0	1.4
Jour 5	3	1.47	2
Jour 8	3.66	2.49	2.7
Jour 10	tapis	tapis	tapis

Données pour FTAM

Jour	T	S	P
Jour 0	0.03	/	/
Jour 3	0.09	0.3	1.11
Jour 5	0.55	0.85	1.74
Jour 8	4.16	5.29	6.90
Jour 10	tapis	tapis	tapis