

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saïda Dr MOULAY Tahar



كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

## Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

# Étude de l'activité antimicrobienne et du pouvoir probiotique de bactéries lactiques isolées de produits fermentés locaux de la région de Saïda, Algérie

Présenté par :

- Melle : **OULD KADA** Fatma Ikram
- Melle : **BOUBAKAR** Maroua Ibtissam

Soutenu le : 24/06/2025

Devant le jury composé de :

Président

Mr. BELLIL Yahia

MCA Université USMT

Examineur

Mme. CHAHROUR Wassila

MCA Université USMT

Rapporteur

Mr. BENABBOU Taha Ahmed

MCA Université USMT

Année universitaire 2024/2025





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saïda Dr MOULAY Tahar



كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

# **Étude de l'activité antimicrobienne et du pouvoir probiotique de bactéries lactiques isolées de produits fermentés locaux de la région de Saïda, Algérie**

Présenté par :

- Melle : **OULD KADA Fatma Ikram**
- Melle : **BOUBAKAR Maroua Ibtissam**

Soutenu le : 24/06/2025

Devant le jury composé de :

Président

Mr. BELLIL Yahia

MCA Université USMT

Examineur

Mme. CHAHROUR Wassila

MCA Université USMT

Rapporteur

Mr. BENABBOU Taha Ahmed

MCA Université USMT

**Année universitaire 2024/2025**



## Dédicaces

Je remercie tout d'abord « **DIEU** » pour son aide et sa bénédiction.

Je dédie ce travail :

A mes parents qui mon encourages durent toute ma vie

A mes deux frère **Noureddine** et **Mohamed** et ma sœur **Soumia**.

A mon grand-père « **Dieu le bénisse** » Qui m'appelait tout le temps de réussir dansma vie

À mon ami et ma binôme **Maroua**, ma deuxième sœur à qui J'ai passé des trèsbeaux moments avec elle.

Et je n'oublie pas la joie et le rire de la maison, cher Haitham



*Fatma*





## Dédicaces

Dans mes dédicaces, je m'adresse filialement à mes parents, à Muma qui ont mis toute

En œuvre pour la réussite de mes études ; mes sœurs et mon frère Abdelkader,

Et ma compagne Ikram avec laquelle j'ai partagé mes loisirs.

*Maroua*



### Remerciements

Louange à Dieu le puissant, le maître de l'univers qui nous a attribué la patience, la force et le courage de mener à bien la réalisation et l'accomplissement de notre modeste travail en bonne et de la forme.

Cette thèse est le fruit de rencontres, d'accompagnement, de soutiens et de solidarités.

Dans cette tâche parfois difficile et laborieuse avec abnégation sous le guide et la conduite de notre cher professeur Monsieur **BENABBOU Taha Ahmed** que nous remercions de tout cœur pour sa confiance et ses conseils bénéfiques dès le début de l'aventure. Notre reconnaissance et notre gratitude sont insuffisantes pour remercier ce pionnier de l'éducation.

Nos remerciements sincères, notre profonde et respectueuse considération sont destinés à nos sympathiques professeurs qui nous ont encouragés et guidés tout au long du parcours, se sont Monsieur **BELLIL Yahia**, et Monsieur **BENREGUIEG Mokhtar**, nous rendons également un grand hommage à nos aimables professeurs, Madame **CHAHROUR Wassila** en collaboration avec Madame **BELGACEM Habiba** que nous saluons de tout cœur.

Nos vifs remerciements, nous les adressons à notre aimable professeur de

L'université, le personnel du laboratoire, et nos amis qui nous ont aidés.

---

### Liste des abréviations

**MRS:** Man-Rogosa-Sharpe

**ATB:** Antibiotique

**EPS :** Exo polysaccharide

**MH :** Mueller Hinton

**NaCl :** Chlorure de sodium

**NaOH :** Hydroxyde de sodium

**kDa :** Kilodalton

**pH :** Potentiel hydrogène

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**% :** pourcentage

**G+C :** Guanine + cytosine

**GRAS :** Generally Regarded As Safe

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1 :</b> Caractéristiques métaboliques et physiologiques de quelques espèces de bactéries lactiques.....                                                                                                   | 8  |
| <b>Tableau 2 :</b> Comparaison entre les produits fermentés traditionnels et les produits fermentés industriels (synthétiques) selon leurs caractéristiques technologiques, microbiologiques et organoleptiques..... | 24 |
| <b>Tableau 3 :</b> Répartition administrative de la wilaya de Saïda.....                                                                                                                                             | 46 |
| <b>Tableau 4 :</b> Souches bactériennes indicatrices utilisées pour les tests d'antagonisme.....                                                                                                                     | 47 |
| <b>Tableau 5 :</b> Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité des souches lactiques.....                                                                                                                  | 53 |
| <b>Tableau 6 :</b> Synthèse des Caractères Phénotypiques, Physiologiques et Biochimiques des 30 Isolats.....                                                                                                         | 64 |
| <b>Tableau 7 :</b> Profils phénotypiques, physiologiques et antibiogramme des souches de bactéries lactiques isolées de produits artisanaux (n=29).....                                                              | 69 |
| <b>Tableau 8:</b> Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches lactiques contre six pathogènes indicateurs.....                                                                                                 | 76 |



## Liste des figures

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1:</b> Types de fermentation lactique : (a) voie homofermentaire ; (b) voie hétérofermentaire.....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 8  |
| <b>Figure 2:</b> Principales catégories de produits laitiers fermentés traditionnels algériens.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 10 |
| <b>Figure 3:</b> Présentation typique du Rayeb artisanal dans un récipient en argile (photographie documentaire).....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 12 |
| <b>Figure 4:</b> Zebda traditionnel mis en motte dans un récipient en terre cuite .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 13 |
| <b>Figure 5:</b> Étapes de clarification du beurre en Shmen puis Rob (photographie de terrain). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 14 |
| <b>Figure 6:</b> Fromage Klila mis à sécher sur claies en osier (cliché local) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 15 |
| <b>Figure 7:</b> Moules de Jben frais, aromatisés au poivre noir et à la sarriette. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 16 |
| <b>Figure 8:</b> Aspect de la <i>Boubtina</i> (ou <i>Osbane</i> ) – Produit carné traditionnel d’Afrique du Nord classé parmi les produits carnés fermentés partiellement séchés ou séchés (catégorie III). ....                                                                                                                                                                                         | 17 |
| <b>Figure 9:</b> Présentation traditionnelle du Khliaa Ezir .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 18 |
| <b>Figure 10:</b> Les légumes lactofermentés.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 19 |
| <b>Figure 11:</b> Citrons lactofermentés un exemple de fruits confits à base de saumure.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 21 |
| <b>Figure 12 :</b> Silos traditionnels « Matmor » utilisés pour la fermentation du blé en milieu rural algérien.....                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 22 |
| <b>Figure 13 :</b> Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes .....                                                                                                                                                                                                                                       | 29 |
| <b>Figure 14:</b> Phase contraste (A–E) et électron (F) micrographes montre les différentes morphologies cellulaires de <i>Lactobacillus</i> : A, <i>Lactobacillus gasseri</i> ; B, <i>Lactobacillus agilis</i> ; C, <i>Lactobacillus curvartus</i> ; D, <i>Lactobacillus minor</i> ; E, <i>Lactobacillus fermentum</i> ; et F involution de lactobacillus dans une section mince de grain du kéfir..... | 30 |
| <b>Figure 15:</b> <i>Pediococcus</i> au microscope électrique .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 31 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 16:</b> Morphologie en microscopie électronique de <i>Streptococcus thermophilus</i> .....                                                                                                                                                                                                                       | 32 |
| <b>Figure 17:</b> Morphologie microscopique de quelques espèces du genre <i>Bifidobacterium</i> . (a) <i>Bifidobacterium adolescentis</i> (Barre d'échelle : 10 µm). (b) <i>Bifidobacterium animalis</i> (x500).....                                                                                                       | 34 |
| <b>Figure 18:</b> Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives (Fernandez, 2014).....                                                                                                                                                                 | 39 |
| <b>Figure 19 :</b> Mécanismes d'actions des probiotiques.....                                                                                                                                                                                                                                                              | 43 |
| <b>Figure 20:</b> Découpage administratif de la wilaya de Saida. ....                                                                                                                                                                                                                                                      | 47 |
| <b>Figure 21 :</b> Technique de préparation des dilutions décimales .....                                                                                                                                                                                                                                                  | 48 |
| <b>Figure 22:</b> Méthode d'ensemencement des dilutions décimales, en masse, en surface.....                                                                                                                                                                                                                               | 49 |
| <b>Figure 23:</b> Purification des souches par repiquage.....                                                                                                                                                                                                                                                              | 49 |
| <b>Figure 24:</b> Schéma de conservation de courte durée de bactéries lactiques purifiées.....                                                                                                                                                                                                                             | 50 |
| <b>Figure 25:</b> Schéma de conservation de longue durée des bactéries lactiques .....                                                                                                                                                                                                                                     | 51 |
| <b>Figure 26 :</b> Aspect des colonies de bactéries lactiques sur gélose MRS après ensemencement de la dilution $10^{-3}$ de l'échantillon de carottes fermentées.....                                                                                                                                                     | 58 |
| <b>Figure 27 :</b> Morphologies coloniales des isolats de bactéries lactiques sur gélose MRS. Exemples de colonies observées après 48h d'incubation à 30°C, montrant des variations de taille, de couleur (blanc à crème) et d'aspect (opaque, lisse).....                                                                 | 59 |
| <b>Figure 28:</b> Aspects de la croissance des bactéries lactiques en bouillon MRS. Illustration des deux types de croissance observés après 24h d'incubation : (a) formation d'un culot cellulaire après sédimentation, et (b) développement d'un trouble homogène dans le milieu.....                                    | 59 |
| <b>Figure 29:</b> Diversité morphologique des isolats de bactéries lactiques après coloration de Gram. Observations au microscope optique (grossissement $\times 1000$ ). (a) Bacilles en chaînettes (souche L7) ; (b) Coques en amas (souche K3) ; (c) Coccobacilles (souche C6) ; (e) Coques en paires (souche L1) ..... | 60 |

- Figure 30:** Évaluation de la thermorésistance des isolats de bactéries lactiques. La figure illustre la croissance (trouble dans les tubes) de souches ayant survécu à un traitement thermique de 63°C pendant 30 minutes, comparée à des tubes témoins sans croissance..... 61
- Figure 31:** Test de tolérance au sel (halotolérance) des isolats de bactéries lactiques. La figure montre la croissance de plusieurs souches (spots) sur une gélose MRS supplémentées en NaCl..... 61
- Figure 32:** Évaluation de l'alcali-tolérance des isolats. La figure montre la croissance (spots) de souches sur une gélose MRS ajustée à un pH de 9.6 après 48h d'incubation..... 62
- Figure 33:** Détermination du type fermentaire des bactéries lactiques. (C1) Aspect d'une culture homofermentaire en bouillon MRS, sans production de gaz dans la cloche de Durham. (C5) Aspect d'une culture hétérofermentaire, avec accumulation de CO<sub>2</sub> dans la cloche de Durham..... 62
- Figure 34:** Répartition des types fermentaires au sein de la collection de 30 isolats ..... 63
- Figure 35:** Résultats du test de réduction au bleu de méthylène (Test de Sherman). La figure illustre la capacité de différentes souches à réduire le colorant à des concentrations de 0.1% et 0.3% dans le lait. .... 63
- Figure 36:** Distribution des genres de bactéries lactiques identifiés dans l'étude (n=30 souches)..... 65
- Figure 37:** Profils de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur disque. Exemples de zones d'inhibition claires autour des disques d'antibiotiques pour les souches L13 (a), C3 (b), L16 (c) et L14 (e), illustrant des sensibilités variables..... 68
- Figure 38 :** Profil de multirésistance de la collection d'isolats : Distribution du nombre de résistances par souche. Le diagramme en barres représente le nombre d'isolats de bactéries lactiques (n=29 au total) résistants à un nombre donné d'antibiotiques, allant de 0 (pan-sensible) à 6. La multirésistance est définie ici par une résistance à trois antibiotiques ou plus ( $\geq 3$ )..... 70

- Figure 39:** Évaluation de l'activité inhibitrice globale des isolats par la méthode de la double couche (Spot-on-lawn). La figure montre les halos d'inhibition clairs formés par des isolats de bactéries lactiques (spots centraux) contre une culture de bactérie indicatrice..... 75
- Figure 40:** Recherche de substances inhibitrices extracellulaires par la méthode de diffusion en puits envers (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Bacillus cereus*..... 78
- Figure 41:** Cinétique de croissance des souches lactiques à pH 2.0. Le graphique montre l'évolution de la densité optique (DO 600 nm) des cultures bactériennes après 24 heures d'incubation en milieu acide, comparée à la DO initiale (T0). ..... 80
- Figure 42:** Cinétique de tolérance aux sels biliaries (0.5%). Le graphique illustre l'évolution de la densité optique (DO 600 nm) des souches lactiques au cours du temps (0, 30 min, 2h, 24h) en présence de sels biliaries. .... 80
- Figure 43:** Évaluation de l'activité hémolytique sur gélose au sang. La figure présente les différents types d'hémolyse observés :  $\gamma$ -hémolyse (absence de halo),  $\alpha$ -hémolyse (halo verdâtre partiel) et  $\beta$ -hémolyse (halo clair total) ..... 81
- Figure 44:** Activité de piégeage du radical libre DPPH par les surnageants de culture. Le diagramme en barres présente le pourcentage d'inhibition du DPPH pour les quatre souches ayant montré une activité antioxydante..... 82
- Figure 45:** Comparaison de l'activité antioxydante des souches lactiques et de la Vitamine C. Le graphique compare le pourcentage d'inhibition du DPPH obtenu pour la souche la plus active (L16) avec celui de la Vitamine C, utilisée comme témoin positif de référence. .... 82



## Résumé

Face à la menace croissante de la résistance aux antimicrobiens, l'exploration de la biodiversité microbienne des aliments traditionnels constitue une stratégie d'innovation prometteuse. Cette étude a visé à isoler et caractériser des bactéries lactiques (BAL) issues de trois produits fermentés de la région de Saïda (Algérie) le *Lben*, la *Klila* et des carottes afin d'évaluer leur double potentiel antimicrobien et probiotique. Une approche de criblage fonctionnel a été menée sur 30 isolats purifiés, incluant la détermination de leurs profils phénotypiques, leur activité antagoniste contre six souches pathogènes, leur profil de sensibilité aux antibiotiques, et leurs aptitudes probiotiques *in vitro* (survie en conditions gastro-intestinales simulées, activité hémolytique).

Les résultats ont révélé une diversité générique remarquable, avec une identification présomptive de six genres (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*). Le criblage fonctionnel a permis d'identifier des souches d'élite : plusieurs isolats, notamment C7 et C9, ont démontré une activité antimicrobienne exceptionnelle à large spectre, y compris contre les pathogènes à Gram-négatif. Parallèlement, le criblage probiotique a mis en évidence des souches comme L6 et L12, qui combinent une excellente robustesse aux stress digestifs et un profil de sécurité optimal ( $\gamma$ -hémolyse). Cependant, l'analyse de l'antibiorésistance a également révélé un point de vigilance majeur : la présence de plusieurs souches présentant des profils de multirésistance (MDR), voire de pan-résistance.

En conclusion, cette étude confirme que les aliments fermentés traditionnels algériens sont un réservoir précieux de BAL aux propriétés fonctionnelles prometteuses. Elle souligne toutefois que cette biodiversité présente une dualité, hébergeant à la fois des candidats probiotiques et de bioconservation de grand intérêt, mais aussi des souches dont le profil de résistance exige une caractérisation de sécurité approfondie avant toute application.

**Mots-clés** : Bactéries lactiques, aliments fermentés, Algérie, activité antimicrobienne, probiotiques, résistance aux antibiotiques, sécurité alimentaire.

### Abstract

In response to the growing threat of antimicrobial resistance, exploring the microbial biodiversity of traditional foods represents a promising innovation strategy. This study aimed to isolate and characterize lactic acid bacteria (LAB) from three fermented products from the Saïda region (Algeria) *Lben* (fermented milk), *Klila* (dried cheese), and carrots to evaluate their dual antimicrobial and probiotic potential. A functional screening approach was conducted on 30 purified isolates, including the determination of their phenotypic profiles, their antagonistic activity against six pathogenic reference strains, their antibiotic susceptibility profiles, and their *in vitro* probiotic aptitudes (survival in simulated gastrointestinal conditions, hemolytic activity).

The results revealed a remarkable generic diversity, with the presumptive identification of six distinct genera (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*). Functional screening identified elite strains: several isolates, notably C7 and C9, demonstrated exceptional broad-spectrum antimicrobial activity, including against Gram-negative pathogens. Concurrently, probiotic screening highlighted strains such as L6 and L12, which combine excellent robustness to digestive stress with an optimal safety profile ( $\gamma$ -hemolysis). However, the antibiogram analysis also revealed a major point of caution: the presence of several strains exhibiting multidrug-resistant (MDR), and even pan-resistant, profiles.

In conclusion, this study confirms that traditional Algerian fermented foods are a valuable reservoir of LAB with promising functional properties. It underscores, however, the dual nature of this biodiversity, hosting both highly interesting probiotic and biopreservation candidates, as well as strains whose resistance profiles demand thorough safety characterization prior to any application.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, fermented foods, Algeria, antimicrobial activity, probiotics, antibiotic resistance, food safety.

## ملخص

في مواجهة التهديد المتزايد لمقاومة مضادات الميكروبات، يمثل استكشاف التنوع البيولوجي الميكروبي في الأغذية التقليدية استراتيجية واعدة للابتكار. هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتوصيف بكتيريا حمض اللاكتيك (BAL) من ثلاثة منتجات مخمرة من منطقة سعيدة (الجزائر) — وهي اللبن، الكليلة، والجزر — بهدف تقييم قدرتها المزدوجة كمضادات للميكروبات وكبروبيوتيك (معزات حيوية). تم إجراء مسح وظيفي على 30 عزلة نقية، شمل تحديد خصائصها المظهرية، ونشاطها المضاد لست سلالات بكتيرية ممرضة، وتوصيف حساسيتها للمضادات الحيوية، وقدراتها البروبيوتكية في المختبر (القدرة على البقاء في ظروف الجهاز الهضمي المحاكاة، والنشاط الانحلالي للدم).

أظهرت النتائج تنوعًا جنسيًا ملحوظًا، مع تحديد مبدئي لستة أجناس مختلفة (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*). تحديد سلالات "نخبوية"؛ حيث أظهرت عدة عزلات، أبرزها C7 وC9، نشاطًا استثنائيًا واسع الطيف كمضادات للميكروبات، بما في ذلك ضد الميكروبات الممرضة سلبية الغرام. في موازاة ذلك، كشف المسح البروبيوتيكي عن سلالات مثل L6 وL12، التي تجمع بين متانة ممتازة في مواجهة ضغوط الجهاز الهضمي وملف سلامة مثالي (انحلال دموي من نوع غاما). ومع ذلك، كشف تحليل الحساسية للمضادات الحيوية عن نقطة يقظة رئيسية، وهي الوجود المقلق لسلالات متعددة المقاومة (MDR)، بل ومقاومة كلية للمضادات الحيوية.

ختامًا، تؤكد هذه الدراسة أن الأغذية المخمرة التقليدية الجزائرية هي خزان ثمين لبكتيريا حمض اللاكتيك ذات الخصائص الوظيفية الواعدة. إلا أنها تسلط الضوء على الطبيعة المزدوجة لهذا التنوع البيولوجي، الذي يأوي في آن واحد مرشحين ذوي أهمية كبيرة للاستخدام كبروبيوتيك أو للحفاظ البيولوجي، وكذلك سلالات يتطلب ملف مقاومتها تقييمًا معمقًا للسلامة قبل أي تطبيق.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك، أغذية مخمرة، الجزائر، نشاط مضاد للميكروبات، بروبيوتيك، مقاومة المضادات الحيوية، سلامة غذائية.

## Table des matières

|                              |      |
|------------------------------|------|
| Liste des abréviations ..... | i    |
| Liste des tableaux .....     | ii   |
| Liste des figures.....       | iii  |
| Résumé .....                 | vii  |
| Abstract.....                | viii |
| ملخص .....                   | ix   |
| Table des matières .....     | x    |

### **PARTIE I. INTRODUCTION..... 1**

### **PARTIE II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ..... 4**

|                                                                                                       |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>II.1. ALIMENTS FERMENTES TRADITIONNELS : UN PATRIMOINE CULINAIRE VIVANT.....</b>                   | <b>5</b> |
| II.1.1. FONDEMENTS CONCEPTUELS DE LA FERMENTATION ALIMENTAIRE : .....                                 | 5        |
| II.1.2. LA FERMENTATION LACTIQUE : DEFINITION, ACTEURS MICROBIENS ET DEROULEMENT<br>DU PROCESSUS..... | 5        |
| II.1.2.1. Définition de la fermentation lactique : .....                                              | 5        |
| II.1.3. FONCTIONS DES BACTERIES LACTIQUES DANS LA TRANSFORMATION DES ALIMENTS ...                     | 6        |
| II.1.4. LE PROCESSUS DE FERMENTATION LACTIQUE.....                                                    | 7        |
| II.1.5. LES PRODUITS FERMENTES TRADITIONNELS EN ALGERIE .....                                         | 7        |
| II.1.6. CLASSIFICATION DES PRODUITS FERMENTES TRADITIONNELS .....                                     | 9        |
| II.1.6.1. Les produits laitiers fermentés .....                                                       | 9        |
| II.1.6.2. Les boissons lactées fermentées.....                                                        | 10       |
| II.1.6.2.1. Le leben ( <i>l'ben</i> ).....                                                            | 10       |
| II.1.6.2.2. Le Rayeb ( <i>Raïb</i> ).....                                                             | 11       |
| II.1.6.3. Les dérivés laitiers gras.....                                                              | 12       |
| II.1.6.3.1. Crème et beurre traditionnels ( <i>Zebda, Dhen</i> ).....                                 | 13       |
| II.1.6.3.2. Shmen ( <i>Semma</i> ) et Rob .....                                                       | 13       |
| II.1.6.4. Fromages traditionnels algériens .....                                                      | 14       |
| II.1.6.4.1. Aoules.....                                                                               | 14       |
| II.1.6.4.2. Klila.....                                                                                | 15       |
| II.1.6.4.3. Jben .....                                                                                | 15       |
| II.1.6.5. Les produits carnés fermentés.....                                                          | 16       |

---

|                                                                                                                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.1.6.6. Les aliments fermentés d'origine végétale .....                                                                                                     | 18        |
| II.1.6.7. Les légumes lactofermentés .....                                                                                                                    | 19        |
| II.1.6.8. Les fruits fermentés.....                                                                                                                           | 20        |
| II.1.6.9. Les céréales fermentées .....                                                                                                                       | 21        |
| II.1.7. APPROCHE COMPARATIVE DES METHODES TRADITIONNELLES ET SYNTHETIQUES DANS<br>L'ETUDE DES BACTERIES LACTIQUES ISSUES DES FERMENTATIONS ALIMENTAIRES ..... | 22        |
| II.1.7.1. Procédé de fabrication des ferments lactiques .....                                                                                                 | 22        |
| II.1.7.2. Innovation et valorisation des produits fermentés traditionnels en Algérie tout en<br>sauvegardant les savoir-faire artisanaux.....                 | 23        |
| II.1.7.3. Innovation dans la fermentation : concilier tradition et modernisation .....                                                                        | 24        |
| II.1.7.4. Valorisation des produits fermentés traditionnels.....                                                                                              | 25        |
| <b>II.2. GENERALITE SUR LES BACTERIES LACTIQUES .....</b>                                                                                                     | <b>26</b> |
| II.2.1. HISTORIQUE .....                                                                                                                                      | 26        |
| II.2.2. DEFINITION ET CARACTERES GENERAUX .....                                                                                                               | 27        |
| II.2.3. HABITAT ET ORIGINE.....                                                                                                                               | 27        |
| II.2.4. TAXONOMIE ET CLASSIFICATION .....                                                                                                                     | 28        |
| II.2.4.1. Classification classique.....                                                                                                                       | 28        |
| II.2.4.2. Classification moderne.....                                                                                                                         | 28        |
| II.2.5. LES PRINCIPAUX GENRES DES BACTERIES LACTIQUES.....                                                                                                    | 29        |
| II.2.5.1. Genre <i>Lactobacillus</i> .....                                                                                                                    | 29        |
| II.2.5.2. Genres <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i> .....                                                                                           | 30        |
| II.2.5.3. Genres <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> et <i>Streptococcus</i> .....                                                                       | 31        |
| II.2.5.4. Genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i> .....                                                                             | 32        |
| II.2.5.5. Genre <i>Bifidobacterium</i> .....                                                                                                                  | 33        |
| II.2.6. LES APTITUDES DES BACTERIES LACTIQUES .....                                                                                                           | 34        |
| II.2.6.1. Aptitude acidifiante .....                                                                                                                          | 34        |
| II.2.6.2. Aptitude aromatisante .....                                                                                                                         | 35        |
| II.2.6.3. Aptitude texturante.....                                                                                                                            | 35        |
| II.2.6.4. Aptitude de performance.....                                                                                                                        | 35        |
| II.2.6.5. Aptitude thérapeutique .....                                                                                                                        | 35        |
| II.2.6.6. Aptitude dans le domaine agricole .....                                                                                                             | 36        |
| II.2.6.7. Aptitude dans le domaine cosmétique .....                                                                                                           | 36        |
| <b>II.3. EXPLORATION DU POTENTIEL BIOACTIF DES BACTERIES LACTIQUES ENTRE<br/>PROPRIETES ANTIMICROBIENNES ET FONCTIONS PROBIOTIQUES .....</b>                  | <b>36</b> |

---



---

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.3.1. SUBSTANCES ANTIMICROBIENNES PRODUITES PAR LES BACTERIES LACTIQUES ..... | 36        |
| II.3.1.1. Généralités .....                                                     | 36        |
| II.3.1.2. Substances antimicrobiennes non peptidiques.....                      | 36        |
| II.3.1.2.1. Acides organiques.....                                              | 36        |
| II.3.1.2.2. Acides gras.....                                                    | 37        |
| II.3.1.2.3. Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....         | 37        |
| II.3.1.2.4. Dioxyde de carbone (CO <sub>2</sub> ).....                          | 37        |
| II.3.1.2.5. Diacétyle .....                                                     | 37        |
| II.3.1.3. Substances antimicrobiennes peptidiques.....                          | 37        |
| II.3.1.3.1. Bactériocines.....                                                  | 37        |
| II.3.1.3.2. Classification des bactériocines .....                              | 38        |
| II.3.1.3.3. Les propriétés des bactériocines.....                               | 39        |
| II.3.1.4. Production et conditionnement des bactériocines.....                  | 39        |
| II.3.1.5. Applications des bactériocines.....                                   | 40        |
| II.3.1.6. Facteurs influençant l'action des bactériocines .....                 | 40        |
| II.3.2. LES BACTERIES LACTIQUES PROBIOTIQUES .....                              | 41        |
| II.3.2.1. Les probiotiques.....                                                 | 41        |
| II.3.2.2. Bactéries lactiques et probiotiques : une confusion à clarifier.....  | 41        |
| II.3.2.3. Critères de sélection des souches lactiques probiotiques.....         | 41        |
| II.3.2.4. Mécanismes d'action des probiotiques lactiques .....                  | 42        |
| II.3.3. PRODUCTION DE SUBSTANCES ANTIMICROBIENNES.....                          | 42        |
| II.3.4. STIMULATION DE L'ACTIVITE DU SYSTEME IMMUNITAIRE INTESTINAL.....        | 42        |
| II.3.5. RENFORCEMENT DE L'EFFET BARRIERE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL.....        | 42        |
| II.3.6. APPLICATION DES PROBIOTIQUES .....                                      | 43        |
| II.3.7. EFFET PREVENTIF DES SOUCHES LACTIQUES PROBIOTIQUES .....                | 43        |
| <b><u>PARTIE III. MATERIEL ET METHODES .....</u></b>                            | <b>45</b> |
| <b>III.1. ZONE ET MATÉRIEL D'ÉTUDE.....</b>                                     | <b>46</b> |
| III.1.1. PRESENTATION DE LA ZONE DE PRELEVEMENT .....                           | 46        |
| <b>III.2. MATÉRIEL BIOLOGIQUE .....</b>                                         | <b>46</b> |
| <b>III.3. MÉTHODES D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE .....</b>                          | <b>48</b> |
| III.3.1. ISOLEMENT ET PURIFICATION DES BACTERIES LACTIQUES.....                 | 48        |
| III.3.2. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET CONSERVATION DES ISOLATS.....          | 50        |

---

|                                                                                                    |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| III.3.3. CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE .....                                        | 51               |
| III.3.3.1. Test catalase :.....                                                                    | 51               |
| III.3.3.2. Détermination du type fermentaire :.....                                                | 51               |
| III.3.3.3. Tests de tolérance aux conditions physico-chimiques (Benmehdia et Dahmani, 2019) :..... | 51               |
| III.3.3.3.1. Tolérance au NaCl :.....                                                              | 52               |
| III.3.3.3.2. Tolérance au pH alcalin :.....                                                        | 52               |
| III.3.3.4. Tolérance à la température : .....                                                      | 52               |
| III.3.3.5. Thermorésistance :.....                                                                 | 52               |
| III.3.3.6. Activité métabolique dans le lait (Test de Sherman) :.....                              | 52               |
| <b>III.4. ÉVALUATION DU PROFIL DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES (ANTIBIOGRAMME)</b><br>.....        | <b>52</b>        |
| <b>III.5. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTAGONISTE.....</b>                                            | <b>53</b>        |
| III.5.1. METHODE PAR SUPERPOSITION EN DOUBLE COUCHE (SPOT-ON-LAWN) : .....                         | 53               |
| III.5.2. METHODE DE DIFFUSION EN PUIITS (WELL DIFFUSION ASSAY) :.....                              | 54               |
| <b>III.6. ÉVALUATION DU POTENTIEL PROBIOTIQUE.....</b>                                             | <b>54</b>        |
| III.6.1. RESISTANCE A L'ACIDITE GASTRIQUE SIMULEE : .....                                          | 54               |
| III.6.2. TOLERANCE AUX SELS BILIAIRES : .....                                                      | 55               |
| III.6.3. ACTIVITE HEMOLYTIQUE : .....                                                              | 55               |
| III.6.4. ACTIVITE ANTIOXYDANTE (TEST DE PIEGEAGE DU RADICAL DPPH) : .....                          | 55               |
| <b><u>PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION.....</u></b>                                              | <b><u>56</u></b> |
| <b>IV.1. DENOMBREMENT, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES SOUCHES.....</b>                              | <b>57</b>        |
| <b>IV.2. CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE DES ISOLATS .....</b>                                        | <b>58</b>        |
| IV.2.1. 5.2.1. CARACTÈRES MACROSCOPIQUES.....                                                      | 58               |
| IV.2.2. CARACTÈRES MICROSCOPIQUES.....                                                             | 59               |
| <b>IV.3. PROFILS PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES .....</b>                                          | <b>60</b>        |
| IV.3.1. PROFILS PHÉNOTYPIQUES ET IDENTIFICATION PRÉSOMPTIVE.....                                   | 65               |
| IV.3.2. ANALYSE INTEGREE DES PROFILS PHENOTYPIQUES ET DE L'IDENTIFICATION<br>PRESOMPTIVE.....      | 65               |
| IV.3.2.1. Genre <i>Lactobacillus</i> .....                                                         | 66               |
| IV.3.2.2. Genre <i>Leuconostoc</i> .....                                                           | 66               |
| IV.3.2.3. Genre <i>Pediococcus</i> .....                                                           | 66               |

---

|                                                                                                    |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| IV.3.2.4. Genre <i>Streptococcus</i> .....                                                         | 67               |
| IV.3.2.5. Genre <i>Enterococcus</i> .....                                                          | 67               |
| IV.3.2.6. Genre <i>Lactococcus</i> .....                                                           | 67               |
| <b>IV.4. PROFIL DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES .....</b>                                         | <b>68</b>        |
| IV.4.1. DISTRIBUTION GENERALE DES RESISTANCES .....                                                | 69               |
| IV.4.2. PROFILS DE MULTIRESISTANCE.....                                                            | 70               |
| IV.4.3. ANALYSE PAR GENRE BACTERIEN.....                                                           | 70               |
| IV.4.3.1. Genre <i>Lactobacillus</i> (14 isolats).....                                             | 70               |
| IV.4.3.2. Genre <i>Pediococcus</i> (4 isolats).....                                                | 71               |
| IV.4.3.3. Genre <i>Leuconostoc</i> (1 isolat).....                                                 | 72               |
| IV.4.3.4. Genre <i>Streptococcus</i> (3 isolats).....                                              | 73               |
| IV.4.3.5. Genre <i>Enterococcus</i> (4 isolats).....                                               | 73               |
| IV.4.3.6. Genre <i>Lactococcus</i> (1 isolat).....                                                 | 73               |
| IV.4.4. SECURITE D'USAGE ET APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES .....                                   | 74               |
| <b>IV.5. ACTIVITE ANTAGONISTE PAR LA METHODE DE LA DOUBLE COUCHE (SPOT-ON-LAWN).....</b>           | <b>74</b>        |
| <b>IV.6. ANALYSE APPROFONDIE DE L'ACTIVITE ANTAGONISTE ET DU POTENTIEL DE BIOCONSERVATION.....</b> | <b>75</b>        |
| <b>IV.7. METHODE PAR DIFFUSION DES METABOLITES (WELL DIFFUSION ASSAY).....</b>                     | <b>77</b>        |
| <b>IV.8. ÉVALUATION DU POTENTIEL PROBIOTIQUE <i>IN VITRO</i>.....</b>                              | <b>79</b>        |
| IV.8.1. RESISTANCE AUX CONDITIONS GASTRO-INTESTINALES SIMULEES .....                               | 79               |
| IV.8.1.1. Résistance à un pH acide (pH 2.0) : .....                                                | 79               |
| IV.8.1.1. Tolérance aux sels biliaires (0.5%) : .....                                              | 79               |
| IV.8.1.2. Activité hémolytique .....                                                               | 81               |
| IV.8.1.3. Activité antioxydante .....                                                              | 81               |
| <b><u>PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</u></b>                                           | <b><u>85</u></b> |
| <b><u>PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</u></b>                                         | <b><u>91</u></b> |

---

# PARTIE I. INTRODUCTION

---

## Introduction

La résistance aux antimicrobiens (RAM) représente l'une des menaces les plus critiques pour la santé publique mondiale au XXI<sup>e</sup> siècle. Mettant en péril les fondements de la médecine moderne, ce phénomène est directement responsable de plus de 1,27 million de décès et associé à près de 5 millions de décès chaque année dans le monde (Naghavi et al., 2024). Face à l'érosion de l'efficacité des antibiotiques, la communauté scientifique internationale intensifie la recherche de stratégies alternatives, durables et d'origine naturelle pour maîtriser les infections pathogènes.

Dans cette quête, les aliments fermentés traditionnels, fruits de savoir-faire ancestraux, connaissent un regain d'intérêt scientifique majeur. Historiquement développés pour la conservation des denrées, ces écosystèmes microbiens complexes sont aujourd'hui reconnus comme des réservoirs exceptionnels de microorganismes bénéfiques. Parmi eux, les bactéries lactiques (BAL) occupent une place prépondérante. Elles sont les principaux artisans de la fermentation, un processus de biotransformation qui non seulement préserve l'aliment, mais en améliore également les qualités organoleptiques, nutritionnelles et la sécurité sanitaire (Anumudu et al., 2024).

Le potentiel biotechnologique des BAL s'articule autour de deux axes fonctionnels majeurs. Le premier est leur capacité de bioconservation, exercée par la production d'un arsenal de composés antimicrobiens. L'acide lactique, produit phare de leur métabolisme, abaisse le pH et inhibe la croissance de nombreuses bactéries indésirables. Cet effet est souvent complété par la production de peroxyde d'hydrogène, de diacétyle et, plus spécifiquement, de bactériocines, des peptides antimicrobiens au spectre d'action ciblé (Reid, 2017).

Le second axe, tout aussi crucial, est leur potentiel probiotique. Selon la définition consensuelle de la FAO/OMS, réaffirmée par l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et Prébiotiques (ISAPP), un probiotique est un « microorganisme vivant qui, lorsqu'il est administré en quantités adéquates, confère un bénéfice pour la santé de l'hôte » (Hill et al., 2014). Pour prétendre à ce statut, une souche de BAL doit non seulement être sûre, mais aussi démontrer sa capacité à survivre au transit gastro-intestinal et à exercer des effets bénéfiques

mesurables, tels que l'exclusion compétitive des pathogènes ou la modulation du système immunitaire.

L'Algérie, de par sa riche tradition culinaire, possède un patrimoine de produits fermentés locaux tels que le *Lben* (lait fermenté), la *Klila* (fromage traditionnel) ou encore les légumes lacto-fermentés qui constituent des niches écologiques uniques, encore largement inexplorées (Rezazadeh & Shomaf, 2019). Ces écosystèmes, façonnés par des conditions environnementales et des pratiques artisanales spécifiques, sont susceptibles d'héberger des souches de BAL autochtones dotées de caractéristiques technologiques et fonctionnelles originales et potentiellement supérieures à celles des souches commerciales. La caractérisation de cette biodiversité microbienne locale représente donc une opportunité scientifique et économique de premier plan.

Par conséquent, l'objectif principal de ce travail est d'isoler des bactéries lactiques à partir de trois produits fermentés traditionnels de la région de Saïda (*Lben*, *Klila* et carottes fermentées), de les caractériser et d'évaluer leur double potentiel : d'une part, leur activité antimicrobienne en tant qu'agents de bioconservation et, d'autre part, leurs aptitudes probiotiques en tant que candidats pour des applications en santé humaine. Ce mémoire s'articule en plusieurs parties : une revue de la littérature scientifique, la description du matériel et des méthodes expérimentales, la présentation des résultats obtenus, et enfin, une discussion approfondie de ces résultats, de leurs implications et des perspectives de recherche qu'ils ouvrent.

# **PARTIE II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

---



## **II.1. Aliments fermentés traditionnels : un patrimoine culinaire vivant**

### **II.1.1. Fondements conceptuels de la fermentation alimentaire :**

La fermentation est l'un des procédés les plus anciens de la technologie alimentaire (Gaggia et al., 2011). Ce terme est répandu dans le monde à partir de XVI siècle (Bourat, 1993). Naturelle et écologique, elle permet d'obtenir des produits aux saveurs plus variées et à la valeur nutritionnelle plus élevée (Gaggia et al., 2011). Ce procédé est couronné de succès durant des milliers d'années pour la conservation des aliments (Gaggia et al., 2011).

Au début, la fermentation spontanée était réalisée avec la participation de micro-organismes naturellement présents dans les matières premières ; alors que la microflore impliquée dans les processus de fermentation était alors inconnue (Kolozyn et Dolatowski, 2012).

Avec la progression et l'avancement des recherches menées sous la conduite des chercheurs "Aubert et "Langlois définissant la fermentation comme une transformation d'une substance organique (fruit, légume, céréale, lait, viande) sous l'action de ferments-ou enzymes-produit par des bactéries ou des champignons microscopiques (Ladjel et Slimani, 2011).

Dans ce patrimoine microbien, apparaissent des bactéries lactiques avec leur rôle notoire et bienfaiteur concernant les caractéristiques organoleptiques (saveurs et textures) des aliments dont l'effet additionnel positif en raison de leur interaction étroite avec les communautés bactériennes (microbiotes intestinale) (Martin, 2024).

### **II.1.2. La Fermentation lactique : définition, acteurs microbiens et déroulement du processus**

#### **II.1.2.1. Définition de la fermentation lactique :**

Parmi les différents types de fermentation (fermentation alcoolique, fermentation acétique, fermentation propionique etc) la fermentation lactique est citée. Elle est pratiquée par l'homme depuis l'antiquité ce qui permet la conservation de tous les types de denrées voire les aliments périssables où leurs qualités et leurs constitution majeures soit garanties (perfection de goût, arôme, et

texture) (Ross et al., 2002 ; Rai et Singh, 2020). La fermentation lactique est incontestablement la reine des fermentations.

Bien qu'elle ne soit pas la plus connue, elle est la plus universelle et la plus fréquente (Aubert, 1985).

Toutes les fermentations utilisées pour conserver des aliments, à l'exception des conserves dans le vinaigre, sont à dominante lactique (Aubert, 1985). Cette biotransformation lactique consiste à convertir des glucides en acide lactique sous l'effet des acteurs microbiens lactiques ce qui entraîne la modification biochimique, physicochimique et organoleptique du produit (Boudjema, 2008).

### **II.1.3. Fonctions des bactéries lactiques dans la transformation des aliments**

Les bactéries lactiques (BL), issues de fermentations traditionnelles ou industrielles, jouent un rôle central dans la transformation des denrées alimentaires. Elles contribuent favorablement à la qualité organoleptique des produits finis, notamment en améliorant l'arôme, la texture, et parfois la valeur nutritionnelle.

Parmi les espèces emblématiques, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* illustre parfaitement ce rôle. Cette souche est connue pour sa capacité à produire de l'acétaldéhyde, un composé aromatique volatil conférant un arôme fruité lacté caractéristique au yaourt. Par ailleurs, elle synthétise des exopolysaccharides de type heptasaccharide, qui participent à l'obtention d'une texture onctueuse (Boudjema, 2016).

D'autres genres tels que *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* sécrètent divers métabolites bioactifs – notamment des acides organiques, des bactériocines et de l'acide lipotéichoïque – qui confèrent aux aliments fermentés des propriétés antimicrobiennes et probiotiques. Ces activités sont susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la santé, notamment en réduisant la sévérité des diarrhées infantiles et en limitant les contaminations par des bactéries pathogènes (Boudjema, 2016).

#### **II.1.4. Le processus de fermentation lactique**

La fermentation lactique repose sur le métabolisme des glucides par les bactéries lactiques, aboutissant principalement à la production d'acide lactique, un composé déterminant dans la préservation et la qualité microbiologique des aliments fermentés.

Selon Atlan et al. (2008), ce processus se déroule en trois étapes successives :

- Le transport des sucres à travers la membrane cytoplasmique.
- Le catabolisme intracellulaire des glucides.
- La formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites finaux.

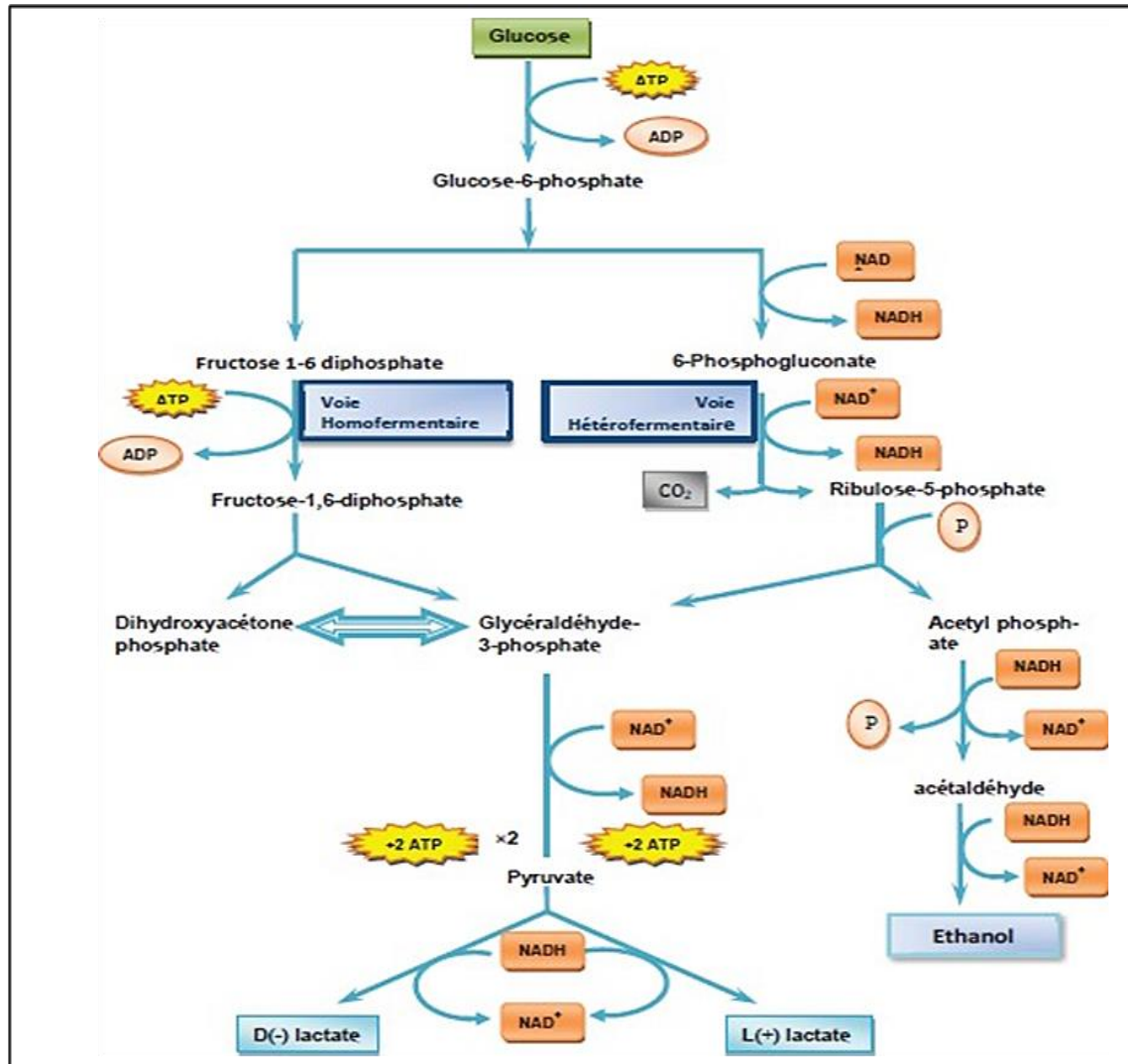
Les bactéries lactiques peuvent être classées selon leur voie fermentaire dominante :

- Homofermentaires : produisent exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose.
- Hétérofermentaires facultatives : génèrent de l'acide lactique, et parfois de l'acide acétique en fonction des conditions environnementales.
- Hétérofermentaires strictes : produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) (Vandamme et al., 1996).

Le schéma ci-après (Figure 1) illustre les principales voies métaboliques impliquées dans les différents types de fermentation lactique. Le Tableau 1 présente quant à lui un comparatif des caractéristiques métaboliques de plusieurs espèces lactiques d'intérêt.

#### **II.1.5. Les produits fermentés traditionnels en Algérie**

L'Algérie, en raison de sa position géographique stratégique et de la richesse de son patrimoine agroalimentaire, possède une diversité remarquable de produits fermentés, issus aussi bien de matières premières d'origine animale que végétale. Ces aliments traditionnels incarnent un savoir-faire ancestral, transmis oralement et perpétué à travers les générations, constituant un héritage culturel et culinaire unique (Hayaloglu et al., 2002).



**Figure 1 :** Types de fermentation lactique : (a) voie homofermentaire ; (b) voie hétérofermentaire (adapté de Prescott et al., 2010).

**Tableau 1 :** Caractéristiques métaboliques et physiologiques de quelques espèces de bactéries lactiques (Adapté de Béale et Helinck, 2019)

| Espèce bactérienne              | Type de métabolisme          | Configuration de lactate (isomère)                | Température optimale de croissance (°C) |
|---------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | Homofermentaire              | D (-)                                             | 40–46                                   |
| <i>Lactococcus lactis</i>       | Homofermentaire              | L (+)                                             | 27–32                                   |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>  | Hétérofermentaire facultatif | L (+)                                             | 37                                      |
| <i>Leuconostoc</i> spp.         | Hétérofermentaire strict     | D (-)                                             | 18–30                                   |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i>  | Homofermentaire              | Principalement L (+), parfois D (-) ou un mélange | 30–40                                   |

Dans l'ouest algérien, notamment dans la région de Saïda, la fermentation des denrées alimentaires est une pratique encore vivace, que ce soit au sein des foyers ruraux, urbains ou au sein de micro-entreprises locales. La gamme de produits fermentés y est vaste, incluant :

Des produits laitiers (lait caillé, leben, raïb) ;

Des produits carnés (viandes salées, séchées ou fermentées) ;

Des fruits et légumes fermentés (olives, carottes, navets, etc.) ;

Ainsi que des céréales fermentées (bouillies, galettes traditionnelles, etc.) (Boussekine et al., 2020).

#### **II.1.6. Classification des produits fermentés traditionnels**

La classification des aliments fermentés peut être établie selon deux critères majeurs :

1. La nature des micro-organismes dominants responsables de la fermentation, en particulier les bactéries lactiques.
2. L'origine de la matière première, qui distingue :
  - Les produits fermentés d'origine animale (produits laitiers, viandes) ;
  - Des produits fermentés d'origine végétale (céréales, légumes, fruits) (Ladjet et Slimani, 2011).

##### **II.1.6.1. Les produits laitiers fermentés**

En Algérie, la production de produits laitiers fermentés repose sur un savoir-faire ancestral transmis au fil des générations. Elle s'effectue de manière artisanale, principalement dans les zones rurales, et vise à bio-conserver le lait afin de prolonger sa durée de vie pour une utilisation ultérieure (Dib, 2020).

Le principe fondamental de cette fermentation repose sur l'action des bactéries lactiques, qui métabolisent le lactose en acide lactique. Ce processus entraîne une coagulation du lait, ainsi qu'une acidification du produit fini, lui conférant sa saveur typique. Cette acidification agit également comme barrière microbiologique naturelle, limitant la prolifération des micro-organismes indésirables.

Les produits laitiers fermentés algériens se répartissent principalement en trois grandes catégories :

1. **Les boissons fermentées** : telles que le leben (lait fermenté écrémé) et le raïb.
2. **Les dérivés laitiers gras** : comme le beurre traditionnel (zebda beldia) ou la crème fermentée.
3. **Les fromages artisanaux** : à pâte fraîche ou légèrement affinée, fabriqués sans présure industrielle.



**Figure 2:** Principales catégories de produits laitiers fermentés traditionnels algériens (Dib, 2020).

#### II.1.6.2. Les boissons lactées fermentées

Les boissons lactées fermentées sont légèrement effervescentes grâce à l'action synergique des bactéries lactiques et, dans une moindre mesure, des levures. Riches en probiotiques, en vitamines hydrosolubles et naturellement peu sucrées, elles exercent un effet bénéfique sur l'immunité (Grasset, 2019).

##### II.1.6.2.1. Le leben (*l'ben*)

Le leben constitue l'un des fleurons de la transformation artisanale du lait en Algérie et accompagne souvent des plats traditionnels tels que le couscous (Dib, 2020). Sa préparation comporte deux phases (Figure 3) :

##### Fermentation spontanée

- Le lait cru repose à température ambiante ( $\approx 20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durant 24–48 h.

- Les flores lactiques autochtones transforment le lactose en acide lactique, provoquant la coagulation.

### **Barattage**

- Le caillé est transvasé dans une chekkoua (outre en peau de chèvre).
- Des mouvements rythmés de va-et-vient, pendant 30–40 min, séparent la phase grasse (grains de beurre) du lactosérum acide, qui constitue le leben.
- Dans les zones rurales de Saïda, l'adjonction facultative d' $\approx 10\%$  d'eau facilite la formation des grains de beurre (Ouadghiri, 2009 ; Benkerroum & Tamime, 2004).



**Figure 3.** Étapes de barattage traditionnel du leben dans une chekkoua (photographie originale).

Le leben final, affichant un  $\text{pH} \sim 4,0$ , présente une saveur acidulée, une légère pétillance et une forte teneur en bactéries lactiques viables, ce qui en fait un aliment fonctionnel à haut potentiel probiotique.

#### **II.1.6.2.2. Le Rayeb (*Raïb*)**

Le Rayeb, également orthographié Raïb, est un lait caillé traditionnel obtenu par acidification spontanée du lait cru, laissé à température ambiante pendant 24 à 72 heures, en fonction des conditions climatiques, notamment de la saison

(Mechai et al., 2014 ; Bendimerad, 2013). Ce produit est soit consommé tel quel, soit utilisé comme ingrédient de base pour la préparation d'autres dérivés laitiers (Figure 4).

La fermentation du Rayeb est assurée principalement par une flore lactique mésophile autochtone, principalement composée de *Leuconostoc* spp. et de *Lactococcus* spp., naturellement présentes dans le lait cru non traité thermiquement.

Dans les zones urbaines et dans les procédés industriels modernes, ce processus lent est de plus en plus remplacé par une fermentation contrôlée, accélérée à l'aide de cultures starter composées de bactéries lactiques thermophiles ou mésophiles sélectionnées, permettant une standardisation de la qualité et une meilleure maîtrise des paramètres microbiologiques (Guizani et al., 2001)



**Figure 3:** Présentation typique du Rayeb artisanal dans un récipient en argile (photographie documentaire).

### **II.1.6.3. Les dérivés laitiers gras**

Les dérivés laitiers gras constituent un pan essentiel de la valorisation du lait en Algérie. Ils sont élaborés à partir de la crème extraite du lait cru ou fermenté, puis transformés par barattage, chauffage ou clarification selon des procédés artisanaux hérités des communautés rurales.



### II.1.6.3.1. Crème et beurre traditionnels (*Zebda, Dhen*)

Le beurre (*Zebda* ou *Dhen*) est une émulsion eau dans huile obtenue par barattage de la crème phase riche en lipides séparée du lait (Luquet & Corrieu, 2005).

Après refroidissement, on obtient un produit à 82 % de matière grasse (Figure 4). Outre ses qualités organoleptiques, le beurre artisanal est une source concentrée de vitamines liposolubles (A, D, E, K).



**Figure 4:** Zebda traditionnel mis en motte dans un récipient en terre cuite (Dib, 2021)

### II.1.6.3.2. Shmen (*Semma*) et Rob

Le Shmen (ou *Semma*) est un beurre clarifié obtenu après ébullition lente du beurre frais. Dans l'Ouest algérien, on ajoute traditionnellement des dattes concassées durant la clarification; celles-ci adsorbent les impuretés et aromatisent légèrement le produit.

La phase huileuse surnageante est écumée: on parle alors de Rob, une graisse pure et aromatique, consommée comme corps gras de cuisson ou accompagnement de boissons chaudes (Benkerroum, 2013).

En raison de sa faible teneur en eau, le Shmen présente une stabilité accrue à l'oxydation et une longue conservation à température ambiante (Figure 5).



**Figure 5:** Étapes de clarification du beurre en Shmen puis Rob (photographie de terrain).

#### **II.1.6.4. Fromages traditionnels algériens**

Selon le Codex Alimentarius (norme FAO/OMS), le fromage est un produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, obtenu par concentration de la caséine, le rapport lactosérum/caséine ne dépassant pas celui du lait (Belbeldi, 2013). Les fromages frais algériens résultent d'un égouttage lent après fermentation lactique de laits crus propres à la consommation humaine (Mehnoune & Ferhoul, 2015).

Parmi les variétés artisanales les plus emblématiques, on distingue :

##### **II.1.6.4.1. Aoules**

Ce fromage traditionnel est élaboré de manière artisanale, essentiellement à partir de lait cru de chèvre ou de brebis. Bien qu'il soit répandu dans les régions du centre et du sud algérien, sa production demeure marginale dans l'ouest. Sa fabrication repose sur une coagulation spontanée intense, suivie d'un égouttage réalisé dans la paille, et d'un séchage au soleil. Le fromage obtenu, à pâte dure, peut atteindre jusqu'à 92 % de matière sèche. Du point de vue microbiologique, Aoules présente un intérêt particulier en raison de sa fermentation spontanée sans ajout de cultures exogènes, dominée par des bactéries lactiques appartenant aux genres *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus* (Abdelaziz et Aït Kaci, 1992).

#### II.1.6.4.2. Klila

« Klila » est un fromage traditionnel très populaire dans la région de Saïda, en particulier dans les zones rurales (voir Figure 07). Il est fabriqué à partir de lait cru de vache ou de brebis, non pasteurisé. Le lait est conservé dans des pots propres à température ambiante pendant environ deux jours, ce qui provoque une acidification spontanée. Après cette phase, le lait fermenté est baratté pour extraire le leben. Ce dernier est ensuite chauffé à une température comprise entre 40 et 50 °C pendant environ 15 minutes jusqu'à obtention d'une coagulation. Le fromage est ensuite récupéré par filtration à l'aide d'un tissu de mousseline (*chèche*). Il peut être consommé sous forme fraîche ou séché au soleil pour assurer une conservation prolongée (Mhamedi et al., 2015 ; Mechai et al., 2014).



**Figure 6:** Fromage Klila mis à sécher sur claies en osier (cliché local)

#### II.1.6.4.3. Jben

Le fromage traditionnel connu sous le nom de « Jben » est préparé à partir de lait cru de brebis, de chèvre ou de vache, principalement dans les zones rurales de l'ouest algérien. Le lait est d'abord soumis à une acidification spontanée, puis coagulé à l'aide d'enzymes extraites de la caillette de veau. Une fois le lait tiédi, un fragment de caillette est incorporé, déclenchant la coagulation. Le caillé est ensuite égoutté, puis consommé tel quel ou agrémenté de sel, d'épices (ail, poivre, etc.) ou de plantes aromatiques selon les préférences régionales (Lahsaoui, 2009). (Voir Figure 07)



**Figure 7:** Moules de Jben frais, aromatisés au poivre noir et à la sarriette.

#### II.1.6.5. Les produits carnés fermentés

La fermentation lactique spontanée ne se limite pas aux produits laitiers ; elle s'applique également à certains aliments d'origine animale, notamment les viandes. Cette transformation repose sur l'activité de la flore microbienne propre à la viande, principalement des bactéries lactiques et des staphylocoques, et constitue une méthode biologique à faible consommation d'énergie (Zdolec, 2017). Les produits carnés fermentés, élaborés à partir de viande maigre et de gras, développent ainsi des qualités organoleptiques spécifiques et une stabilité microbiologique accrue grâce à l'implantation de ces ferments typiques essentiellement des espèces du genre *Lactobacillus* (*L. sakei*, *L. plantarum*, *L. curvatus*) et des staphylocoques à coagulase négative. L'amélioration de ces cultures starters demeure un axe majeur de la recherche technologique, l'acidification contrôlée jouant un rôle central dans la saveur et l'arôme des viandes transformées, tout en les rendant plus digestes que la viande fraîche (Labadie, 2006 ; Ho, 2008).

Parmi les préparations traditionnelles algériennes, **Boubtina** ou **Osbane** occupe une place privilégiée. Typiquement consommé après la fête religieuse de l'Aïd, ce produit est confectionné à partir de morceaux d'agneau ou de bœuf finement découpés puis assaisonnés de sel, de cumin et de piment rouge. Le mélange est inséré progressivement dans le boyau soigneusement nettoyé et attaché aux extrémités, avant d'être exposé à l'air libre pour un séchage et une fermentation lente qui durent plusieurs jours (Benkerroum *et al.*, 2014 ; Daoudi

*et al.*, 2006). Le résultat est un embut saisonnier, parfumé et de conservation prolongée (Figure 08).



**Figure 8:** Aspect de la *Boubnita* (ou *Osbane*) – Produit carné traditionnel d’Afrique du Nord classé parmi les produits carnés fermentés partiellement séchés ou séchés (catégorie III) selon la classification de Gagaoua et Boudechicha (2018).

Également répandu, **Khliia Ezir** est une méthode de conservation de la viande utilisée lorsque l’abondance de viande nécessite un stockage longue durée. Après désossage, la viande maigre est marinée dans un mélange d’ail, de carvi et de sel ( $\approx 9\%$  du poids de la viande) pendant sept jours au frais. Elle est ensuite cuite dans l’eau à environ  $80^\circ\text{C}$ , puis immergée dans de la graisse bovine fondue et de l’huile d’olive, ce qui la protège de l’oxydation et du rancissement. Bien que Khliia Ezir ne soit pas à proprement parler un produit fermenté au sens microbiologique, une fermentation légère et spontanée peut se manifester durant le séchage, favorisant le développement superficiel de bactéries lactiques telles que *Lactobacillus sakei* ou *Pediococcus acidilactici* lorsque les conditions le permettent (Boudechicha *et al.*, 2015). Cette phase confère au produit ses notes aromatiques caractéristiques et améliore sa digestibilité (Figure 9).





**Figure 9:** Présentation traditionnelle du Khliaa Ezir (source : [www.sesamedessaveurs.over-blog.com](http://www.sesamedessaveurs.over-blog.com))

#### II.1.6.6. Les aliments fermentés d'origine végétale

Les aliments d'origine végétale occupent une place prépondérante dans l'alimentation humaine, en raison de leur richesse en nutriments essentiels tels que les minéraux, les vitamines, les fibres alimentaires et divers composés bioactifs, notamment les phénols (Bahri *et al.*, 2023). Les surfaces des fruits et légumes frais hébergent naturellement une diversité de micro-organismes, comprenant aussi bien des bactéries Gram-positives et Gram-négatives que des levures et des moisissures.

Parmi cette flore microbienne complexe, les bactéries lactiques occupent une position minoritaire, mais essentielle. Lorsqu'elles se trouvent dans des conditions favorables à leur développement notamment la présence d'eau, de nutriments et une température adéquate ces bactéries prolifèrent, entraînant une acidification rapide du milieu. Cette acidification inhibe le développement de micro-organismes indésirables, contribuant ainsi à une meilleure conservation des denrées. En dépit de leur proportion modeste dans la microflore initiale, les bactéries lactiques se révèlent être des candidates de choix pour la biopréservation des végétaux fermentés, en raison de leur capacité à produire divers métabolites antimicrobiens. Les légumes, fruits confits, et céréales fermentées illustrent parfaitement ce potentiel, et seront tour à tour abordés ci-après.

### II.1.6.7. Les légumes lactofermentés

Les légumineuses représentent une source essentielle de nutrition à l'échelle mondiale, et de nombreux aliments fermentés à base de légumineuses sont particulièrement répandus en Afrique, y compris en Algérie (Blandino et al., 2003). Toutefois, la fermentation lactique s'applique aussi largement à une grande variété de légumes, tels que les carottes, navets, poivrons, concombres, haricots verts, entre autres (Bourgeois et Larpent, 1996). Ce procédé de conservation non thermique présente l'avantage de préserver, voire d'enrichir, la valeur nutritionnelle des aliments végétaux, et mérite de ce fait une valorisation accrue (Blandino et al., 2003 ; Guse et al., 2023).



**Figure 10:** Les légumes lactofermentés (source : [www.bodytosoul.eu](http://www.bodytosoul.eu))

Pour qu'une fermentation lactique réussie puisse avoir lieu, certaines conditions doivent impérativement être réunies. D'abord, l'environnement doit être anaérobie, ce qui implique l'exclusion de l'oxygène. Ensuite, les légumes doivent fournir un substrat nutritif riche en sucres fermentescibles, en vitamines et en sels minéraux. L'ajout d'une saumure — une solution d'eau salée — est également nécessaire, non seulement pour favoriser la fermentation mais aussi pour inhiber les flores indésirables. En début de fermentation, une température comprise entre 18 et 22 °C est généralement requise (Kiczorowski *et al.*, 2022).

Le processus de fermentation se déroule typiquement en trois phases successives. La phase de pré-fermentation, qui dure entre deux et trois jours, est caractérisée par la prolifération de diverses espèces microbiennes, entraînant un début de décomposition et un ramollissement des tissus végétaux. Vient ensuite la

phase de fermentation proprement dite, durant laquelle les bactéries lactiques s'imposent et dominent la flore microbienne. Enfin, la phase de stabilisation ou de stockage survient lorsque le pH chute en dessous de 4. À ce stade, les bactéries lactiques assurent la suppression des germes responsables d'altérations, garantissant ainsi la stabilité du produit fini.

Grâce à cette acidification naturelle, les légumes ainsi fermentés peuvent être conservés pendant une durée pouvant aller jusqu'à un an, même si la température de stockage dépasse les 10 °C. Cette méthode de conservation, en plus d'être économique et indépendante de tout apport énergétique, confère aux aliments fermentés des bénéfices nutritionnels notables. En effet, les bactéries lactiques impliquées dans le processus synthétisent plusieurs vitamines, notamment celles du groupe B, et l'acide lactique qu'elles produisent joue un rôle bénéfique sur la flore intestinale et la digestion (Lucile *et al.*, 2016 ; Ghatani *et al.*, 2022 ; Kiczorowski *et al.*, 2022 ; Iga-Buitron *et al.*, 2023 ; Guse *et al.*, 2023).

#### **II.1.6.8. Les fruits fermentés**

La fermentation des fruits est traditionnellement associée à la production de boissons fermentées telles que le cidre ou le poiré, plutôt qu'à des aliments solides. En effet, lors de la fermentation des fruits, les levures tendent à dominer rapidement la flore microbienne, reléguant les bactéries lactiques au second plan et conduisant essentiellement à une fermentation alcoolique (Nout, 2009). Toutefois, malgré cette prédominance, certaines variétés de fruits peuvent également faire l'objet d'une fermentation lactique.

Parmi les exemples de fruits lactofermentés, on retrouve notamment les pommes, les poivrons, les prunes ainsi que les olives (Nout, 2009 ; Knockaert *et al.*, 2012 ; Manas *et al.*, 2014 ; James *et al.*, 2019). En Algérie, bien que la pratique ne soit pas encore répandue à grande échelle, plusieurs cas de fermentation ou de préparation apparentée peuvent être observés dans le contexte domestique ou artisanal. À titre d'exemple, les citrons confits, traditionnellement conservés en saumure pendant plusieurs semaines, représentent une forme typique de lactofermentation fruitière (source : [www.nicrunicuit.com](http://www.nicrunicuit.com)). (Figure 11)



D'autres fruits indigènes, bien que rarement soumis à des processus fermentaires dans le contexte algérien, présentent un potentiel d'exploitation : le figuier de Barbarie, qui pousse abondamment dans les régions de Saïda et du sud-ouest du pays, la caroube, les figues et les dattes, ainsi que les olives vertes ou noires, souvent préparées selon des procédés proches de la fermentation lactique.



**Figure 11:** Citrons lactofermentés un exemple de fruits confits à base de saumure

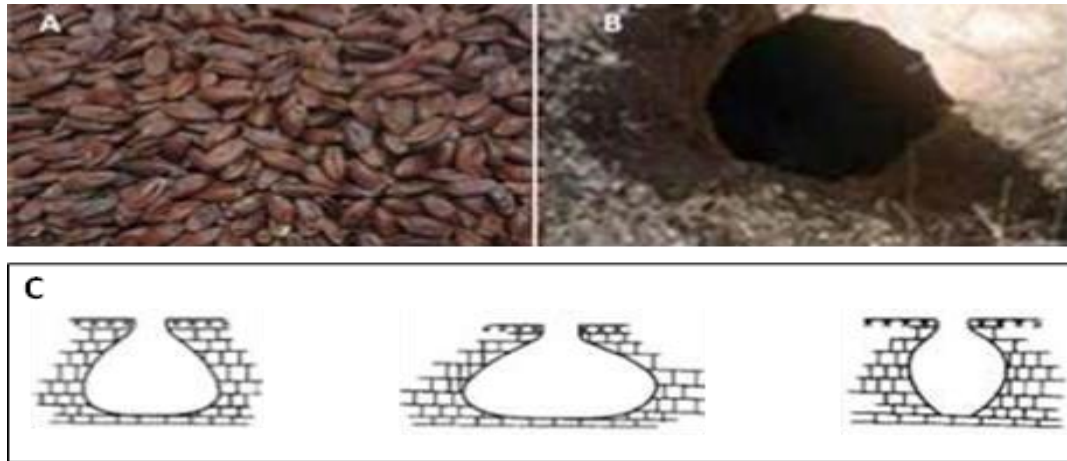
#### **II.1.6.9. Les céréales fermentées**

Les céréales fermentées sont obtenues à partir de grains tels que le maïs, le blé ou le riz ayant subi un processus fermentaire. Il s'agit d'une pratique ancestrale solidement enracinée dans de nombreuses cultures africaines, où elle joue un rôle fondamental dans l'alimentation quotidienne (Bahri *et al.*, 2023).

En Algérie, un exemple emblématique est celui de la fermentation du blé dur (*Triticum durum*), qui s'effectue dans des silos souterrains traditionnels appelés *Matmor*. Le blé y est entreposé durant une période pouvant aller de 4 à 9 années. Cette méthode ancienne, principalement adoptée par les agriculteurs des zones rurales, tend malheureusement à disparaître sous l'effet conjugué de l'exode rural et des contraintes pratiques liées au vidage des silos (Figure 12).

Le blé ainsi fermenté est valorisé dans la préparation de plats traditionnels tels que le couscous noir, localement connu sous le nom de *Lemzeit* ou *El Hammoum* littéralement « cendre noire » très apprécié pour ses qualités organoleptiques singulières et ses effets bénéfiques sur la santé. D'un point de vue microbiologique, cette fermentation met en œuvre plusieurs espèces de bactéries lactiques, parmi lesquelles *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus*

*acidophilus*, *Pediococcus pentosaceus* et *Weissella cibaria* (Merabti *et al.*, 2015 ; Mokhtari *et al.*, 2020).



**Figure 12 :** Silos traditionnels « Matmor » utilisés pour la fermentation du blé en milieu rural algérien

#### **II.1.7. Approche comparative des méthodes traditionnelles et synthétiques dans l'étude des bactéries lactiques issues des fermentations alimentaires**

La fermentation des aliments peut être conduite selon deux approches technologiques bien distinctes : une méthode traditionnelle ou artisanale, et une méthode synthétique ou industrielle. Chacune de ces pratiques présente des spécificités techniques, des exigences différentes en termes de maîtrise des paramètres physicochimiques, ainsi qu'un impact variable sur la diversité et la stabilité des bactéries lactiques impliquées.

##### **II.1.7.1. Procédé de fabrication des ferments lactiques**

Les ferments ou levains lactiques sont définis comme des préparations constituées de cultures pures ou de mélanges de bactéries lactiques soigneusement sélectionnées. Celles-ci sont incorporées à une matière première afin de déclencher, accélérer ou orienter un processus de fermentation contrôlée, menant à la transformation du substrat alimentaire en un produit fermenté (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Mayra-Mäkinen et Bigret, 2004).

Dans le cadre de la pratique industrielle, les fermentations lactiques sont généralement conduites à partir de cultures pures, en mode discontinu ou continu, avec ou sans recyclage cellulaire. Ces processus se déroulent sous des conditions

rigoureusement maîtrisées : température et pH strictement régulés, atmosphère anaérobie contrôlée, et stabilisation des souches bactériennes par congélation à -45 °C ou lyophilisation, suivie d'une déshydratation à 4 °C. Ces techniques visent à garantir une concentration élevée de bactéries viables et à forte activité métabolique. Bien que leur mise en œuvre nécessite des moyens technologiques considérables, certaines unités de production fromagère continuent à maintenir des prés-cultures locales malgré les difficultés logistiques et les exigences élevées en matière d'hygiène (Corrieu et Luquet, 2008).

À l'inverse, dans la pratique artisanale, les ferments lactiques sont historiquement élaborés au sein même des ateliers ou exploitations dans lesquels ils sont destinés à être utilisés. Ces cultures sont conservées sur des milieux solides ou liquides, soit à +4 °C, soit sous forme congelée. Avant leur emploi, ces ferments sont propagés en plusieurs étapes successives sur milieux nutritifs, permettant ainsi d'atteindre le volume requis pour l'ensemencement des cuves ou contenants de fermentation (Corrieu et Luquet, 2008). Ce processus empirique, bien que moins standardisé, favorise souvent une plus grande diversité microbienne et une typicité sensorielle des produits finis.

Afin de mettre en lumière les différences majeures entre ces deux types de procédés, le tableau 2 ci-après propose une comparaison synthétique entre les produits fermentés issus des approches traditionnelles et ceux issus des méthodes industrielles, en mettant en évidence leurs avantages et limites respectifs.

#### **II.1.7.2. Innovation et valorisation des produits fermentés traditionnels en Algérie tout en sauvegardant les savoir-faire artisanaux**

En Algérie, la fermentation lactique constitue la base de nombreux produits alimentaires traditionnels, qu'ils soient d'origine laitière (tels que le Lben, le Raïb, le Jben, le Smen ou encore la Klila) ou végétale (citrons confits, caroube, figue de barbarie, navets, carottes, etc.). Ces denrées, au-delà de leur intérêt nutritionnel, incarnent un patrimoine artisanal ancestral transmis de génération en génération. L'enjeu actuel réside dans l'intégration de l'innovation scientifique à ces pratiques locales afin de renforcer leur sécurité, leur stabilité, et leur attractivité commerciale, tout en préservant leur authenticité culturelle.

**Tableau 2** : Comparaison entre les produits fermentés traditionnels et les produits fermentés industriels (synthétiques) selon leurs caractéristiques technologiques, microbiologiques et organoleptiques.

| Critères                             | Produits fermentés traditionnels                                                                                                                                                                                  | Produits fermentés industriels (synthétiques)                                                                                                             |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Exemples en Algérie</b>           | - Laitiers : Lben, Klila, Jben, Raïb, Zebda<br>- Légumes lactofermentés : carottes, concombres, choux, betteraves                                                                                                 | - Laitiers : fromages fondus industriels (ex. Cheezy), Lben industriel - Légumes fermentés en usine avec cultures starters et saumures standardisées      |
| <b>Méthode de fabrication</b>        | Fermentation spontanée sans ajout de cultures sélectionnées ; procédés artisanaux, souvent à base de lait cru non pasteurisé (Hadjadji & Berredjem, 2015 ; Fatmi & Oulad Niami, 2021)                             | Utilisation de cultures microbiennes pures, lait pasteurisé ; procédés contrôlés respectant les normes industrielles d'hygiène (Ould Bey & Dahmane, 2019) |
| <b>Qualité microbiologique</b>       | Présence d'une flore indigène diverse, incluant des bactéries lactiques bénéfiques mais aussi des germes indicateurs (ex. coliformes thermotolérants) ; absence générale de pathogènes (Ould Bey & Dahmane, 2019) | Faible charge microbienne, absence quasi-totale de pathogènes grâce aux normes microbiologiques strictes (Ould Bey & Dahmane, 2019)                       |
| <b>Sécurité sanitaire</b>            | Risques accrus de contamination fécale ou environnementale, fortement dépendants des conditions d'hygiène locale (Hadjadji & Berredjem, 2015)                                                                     | Sécurité renforcée grâce à des traitements thermiques (ex. pasteurisation) et contrôles rigoureux (Ould Bey & Dahmane, 2019)                              |
| <b>Valeur nutritionnelle</b>         | Riche en flore lactique naturelle, arômes typiques, texture authentique, forte valeur culturelle et nutritionnelle (Fatmi & Oulad Niami, 2021)                                                                    | Nutrition standardisée, moins de diversité microbienne, profil sensoriel plus neutre (Ould Bey & Dahmane, 2019 ; Hadjadji & Berredjem, 2015)              |
| <b>Additifs chimiques</b>            | Généralement absents ou très limités, fermentation naturelle sans ajouts (Fatmi & Oulad Niami, 2021)                                                                                                              | Présence fréquente d'additifs : conservateurs (nitrites, sulfites), colorants, épaississants, arômes artificiels, stabilisants (Chancerelle, 2019)        |
| <b>Effets sur la santé digestive</b> | Positifs grâce à la présence naturelle de probiotiques et composés bioactifs                                                                                                                                      | Certains additifs peuvent perturber le microbiote intestinal et favoriser une inflammation locale (Chancerelle, 2019)                                     |
| <b>Durée de conservation</b>         | Conservation limitée via acidification naturelle ; durée variable selon le produit et les conditions (Hadjadji & Berredjem, 2015)                                                                                 | Durée de conservation prolongée grâce à la pasteurisation, l'emballage et les additifs (Ould Bey & Dahmane, 2019)                                         |
| <b>Coût de production</b>            | Faible à modéré, basé sur des ressources locales, équipements simples et savoir-faire familial (Kellouche & Miloudi, 2022)                                                                                        | Élevé, nécessitant investissements lourds, équipements sophistiqués, chaîne logistique industrielle (Kellouche & Miloudi, 2022)                           |

### II.1.7.3. Innovation dans la fermentation : concilier tradition et modernisation

L'innovation, dans le contexte des fermentations alimentaires, ne doit pas être perçue comme une rupture avec le passé, mais plutôt comme une adaptation raisonnée, conciliant savoirs empiriques et progrès technologiques. Une approche

intégrative permet de développer des produits fermentés à haute valeur ajoutée, à la fois sûrs sur le plan microbiologique et fidèles à l'héritage sensoriel et culturel algérien.

Ainsi, des initiatives récentes ont exploré l'utilisation de souches autochtones de bactéries lactiques, isolées de laits crus collectés dans les régions montagneuses de Guelma et Souk-Ahras. Ces souches, caractérisées pour leurs propriétés probiotiques et leur capacité à produire des arômes typiques, sont testées dans la fabrication de ferments indigènes susceptibles de remplacer les ferments commerciaux, notamment en cas de pénurie ou de défaillance (Cheriet et al., 2022).

Par ailleurs, une fermentation contrôlée, inspirée des processus spontanés traditionnels, est mise en œuvre à échelle réduite, avec une surveillance rigoureuse du pH et de la température. Cette stratégie permet d'assurer une reproductibilité du procédé sans altérer la spécificité microbiologique des produits finis.

L'innovation porte également sur les techniques de conditionnement. Des études menées en Algérie mettent en évidence le potentiel des films comestibles à base de protéines de lactosérum, capables de former des barrières efficaces à l'oxygène et à l'humidité. Ces emballages innovants peuvent être enrichis en agents antimicrobiens naturels, prolongeant ainsi la durée de vie des produits fermentés sans recours à des additifs chimiques (Meflah et al., 2022).

#### **II.1.7.4. Valorisation des produits fermentés traditionnels**

La valorisation des produits fermentés traditionnels s'inscrit dans une logique de développement durable, en tant que biotechnologie de première génération, fondée sur la fermentation domestique de ressources végétales et animales locales (Thonart et al., 2007). Elle constitue non seulement une stratégie de préservation du patrimoine culinaire, mais également un levier économique prometteur, notamment pour les zones rurales.

Des initiatives de recherche appliquée ont vu le jour dans différentes régions du pays. À l'université de Sétif, des travaux ont été réalisés sur le jus du figuier de barbarie, étudié comme substrat potentiel pour la production d'acide lactique par des souches du genre *Lactococcus* (Tabet & Riazi, 2013). De même,

dans la wilaya de Mostaganem, les gousses de caroubier ont fait l'objet d'études approfondies pour leur effet prébiotique sur la croissance de souches probiotiques, avec en parallèle une activité antibactérienne contre des pathogènes alimentaires (Moussaoui & Riazi, 2013).

Enfin, la mise en place de mécanismes de labellisation, tels que les indications géographiques protégées (IGP), associée à une commercialisation ciblée vers des marchés de niche (produits fonctionnels, alimentation santé), représente une voie stratégique pour la valorisation économique de ces produits. Cela permettrait, à la fois, de dynamiser les territoires ruraux, de préserver la diversité microbienne endogène, et de répondre à une demande croissante pour des aliments sains, naturels et ancrés dans les traditions culturelles locales.

## **II.2. Généralité sur les bactéries lactiques**

### **II.2.1. Historique**

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ancestraux, identifiés dans des sédiments remontant à 2,75 milliards d'années, antérieurs à l'apparition de l'oxygène atmosphérique, ce qui expliquerait leur nature anaérobie (Quiberoni et al., 2001). Elles sont antérieures aux cyanobactéries photosynthétiques (Quiberoni et al., 2001 ; Drider et Prévost, 2009). Depuis environ 4000 ans, elles sont utilisées empiriquement dans la fermentation des aliments, bien avant que leurs mécanismes scientifiques ne soient compris, afin d'améliorer la conservation et la qualité organoleptique des produits (Sallofe, 1994).

Ce n'est qu'à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, à l'ère des grandes avancées microbiologiques, qu'un genre de streptocoques fut isolé à partir du lait (Poulain, 1994 ; Metchnikoff, 1907 ; Sandine et al., 1972 ; Carr et al., 2002). Le XX<sup>e</sup> siècle vit l'essor des cultures bactériennes contrôlées et l'essor de leur utilisation sous forme de ferments (Drider et Prévost, 2009). Le premier isolat en culture pure, nommé *Bacterium lactis* – vraisemblablement *Lactococcus lactis* – fut obtenu par Lister en 1873.

Historiquement, les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ont été les premiers décrits. Les genres actuellement reconnus comme étant technologiquement pertinents incluent : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus et Weissella (Guiraud, 2003 ; Limsowtin et al., 2004).

### **II.2.2. Définition et caractères généraux**

Les bactéries lactiques sont des procaryotes organotrophes regroupant une diversité de cocci et de bacilles, à l'exception du genre *Weissella*, qui combine les deux morphologies (Badis et al., 2005 ; Ho et al., 2007). Elles sont Gram positif, immobiles, asporulées, catalase et oxydase négatives, bien que certaines souches développent une activité catalasique sur milieux enrichis en hème. Leur métabolisme est strictement fermentaire, avec production d'acide lactique à partir de différents sucres (glucose, fructose, galactose, saccharose, lactose), selon trois voies principales : homofermentaire, hétérofermentaire facultative et hétérofermentaire stricte (Hassaine, 2013 ; Kandler et Weiss, 1986).

Sur le plan génétique, leur ADN possède une teneur en G+C variant de 30 à 60 %, pour une taille génomique comprise entre 1,8 et 3,3 Mbp (Makhloufi, 2011). Nutritionnellement exigeantes, elles nécessitent des sources exogènes de vitamines (B), d'acides aminés et de glucides. Bien qu'en majorité considérées comme non pathogènes (organismes GRAS : *Generally Regarded As Safe*), certaines espèces de *Streptococcus* et *Enterococcus* sont reconnues comme pathogènes opportunistes (BOUDERSA et NEKKAA, 2017 ; Makhloufi, 2011).

Leur profil biochimique est caractérisé par une absence de liquéfaction de la gélatine, d'indole et d'H<sub>2</sub>S, et une incapacité à fermenter le glycérol (Dellaglio et al., 1994 ; Zhang et Cai, 2014 ; De Roissart, 1986).

### **II.2.3. Habitat et origine**

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, occupant une variété d'habitats naturels. Elles sont présentes dans les produits laitiers, les viandes, les poissons, les fruits, les légumes et les céréales (Mechai, 2009), ainsi que dans les niches associées aux hôtes humains et animaux. Leur rôle dans les fermentations peut être spontané ou symbiotique avec des levures, notamment pour la production de vin, bière ou pain (Menad, 2018 ; Boughra, 2021).

Elles colonisent aussi la cavité buccale, les systèmes digestif et respiratoire, et l'appareil génital féminin, notamment avec des espèces du genre *Lactobacillus*.

Ces dernières contribuent à l'acidification du milieu vaginal, inhibant ainsi la prolifération de pathogènes tels que *Candida albicans* ou *Trichomonas vaginalis* (Boudersa et Nekkaa, 2017 ; Makhloufi, 2012).

#### **II.2.4. Taxonomie et classification**

Décrites initialement par Orla-Jensen en 1919, les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène difficile à circonscrire taxonomiquement. Orla-Jensen a néanmoins posé les bases de la classification moderne (Lahtinen et al., 2012). Ces bactéries appartiennent au phylum Firmicutes, classe Bacilli, ordre Lactobacillales (Garrrity et Holt, 2001).

##### **II.2.4.1. Classification classique**

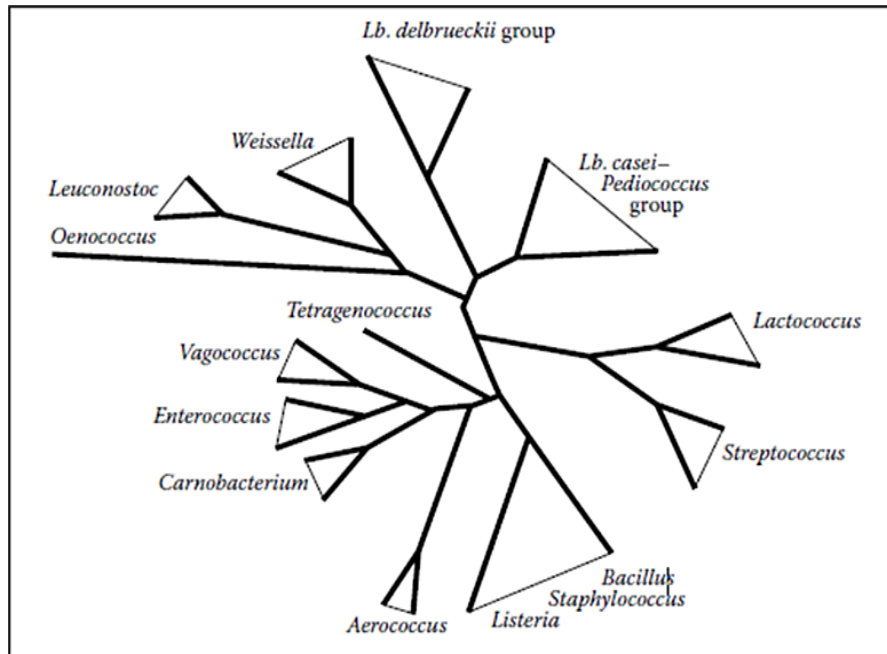
Elle repose sur des critères phénotypiques : morphologie cellulaire, fermentation des sucres, températures de croissance, type d'isomère d'acide lactique produit (De Roissart et al., 1994 ; Holzapfel et al., 2001). Ainsi, les genres sont classés en bacilles (ex. *Lactobacillus*, *Carnobacterium*) et coques (ex. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*), avec *Weissella* occupant une position mixte (Collins et al., 1993 ; He et al., 2007).

##### **II.2.4.2. Classification moderne**

L'approche moléculaire fondée sur l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène 16S de l'ARNr a permis d'affiner la classification. Elle a entraîné la révision de certains genres : par exemple, le fractionnement du genre *Streptococcus* en *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*, ou la création du genre *Carnobacterium* à partir de *Lactobacillus* (Mermouri, 2018).

Cependant, des discordances persistent entre phénotype et phylogénie moléculaire. Certaines espèces ne sont pas distinguables uniquement par des critères phénotypiques (Gevers et al., 2002), ce qui souligne l'intérêt de la phylogénie moléculaire intégrée à l'analyse taxonomique.





**Figure 13 :** Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (Lahtinen et al., 2012)

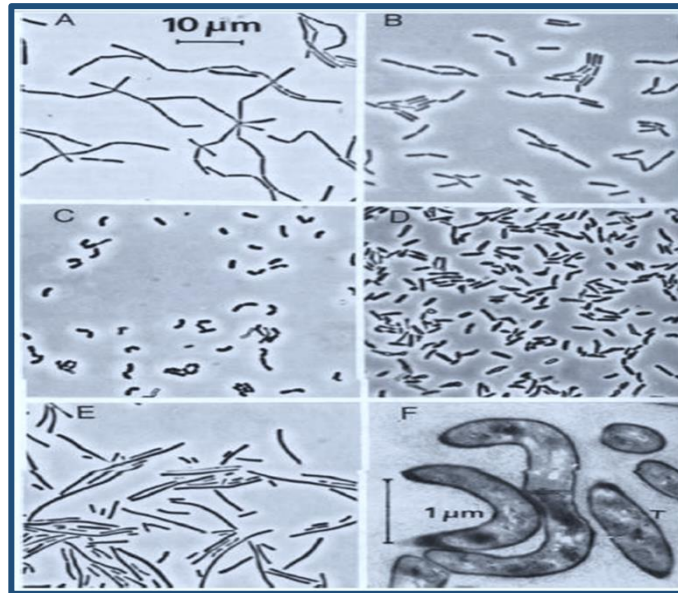
## II.2.5. Les principaux genres des bactéries lactiques

### II.2.5.1. Genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus*, appartenant à la famille des *Lactobacillaceae*, constitue l'un des groupes les plus étendus et technologiquement importants des bactéries lactiques. Ce genre regroupe un grand nombre d'espèces impliquées dans la fermentation d'aliments d'origine végétale et animale, mais certaines peuvent également être retrouvées comme contaminants dans divers substrats.

La majorité des espèces ont été isolées à partir du tractus intestinal de l'homme et des animaux, ainsi que des matières fécales. Les produits végétaux fermentés, tels que le kimchi, les cornichons ou le levain, représentent également une source importante d'isolement des espèces de *Lactobacillus* (Liu et al., 2014).

Ces bactéries se présentent sous forme de bacilles longs, fins et parfois incurvés, fréquemment organisés en chaînes (Figure 14). Elles sont immobiles, asporulées, catalase négative, avec une température de croissance optimale située entre 30 °C et 40 °C. Elles présentent des exigences nutritionnelles complexes, nécessitant des acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et minéraux (Leclerc et al., 1994).



**Figure 14:** Phase contraste (A–E) et électron (F) micrographes montre les différentes morphologies cellulaires de *Lactobacillus* : A, *Lactobacillus gasseri*; B, *Lactobacillus agilis*; C, *Lactobacillus curvartus*; D, *Lactobacillus minor* ; E, *Lactobacillus fermentum*; et F involution de lactobacillus dans une section mince de grain du kéfir (Bergey's manual., 2009).

#### II.2.5.2. Genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus* appartiennent au groupe des bactéries lactiques de forme tétrade, également appelées cocci tétramériques, partageant avec les aérocoques une morphologie sphérique (Salminen et al., 2004).

Le genre *Pediococcus* est historiquement lié aux travaux de Pasteur, qui étudia leur rôle dans la détérioration de la bière. Leur arrangement cellulaire en tétrade reste une caractéristique morphologique déterminante (Liu et al., 2014). Ce genre comprend actuellement 11 espèces, parmi lesquelles : *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. claussenii*, *P. damnosus* ou encore *P. ethanolidurans* (Zhang et Cai, 2014) (Figure 15).

Le genre *Tetragenococcus*, quant à lui, regroupe des espèces halophiles et halotolérantes, présentant des cellules sphériques non mobiles de 0,5 à 0,8 μm de diamètre. Le genre comprend plusieurs espèces, telles que *T. halophilus*, *T. muriaticus*, *T. koreensis*, *T. solitarius*, et plus récemment *T. osmophilus* (Justé et al., 2012 ; Holzapfel et Wood, 2014).



**Figure 15:** *Pediococcus* au microscope électrique (Holzapfel et al., 2006)

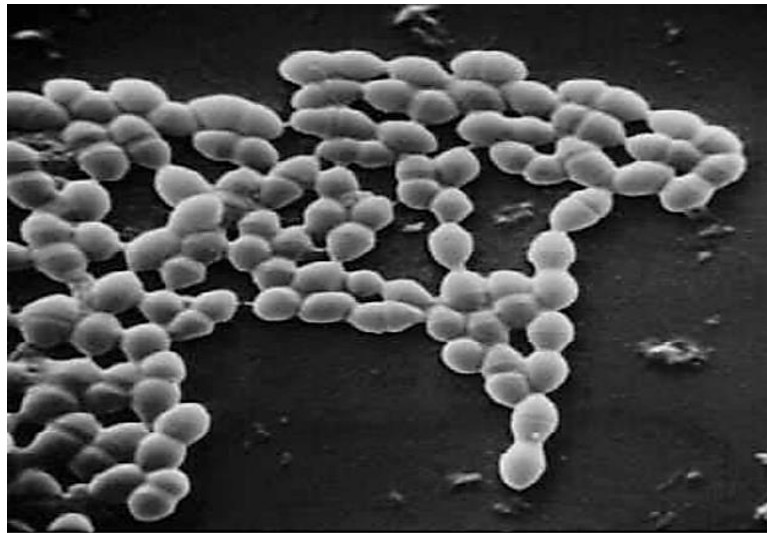
### II.2.5.3. Genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*

Historiquement, les genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* faisaient partie d'un ensemble unique sous le genre *Streptococcus* (Salminen et al., 2004). Ils ont ensuite été différenciés sur la base de critères phénotypiques et phylogénétiques.

Le genre *Enterococcus* comprend actuellement 46 espèces validées, dont certaines avec des sous-espèces. Bien qu'elles soient parfois utilisées dans des produits fermentés, ces espèces, notamment *E. faecalis* et *E. faecium*, ne bénéficient pas du statut GRAS en raison de leur implication fréquente dans des infections opportunistes humaines (Franz et Holzapfel, 2004 ; Ogier et Serror, 2008).

Le genre *Streptococcus* reste très diversifié et sa classification est instable. Il est classiquement divisé en trois groupes : pyogènes (essentiellement pathogènes), oraux (ex. *S. salivarius*, *S. bovis*) et alimentaires, dont fait partie *S. thermophilus*, espèce non pathogène, largement utilisée dans les fermentations laitières (Federighi, 2005). Ces genres se caractérisent par leur métabolisme homofermentaire, leur catalase-négativité, une croissance optimale entre 25 et 45 °C, et une tolérance variable à l'oxygène (Holt et al., 1994) (Figure 16).

Le genre *Lactococcus* regroupe les « streptocoques lactiques » non pathogènes, étroitement associés aux fermentations alimentaires. *Lactococcus lactis* en est l'espèce la plus représentative, utilisée dans l'élaboration de fromages et autres produits laitiers fermentés (Federighi, 2005).



**Figure 16:** Morphologie en microscopie électronique de *Streptococcus thermophilus* (Liebefeld, 2002)

#### II.2.5.4. Genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

##### ***Leuconostoc*:**

Le genre *Leuconostoc* est l'un des plus importants sur le plan économique parmi les bactéries lactiques. Il est particulièrement impliqué dans la fermentation de nombreux produits végétaux, notamment la choucroute, les cornichons, les carottes ou encore les betteraves. L'espèce *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* est la plus représentative, fréquemment isolée à partir de plantes. Classiquement, *Leuconostoc* a été longtemps considéré comme proche du genre *Streptococcus*, sur la base de critères morphologiques (Liu et al., 2014).

##### ***Oenococcus***

Le genre *Oenococcus* comprend principalement l'espèce *Oenococcus oeni*, bien connue pour son rôle essentiel dans la fermentation malolactique des vins. Cette espèce est capable de transformer l'acide malique en acide lactique, réduisant ainsi l'acidité du vin et améliorant ses propriétés organoleptiques. Les bactéries de ce genre présentent une forte tolérance à l'éthanol, à l'acidité et à la pression osmotique, ce qui leur confère un avantage compétitif dans les environnements œnologiques.

### ***Weissella***

Le genre *Weissella* constitue une exception taxonomique notable parmi les bactéries lactiques, car il regroupe à la fois des formes bacillaires et coccoïdes, ce qui le distingue des autres genres plus homogènes (Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007). Les espèces de *Weissella* sont ubiquistes et se rencontrent dans divers environnements fermentés, notamment les produits végétaux et carnés. Certaines espèces ont été isolées à partir de viandes fermentées, et leur potentiel technologique ainsi que probiotique est actuellement étudié (Axelsson, 2004).

Ces bactéries sont également caractérisées par leur tolérance élevée à l'acide et à l'éthanol, ce qui les différencie nettement des *Leuconostoc*, pourtant proches sur le plan phylogénétique (Axelsson, 2004). Ce genre présente ainsi un intérêt croissant dans les biotechnologies alimentaires modernes, notamment dans la formulation de nouveaux ferments mixtes ou d'aliments fonctionnels.

### **II.2.5.5. Genre *Bifidobacterium***

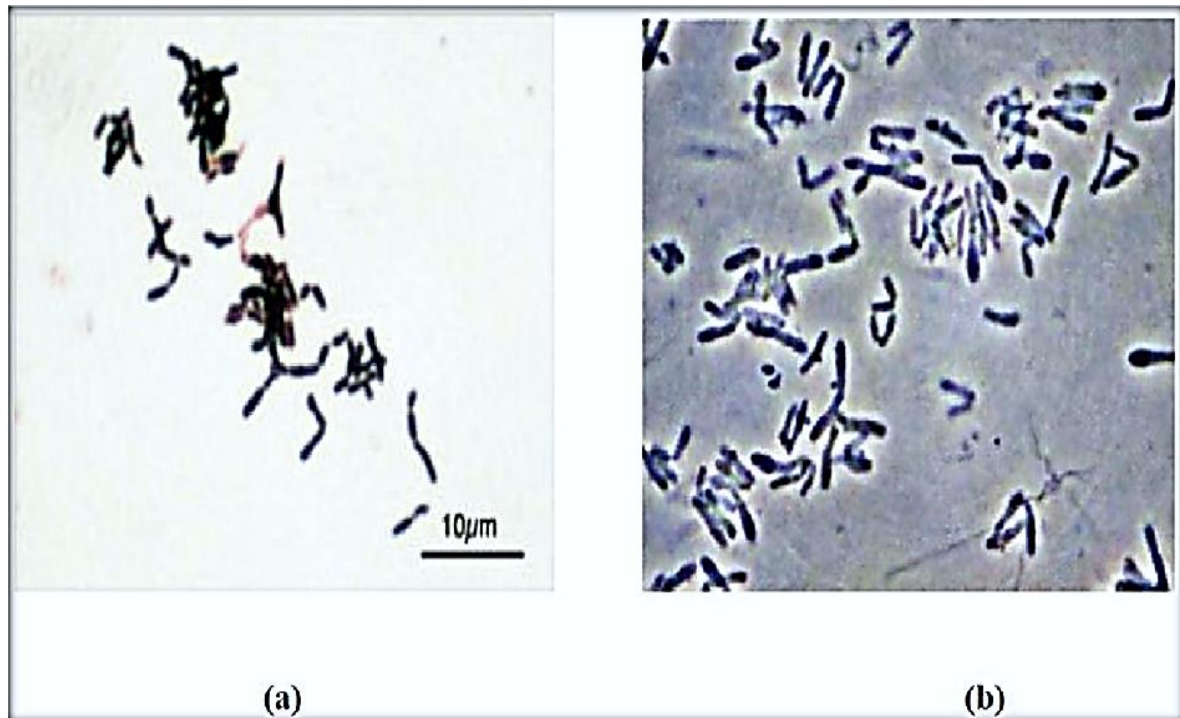
Le genre *Bifidobacterium* est l'un des plus étudiés au sein de la famille des Bifidobacteriaceae, en raison de ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Bien qu'il ne soit pas phylogénétiquement rattaché aux bactéries lactiques strictes, il est souvent intégré au groupe des bactéries lactiques (LAB) du fait de ses capacités fermentaires et probiotiques notables (Savado et Traoré, 2011).

Les *Bifidobacterium* sont des bactéries à Gram positif, anaérobies stricts, non sporulantes, immobiles et hétérofermentaires. Elles se présentent sous forme de bacilles ramifiés, fréquemment en forme de "V" ou de "Y", d'où leur nom (Figure 18). Leur teneur en G+C varie de 42 à 67 %, témoignant de leur diversité génétique (Savado et Traoré, 2011).

Sur le plan métabolique, ces bactéries dégradent les hexoses principalement en acide lactique et acétique, selon une voie fermentaire spécifique appelée voie bifidique (Keddari et Riazi, 2021). Cette voie particulière les distingue des autres bactéries lactiques, qui produisent généralement uniquement de l'acide lactique ou de manière moins diversifiée.

Sur le plan physiologique, les bifidobactéries occupent une place clé dans le microbiote intestinal, notamment chez le nourrisson. Elles colonisent de manière

précoce le tractus digestif peu après la naissance et peuvent représenter jusqu'à 90 % de la microflore intestinale chez les nouveau-nés allaités (Guarner et Malagelada, 2003). Leur présence est associée à des effets protecteurs contre les pathogènes, une modulation immunitaire bénéfique, ainsi qu'à une meilleure digestion des oligosaccharides du lait maternel.



**Figure 17:** Morphologie microscopique de quelques espèces du genre *Bifidobacterium*.

(a) *Bifidobacterium adolescentis* (Barre d'échelle : 10 µm) (Anonyme, 2008).  
 (b) *Bifidobacterium animalis* (x500) (Hassani, 2017).

## II.2.6. Les aptitudes des bactéries lactiques

### II.2.6.1. Aptitude acidifiante

La propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire est leur capacité à acidifier l'environnement par production d'acide lactique, issu de la fermentation des hydrates de carbone durant la croissance cellulaire (Mayra-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008). Cette acidification s'accompagne (i) d'une accumulation d'acide lactique qui contribue à la saveur des produits fermentés, (ii) d'un abaissement progressif du pH, (iii) d'une inhibition des flores pathogènes et d'altération, et (iv) d'une déstabilisation des micelles de caséine conduisant à la coagulation du lait et à la synérèse (Béal et al., 2008). Pour les applications industrielles, on exige une vitesse d'acidification élevée ou l'atteinte d'un seuil d'acidité final précis ; la sélection

des souches repose donc sur leur profil acidifiant et sur la spécificité recherchée du produit (Monnet et al., 2008).

#### **II.2.6.2. Aptitude aromatisante**

Les bactéries lactiques synthétisent divers composés volatils diacétyle, acétoïne, éthanol, acétate, entre autres à partir du lactose, de certains acides aminés et des lipides. Cette activité est déterminante pour la mise en valeur des laits fermentés, fromages frais et crèmes, dont l'arôme principal dépend étroitement de cette biosynthèse (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006).

#### **II.2.6.3. Aptitude texturante**

La synthèse d'exopolysaccharides (EPS) par certaines souches en particulier *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* améliore la viscosité, limite la synérèse et confère une texture onctueuse aux yaourts. De même, les EPS produits par *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* renforcent la structure des laits fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al., 2007).

#### **II.2.6.4. Aptitude de performance**

La sélection d'un ferment requiert l'évaluation de critères opérationnels précis : résistance aux bactériophages et aux stress mécaniques ; tolérance aux inhibiteurs (antibiotiques, saccharose, NaCl, éthanol, acidité, température) ; aptitude à la congélation, à la lyophilisation et au stockage ; comportement vis-à-vis de l'oxygène ; capacité de croissance hors température optimale ; compatibilité inter-souches ; et facilité d'emploi en conditions industrielles (Béal et al., 2008).

#### **II.2.6.5. Aptitude thérapeutique**

Les lactobacilles produisent de l'acide lactique, des bactériocines et du peroxyde d'hydrogène qui, en synergie, inhibent virus (HSV, VIH) et biofilms pathogènes en acidifiant l'environnement et en perturbant la matrice extracellulaire (Loris et al., 2019 ; Lachi et Kellas, 2018). Ces activités ouvrent des perspectives dans la prévention des infections sexuelles et des pathologies associées aux biofilms.

#### **II.2.6.6. Aptitude dans le domaine agricole**

Inoculées dans les ensilages, les bactéries lactiques acidifient rapidement le fourrage, limitant l'acétogenèse et la protéolyse, et préservant ainsi la valeur nutritive du stock (Salawu et al., 2001 ; Khuntia et Chaudhary, 2002). Bien que les résultats soient prometteurs, l'effet précis des souches probiotiques sur la qualité des ensilages reste encore partiellement élucidé (Weinberg et al., 2004 ; Gollop et al., 2005).

#### **II.2.6.7. Aptitude dans le domaine cosmétique**

L'acide lactique, hygroscopique, agit comme agent hydratant ; ses propriétés kératolytiques favorisent une exfoliation douce, stimulent la synthèse de collagène et atténuent l'inflammation cutanée. Des formulations dermocosmétiques pommades, baumes ou crèmes enrichies en extraits post-biotiques exploitent ainsi ces effets anti-âge, anti-acné et apaisants (Wee et al., 2006).

### **II.3. Exploration du potentiel bioactif des bactéries lactiques entre propriétés antimicrobiennes et fonctions probiotiques**

#### **II.3.1. Substances antimicrobiennes produites par les bactéries lactiques**

##### **II.3.1.1. Généralités**

Les bactéries lactiques (BL) sont reconnues pour leur capacité à synthétiser une diversité de substances antimicrobiennes. Ces composés, utilisés de manière empirique depuis l'Antiquité dans la conservation des aliments, présentent aujourd'hui un intérêt croissant dans les domaines agroalimentaire, médical et vétérinaire (Labioui et al., 2005 ; Jasniwski, 2008). D'un point de vue biochimique, ces substances sont classées en deux grandes catégories : les composés non peptidiques et les peptides antimicrobiens.

##### **II.3.1.2. Substances antimicrobiennes non peptidiques**

###### **II.3.1.2.1. Acides organiques**

Les bactéries lactiques produisent principalement de l'acide lactique, mais également de l'acide acétique et propionique, au cours de la fermentation des glucides. Ces acides abaissent le pH du milieu, créant un environnement



défavorable à la croissance de nombreuses bactéries pathogènes et de levures (Zhitnitsky et al., 2014).

#### **II.3.1.2.2. Acides gras**

Certains acides gras à chaîne courte ou moyenne possèdent des propriétés antimicrobiennes. Leur efficacité varie selon leur composition, leur concentration, le pH et la matrice alimentaire (Gould, 1991). Ils agissent notamment contre les bactéries Gram positives et certains champignons.

#### **II.3.1.2.3. Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Le peroxyde d'hydrogène est produit par des espèces aérotolérantes en présence d'oxygène. Il génère des radicaux libres (superoxyde, hydroxyle) susceptibles d'altérer l'ADN bactérien, d'oxyder les protéines et de perturber les fonctions enzymatiques des cellules cibles (Nair et al., 2017).

#### **II.3.1.2.4. Dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)**

Le CO<sub>2</sub> est un sous-produit des fermentations hétérofermentaires. Il contribue à la création de conditions anaérobies, inhibant ainsi la croissance des microorganismes aérobies stricts (Nigotova et al., 2007).

#### **II.3.1.2.5. Diacétyle**

Issu du métabolisme du citrate, le diacétyle est produit par plusieurs genres de bactéries lactiques (*Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*). Il agit contre des levures, des bactéries Gram-négatives et certains Gram-positifs non lactiques (Calvez et al., 2009).

### **II.3.1.3. Substances antimicrobiennes peptidiques**

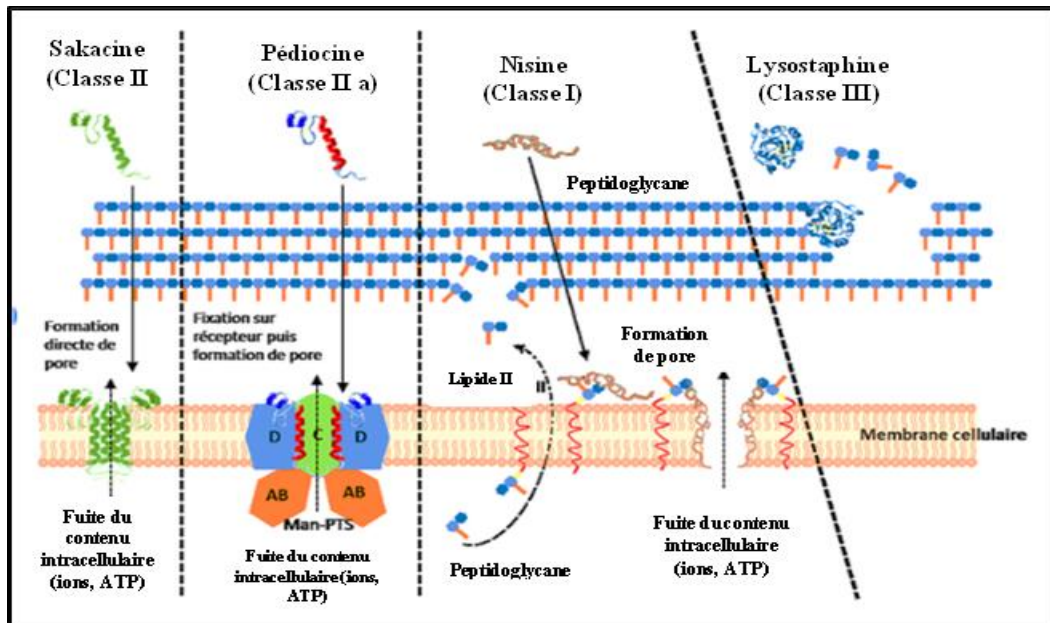
#### **II.3.1.3.1. Bactériocines**

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens ribosomiquement synthétisés, généralement composés de 20 à 60 acides aminés. Découvertes par André Lwoff en 1964, ces molécules présentent des propriétés bactéricides ou bactériostatiques spécifiques à des bactéries proches phylogénétiquement (Sidhu et Nehra, 2017 ; Dillenseger, 2019). Grâce à leur thermostabilité, leur action ciblée et leur faible toxicité, les bactériocines constituent une alternative prometteuse aux antibiotiques (Mekri, 2016 ; Djelloul, 2021).

### II.3.1.3.2. Classification des bactériocines

Selon leurs caractéristiques structurales, fonctionnelles et mécanismes d'action, les bactériocines sont classées en quatre grandes classes (Klaenhammer, 1993 ; Taale et al., 2016) (Figure 18):

- **Classe I – Lantibiotiques** : Peptides de petite taille ( $< 5$  kDa), thermostables, contenant des acides aminés modifiés (lanthionine, déhydroalanine).
  - *Classe Ia* : peptides cationiques hydrophobes, linéaires, perturbant la membrane cytoplasmique.
  - *Classe Ib* : peptides globulaires, souvent anioniques, exerçant une action enzymatique ou enzymomimétique.
- **Classe II – Non-lantibiotiques** : Peptides de  $< 10$  kDa, non modifiés post-traductionnellement, thermostables. Ils forment des pores dans les membranes des bactéries cibles, provoquant une fuite des ions et inhibant la croissance.
- **Classe III – Protéines de haut poids moléculaire** : ( $> 30$  kDa), thermolabiles, agissent par dégradation de composants cellulaires essentiels (parois, ADN). Exemples : Helveticin J (par *Lactobacillus helveticus*), Enterolysin A (par *Enterococcus faecium*).
- **Classe IV – Complexes protéiques hétérogènes** : Ces bactériocines sont associées à des lipides ou glucides, ce qui complexifie leur mode d'action. Leur activité dépend en partie de ces composants non protéiques, et reste encore mal caractérisée.



**Figure 18:** Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives (Fernandez, 2014)

### II.3.1.3.3. Les propriétés des bactériocines

Les bactériocines se distinguent par une large stabilité : elles demeurent actives dans une vaste plage de pH et résistent aux enzymes non protéolytiques. En revanche, leur nature peptidique les rend sensibles aux protéases, ce qui confirme leur caractère biodégradable. La plupart sont thermostables et non toxiques pour les cellules eucaryotes ; leur spectre d'activité demeure limité et sélectif, ciblant principalement les bactéries pathogènes ou d'altération tout en épargnant la flore technologique utile. De ce fait, les bactériocines constituent un outil de bioconservation attractif pour l'industrie alimentaire (Dortu & Thonart, 2009).

### II.3.1.4. Production et conditionnement des bactériocines

La synthèse maximale s'observe généralement à la transition entre phase exponentielle et phase stationnaire. Un rendement de croissance élevé n'implique donc pas nécessairement un rendement de production optimal ; au contraire, des conditions légèrement stressantes (carences nutritives légères, pH sub-optimal, température modérée) peuvent stimuler leur biosynthèse. La purification reste onéreuse et exige des étapes chromatographiques multiples (HPLC, CPG), si bien

que l'usage industriel repose le plus souvent sur des cultures productrices ou des pré-crûs concentrés plutôt que sur des peptides purifiés (Savijoki et al., 2006).

### **II.3.1.5. Applications des bactériocines**

#### **Secteur alimentaire**

En tant que composés naturels, les bactériocines permettent d'abaisser la charge microbienne sans recourir aux conservateurs chimiques. Leur efficacité augmente encore lorsqu'elles sont associées à d'autres agents antimicrobiens (nitrites, huiles essentielles, polyphénols), générant des effets additionnels ou synergiques (Gálvez et al., 2007).

#### **Secteur médical**

Face aux résistances croissantes aux antibiotiques, plusieurs bactériocines (notamment les lantibiotiques) font l'objet d'études comme thérapies alternatives ou adjuvantes. Par exemple, certaines caséicines produites par *Lactobacillus casei* inhibent *Helicobacter pylori*, tandis que des lantibiotiques peuvent remplacer ou potentialiser l'érythromycine dans le traitement d'infections spécifiques (Monts & De Vuyst, 2001).

#### **Secteur agricole**

Les bactériocines sont explorées comme agents de biocontrôle pour protéger les cultures et les semences contre les bactéries et champignons phytopathogènes. Leur usage, seul ou combiné à des métabolites antifongiques, offre une alternative durable aux pesticides chimiques (Khodja, 2018).

### **II.3.1.6. Facteurs influençant l'action des bactériocines**

Dans les matrices alimentaires, plusieurs paramètres peuvent réduire voire annuler l'efficacité des bactériocines : composition intrinsèque (pH défavorable, présence de protéases, teneur en lipides ou en sels), conditions thermiques appliquées (chaleur excessive ou inadaptée), mais aussi taille et état physiologique de la flore autochtone qui peut inactiver ou adsorber les peptides (Dortu & Thonart, 2009). Une formulation réussie doit donc intégrer ces variables pour garantir une activité antimicrobienne optimale.

## **II.3.2. Les Bactéries lactiques probiotiques**

### **II.3.2.1. Les probiotiques**

Le terme «probiotique» remonte aux travaux du biologiste russe Élie Metchnikoff: observant la longévité des paysans bulgares grands consommateurs de laits fermentés, il postula que certains micro-organismes exerçaient une action bénéfique sur la santé (Sanders, 2000). Depuis, la définition a évolué. Lilly et Stillwell (1965) décrivirent d'abord des «facteurs de croissance produits par des micro-organismes», puis Parker (1974) élargit le concept aux «organismes et substances contribuant à l'équilibre de la flore». Fuller (1991) recentra la définition sur l'apport alimentaire de micro-organismes vivants améliorant la flore intestinale de l'hôte. La formulation désormais retenue par l'OMS/FAO (2001) qualifie de probiotiques «des micro-organismes vivants qui, administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice sanitaire à l'hôte».

### **II.3.2.2. Bactéries lactiques et probiotiques : une confusion à clarifier**

Toutes les bactéries lactiques (BL) ne sont pas automatiquement des probiotiques. Bien que les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ou *Enterococcus* appartiennent aux BL, seules les souches capables de se fixer aux cellules intestinales, d'y persister sans danger et de démontrer des effets favorables avérés obtiennent le statut probiotique (EUFIC, 2023).

### **II.3.2.3. Critères de sélection des souches lactiques probiotiques**

Pour être éligible au label «probiotique», une souche doit tout d'abord être précisément identifiée sur les plans phénotypique et génotypique. Les souches d'origine humaine sont privilégiées pour les applications humaines. L'innocuité constitue un prérequis: absence de pouvoir invasif, pathogène ou carcinogène, pas de transfert de gènes de résistance ni d'effets métaboliques indésirables. Sur le plan fonctionnel, la bactérie doit résister à l'acidité gastrique, aux sels biliaires et aux enzymes digestives, adhérer au mucus intestinal, pouvoir s'y multiplier transitoirement et produire des métabolites antimicrobiens (acide lactique, bactériocines, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>...). Des preuves cliniques d'effets bénéfiques, à une dose efficace définie, sont exigées. Enfin, la souche doit rester stable au cours du procédé industriel, conserver sa viabilité jusqu'au site d'action et ne pas altérer les qualités organoleptiques du produit (Djaïdir, 2022).

#### **II.3.2.4. Mécanismes d'action des probiotiques lactiques**

Les effets bénéfiques reconnus des probiotiques lactiques reposent sur des mécanismes multiples, souvent interconnectés (Figure 1). Un premier mécanisme, largement documenté, est la compétition pour les sites d'adhésion : en colonisant l'épithélium intestinal, les lactobacilles empêchent l'ancrage de pathogènes tels qu'*Escherichia coli* entéropathogène (Roselli et al., 2006 ; Collado et al., 2007). Ils produisent en outre des acides organiques et des bactériocines qui abaissent le pH local et inhibent directement les micro-organismes nuisibles (Vanderpool et al., 2008). D'autres actions comprennent la modulation de la réponse immunitaire, le renforcement de la barrière épithéliale et la dégradation de substrats indigestes, contribuant ainsi à la santé gastro-intestinale globale (Ait-Belgnaoui et al., 2005).

#### **II.3.3. Production de substances antimicrobiennes**

Les souches probiotiques limitent indirectement la prolifération des pathogènes en synthétisant plusieurs métabolites antimicrobiens, notamment les bactériocines, les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène (Djaidir, 2022). Ces composés abaissent le pH, créent un stress oxydatif ou perforent la membrane des germes indésirables, réduisant ainsi leur viabilité sans perturber la flore commensale.

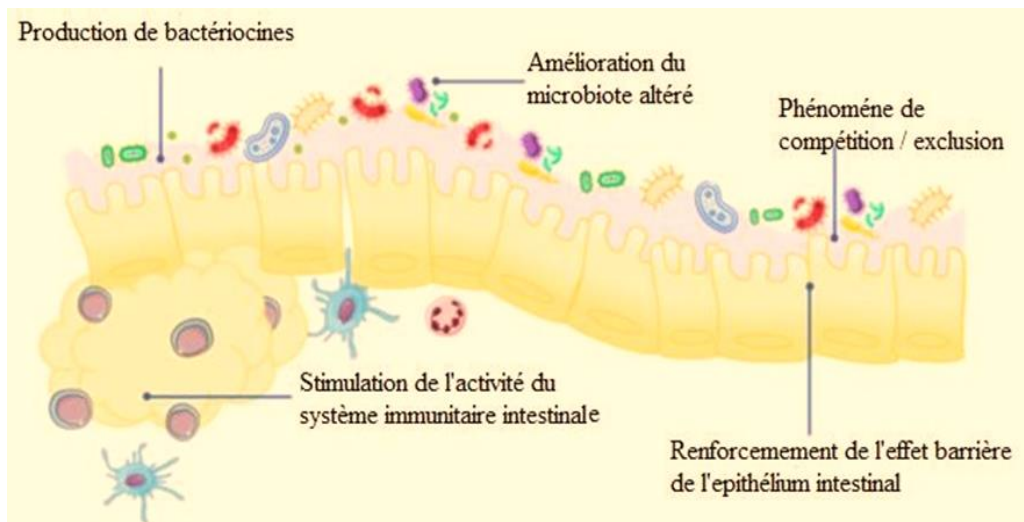
#### **II.3.4. Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinal**

L'interaction des probiotiques avec les cellules immunocompétentes intestinales renforce la réponse de l'hôte contre les entéropathogènes. Ils intensifient l'immunité adaptative en élevant la production d'IgA sécrétoires (Shu & Gill, 2002) et modulant l'immunité innée par l'activation des macrophages, monocytes et cellules dendritiques (Oelschlaeger, 2010). Les lactobacilles agissent ainsi comme adjuvants muqueux, déclenchant une réponse rapide et localisée.

#### **II.3.5. Renforcement de l'effet barrière de l'épithélium intestinal**

Le maintien de l'intégrité épithéliale est essentiel pour prévenir le passage de microbes et de toxines vers la circulation systémique. Les probiotiques stimulent l'expression des protéines des jonctions serrées, accroissent la

production de mucus et favorisent la sécrétion d'IgA, contribuant à une barrière intestinale plus hermétique (Naimi, 2014). Cette action limite l'inflammation et les troubles associés à la perméabilité accrue (Figure 19).



**Figure 19 :** Mécanismes d'actions des probiotiques (Rodríguez-Sojo, Ruiz-Malagón et al. 2021)

### II.3.6. Application des probiotiques

Les produits commerciaux se présentent soit comme préparations monosouches, soit comme formules plurisouches. Ils sont disponibles sous deux formes : (i) cultures concentrées incorporées aux matrices alimentaires (lait, jus de fruits, céréales) afin d'atteindre des charges viables élevées, et (ii) biomasses séchées conditionnées en poudres, capsules ou comprimés (Patterson, 2008). Les aliments fermentés traditionnels constituent d'excellentes sources probiotiques sans ajout de starters industriels. Pour atténuer les pertes de viabilité liées aux procédés et au stockage, des technologies telles que la micro-encapsulation ou l'immobilisation cellulaire assurent une protection supplémentaire et améliorent l'incorporation des souches dans les aliments.

### II.3.7. Effet préventif des souches lactiques probiotiques

Les avancées récentes suggèrent un rôle des probiotiques dans la prévention et la modulation de pathologies majeures. Des travaux menés à l'Université du Wisconsin-Madison (2023) montrent qu'un microbiote intestinal altéré pourrait favoriser la formation de plaques amyloïdes via le nerf vague, contribuant à la maladie d'Alzheimer ; une alimentation riche en aliments fermentés est proposée

comme biomarqueur prophylactique (Dr Lévy, 2023). Chez les personnes vivant avec le VIH, une étude pilote rapporte que la co-administration d'un probiotique avec la thérapie antirétrovirale réduit l'inflammation et l'activation immunitaire délétère (SantéLog, 2024). Enfin, certaines souches de *Lactobacillus* sont étudiées comme vecteurs vaccinaux ; leur aptitude à coloniser les muqueuses et à induire une réponse locale ouvre des perspectives pour le développement de vaccins oraux (Luis & Phillippe, 2009).



# **PARTIE III. MATERIEL ET METHODES**

---

### III.1. Zone et Matériel d'Étude

#### III.1.1. Présentation de la zone de prélèvement

La wilaya de Saïda, située dans la région des hauts plateaux de l'ouest algérien, constitue la zone géographique de cette étude. D'une superficie de 6 765 km<sup>2</sup>, elle est délimitée au nord par la wilaya de Mascara, au sud par celle d'El Bayadh, à l'est par la wilaya de Tiaret et à l'ouest par la wilaya de Sidi Bel Abbès.

Caractérisée par un climat semi-aride et une forte tradition agropastorale, cette région offre un contexte propice à la production artisanale d'aliments fermentés, qui représentent des niches écologiques uniques pour des microorganismes autochtones. Selon les données de la DPAT (2010), la wilaya compte 344 455 habitants et est structurée en 6 daïras et 16 communes (Tableau 3). Le découpage administratif est illustré par la Figure 20.

Les échantillons pour cette étude ont été spécifiquement collectés dans les communes de Ouled Brahim et Djebarate, zones rurales où les savoir-faire traditionnels de transformation laitière sont particulièrement préservés.

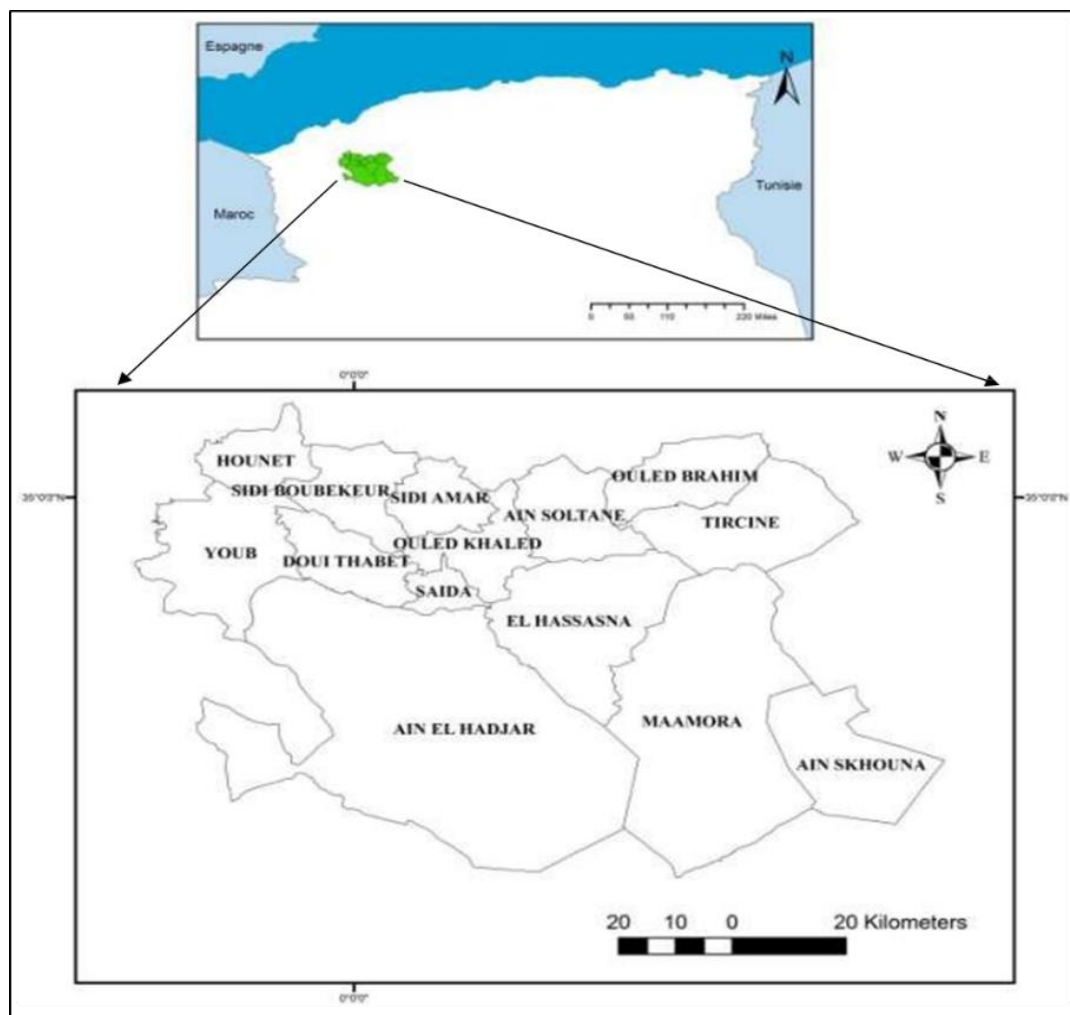
**Tableau 3 : Répartition administrative de la wilaya de Saïda**

| Daïra          | Nombre de communes | Superficie (km <sup>2</sup> ) |
|----------------|--------------------|-------------------------------|
| Saïda          | 1                  | 76                            |
| Aïn-lahdjar    | 3                  | 2107                          |
| Sidi-boubekeur | 4                  | 784                           |
| El-hassassna   | 3                  | 1082                          |
| Ouled-brahim   | 3                  | 918                           |
| Youb           | 2                  | 646                           |

#### III.2. Matériel biologique

Le matériel biologique de cette étude est constitué de trois types de produits fermentés traditionnels, collectés dans des conditions d'hygiène strictes :

1. **Le *Lben*** : Obtenu à partir de lait de vache cru, fermenté spontanément pendant 7 jours au réfrigérateur. L'échantillon provient de la commune de Ouled-Brahim.
2. **La *Klila*** : Fromage traditionnel obtenu à partir de lait de chèvre, provenant de la commune de Djebarate.
3. **Les carottes fermentées** : Préparation domestique artisanale.



**Figure 20:** Découpage administratif de la wilaya de Saida.

Les souches indicatrices utilisées pour l'évaluation de l'activité antagoniste sont listées dans le Tableau 4. Ces souches, issues de collections de référence (ex: ATCC - American Type Culture Collection) ou de laboratoire, représentent des pathogènes d'intérêt en sécurité alimentaire.

**Tableau 4 :** Souches bactériennes indicatrices utilisées pour les tests d'antagonisme

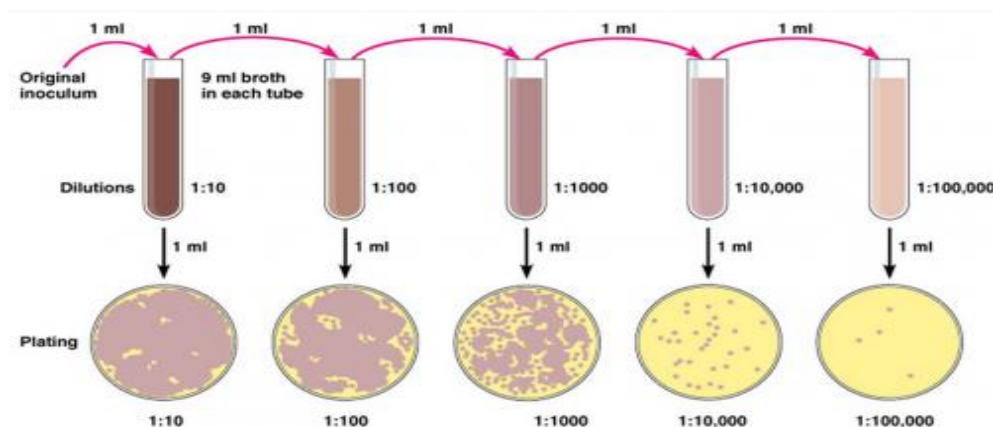
| Souche indicatrice           | Code de référence     | Caractère Gram |
|------------------------------|-----------------------|----------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 6538             | Positif        |
| <i>Bacillus cereus</i>       | ATCC 25921            | Positif        |
| <i>Bacillus subtilis</i>     | ATCC 6633             | Positif        |
| <i>Escherichia coli</i>      | ATCC 8739             | Négatif        |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Souche de laboratoire | Négatif        |
| <i>Salmonella enterica</i>   | Souche de laboratoire | Négatif        |

### III.3. Méthodes d'Analyse Microbiologique

#### III.3.1. Isolement et purification des bactéries lactiques

**Préparation des suspensions mères :** Pour chaque échantillon, une masse de  $10.0 \pm 0.1$  g (pour les solides *Klila* et carottes) ou un volume de 10.0 mL (pour le liquide *Lben*) a été transféré aseptiquement dans 90.0 mL d'eau physiologique stérile (NaCl à 0.9%, p/v), constituant ainsi la dilution initiale de  $10^{-1}$ . Les suspensions ont été homogénéisées par agitation sur un vortex pendant 2 minutes.

**Dilutions décimales et ensemencement :** Des dilutions en série (de  $10^{-2}$  à  $10^{-7}$ ) ont été réalisées en cascade à partir de la suspension mère (Lachi et Kellas, 2019) (Figure 21).



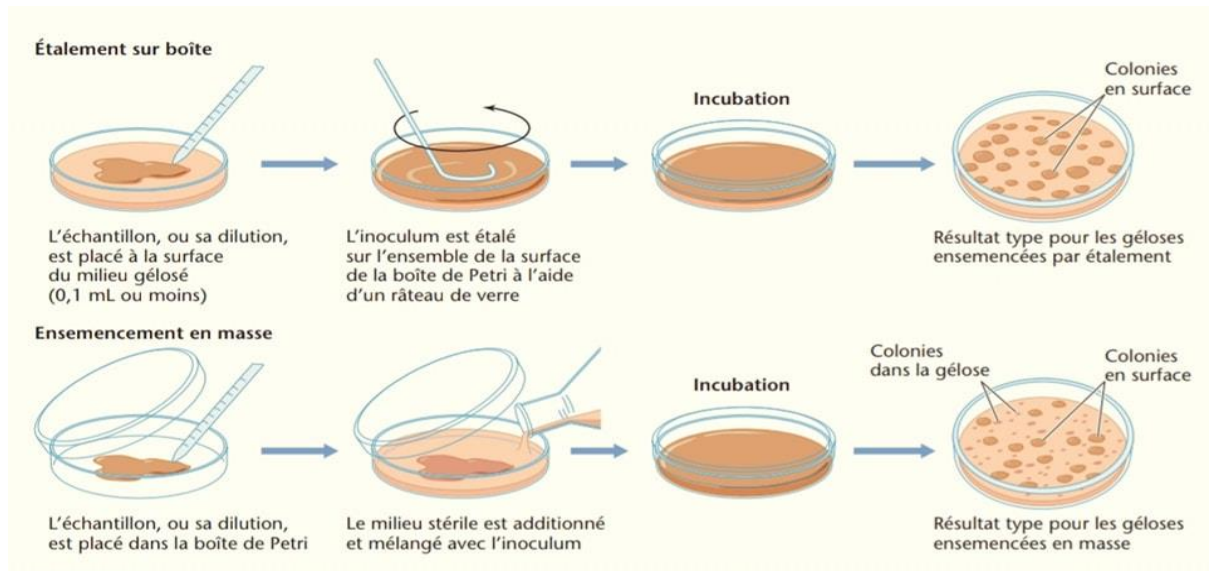
**Figure 21 :** Technique de préparation des dilutions décimales

Deux techniques d'ensemencement ont été employées pour maximiser la récupération des différentes espèces de BAL :

- **Ensemencement en surface :** Un volume de 100  $\mu$ L de chaque dilution appropriée (de  $10^{-4}$  à  $10^{-7}$ ) a été étalé à l'aide d'un râtelier stérile sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS préalablement solidifiée (Annexe 1.1).
- **Ensemencement en masse :** Un volume de 1 mL de chaque dilution a été déposé dans une boîte de Pétri vide, sur lequel a été versé le milieu MRS en surfusion. L'homogénéisation a été assurée par des mouvements rotatifs (Figure 22).

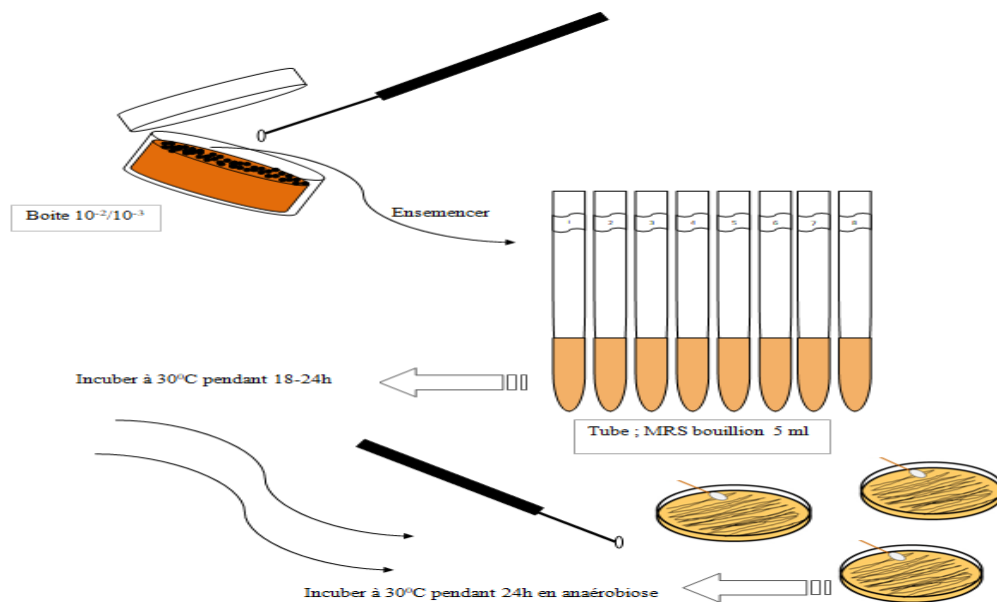
**Incubation :** Les boîtes ont été incubées dans des conditions de **microaérophilie** (obtenues par la méthode de la jarre à la bougie, créant une

atmosphère appauvrie en oxygène et enrichie en CO<sub>2</sub>) à 30±1°C pendant 48 à 72 heures.



**Figure 22:** Méthode d'ensemencement des dilutions décimales, en masse, en surface

**Purification des isolats :** Les colonies présentant des morphologies distinctes ont été sélectionnées et repiquées par la technique de l'isolement par stries sur gélose MRS (De Man et al., 1960). Des repiquages successifs ont été effectués jusqu'à l'obtention de cultures pures, dont la pureté a été systématiquement vérifiée par examen macroscopique et microscopique après coloration de Gram (Lachi et Kellas, 2019 ; Guiraud, 1998) (Figure 23).



**Figure 23:** Purification des souches par repiquage

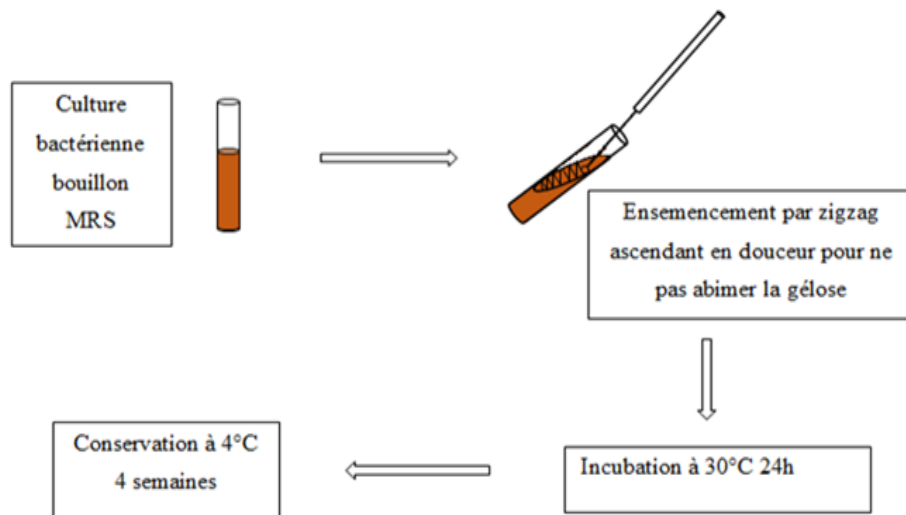
### III.3.2. Caractérisation phénotypique et conservation des isolats

La caractérisation initiale des isolats purifiés a été réalisée par l'observation de leurs caractères macroscopiques et microscopiques.

- **Examen macroscopique :** La morphologie des colonies (taille, forme, couleur, aspect de la surface) a été décrite après culture sur gélose MRS.
- **Examen microscopique :** La morphologie cellulaire (coque, bacille) et le caractère Gram ont été déterminés par microscopie optique (grossissement  $\times 1000$ ) après coloration de Gram.

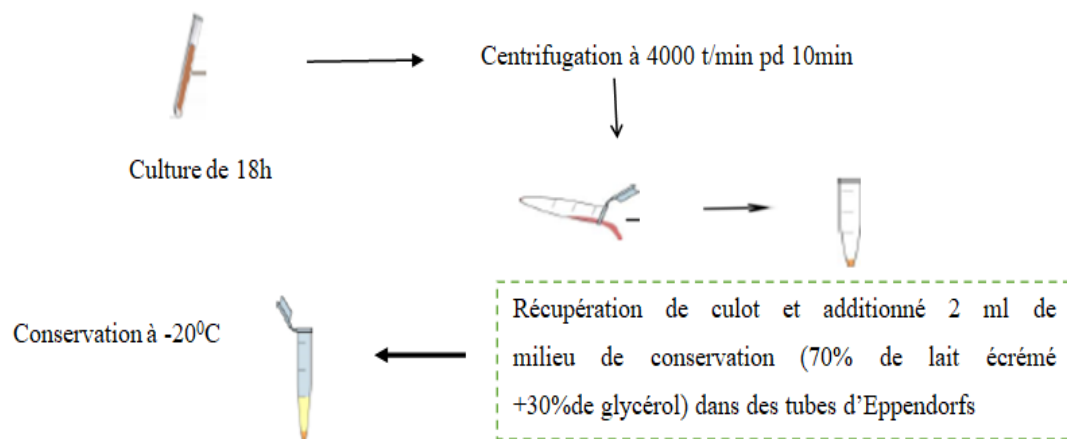
Les souches pures ont ensuite été conservées selon deux modalités pour garantir leur pérennité :

- **Conservation à court terme :** Repiquage sur gélose MRS inclinée et stockage à 4°C, avec un renouvellement toutes les quatre semaines (Figure 24).



**Figure 24:** Schéma de conservation de courte durée de bactéries lactiques purifiées

- **Conservation à long terme :** Les cellules issues d'une culture de 18 h en bouillon MRS ont été concentrées par centrifugation (4000 rpm, 10 min). Le culot a été resuspendu dans un milieu cryoprotecteur stérile (lait écrémé à 70% [p/v], extrait de levure à 0.5% [p/v], glycérol à 30% [v/v]) et stocké à -20°C (Figure 25).



**Figure 25:** Schéma de conservation de longue durée des bactéries lactiques (Badis et al., 2005)

### III.3.3. Caractérisation biochimique et physiologique

Les isolats purifiés ont été soumis à une série de tests phénotypiques pour leur pré-identification.

#### III.3.3.1. Test catalase :

La production de catalase a été recherchée en déposant une goutte de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$  à 3%) sur une colonie prélevée sur gélose. L'absence de dégagement gazeux (effervescence) a été interprétée comme une réaction négative, caractéristique des bactéries lactiques (Benmehdia et Dahmani, 2019).

#### III.3.3.2. Détermination du type fermentaire :

Le métabolisme du glucose a été évalué en inoculant chaque souche dans un bouillon MRS contenant une cloche de Durham inversée. Après incubation à 30°C pendant 48 h, la production de gaz ( $\text{CO}_2$ ) piégé dans la cloche a permis de distinguer les souches **hétérofermentaires** (production de gaz) des souches **homofermentaires** (absence de gaz) (Benmehdia et Dahmani, 2019).

#### III.3.3.3. Tests de tolérance aux conditions physico-chimiques (Benmehdia et Dahmani, 2019) :

La capacité de croissance dans des conditions de stress a été évaluée par la méthode des spots. Pour chaque test, 5  $\mu\text{L}$  d'une culture de 18 h ont été déposés sur une gélose MRS modifiée. La croissance a été observée après incubation.

**III.3.3.3.1. Tolérance au NaCl :**

La croissance a été évaluée sur des géloses MRS supplémentées avec différentes concentrations de NaCl (4% et 6.5%, p/v), avec une incubation à 37°C pendant 48 h.

**III.3.3.3.2. Tolérance au pH alcalin :**

La croissance a été testée sur une gélose MRS dont le pH a été ajusté à 9.6 avec une solution de NaOH 1 M stérile. L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 48 h.

**III.3.3.4. Tolérance à la température :**

La croissance a été observée après incubation à deux températures distinctes : 4°C (pendant 7 jours) et 45°C (pendant 48 h).

**III.3.3.5. Thermorésistance :**

Des cultures en bouillon MRS ont été soumises à un traitement thermique dans un bain-marie à 63°C pendant 30 minutes, suivi d'un refroidissement rapide. Les tubes ont ensuite été incubés à 30°C pendant 72 h. La croissance a été révélée par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

**III.3.3.6. Activité métabolique dans le lait (Test de Sherman) :**

L'aptitude des souches à se développer et à réduire le bleu de méthylène a été évaluée. Chaque culture a été inoculée dans du lait contenant du bleu de méthylène à des concentrations de 0.1% et 0.3%. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C, une réaction positive a été indiquée par la coagulation du lait et la réduction du colorant, se manifestant par un virage de la couleur bleue au blanc (Benmehdia et Dahmani, 2019).

**III.4. Évaluation du profil de résistance aux antibiotiques (Antibiogramme)**

La sensibilité des isolats de bactéries lactiques aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu solide. Ce test a été réalisé conformément au protocole décrit par Benmehdia et Dahmani (2019), avec les adaptations suivantes.

Une suspension de chaque isolat a été préparée en eau physiologique stérile et sa turbidité a été ajustée à une densité équivalente à 0.5 sur l'échelle de McFarland (correspondant à environ  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL). Des boîtes de Pétri



contenant de la gélose MRS ont été ensemencées en nappe par écouvillonnage avec la suspension bactérienne.

Après un court temps de séchage, des disques imprégnés d'antibiotiques (commercialisés par l'Institut Pasteur d'Algérie) ont été déposés stérilement à la surface de la gélose, en respectant une distance suffisante entre eux (environ 25 mm) et avec le bord de la boîte (15 mm) pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Les antibiotiques testés sont listés dans le Tableau 5.

Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 15 à 30 minutes pour permettre une pré-diffusion des antibiotiques, puis ont été incubées à 30°C pendant 24 à 48 heures. La lecture a été effectuée en mesurant le diamètre (en mm) de la zone d'inhibition complète autour de chaque disque. L'interprétation des résultats (Sensible, Intermédiaire, Résistant) a été réalisée sur la base des diamètres critiques définis par le **par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**.

**Tableau 5 :** Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité des souches lactiques

| Code International | Antibiotique    | Famille         | Charge (µg) |
|--------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| CN                 | Gentamicine     | Aminosides      | 200         |
| C                  | Chloramphénicol | Amphénicols     | 30          |
| VA                 | Vancomycine     | Glycopeptides   | 5           |
| E                  | Érythromycine   | Macrolides      | 60          |
| P                  | Pénicilline G   | Bêta-lactamines | 10          |
| RA                 | Rifampicine     | Rifamycines     | 30          |
| AX                 | Amoxicilline    | Bêta-lactamines | 30          |

### III.5. Évaluation de l'activité antagoniste

L'activité antimicrobienne des isolats de bactéries lactiques a été évaluée contre un panel de souches pathogènes par deux méthodes complémentaires, basées sur le protocole de Bellil et al. (2014).

#### III.5.1. Méthode par superposition en double couche (Spot-on-lawn) :

Cette méthode évalue l'inhibition globale (effet combiné de l'acidification, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines). Des cultures de 18 h de chaque isolat de BAL ont été déposées en spot (5 µL) sur une gélose MRS et incubées 24 h à 30°C pour permettre le développement des colonies. Parallèlement, une

surcouche de gélose MH molle (0.7% agar) (Annexe 1.2), maintenue en surfusion à 45°C, a étéensemencée avec une culture jeune de la souche indicatrice (ajustée à 0.5 McFarland, soit environ  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL). Cette surcouche a ensuite été versée sur les boîtes contenant les spots de BAL. Après solidification, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Une activité antagoniste a été révélée par la présence d'un halo d'inhibition clair autour des spots de BAL (Bellil et al., 2014).

### **III.5.2. Méthode de diffusion en puits (Well diffusion assay) :**

Cette méthode cible spécifiquement l'activité des métabolites extracellulaires (bactériocines) indépendamment de l'effet du pH. Les cultures de BAL (18 h) ont été centrifugées (4000 rpm, 15 min, 4°C). Les surnageants ont été récupérés, et leur pH a été ajusté à une valeur neutre (pH 6.5-7.0) avec une solution de NaOH stérile. Cette étape est cruciale pour neutraliser l'effet inhibiteur des acides organiques et isoler l'activité d'autres substances, comme les bactériocines. Les surnageants neutralisés ont ensuite été stérilisés par filtration sur une membrane de 0.22 µm. Des puits (6 mm de diamètre) ont été creusés aseptiquement dans des géloses MH préalablementensemencées en nappe avec les souches indicatrices. Chaque puits a été rempli avec un volume défini de surnageant filtré (100 µL). Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. L'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits a indiqué la présence de substances inhibitrices de nature non acide (Bellil et al., 2014).

### **III.6. Évaluation du potentiel probiotique**

Une sélection de souches a été soumise à une série de tests *in vitro* pour évaluer leurs aptitudes probiotiques fondamentales.

#### **III.6.1. Résistance à l'acidité gastrique simulée :**

La tolérance à un pH acide a été évaluée selon le protocole de Bouhafs et Medjahed (2021). Les cellules d'une culture de 18 h ont été récoltées par centrifugation, lavées, puis resuspendues dans du bouillon MRS préalablement ajusté à pH 2.0. La survie a été suivie en mesurant la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre au temps T=0 et après 24 heures d'incubation à 37°C.

### III.6.2. Tolérance aux sels biliaries :

La capacité des souches à croître en présence de sels biliaries a été testée selon une méthode adaptée de Bouhafs et Medjahed (2021). Un culot cellulaire, obtenu par centrifugation (4000 rpm, 10 min) d'une culture de 18 h, a été inoculé dans un bouillon MRS supplémenté avec 0.5% (p/v) de sels biliaries (pH ajusté à 8.0). La survie et la croissance des souches ont été évaluées par mesure de la densité optique à différents intervalles de temps (T=0, 30 min, 2 h, 24 h) durant une incubation à 37°C.

### III.6.3. Activité hémolytique :

Le potentiel hémolytique, un critère de sécurité essentiel, a été évalué sur une gélose MRS additionnée de 5% de sang de mouton défibriné. Les souches ont été ensemencées en spot sur la gélose et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'activité a été interprétée comme suit (Maragoudakis et al., 2006):

- **β-hémolyse** : Halo clair et transparent autour de la colonie (hémolyse totale).
- **α-hémolyse** : Halo verdâtre autour de la colonie (hémolyse partielle).
- **γ-hémolyse** : Absence de halo (non-hémolytique).

### III.6.4. Activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH) :

Le pouvoir de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) par les métabolites extracellulaires a été évalué selon un protocole adapté de Hamida et Lahouali (2021). Le surnageant acellulaire de chaque culture a été obtenu par centrifugation (4000 rpm, 10 min). Un volume de 1 mL de ce surnageant a été mélangé à 1 mL d'une solution éthanolique de DPPH (0.2 mmol/L) (Annexe 1.3). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été lue à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition (I%) a été calculé selon la formule :

$$I(\%) = \left[ \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Où

**A contrôle** est l'absorbance de la solution de DPPH avec du bouillon MRS stérile, et **A échantillon** est l'absorbance en présence du surnageant de la souche.

# **PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION**

---

#### IV.1. Dénombrement, Isolement et Purification des Souches

Le dénombrement des bactéries lactiques (BAL) a révélé des charges microbiennes variables selon la matrice alimentaire. La concentration la plus élevée a été observée dans l'échantillon de *Lben*, avec une charge de  $9.1 \times 10^7$  UFC/mL. Les carottes fermentées ont présenté une charge de  $4.4 \times 10^6$  UFC/mL. En revanche, la charge microbienne dans l'échantillon de *Klila* était inférieure au seuil de quantification ( $<30$  colonies/mL) et donc considérée comme non significative.

À partir des boîtes de dénombrement, un total de 30 isolats a été sélectionné sur la base de morphologies coloniales distinctes. La répartition des isolats est la suivante:

- 16 souches issues du *Lben* (codées L1 à L16)
- 11 souches issues des carottes fermentées (codées C1 à C11)
- 3 souches issues de la *Klila* (codées K1 à K3)

Ces 30 souches ont été purifiées par des repiquages successifs pour être soumises aux étapes de caractérisation.

Les résultats du dénombrement confirment que les produits fermentés traditionnels de la région de Saïda hébergent des communautés de bactéries lactiques dont la densité est fortement influencée par la nature du substrat et le procédé de transformation.

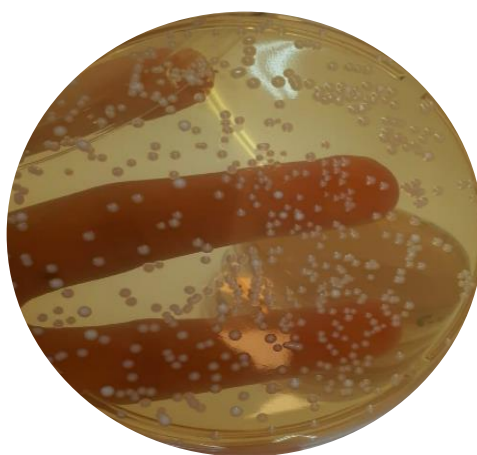
La charge microbienne élevée de  $9.1 \times 10^7$  UFC/mL dans le *Lben* est caractéristique d'une fermentation lactique active et réussie. Cette valeur, bien que légèrement inférieure à celle rapportée par El-Marrakchi et al. (1986) pour un *Lben* traditionnel marocain ( $2.9 \times 10^9$  UFC/mL), se situe dans une plage qui témoigne d'un produit riche en microflore fermentaire. La différence observée peut s'expliquer par des variations dans la matière première (lait cru), les conditions de fermentation (température, durée) ou la microflore indigène spécifique à chaque terroir.

Les carottes fermentées, avec une charge de  $4.4 \times 10^6$  UFC/mL (Figure 26), présentent une densité microbienne respectable pour un produit végétal, mais inférieure à celle du *Lben*. Cette différence est probablement due à la composition du substrat : le lait est une matrice nutritionnellement plus riche et complexe que

les carottes, offrant une plus grande disponibilité en glucides fermentescibles (lactose), en protéines et en facteurs de croissance, ce qui favorise un développement plus rapide et plus dense des BAL.

Enfin, la très faible charge microbienne dans la *Klila* (< 30 UFC/mL) est une conséquence directe de son procédé de fabrication. La production de ce fromage traditionnel implique un chauffage du *Lben* suivi d'un égouttage et d'un séchage intensif. Ces étapes entraînent une forte réduction de l'activité de l'eau (aW) et une perte du lactosérum, privant les bactéries de l'eau et des nutriments essentiels (comme le lactose) nécessaires à leur survie et à leur croissance. L'effet combiné de la chaleur, de la faible humidité et du pH acide crée un environnement bactériostatique, voire bactéricide, expliquant la faible viabilité des BAL dans le produit final.

Ces observations soulignent l'importance de la matrice alimentaire et des méthodes de transformation artisanales dans la sélection et la modulation de la densité des écosystèmes microbiens.



**Figure 26 :** Aspect des colonies de bactéries lactiques sur gélose MRS après ensemencement de la dilution  $10^{-3}$  de l'échantillon de carottes fermentées

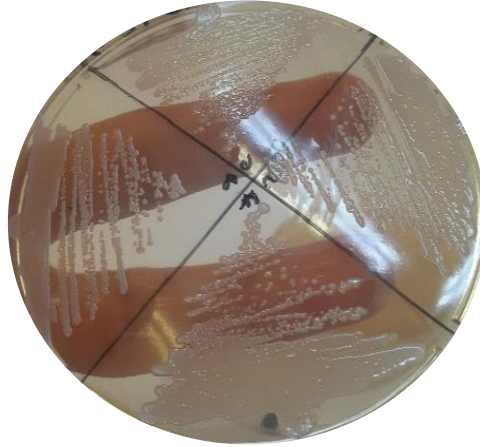
## IV.2. Caractérisation Phénotypique des Isolats

Les 30 souches purifiées ont fait l'objet d'une caractérisation phénotypique préliminaire basée sur leurs aspects macroscopique et microscopique.

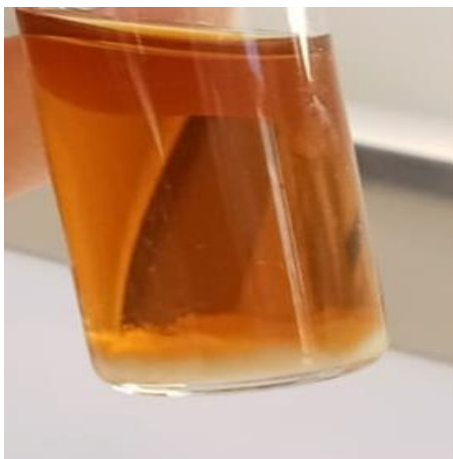
### IV.2.1. 5.2.1. Caractères macroscopiques

L'observation macroscopique des 30 isolats purifiés sur gélose MRS a révélé des colonies de petite taille, lisses, légèrement bombées, avec des contours réguliers. Leur couleur variait du blanc au beige pâle, avec un aspect translucide

ou opaque et une texture crémeuse (Figure 27). En bouillon MRS, la croissance se manifestait par un trouble homogène, parfois accompagné d'un culot cellulaire après sédimentation (Figure 28).



**Figure 27 :** Morphologies coloniales des isolats de bactéries lactiques sur gélose MRS. Exemples de colonies observées après 48h d'incubation à 30°C, montrant des variations de taille, de couleur (blanc à crème) et d'aspect (opaque, lisse)



**(a)**



**(b)**

**Figure 28:** Aspects de la croissance des bactéries lactiques en bouillon MRS. Illustration des deux types de croissance observés après 24h d'incubation : (a) formation d'un culot cellulaire après sédimentation, et (b) développement d'un trouble homogène dans le milieu.

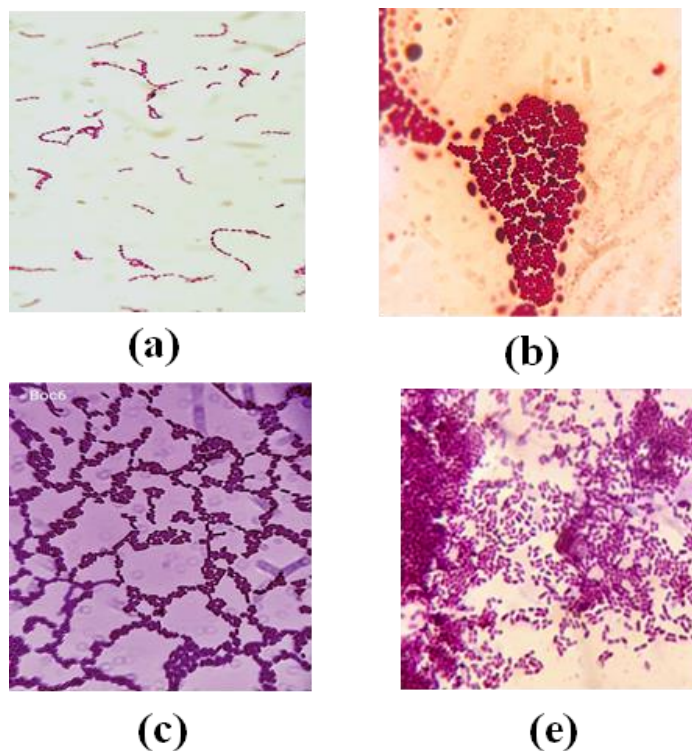
#### IV.2.2. Caractères microscopiques

L'examen microscopique après coloration de Gram a confirmé que tous les 30 isolats étaient des bactéries à Gram positif. Une diversité morphologique a été observée (Figure 29):

- Des bacilles et coccobacilles, de tailles variables.

- Des coques de forme ovoïde.

Ces cellules étaient organisées selon différents modes d'association : en paires, en chaînettes de longueurs variables, ou en amas. Aucune forme sporulée n'a été observée, et les bactéries étaient immobiles.



**Figure 29:** Diversité morphologique des isolats de bactéries lactiques après coloration de Gram. Observations au microscope optique (grossissement  $\times 1000$ ). (a) Bacilles en chaînettes (souche L7) ; (b) Coques en amas (souche K3) ; (c) Coccobacilles (souche C6) ; (e) Coques en paires (souche L1)

### IV.3. Profils Physiologiques et Biochimiques

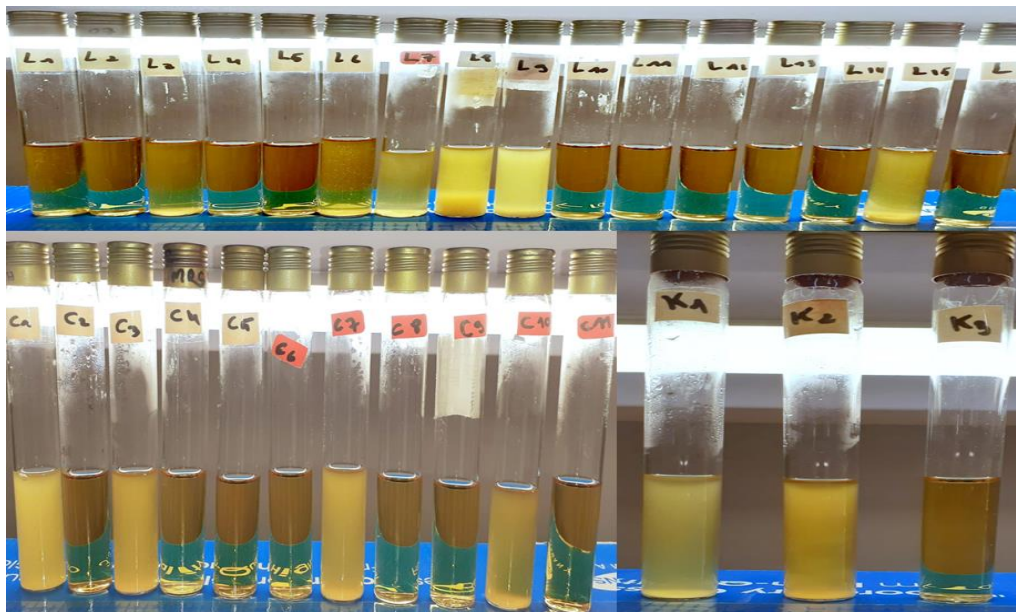
Les 30 isolats ont été soumis à une série de tests pour déterminer leurs profils physiologiques et biochimiques. Les résultats de ces tests sont synthétisés dans le Tableau 7.

**Test Catalase :** Toutes les souches examinées se sont révélées négatives pour le test de la catalase.

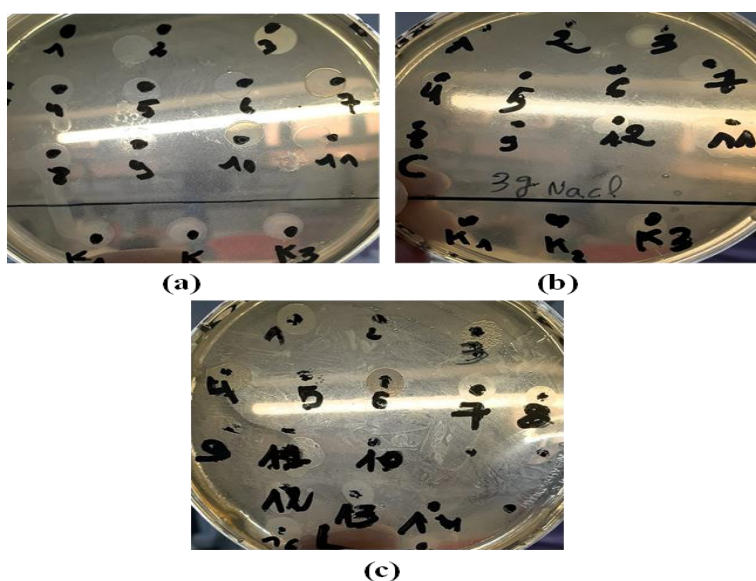
**Tolérance à la température :** Une majorité des souches (24/30) a montré une croissance à  $4^{\circ}\text{C}$  (psychrotolérance), et 20 des 30 souches ont pu croître à  $45^{\circ}\text{C}$  (thermotolérance). Le test de thermorésistance a indiqué que 12 des 30 souches ont survécu à un traitement thermique à  $63^{\circ}\text{C}$  pendant 30 minutes (Figure 30).



**Tolérance au NaCl :** Une forte proportion des isolats a démontré une bonne halotolérance, avec 25 souches croissant à 4% de NaCl et 23 souches tolérant jusqu'à 6.5% de NaCl (Figure 31).

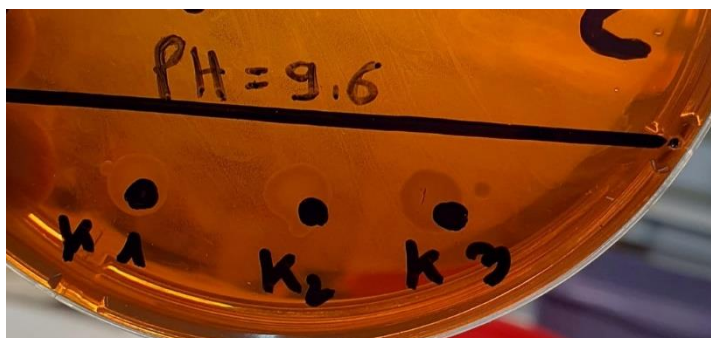


**Figure 30:** Évaluation de la thermorésistance des isolats de bactéries lactiques. La figure illustre la croissance (trouble dans les tubes) de souches ayant survécu à un traitement thermique de 63°C pendant 30 minutes, comparée à des tubes témoins sans croissance.



**Figure 31:** Test de tolérance au sel (halotolérance) des isolats de bactéries lactiques. La figure montre la croissance de plusieurs souches (spots) sur une gélose MRS supplémentées en NaCl.

**Tolérance au pH :** Dix des trente souches ont montré une capacité de croissance en milieu hyperalcalin, à un pH de 9.6 (Figure 32).

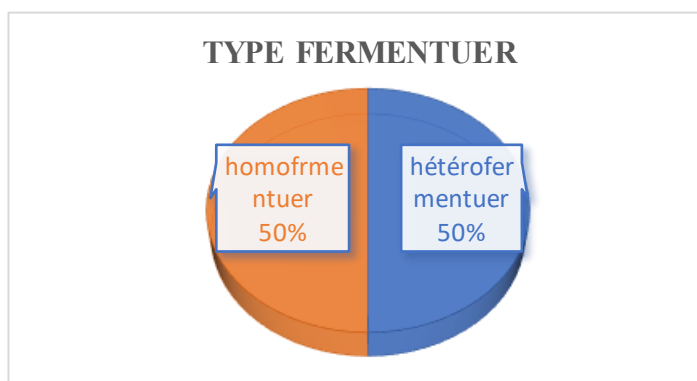


**Figure 32:** Évaluation de l'alcali-tolérance des isolats. La figure montre la croissance (spots) de souches sur une gélose MRS ajustée à un pH de 9.6 après 48h d'incubation.

**Type fermentaire :** La collection s'est avérée être composée à parts égales de souches homofermentaires (15 isolats, absence de production de gaz) et hétérofermentaires (15 isolats, production de gaz visible dans la cloche de Durham) (Figures 33 et 34).



**Figure 33:** Détermination du type fermentaire des bactéries lactiques. (C1) Aspect d'une culture homofermentaire en bouillon MRS, sans production de gaz dans la cloche de Durham. (C5) Aspect d'une culture hétérofermentaire, avec accumulation de CO<sub>2</sub> dans la cloche de Durham.



**Figure 34:** Répartition des types fermentaires au sein de la collection de 30 isolats

**Test de Sherman :** L'aptitude à réduire le bleu de méthylène a été évaluée. Les résultats ont montré que quatre souches (L7, L14, K2, K3) ont réduit le bleu de méthylène à 0.1%. D'autres souches ont montré une réduction à 0.3%, tandis que huit souches (L5, L11, L12, C1, C7, C9, C10, K1) se sont révélées sensibles au colorant (Figure 35).



**Figure 35:** Résultats du test de réduction au bleu de méthylène (Test de Sherman). La figure illustre la capacité de différentes souches à réduire le colorant à des concentrations de 0.1% et 0.3% dans le lait.

**Tableau 6 : Synthèse des Caractères Phénotypiques, Physiologiques et Biochimiques des 30 Isolats**

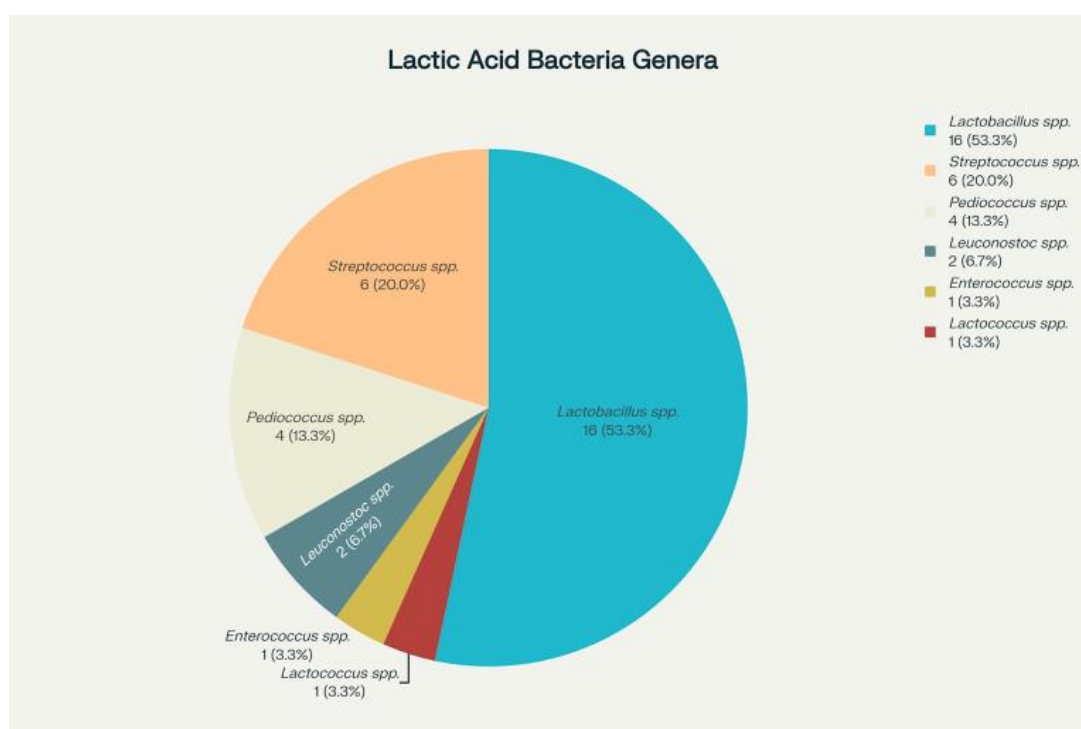
| Souche       | Forme (colonie) | Couleur (colonie) | Forme (cellule) | Regroupement   | NaCl 4% | NaCl 6.5% | pH 9.6 (24h) | pH 9.6 (48h) | Type Fermentaire  | T 45°C (48h) | T 4°C (72h) | T 63°C | Genre                     |
|--------------|-----------------|-------------------|-----------------|----------------|---------|-----------|--------------|--------------|-------------------|--------------|-------------|--------|---------------------------|
| <b>BOL1</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Coccobacille    | En amas        | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | +           | -      | <i>Leuconostoc spp.</i>   |
| <b>BOL2</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En chaînes     | -       | -         | -            | +            | Hétérofermentaire | -            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL3</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | -            | +           | +      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL4</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | En amas        | +       | +         | +            | +            | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL5</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Coccobacille    | Chaînes/amass  | +       | -         | -            | -            | Hétérofermentaire | -            | +           | -      | <i>Leuconostoc spp.</i>   |
| <b>BOL6</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | +           | +      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL7</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Cocci           | En chaînes     | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Streptococcus spp.</i> |
| <b>BOL8</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | En chaînes     | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | -           | +++    | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL9</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En chaînes     | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL10</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En amas        | -       | -         | -            | +            | Hétérofermentaire | -            | +           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL11</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | -         | -            | -            | Homofermentaire   | -            | -           | -      | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| <b>BOL12</b> | Circulaire      | Blanchâtre        | Cocci           | En amas        | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | -            | +           | -      | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| <b>BOL13</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En chaînes     | +       | +         | -            | +++          | Hétérofermentaire | -            | +           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL14</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | -       | -         | +            | +            | Homofermentaire   | -            | +           | -      | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| <b>BOL15</b> | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOL16</b> | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | En chaînes     | +       | +         | -            | -            | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC1</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | Tétrades/amass | -       | -         | -            | -            | Homofermentaire   | -            | +           | +++    | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| <b>BOC2</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En paires      | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactococcus spp.</i>   |
| <b>BOC3</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | Paires/amass   | +       | +         | -            | -            | Hétérofermentaire | +            | +           | ++     | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC4</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC5</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | -            | +++          | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC6</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | Chaînes/amass  | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | +           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC7</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Cocci           | En amas        | +       | +         | -            | -            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Streptococcus spp.</i> |
| <b>BOC8</b>  | Circulaire      | Blanchâtre        | Bacille         | En amas        | +       | +         | -            | +/-          | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOC9</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | -         | -            | -            | Homofermentaire   | -            | +           | -      | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| <b>BOC10</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | +         | -            | -            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Streptococcus spp.</i> |
| <b>BOC11</b> | Circulaire      | Beige pâle        | Bacille         | En chaînes     | +       | +         | -            | +            | Hétérofermentaire | +            | -           | -      | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <b>BOK1</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| <b>BOK2</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | +           | +++    | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| <b>BOK3</b>  | Circulaire      | Beige pâle        | Cocci           | En amas        | +       | +         | +            | +            | Homofermentaire   | +            | -           | -      | <i>Enterococcus spp.</i>  |



### IV.3.1. Profils Phénotypiques et Identification Présomptive

Les 30 isolats ont été soumis à une série de tests phénotypiques pour déterminer leurs caractéristiques et orienter leur identification. L'ensemble des résultats, incluant la morphologie, les profils de tolérance (température, NaCl, pH), le type fermentaire et l'identification présomptive du genre qui en découle.

Sur la base de ces profils, les 30 souches les plus distinctes ont été assignées à un genre présumé, révélant la présence de *Lactobacillus* spp. : 16 souches, *Streptococcus* spp. : 6 souches, *Pediococcus* spp. : 4 souches, *Leuconostoc* spp. : 2 souches, *Enterococcus* spp. : 1 souche, *Lactococcus* spp. : 1 souche (Figure 36).



**Figure 36:** Distribution des genres de bactéries lactiques identifiés dans l'étude (n=30 souches)

### IV.3.2. Analyse Intégrée des Profils Phénotypiques et de l'Identification Présomptive

L'analyse combinée des résultats phénotypiques permet une discussion approfondie de la diversité microbienne de notre collection et valide la démarche d'identification présomptive.

#### **IV.3.2.1. Genre *Lactobacillus***

Le genre *Lactobacillus* (au sens large, pré-réforme de 2020) est le plus représenté, avec 17 souches sur 30. Cette prédominance est cohérente avec leur ubiquité dans les produits fermentés. L'identification de ces souches s'appuie principalement sur leur morphologie caractéristique en bacilles, critère fondamental pour la distinction de ce genre (De Vos et al., 2009 ; Zheng et al., 2020). Cette morphologie bacillaire, observée systématiquement chez ces 17 souches, confirme leur appartenance présomptive à ce groupe (Kandler et Weiss, 1986). La diversité métabolique au sein de ce groupe est remarquable : 11 souches présentent un métabolisme hétérofermentaire et 6 sont homofermentaires. Cette hétérogénéité reflète parfaitement la complexité de l'ancien genre *Lactobacillus*, qui a depuis été scindé en 25 genres pour mieux correspondre à ces différences métaboliques et phylogénétiques (Zheng et al., 2020; Gänzle, 2015). La tolérance physiologique de ces souches est également variée : la capacité de 11 d'entre elles à croître à 45°C suggère la présence d'espèces thermophiles (ex: *Lactobacillus helveticus*), tandis que leur tolérance variable au sel et au pH témoigne de leur grande adaptabilité écologique (Papadimitriou et al., 2016).

#### **IV.3.2.2. Genre *Leuconostoc***

L'identification des deux souches (L1, L5) appartenant au genre *Leuconostoc* repose sur des caractéristiques hautement distinctives. Leur morphologie cellulaire en coccobacilles est un critère déterminant, cette forme intermédiaire étant une signature du genre (De Vos et al., 2009). De plus, leur métabolisme est strictement hétérofermentaire, ce qui constitue un critère décisif pour leur identification et les différencie des coques homofermentaires (Björkroth & Holzapfel, 2006 ; Gänzle, 2015). Cette combinaison de la morphologie et du métabolisme permet de les distinguer clairement des autres genres de bactéries lactiques.

#### **IV.3.2.3. Genre *Pediococcus***

Quatre souches (L11, L12, C1, C9) ont été identifiées comme appartenant au genre *Pediococcus*. Cette identification s'appuie sur leur morphologie en coques et, pour la souche C1, sur l'arrangement cellulaire en tétrades, qui est le critère le plus distinctif de ce genre (De Vos et al., 2009). Les cellules de

*Pediococcus* se divisant dans deux plans perpendiculaires, elles forment ces tétrades caractéristiques (Simpson & Taguchi, 1995). Leur métabolisme strictement homofermentaire est un autre critère fondamental, correspondant au profil attendu pour ce genre qui fermente les glucides via la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (Gänzle, 2015).

#### **IV.3.2.4. Genre *Streptococcus***

L'identification des trois souches (L7, C7, C10) comme appartenant au genre *Streptococcus* repose sur leur morphologie en coques disposées en chaînes et leur métabolisme homofermentaire. La capacité de ces trois souches à croître à 45°C est un critère discriminant qui suggère fortement leur appartenance à l'espèce *Streptococcus thermophilus*, une espèce thermophile d'une importance capitale dans l'industrie laitière (Hols et al., 2019 ; De Vos et al., 2009).

#### **IV.3.2.5. Genre *Enterococcus***

Les quatre souches (L14, K1, K2, K3) identifiées comme *Enterococcus* se distinguent par leur robustesse exceptionnelle. Leur capacité à croître à pH 9.6 est un critère hautement discriminant pour ce genre (Sherman, 1937 ; Gilmore et al., 2002). Cette alcali-tolérance, combinée à leur morphologie de coque, leur métabolisme homofermentaire et, pour la plupart, leur thermorésistance, est la signature de ce genre connu pour son adaptation à des environnements difficiles (Fisher & Phillips, 2009). Il est à noter que toutes les souches isolées de la *Klila* appartiennent à ce genre, ce qui est cohérent avec le procédé de fabrication de ce fromage (chauffage, séchage) qui sélectionne les microorganismes les plus résistants.

#### **IV.3.2.6. Genre *Lactococcus***

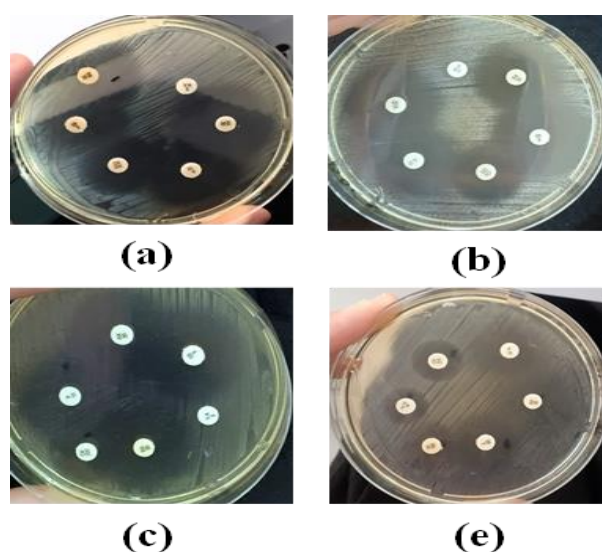
L'identification de la souche C2 comme appartenant au genre *Lactococcus* illustre la complexité de l'identification phénotypique. Bien que les lactocoques soient typiquement homofermentaires, le profil hétérofermentaire observé pour C2 n'est pas nécessairement une contradiction. En effet, il est documenté que des conditions de culture spécifiques, comme une limitation en substrat, peuvent induire un métabolisme mixte chez des souches de *Lactococcus lactis* (Thomas et al., 1979 ; Coccagn-Bousquet et al., 1995). Sa morphologie bacillaire peut aussi

correspondre à des formes de cocci allongés ou ovoïdes parfois observées chez ce genre (Guedon et al., 2008).

En conclusion, l'analyse phénotypique a révélé une biodiversité remarquable, avec une bonne corrélation entre les profils observés et les caractéristiques connues des genres identifiés. Ces résultats soulignent la richesse des produits fermentés traditionnels algériens comme source de souches variées et technologiquement intéressantes.

#### IV.4. Profil de Sensibilité aux Antibiotiques

Le profil de sensibilité des isolats vis-à-vis de six antibiotiques a été déterminé par la méthode de diffusion sur disque (Figure 36). L'analyse des diamètres d'inhibition a permis de distinguer plusieurs profils de résistance au sein de la collection. L'interprétation des diamètres de zones d'inhibition a été réalisée selon les critères discriminants du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-35ème édition pour les bactéries à Gram positif. Les breakpoints ont été adaptés selon le genre bactérien identifié, en tenant compte des spécificités physiologiques de chaque groupe de bactéries lactiques (Les diamètres des zones d'inhibitions sont résumés dans l'Annexe 2. Les résultats sont représentés dans le tableau 7.



**Figure 37:** Profils de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur disque. Exemples de zones d'inhibition claires autour des disques d'antibiotiques pour les souches L13 (a), C3 (b), L16 (c) et L14 (e), illustrant des sensibilités variables.



**Tableau 7 :** Profils phénotypiques, physiologiques et antibiogramme des souches de bactéries lactiques isolées de produits artisanaux (n=29)

| Souche | Genre                     | VA | AX | P | E | CN | RA |
|--------|---------------------------|----|----|---|---|----|----|
| BOL2   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL3   | <i>Lactobacillus spp.</i> | S  | S  | S | S | S  | R  |
| BOL4   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL5   | <i>Leuconostoc spp.</i>   | R  | R  | R | R | R  | R  |
| BOL6   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | R  | R | R | S  | R  |
| BOL7   | <i>Streptococcus spp.</i> | S  | R  | R | R | S  | S  |
| BOL8   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | R  | R | R | R  | R  |
| BOL9   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | R  | R  |
| BOL10  | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL11  | <i>Pediococcus spp.</i>   | R  | R  | R | R | R  | R  |
| BOL12  | <i>Pediococcus spp.</i>   | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL13  | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL14  | <i>Enterococcus spp.</i>  | I  | S  | S | I | S  | I  |
| BOL15  | <i>Lactobacillus spp.</i> | S  | S  | S | S | S  | S  |
| BOL16  | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | I  |
| BOC1   | <i>Pediococcus spp.</i>   | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC2   | <i>Lactococcus spp.</i>   | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC3   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC4   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | R  | R | R | R  | R  |
| BOC5   | <i>Lactobacillus spp.</i> | S  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC6   | <i>Lactobacillus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC7   | <i>Streptococcus spp.</i> | R  | S  | I | S | S  | S  |
| BOC8   | <i>Lactobacillus spp.</i> | S  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC9   | <i>Pediococcus spp.</i>   | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC10  | <i>Streptococcus spp.</i> | R  | S  | S | S | S  | S  |
| BOC11  | <i>Lactobacillus spp.</i> | S  | S  | S | S | S  | S  |
| BOK1   | <i>Enterococcus spp.</i>  | S  | S  | R | S | S  | I  |
| BOK2   | <i>Enterococcus spp.</i>  | S  | R  | S | R | S  | S  |
| BOK3   | <i>Enterococcus spp.</i>  | S  | S  | S | R | S  | S  |

**Légende :** S = Sensible, I = Intermédiaire, R = Résistant

**Antibiotiques :** VA = Vancomycine, AX = Ampicilline, P = Pénicilline G, E = Érythromycine, CN = Gentamicine, RA = Rifampicine

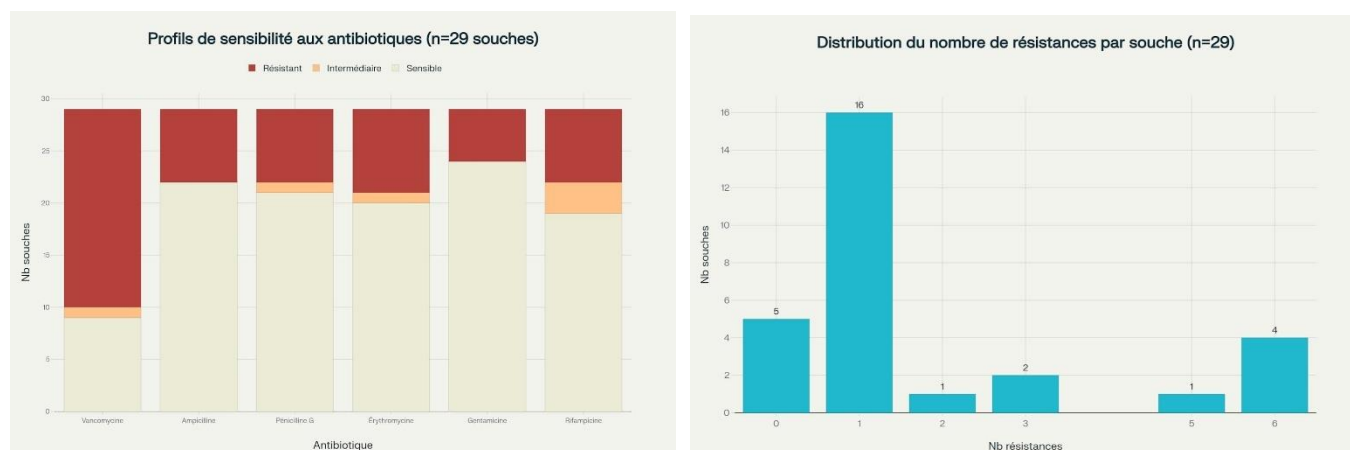
#### IV.4.1. Distribution générale des résistances

L'analyse des 29 souches de bactéries lactiques isolées de produits fermentés de la région de Saïda révèle des profils de sensibilité variables selon l'antibiotique testé. La vancomycine présente le taux de résistance le plus élevé avec 65,5% des souches résistantes (19/29), ce qui correspond aux résistances intrinsèques connues chez certains genres de bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus* et *Leuconostoc*.

La gentamicine montre la meilleure activité avec 82,8% de souches sensibles (24/29), suivie de l'ampicilline avec 75,9% de sensibilité (22/29). Ces résultats sont cohérents avec les profils attendus pour les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie alimentaire.

#### IV.4.2. Profils de multirésistance

L'analyse de la distribution du nombre de résistances par souche montre une hétérogénéité importante dans les profils de résistance. La majorité des souches (16/29, soit 55,2%) présente une monorésistance, principalement à la vancomycine, tandis que 5 souches (17,2%) sont sensibles à tous les antibiotiques testés (Figure 37).



**Figure 38 :** Profil de multirésistance de la collection d'isolats : Distribution du nombre de résistances par souche. Le diagramme en barres représente le nombre d'isolats de bactéries lactiques (n=29 au total) résistants à un nombre donné d'antibiotiques, allant de 0 (pan-sensible) à 6. La multirésistance est définie ici par une résistance à trois antibiotiques ou plus ( $\geq 3$ ).

Sept souches présentent une multirésistance ( $\geq 3$  antibiotiques), ce qui représente 24,1% de la collection étudiée. Les souches BOL5, BOL8, BOL11 et BOC4 montrent une résistance complète aux six antibiotiques testés, nécessitant une attention particulière pour leur utilisation potentielle.

#### IV.4.3. Analyse par genre bactérien

##### IV.4.3.1. Genre *Lactobacillus* (14 isolats)

**Profil de référence :** Le genre *Lactobacillus* possède des schémas de **résistance intrinsèque** bien connus. La résistance à la vancomycine (VA) est quasi universelle et ne résulte pas d'un gène acquis mais d'une structure de paroi cellulaire distincte (précurseur se terminant par D-Ala-D-Lactate), qui empêche la fixation de l'antibiotique (Zhang et al., 2018; Becker & Stogios, 2020). De plus, une résistance intrinsèque aux aminosides comme la gentamicine (CN) est fréquente, en raison d'un transport actif inefficace chez ces bactéries anaérobies

facultatives (Campedelli et al., 2019). Inversement, une sensibilité aux bêta-lactamines (amoxicilline, pénicilline) et aux macrolides (érythromycine) est attendue, et la résistance à ces derniers est une préoccupation majeure car elle suggère fortement un mécanisme acquis (Klare et al., 2007).

#### **Interprétation des profils d'isolats :**

**Profils attendus « sûrs » :** Un large sous-ensemble d'isolats (*BOL2*, *BOL4*, *BOL10*, *BOL13*, *BOC3*, *BOC6*) présente un profil classique à faible risque : résistants à la vancomycine mais sensibles aux autres antibiotiques. D'autres (*BOL15*, *BOC5*, *BOC8*, *BOC11*) sont sensibles à tous les antibiotiques testés, y compris la vancomycine, ce qui, bien que moins courant, représente un profil de sécurité encore plus élevé.

**Profils avec résistance acquise potentielle :** Les isolats *BOL3* et *BOL9* (résistants à la rifampicine) et *BOL16* (résistance intermédiaire) s'écartent du profil intrinsèque, suggérant l'acquisition potentielle de mécanismes de résistance.

**Profils multirésistants (MDR) très préoccupants :** Trois isolats présentent une résistance alarmante. La souche *BOL6* (résistante à 5 antibiotiques) et surtout les souches *BOL8* et *BOC4* (résistantes aux 6 antibiotiques) sont des cas extrêmes.

La distinction nette entre les souches "sûres" et les souches MDR est frappante. La pan-résistance observée pour *BOL8* et *BOC4* ne peut s'expliquer par des mutations indépendantes. Elle suggère fortement l'acquisition d'éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) portant de multiples gènes de résistance. Ces souches sont donc totalement impropres à une application alimentaire ou probiotique et constituent une préoccupation écologique majeure.

#### **IV.4.3.2. Genre *Pediococcus* (4 isolats)**

**Profil de référence :** Le genre *Pediococcus* partage le même profil de résistance intrinsèque que *Lactobacillus*, notamment la résistance à la vancomycine (VA) due à la même structure de précurseur de paroi D-Ala-D-Lac et une résistance fréquente aux aminosides (Danielsen & Nielsen, 2007; D'Aimmo et al., 2007).

**Interprétation des profils d'isolats :**

**Profils attendus « sûrs » :** Trois des quatre isolats (*BOL12*, *BOC1*, *BOC9*) correspondent parfaitement au profil de résistance intrinsèque attendu (résistants à la vancomycine, sensibles aux autres antibiotiques) et sont donc considérés comme sûrs de ce point de vue.

**Profil pan-résistant extrêmement préoccupant :** En contraste, l'isolat *BOL11* est résistant aux six antibiotiques.

Ce résultat illustre l'importance cruciale d'une caractérisation au niveau de la souche. La présence d'un isolat pan-résistant aux côtés de souches "sûres" du même genre montre qu'aucune hypothèse de sécurité ne peut être faite sur la seule base de l'identification du genre. Le profil de *BOL11* indique l'acquisition d'un arsenal de gènes de résistance et représente un risque biologique significatif.

**IV.4.3.3. Genre *Leuconostoc* (1 isolat)**

**Profil de référence :** Les *Leuconostoc* sont également intrinsèquement résistants à la vancomycine mais généralement sensibles aux autres antibiotiques comme l'ampicilline ou l'érythromycine (Swenson et al., 1990).

**Interprétation du profil de l'isolat :**

**Profil pan-résistant extrêmement préoccupant :** Le seul isolat de ce genre, *BOL5*, est résistant aux six antibiotiques testés.

Cette découverte, bien que portant sur un seul isolat, est très préoccupante. Mise en contexte avec les souches pan-résistantes de *Pediococcus* (*BOL11*) et multirésistantes de *Lactobacillus* (*BOL8*, *BOC4*), elle suggère une circulation de mécanismes de résistance puissants au sein des environnements d'échantillonnage. L'explication la plus probable est le **transfert horizontal de gènes** via des éléments génétiques mobiles entre ces différents genres. Plusieurs études ont démontré que les écosystèmes alimentaires complexes peuvent fonctionner comme des "**points chauds**" (*hotspots*) pour le transfert de gènes de résistance (Devirgiliis et al., 2013).

#### IV.4.3.4. Genre *Streptococcus* (3 isolats)

**Profil de référence :** Contrairement aux genres précédents, les *Streptococcus* d'intérêt alimentaire, comme *S. thermophilus*, sont typiquement sensibles à la vancomycine et à la pénicilline (Hanchi et al., 2018). La résistance à la vancomycine est extrêmement rare et cliniquement alarmante.

**Interprétation des profils d'isolats :** Les trois isolats présentent des profils très problématiques.

- *BOL7* est résistant aux bêta-lactamines et à l'érythromycine.
- *BOC7* et *BOC10* sont résistants à la vancomycine.

La résistance à la vancomycine chez *BOC7* et *BOC10* est la découverte la plus cliniquement significative de l'étude. Ce résultat est si anormal pour des streptocoques alimentaires qu'il soulève deux hypothèses : 1) il s'agit de véritables *Streptococcus* résistants à la vancomycine, une découverte majeure (Maruyama et al., 2015) ; 2) il s'agit d'une **erreur d'identification présomptive**, et ces souches pourraient en réalité être des *Enterococcus*, qui sont morphologiquement similaires mais souvent résistants à la vancomycine. Une **re-vérification par des méthodes moléculaires (séquençage de l'ARNr 16S)** est donc indispensable.

#### IV.4.3.5. Genre *Enterococcus* (4 isolats)

**Profil de référence :** Le genre *Enterococcus* est connu pour sa robustesse et ses multiples résistances, intrinsèques et acquises, ce qui en fait un genre à surveiller de près dans la chaîne alimentaire (Hammad et al., 2015).

**Interprétation des profils d'isolats :** Comme attendu, les quatre isolats montrent des profils de résistance variables et complexes. La présence de résistances intermédiaires (I), notamment à la vancomycine pour *BOL14*, souligne la nécessité d'une analyse quantitative par la détermination de la **Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)** pour évaluer précisément le niveau de résistance.

#### IV.4.3.6. Genre *Lactococcus* (1 isolat)

**Profil de référence :** La sensibilité des *Lactococcus* à la vancomycine est variable, bien que de nombreuses souches de *Lactococcus lactis* soient sensibles. Des cas de résistance ont cependant été documentés (Gfeller et al., 2003).

**Interprétation du profil de l'isolat :** L'isolat *BOC2* est résistant à la vancomycine mais sensible aux cinq autres antibiotiques. Ce profil est identique au profil de résistance intrinsèque "sûr" observé chez de nombreux *Lactobacillus* et *Pediococcus*, ce qui suggère fortement que cet isolat de *Lactococcus* pourrait également posséder un mécanisme de résistance intrinsèque, le rendant probablement sûr de ce point de vue.

#### **IV.4.4. Sécurité d'usage et applications biotechnologiques**

Les souches présentant des profils de sensibilité favorables (sensibles à  $\geq 4$  antibiotiques) représentent 75,9% de la collection (22/29 souches). Ces souches sont candidates pour des applications probiotiques ou de fermentation alimentaire selon les recommandations EFSA.

Les souches multirésistantes (7/29) nécessitent des investigations moléculaires complémentaires pour identifier les mécanismes de résistance avant toute utilisation industrielle.

#### **IV.5. Activité Antagoniste par la Méthode de la Double Couche (Spot-on-lawn)**

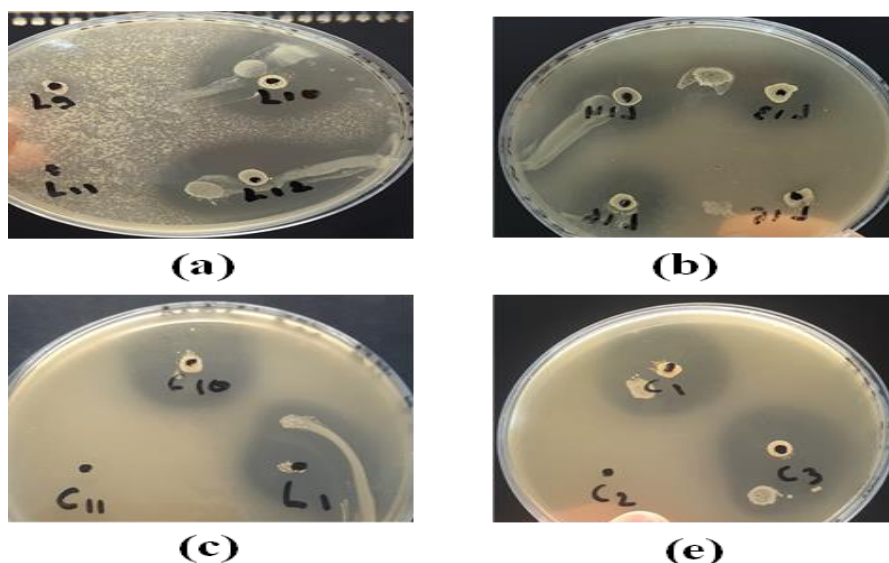
L'activité antimicrobienne des 30 isolats a été évaluée contre six souches :

- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 25921.
- Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae*.

Les diamètres des zones d'inhibition (en mm), présentés dans le Tableau 8, révèlent une grande diversité de profils d'inhibition.

**Souches à activité très large et puissante :** Quatre souches se distinguent par leur capacité à inhiber les six pathogènes testés avec des zones d'inhibition remarquables. Les souches **C7** et **C9**, isolées des carottes, sont les plus performantes, avec des diamètres atteignant 37 mm contre *E. coli*. Les souches **L6** et **C10** montrent également un spectre d'inhibition complet et puissant (Figure 39).

**Souches à activité large :** Neuf autres souches (L1, L2, L3, L7, L10, L12, L13, L14, L16) ont inhibé au moins quatre des six souches cibles, démontrant une activité antagoniste significative mais légèrement moins étendue que le premier groupe.



**Figure 39:** Évaluation de l'activité inhibitrice globale des isolats par la méthode de la double couche (Spot-on-lawn). La figure montre les halos d'inhibition clairs formés par des isolats de bactéries lactiques (spots centraux) contre une culture de bactérie indicatrice

**Souches à activité limitée ou spécifique :** Huit souches ont montré une activité plus restreinte, n'inhibant qu'une ou deux souches pathogènes, souvent avec des diamètres plus faibles.

**Souches inactives :** Neuf isolats n'ont présenté aucune activité inhibitrice détectable contre aucune des six souches pathogènes dans les conditions de ce test.

#### IV.6. Analyse Approfondie de l'Activité Antagoniste et du Potentiel de Bioconservation

L'analyse détaillée des profils d'inhibition confirme que les produits fermentés traditionnels de la région de Saïda sont un réservoir de bactéries lactiques dotées d'un potentiel antimicrobien puissant et diversifié.

**Interprétation des spectres d'activité :** L'efficacité de nos isolats contre les pathogènes **Gram-positifs** (*S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*) est un résultat attendu. Les bactéries lactiques sont connues pour produire un arsenal de composés (acides organiques, bactériocines de type nisine ou pédiocine) qui sont

particulièrement efficaces contre ces bactéries dont la paroi est plus perméable (De Vuyst & Leroy, 2007). Les larges zones d'inhibition observées, par exemple pour la souche C9 contre *B. subtilis* (34 mm), sont comparables, voire supérieures, à celles rapportées dans d'autres études pour des souches sélectionnées de *Lactobacillus* (Acurcio et al., 2014).

**Tableau 8:** Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches lactiques contre six pathogènes indicateurs

| Souche | <i>B. cereus</i> | <i>E. coli</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> |
|--------|------------------|----------------|----------------------|--------------------|------------------|
| L1     | 27               | 27             | 21                   | 29                 | 16               |
| L2     | 34               | 0              | 28                   | 29                 | 34               |
| L3     | 30               | 0              | 30                   | 32                 | 21               |
| L4     | 33               | 0              | 29                   | 27                 | 29               |
| L5     | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| L6     | 35               | 34             | 28                   | 34                 | 23               |
| L7     | 32               | 32             | 27                   | 32                 | 19               |
| L8     | 21               | 0              | 18                   | 0                  | 0                |
| L9     | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| L10    | 30               | 29             | 25                   | 26                 | 19               |
| L11    | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| L12    | 31               | 30             | 25                   | 27                 | 17               |
| L13    | 20               | 32             | 0                    | 27                 | 24               |
| L14    | 22               | 30             | 26                   | 30                 | 25               |
| L15    | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| L16    | 21               | 32             | 28                   | 26                 | 20               |
| C1     | 30               | 32             | 33                   | 26                 | 13               |
| C2     | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| C3     | 32               | 27             | 31                   | 23                 | 15               |
| C4     | 0                | 0              | 12                   | 0                  | 0                |
| C5     | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| C6     | 16               | 0              | 16                   | 22                 | 0                |
| C7     | 32               | 37             | 30                   | 33                 | 26               |
| C8     | 0                | 11             | 0                    | 0                  | 0                |
| C9     | 34               | 37             | 26                   | 34                 | 25               |
| C10    | 36               | 34             | 29                   | 29                 | 24               |
| C11    | 0                | 0              | 0                    | 0                  | 0                |
| K1     | 0                | 15             | 10                   | 13                 | 9                |
| K2     | 0                | 11             | 10                   | 14                 | 13               |
| K3     | 12               | 16             | 10                   | 15                 | 15               |

Le résultat le plus marquant de notre étude est cependant l'**excellente activité observée contre les bactéries Gram-négatives**, notamment *E. coli* et *K. pneumoniae*. L'inhibition de ces pathogènes par des BAL est généralement plus difficile à obtenir en raison de leur membrane externe qui agit comme une barrière protectrice. Les diamètres d'inhibition exceptionnels de 37 mm obtenus pour les souches **C7 et C9** contre *E. coli* sont rares et suggèrent un mécanisme d'action particulièrement puissant. Cette forte activité pourrait être due à une



production très élevée d'acides organiques capables de déstabiliser la membrane externe, ou à la production de composés spécifiques (bactériocines à large spectre, autres métabolites) capables de franchir cette barrière (Gao et al., 2019).

**Identification des souches "élites" et lien avec l'origine :** Les souches **C7** et **C9**, issues des carottes fermentées, émergent comme des candidates "élites" pour la bioconservation. Leur capacité à inhiber fortement tous les pathogènes testés, y compris les plus résistants, est un atout majeur. Il est possible que l'environnement de la fermentation végétale, plus ouvert et sujet à une plus grande compétition microbienne que le lait, favorise la sélection de souches dotées de mécanismes de défense plus robustes et plus variés.

**Analyse des souches inactives et de la spécificité :** L'absence d'activité chez neuf de nos isolats est une observation importante qui rappelle que la production de substances antimicrobiennes est une **caractéristique souche-dépendante**. Toutes les bactéries lactiques ne sont pas de bonnes productrices. De plus, l'activité est aussi dépendante de la souche cible ; un pathogène peut posséder des mécanismes de résistance spécifiques qui le rendent insensible aux métabolites produits par un isolat donné.

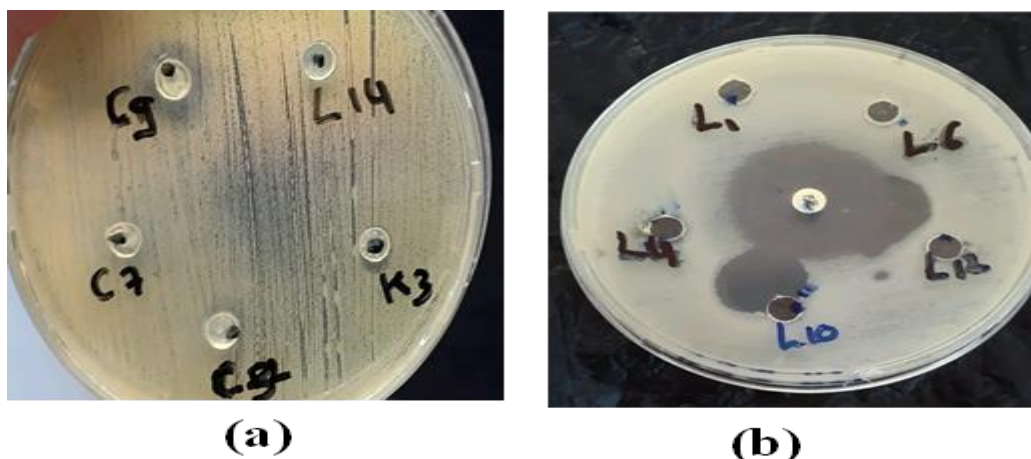
En conclusion, la méthode "spot-on-lawn" a permis d'identifier un groupe de souches très performantes, avec un potentiel antimicrobien remarquable, en particulier contre les pathogènes Gram-négatifs. Les souches **C7** et **C9** se distinguent comme des candidats exceptionnels pour des études plus approfondies visant à caractériser leurs molécules actives et à les développer comme agents de bioconservation naturels.

#### **IV.7. Méthode par diffusion des métabolites (Well diffusion assay)**

L'activité des surnageants acellulaires a été évaluée par la méthode de diffusion en puits. Après plusieurs essais visant à optimiser le protocole, les résultats ont montré une activité inhibitrice globalement faible mais spécifique.

Les zones d'inhibition les plus notables ont été observées pour les souches **C9**, **C3**, et **C7** contre *Escherichia coli*. D'autres inhibitions, plus modestes, ont été détectées pour les souches **L1**, **L10**, **L12**, **L13**, **L14**, **L16** et **K3** contre les pathogènes Gram-positifs comme *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus cereus*

(Figure 40). Il a été noté que ces zones d'inhibition étaient systématiquement plus petites que celles obtenues avec les disques d'antibiotiques utilisés comme témoins positifs.



**Figure 40:** Recherche de substances inhibitrices extracellulaires par la méthode de diffusion en puits envers (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Bacillus cereus*.

Le contraste frappant entre les résultats de la méthode "spot-on-lawn" (forte inhibition) et ceux de la méthode de diffusion en puits (inhibition faible ou nulle) est scientifiquement très instructif. Il permet de formuler des hypothèses sur la nature des substances antimicrobiennes produites par nos isolats.

La méthode "spot-on-lawn" mesure un effet global où l'**acidification** joue un rôle majeur. La méthode de diffusion en puits, en revanche, est conçue pour détecter l'activité de métabolites diffusibles, et est particulièrement utilisée pour la recherche de **bactériocines**. Pour que ce test soit valide, il est impératif de **neutraliser le pH du surnageant** avant de le tester. Cette étape cruciale, qui semble avoir été omise dans le protocole initial, permet d'éliminer l'effet inhibiteur des acides organiques et de révéler l'activité spécifique des autres composés (Todorov & Dicks, 2005).

Dans cette optique, les faibles zones d'inhibition que nous avons observées pour certaines souches (C9, C3, C7, etc.) ne doivent pas être sous-estimées. Au contraire, elles sont très significatives. Elles suggèrent que ces souches produisent bien des **substances inhibitrices de nature non-acide**, très probablement des peptides de type bactériocine. Le fait que l'activité soit faible s'explique par plusieurs facteurs bien connus : la concentration de ces bactériocines dans un

surnageant de culture brut est souvent très faible, et leur diffusion dans la gélose peut être limitée (Yang et al., 2014).

Les difficultés expérimentales que nous avons rencontrées (vitesse de centrifugation, température, remplissage des puits) sont des défis classiques de ce type de criblage. Notre démarche itérative pour corriger le protocole et l'ajout de témoins positifs (disques d'antibiotiques) pour valider la technique sont des marques de bonne pratique expérimentale. La comparaison avec les antibiotiques, qui sont des molécules pures et concentrées, confirme logiquement que l'effet d'un surnageant brut sera toujours plus modeste.

En conclusion, bien que l'acidification soit le principal mécanisme d'inhibition pour la majorité de vos souches, les résultats de la méthode de diffusion en puits, malgré leur faible intensité, apportent une preuve préliminaire solide que plusieurs de vos isolats, notamment **C3, C7 et C9**, sont des producteurs potentiels de bactériocines. Cette découverte ouvre des perspectives de recherche très intéressantes, comme l'optimisation des conditions de production, la concentration des surnageants et la caractérisation biochimique de ces molécules pour confirmer leur nature protéique.

#### **IV.8. Évaluation du Potentiel Probiotique *in vitro***

Dix souches, sélectionnées pour leur activité antagoniste, ont été évaluées pour leurs aptitudes probiotiques fondamentales. Les résultats sont synthétisés dans le Tableau 10.

##### **IV.8.1. Résistance aux conditions gastro-intestinales simulées**

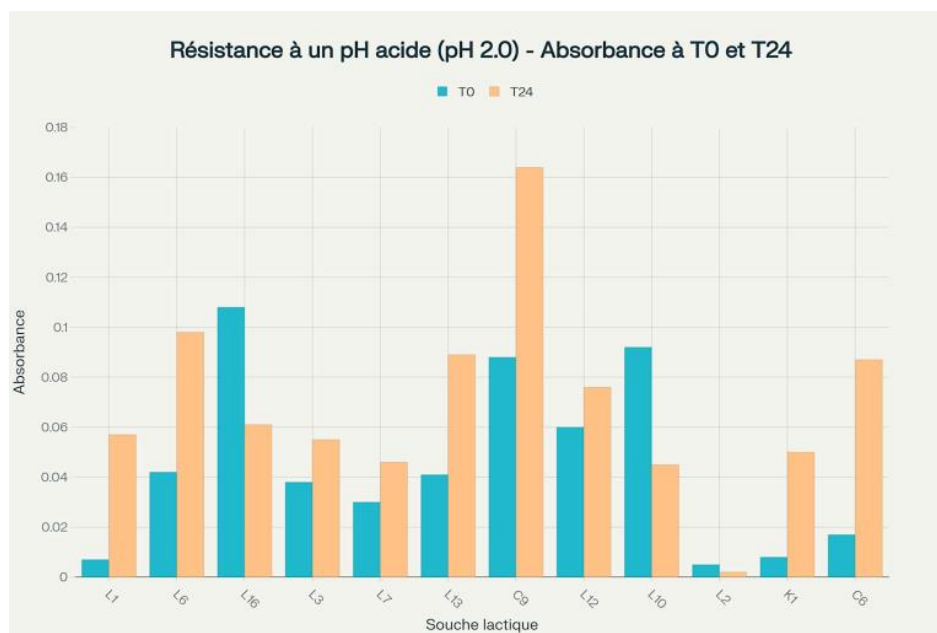
###### **IV.8.1.1. Résistance à un pH acide (pH 2.0) :**

Après 24 heures d'incubation à pH 2.0, toutes les 10 souches ont montré une survie, indiquée par une densité optique (DO) supérieure au témoin. Plusieurs souches, comme L6 et C9, ont même présenté une augmentation de leur DO par rapport à T0, suggérant une capacité de croissance malgré le stress acide (Figure 41).

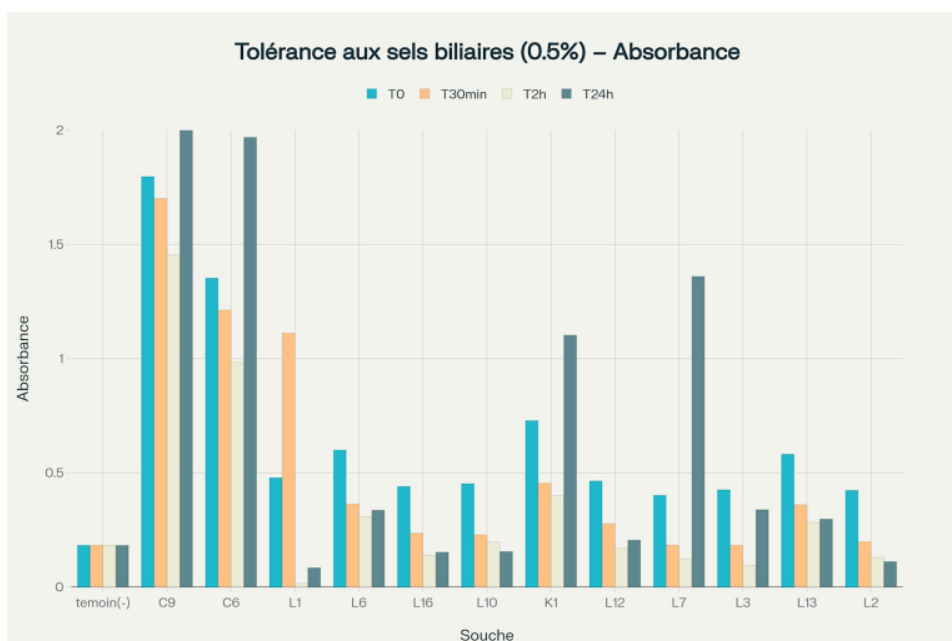
###### **IV.8.1.1. Tolérance aux sels biliaires (0.5%) :**

L'exposition à 0.5% de sels biliaires a induit un stress initial pour la plupart des souches, visible par une diminution de la DO après 30 minutes et 2 heures.

Cependant, après 24 heures, plusieurs souches, notamment C9, L16 et K1, ont montré une reprise de croissance significative, avec une DO finale supérieure à la DO initiale, indiquant une adaptation réussie (Figure 42).



**Figure 41:** Cinétique de croissance des souches lactiques à pH 2.0. Le graphique montre l'évolution de la densité optique (DO 600 nm) des cultures bactériennes après 24 heures d'incubation en milieu acide, comparée à la DO initiale (T0).



**Figure 42:** Cinétique de tolérance aux sels biliars (0.5%). Le graphique illustre l'évolution de la densité optique (DO 600 nm) des souches lactiques au cours du temps (0, 30 min, 2h, 24h) en présence de sels biliars.

#### IV.8.1.2. Activité hémolytique

Le test de sécurité sur gélose au sang a révélé les profils suivants (Figure 43) :

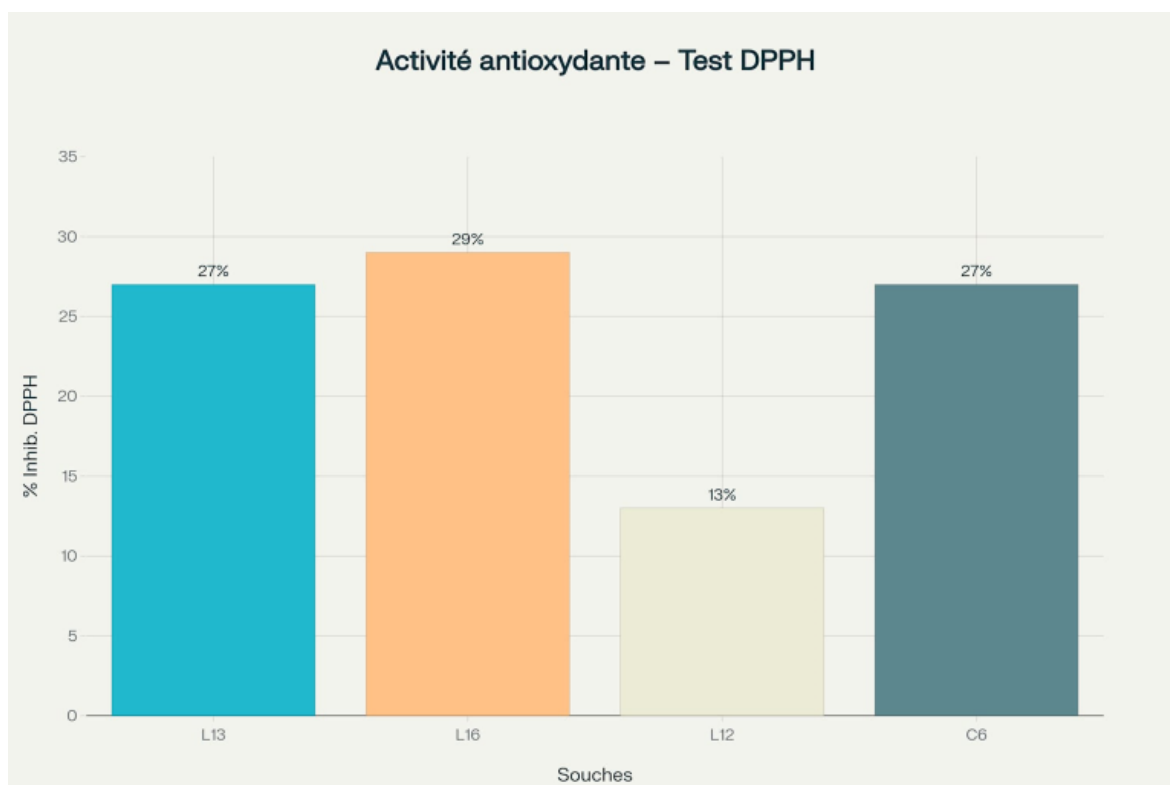
- **$\gamma$ -hémolyse (non-hémolytique):** 4 souches (L1, L6, L7, L12) n'ont montré aucune zone d'hémolyse.
- **$\alpha$ -hémolyse (hémolyse partielle):** 2 souches (L10, C3) ont présenté une hémolyse partielle, caractérisée par un halo verdâtre.
- **$\beta$ -hémolyse (hémolyse totale):** 3 souches (C7, C9, K3) ont montré une hémolyse complète (une souche n'a pas été testée ou résultat non concluant).



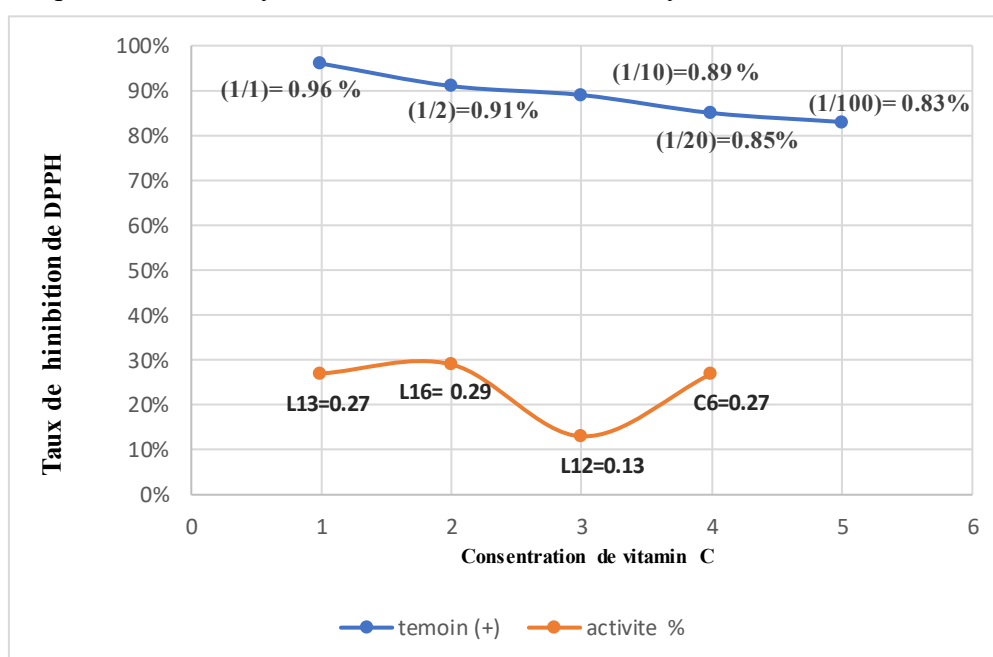
**Figure 43:** Évaluation de l'activité hémolytique sur gélose au sang. La figure présente les différents types d'hémolyse observés :  $\gamma$ -hémolyse (absence de halo),  $\alpha$ -hémolyse (halo verdâtre partiel) et  $\beta$ -hémolyse (halo clair total)

#### IV.8.1.3. Activité antioxydante

L'activité de piégeage du radical libre DPPH a été évaluée sur les surnageants de culture. Quatre souches ont montré une activité antioxydante notable (Figures 44 et 45) : L16 (29% d'inhibition), C6 (27%), L13 (27%) et L12 (13%). Ces valeurs restent cependant inférieures à celle du témoin positif, la vitamine C (96%).



**Figure 44:** Activité de piégeage du radical libre DPPH par les surnageants de culture. Le diagramme en barres présente le pourcentage d'inhibition du DPPH pour les quatre souches ayant montré une activité antioxydante



**Figure 45:** Comparaison de l'activité antioxydante des souches lactiques et de la Vitamine C. Le graphique compare le pourcentage d'inhibition du DPPH obtenu pour la souche la plus active (L16) avec celui de la Vitamine C, utilisée comme témoin positif de référence.

L'évaluation du potentiel probiotique est une démarche séquentielle qui vise à identifier les souches combinant robustesse, innocuité et bénéfices fonctionnels.

La capacité à survivre au passage dans le tractus gastro-intestinal est le premier critère de sélection. La **résistance à un pH gastrique simulé (pH 2.0)** est remarquable pour nos 10 souches. Le fait que certaines (L6, C9) aient même pu se multiplier témoigne de mécanismes de protection très efficaces (pompes à protons, chaperonnes, etc.). De même, la cinétique observée en présence de **sels biliaires** est classique et très informative : un choc initial suivi d'une phase d'adaptation et de reprise de croissance pour les souches les plus performantes (C9, L16, K1). Cette capacité d'adaptation est souvent liée à l'expression d'enzymes spécifiques comme les hydrolases des sels biliaires (Bile Salt Hydrolase - BSH), qui déconjuguent les sels biliaires et réduisent leur toxicité (Ruiz et al., 2013). La survie à ces deux stress majeurs est un prérequis essentiel pour qu'une souche puisse atteindre l'intestin en étant viable.

Le test d'**activité hémolytique** est un test de sécurité fondamental. Le fait qu'aucune de nos souches n'ait présenté de  $\beta$ -hémolyse (le type le plus virulent) est un résultat très positif. Les quatre souches montrant une  **$\gamma$ -hémolyse** (L1, L6, L7, L12) sont considérées comme les plus sûres et sont donc des candidates de premier choix. L' $\alpha$ -hémolyse, observée pour deux souches, n'est pas nécessairement un critère d'exclusion, car elle est retrouvée chez de nombreuses bactéries commensales, mais elle justifie la prudence (FAO/WHO, 2002).

L'**activité antioxydante**, même modérée, des souches L16, C6, L13 et L12 est un bénéfice fonctionnel très intéressant. Le stress oxydatif étant impliqué dans de nombreuses pathologies, des probiotiques dotés de cette capacité sont activement recherchés (Papadimitriou et al., 2016). Il est important de noter, que les difficultés expérimentales initiales et la nécessité de corriger le protocole soulignent la sensibilité de ce test. De plus, le fait d'avoir testé uniquement le surnageant explique probablement les valeurs modérées ; l'activité antioxydante principale des BAL est souvent intracellulaire (liée à des enzymes comme la superoxyde dismutase ou la glutathion peroxydase).

En croisant l'ensemble de ces critères, nous pouvons identifier les souches les plus prometteuses. Une souche "championne" doit être à la fois robuste et sûre. À ce titre, les souches **L6 et L12** se distinguent particulièrement : elles survivent bien aux stress digestifs, sont non-hémolytiques ( $\gamma$ -hémolyse), et la souche L12 présente même une activité

antioxydante. La souche L1 et L7, également non-hémolytiques, sont aussi d'excellentes candidates. Ces souches méritent des investigations plus poussées pour confirmer leur potentiel probiotique.



# **PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

---

---

## Conclusion et Perspectives

Ce travail de recherche s'est inscrit dans une démarche de valorisation de la biodiversité microbienne des produits fermentés traditionnels de la région de Saïda, une ressource naturelle précieuse dans le contexte global de la recherche d'alternatives aux antibiotiques. L'objectif était d'isoler et de caractériser des bactéries lactiques (BAL) à partir de *Lben*, de *Klila* et de carottes fermentées, afin d'évaluer leur double potentiel en tant qu'agents de bioconservation et candidats probiotiques.

L'étude a permis d'isoler une collection de 30 souches, dont la caractérisation phénotypique, physiologique et biochimique a révélé une diversité remarquable. L'identification présomptive a mis en évidence la présence de six genres distincts (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactococcus*), confirmant que ces aliments traditionnels sont des écosystèmes microbiens complexes. Le criblage fonctionnel a conduit à plusieurs découvertes majeures. D'une part, des souches comme C7 et C9 ont démontré une activité antimicrobienne exceptionnelle à large spectre, y compris contre des pathogènes Gram-négatifs, ce qui en fait des candidates de premier choix pour des applications en bioconservation. D'autre part, des souches comme L6 et L12 ont émergé comme des candidats probiotiques très prometteurs, combinant une excellente robustesse face aux stress digestifs simulés et un profil de sécurité optimal (absence d'activité hémolytique).

Cependant, cette étude a également mis en lumière une réalité plus complexe. L'analyse de l'antibiorésistance a révélé la présence de souches dotées de profils de multirésistance préoccupants. Cette découverte souligne que si les écosystèmes traditionnels sont un trésor de fonctionnalités bénéfiques, ils peuvent également constituer des réservoirs pour des gènes de résistance. La conclusion principale de ce travail est donc double : nous avons non seulement identifié des souches "élites" au potentiel biotechnologique considérable, mais nous avons aussi démontré que seule une caractérisation rigoureuse au niveau de la souche permet de distinguer les candidats sûrs et efficaces des isolats présentant un risque potentiel.

Ces conclusions ouvrent des perspectives de recherche claires et logiques, qui découlent directement des résultats et des limites de cette étude :

1. **Priorité absolue - Identification moléculaire :** La prochaine étape indispensable est la confirmation de l'identité taxonomique de nos souches d'intérêt par des méthodes

moléculaires (séquençage du gène de l'ARNr 16S). Cela concernera en priorité les souches "élites" (C7, C9, L6, L12) pour valider leur potentiel, ainsi que les souches multirésistantes pour mieux évaluer le risque qu'elles représentent.

2. Approfondissement fonctionnel et mécanistique : Pour les souches antimicrobiennes les plus performantes, il s'agira de purifier et de caractériser la nature de leurs substances inhibitrices (bactériocines). Pour les meilleurs candidats probiotiques, des études *in vitro* plus poussées sont nécessaires (tests d'adhésion aux cellules épithéliales, évaluation de l'activité immunomodulatrice sur des lignées cellulaires).
3. Validation pré-clinique : Les candidats les plus prometteurs devront ensuite être évalués dans des modèles *in vivo* (ex: modèle murin) pour confirmer leur innocuité et leur efficacité probiotique dans un organisme complexe.
4. Développement technologique : À terme, les souches "élites" pourraient être utilisées pour développer des ferments locaux, permettant de standardiser la production des produits traditionnels algériens, d'en améliorer la qualité sanitaire et d'y apporter une valeur ajoutée fonctionnelle (probiotique).

En somme, ce mémoire pose les bases solides d'un programme de recherche visant à transformer une ressource locale en applications biotechnologiques concrètes, pour l'alimentation et la santé de demain.

# **PARTIE VI. ANNEXES**

## VI.1. Annexe 1 : Réactifs et Milieux de Culture

### VI.1.1. Annexe 1.1 : Composition détaillée du milieu MRS

Ce milieu est spécifiquement conçu pour la culture et l'isolement des *Lactobacillus* et autres bactéries lactiques.

| Composant                                                   | Concentration (g/L) | Rôle                                                |
|-------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------|
| Peptone de caséine                                          | 10.0 g              | Source d'acides aminés et d'azote                   |
| Extrait de viande                                           | 10.0 g              | Source de vitamines, carbone et azote               |
| Extrait de levure                                           | 5.0 g               | Source de vitamines du groupe B et de cofacteurs    |
| D-Glucose                                                   | 20.0 g              | Source principale de carbone et d'énergie           |
| Polysorbate 80 (Tween 80)                                   | 1.0 mL              | Agent tensioactif, source d'acides gras             |
| Citrate de diammonium                                       | 2.0 g               | Source d'azote                                      |
| Acétate de sodium                                           | 5.0 g               | Agent tampon, inhibiteur de bactéries compétitrices |
| Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )   | 2.0 g               | Agent tampon                                        |
| Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O) | 0.1 g               | Source d'ions divalents, cofacteur enzymatique      |
| Sulfate de manganèse (MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O)  | 0.05 g              | Stimulateur de croissance pour les BAL              |
| Eau distillée                                               | q.s.p. 1000 mL      | Solvant                                             |
| <b>Pour la version solide (Gélose MRS) :</b>                |                     |                                                     |
| Agar-agar                                                   | 15.0 g              | Agent gélifiant                                     |

**Préparation :** Dissoudre les composants dans l'eau distillée. Ajuster le pH final à  $6.2 \pm 0.2$  à 25°C. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### VI.1.2. Annexe 1.2 : Composition du milieu Mueller-Hinton (MH)

C'est le milieu de référence international pour les tests de sensibilité aux antibiotiques (antibiogrammes).

| Composant                    | Concentration (g/L) | Rôle                                            |
|------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------|
| Infusion de bœuf             | 300.0 g             | Source de nutriments                            |
| Hydrolysate acide de caséine | 17.5 g              | Source d'acides aminés                          |
| Amidon                       | 1.5 g               | Neutralise les substances inhibitrices toxiques |
| Agar-agar                    | 17.0 g              | Agent gélifiant                                 |
| Eau distillée                | q.s.p. 1000 mL      | Solvant                                         |

**Préparation :** Dissoudre les composants dans l'eau distillée. Ajuster le pH final à  $7.3 \pm 0.1$  à 25°C. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### VI.1.3. Annexe 1.3 : Réactifs pour la Coloration de Gram

| Réactif           | Composition                                              | Temps d'application |
|-------------------|----------------------------------------------------------|---------------------|
| Colorant primaire | Soluté de Cristal Violet (ou Violet de gentiane)         | 1 minute            |
| Mordant           | Soluté de Lugol (Iodure de potassium et Iode dans l'eau) | 1 minute            |
| Décolorant        | Alcool à 95° ou mélange Alcool-Acétone (1:1 v/v)         | 10-15 secondes      |
| Contre-colorant   | Soluté de Safranine (ou Fuschine)                        | 30 secondes         |

#### VI.1.4. Annexe 1.4 : Préparation de la solution de DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable utilisé pour évaluer l'activité antioxydante.

- **Réactif :** DPPH (Masse molaire  $\approx 394.32$  g/mol)
- **Solvant :** Éthanol absolu (grade analytique)
- **Concentration :** 0.2 mmol/L. Pour préparer 100 mL de solution, peser environ 7.9 mg de poudre de DPPH et dissoudre dans 100 mL d'éthanol.
- **Précaution :** La solution est sensible à la lumière. Elle doit être préparée extemporanément (juste avant usage) et conservée dans un flacon ambré ou recouvert de papier aluminium, à l'obscurité.

#### VI.1.5. Annexe 2 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des isolats de bactéries lactiques face à six antibiotiques.

| Souche | VA 30     | AX 30     | P 10      | E 60      | CN 200    | RA 30     | Genre                     |
|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------------|
| BOL2   | 8         | 31        | 32        | 35        | 34        | 29        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL3   | 22        | $\geq 35$ | 20        | 35        | 31        | 12        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL4   | 8         | 27        | 27        | 28        | 27        | 23        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL5   | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | <i>Leuconostoc spp.</i>   |
| BOL6   | 0         | 0         | 0         | 0         | 35        | 0         | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL7   | 20        | 8         | 8         | 8         | 30        | 20        | <i>Streptococcus spp.</i> |
| BOL8   | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL9   | R         | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | 0         | 0         | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL10  | R         | 33        | 30        | 31        | 35        | 26        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL11  | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| BOL12  | R         | 29        | 30        | 29        | 31        | 26        | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| BOL13  | R         | 30        | 28        | 30        | 31        | 26        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL14  | 16        | 20        | 19        | 22        | 23        | 18        | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| BOL15  | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOL16  | 8         | 30        | 32        | 24        | 30        | 17        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC1   | 8         | 25        | 25        | 30        | 30        | 27        | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| BOC2   | 8         | 27        | 31        | 29        | 34        | 24        | <i>Lactococcus spp.</i>   |
| BOC3   | 8         | 30        | 28        | 29        | 30        | 23        | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC4   | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC5   | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC6   | 8         | $\geq 35$ | $\geq 35$ | 25        | $\geq 35$ | $\geq 35$ | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC7   | 8         | 28        | 27        | 27        | 30        | 23        | <i>Streptococcus spp.</i> |
| BOC8   | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOC9   | 8         | 27        | 27        | 29        | 27        | 23        | <i>Pediococcus spp.</i>   |
| BOC10  | 8         | 27        | 30        | 29        | 34        | 29        | <i>Streptococcus spp.</i> |
| BOC11  | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | $\geq 35$ | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| BOK1   | 21        | 25        | 14        | $\geq 35$ | 16        | 19        | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| BOK2   | 18        | 8         | 17        | 0         | 15        | 26        | <i>Enterococcus spp.</i>  |
| BOK3   | 18        | $\geq 35$ | 22        | 0         | 14        | 21        | <i>Enterococcus spp.</i>  |

# **PARTIE VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

### Références bibliographiques

1. Abdelaziz, S., & Ait Kaci, F. (1992). *Contribution à l'étude physicochimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben"*. [Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie, Institut national agronomique d'El Harrach, Alger].
2. Acurcio, L. B., et al. (2014). Antimicrobial activity of Lactobacillus strains against common foodborne pathogens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(4), 1415–1422. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400036>
3. Anumudu, C. K., Miri, T., & Onyeaka, H. (2024). Multifunctional applications of lactic acid bacteria: Enhancing safety, quality, and nutritional value in foods and fermented beverages. *Foods*, 13(14), 2134. <https://doi.org/10.3390/foods13142134>
4. Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z., & Tassou, C. C. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33(2), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.005>
5. Atlan, D., et al. (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. In G. Corrieu & F. M. Luquet (Eds.), *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (pp. 271-447). Tec & Doc, Lavoisier.
6. Aubert, C. (1985). *Les aliments fermentés traditionnels, une richesse méconnue*. Édition Terre Vivante.
7. Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In Salminen, S., von Wright, A., & Ouwehand, A. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed.). Marcel Dekker, Inc.
8. Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., & Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle ». *Sciences & technologie C*, (23), 30-37.
9. Becker, K. W., & Stogios, P. J. (2020). The peptidoglycan composition in lactic acid bacteria dictates vancomycin resistance. *Frontiers in Immunology*, 12, 825825. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.825825>
10. Behera, S. S., Ray, R. C., & Zdolec, N. (2023). Probiotic Lactic Acid Bacteria and Their Health Benefits. In *Microbial Probiotics for Healthy Living* (pp. 1-34). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003306623-1>



11. Bellil, Y., Benmechernene, Z., Chahrour, W., Naoui, N., & Kilal, M. (2014). Selection and evaluation of anti-listerial activity of *Leuconostoc mesenteroides* wild strains isolated from Algeria raw dromedary milk. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(12). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000398>
12. Benkerroum, N., & Daoudi, A. (2014). Traditional foods of North African countries: technology and food safety challenges with regard to microbiological risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 54-89. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12061>
13. Benkerroum, N., & Tamine, A. Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Lben, Jben and Smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4), 399-413. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.09.003>
14. Björkroth, J., & Holzapfel, W. H. (2006). Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria, Vol. 4: Firmicutes, Cyanobacteria* (3rd ed., pp. 267–319). Springer. [https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3\\_8](https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_8)
15. Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D., & Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36(6), 527-543. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00009-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00009-7)
16. Bourgeois, C. M., & Larpent, J. P. (1996). *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires* (Tome 2). Tec & Doc Lavoisier.
17. Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., Korajkic, A., Staley, Z. R., & Harwood, V. J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685–706. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-12>
18. CA-SFM/EUCAST. (2024). *Recommandations 2024. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*. <https://www.sfm-microbiologie.org/>
19. Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., & Ross, R. P. (2019). Genus-Wide Assessment of Antibiotic Resistance in *Lactobacillus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(3), e02107-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02107-18>
20. Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281-370. <https://doi.org/10.1080/10408410209342>

- 
21. Cavanagh, D., Fitzgerald, G. F., & McAuliffe, O. (2015). From field to fermentation: The origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. *Food Microbiology*, 47, 45–61. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
  22. Cotaigh-Bousquet, M., Garrigues, C., Novak, L., Lindley, N. D., & Loubiere, P. (1995). Rational development of a simple synthetic medium for the sustained growth of *Lactococcus lactis*. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(2), 108–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb00911.x>
  23. Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2007). Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology*, 45(4), 454–460. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02206.x>
  24. Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., & Wallbanks, S. (1993). Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus, *Weissella*, for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(6), 595–603. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb01600.x>
  25. D'Aimmo, M. R., Modesto, M., & Biavati, B. (2007). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. from dairy and human sources. *International Journal of Food Microbiology*, 115(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.001>
  26. Danielsen, M., & Nielsen, A. (2007). Antibiotic resistance of *Pediococcus* spp. isolated from food. *International Journal of Food Microbiology*, 115(1), 115–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.016>
  27. De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K.-H., & Whitman, W. B. (Eds.). (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 3: The Firmicutes* (2nd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>
  28. De Vuyst, L., & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 13(4), 194–199. <https://doi.org/10.1159/000104752>
  29. Delgado, S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract. *Current Microbiology*, 50(4), 202–207. <https://doi.org/10.1007/s00284-004-4458-2>

- 
30. Devirgiliis, C., Zinno, P., & Perozzi, G. (2013). Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. *Frontiers in Microbiology*, 4, 301. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00301>
  31. Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 143-154.
  32. Drider, D., & Prévost, H. (Eds.). (2009). *Bactéries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles*. Economica.
  33. Facklam, R. R. (2002). What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 613–630. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.613-630.2002>
  34. FAO/WHO. (2001). *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation.
  35. Felis, G. E., Dellaglio, F., & Vescovo, M. (2006). *Pediococcus stilesii* sp. nov., isolated from maize grains. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(2), 329–333. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63944-0>
  36. Fisher, K., & Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6), 1749–1757. <https://doi.org/10.1099/mic.0.026385-0>
  37. Flórez, A. B., & Mayo, B. (2016). The food resistome: A new challenge for microbial safety. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Foodborne Diseases: Therapeutic and Prevention Strategies* (pp. 143-169). Academic Press.
  38. 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. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
  39. Gao, Y., et al. (2019). A novel bacteriocin with a broad antimicrobial spectrum from *Lactobacillus plantarum* of fermented vegetable origin. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4), 1155–1165. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9486-4>
  40. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199-1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01885-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01885-3)
-

- 
41. Gfeller, K. Y., Roth, M., Meile, L., & Teuber, M. (2003). Vancomycin resistance gene cluster in a *Lactococcus lactis* isolate from a starter-free cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7381-7386. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7381-7386.2003>
  42. Gilmore, M. S., Clewell, D. B., & Ike, Y. (Eds.). (2002). *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance*. ASM Press.
  43. Goldstein, B. P. (2014). Resistance to rifampicin: a review. *The Journal of Antibiotics*, 67(9), 625–630. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.107>
  44. Guedon, E., Serror, P., Ehrlich, S. D., Renault, P., & Delorme, C. (2008). Ovoid-shaped bacteria: a model for constructing a spherical wall. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 345-356. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00098.x>
  45. Hammad, A. M., Hassan, H. A., & Shimamoto, T. (2015). Prevalence, antibiotic resistance and virulence of enterococci isolated from retail chickens in Mansoura, Egypt. *Journal of Food Protection*, 78(5), 1017-1022. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-539>
  46. Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K., & Hammami, R. (2018). The Genus *Streptococcus*: A Versatile Tool for Food Production and Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 896-921. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12359>
  47. Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
  48. Holliman, R. E., & Bone, G. P. (1988). Vancomycin resistance of clinical isolates of lactobacilli. *Journal of Infection*, 16(3), 279–283. [https://doi.org/10.1016/0022-1899\(88\)90159-4](https://doi.org/10.1016/0022-1899(88)90159-4)
  49. Hols, P., Ledesma-García, L., Gabant, P., & Mignolet, J. (2019). The biology of *Streptococcus thermophilus*. *FEMS Microbiology Reviews*, 43(5), 477–493. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz013>
  50. Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. John Wiley & Sons, Ltd.

- 
51. Hyronimus, B., Le Marrec, C., Hadj Sassi, A., & Deschamps, A. (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 61(2-3), 193-197. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00366-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00366-4)
52. Kandler, O., & Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus*. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, & J. G. Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2 (pp. 1209–1234). Williams & Wilkins.
53. Kelleher, P., O'Connor, P. M., O'Sullivan, O., O'Mahony, J., van Sinderen, D., & O'Toole, P. W. (2017). Adaptation of *Lactococcus lactis* to the industrial milk fermentation environment. *Scientific Reports*, 7(1), 16964. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17219-9>
54. Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the starter cultures for the food industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 7889. <https://doi.org/10.3390/ijms22157889>
55. Klare, I., Konstabel, C., Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G., Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S., Witte, W., & Goossens, H. (2007). Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* isolates from food and their over-expression of a novel *efrA/efrB*-like ABC transporter. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(4), 624-631. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm022>
56. Lebreton, F., Manson, A. L., & Gilmore, M. S. (2019). Enterococcus stress, development, and virulence. *Microbiology Spectrum*, 7(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0056-2018>
57. Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189-199. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.02.009>
58. Maruyama, F., Takayama, Y., & Nakano, K. (2015). First report of vancomycin-resistant *Streptococcus oralis* isolated from a blood culture. *Journal of Medical Microbiology*, 64(1), 93-97. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.080516-0>
59. Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
-

- 
60. 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.
61. Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., De Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., Lemos, J. A., Linares, D. M., Ross, P., Stanton, C., Turróni, F., van Sinderen, D., & Kok, J. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837–890. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15>
62. Pastink, M. I., Teusink, B., Hols, P., de Vos, W. M., & Siezen, R. J. (2009). Genome-scale model of *Streptococcus thermophilus* LMG18311 for metabolic comparison of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(11), 3627–3633. <https://doi.org/10.1128/AEM.02534-08>
63. Patterson, J. E., & Burkholder, P. (1988). Resistance of *Leuconostoc* to vancomycin. *The Journal of Infectious Diseases*, 158(5), 1126. <https://doi.org/10.1093/infdis/158.5.1126>
64. Porto, M. C. W., Pimentel, T. C., Guimarães, J. T., Campos, J. F., Cruz, A. G., & Magnani, M. (2017). *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and its biotechnological applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3409–3422. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077329>
65. Radke-Mitchell, L. C., & Sandine, W. E. (1986). Influence of temperature on associative growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, 69(10), 2558–2568. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80701-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80701-9)
66. Reid, G. (2017). Probiotics and Lactic Acid Bacteria: A Special Issue. *Microorganisms*, 5(4), 57. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040057>
67. Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H., & Yu, H. (2018). Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. *BioMed Research International*, 2018, 3086973. <https://doi.org/10.1155/2018/3086973>
68. Rezazadeh, A., & Shomaf, M. (2019). Traditional Fermented Foods as a Source of Novel Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 9(2), 45-56.
69. Ruiz, L., Margolles, A., & Sánchez, B. (2013). Bile resistance mechanisms in *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. *Frontiers in Microbiology*, 4, 396. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00396>
-



- 
70. Schillinger, U., & Lücke, F. K. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(8), 1901-1906. <https://doi.org/10.1128/aem.55.8.1901-1906.1989>
71. Sherman, J. M. (1937). The streptococci. *Bacteriological Reviews*, 1(1), 3–97. <https://doi.org/10.1128/br.1.1.3-97.1937>
72. Simpson, W. J., & Taguchi, H. (1995). The genus *Pediococcus*, with notes on the genera *Tetragenococcus* and *Aerococcus*. In *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (pp. 125-172). Springer US.
73. Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Viridi, J. S. (2021). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 12, 723520. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.723520>
74. Swenson, J. M., Facklam, R. R., & Thornsberry, C. (1990). Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34(4), 543–549. <https://doi.org/10.1128/AAC.34.4.543>
75. Tadese, A. W., Woldeesenbet, F., & Kebede, B. (2022). Isolation, characterization, and identification of lactic acid bacteria from fermented Ergo and Kocho, traditional Ethiopian fermented food products. *International Journal of Microbiology*, 2022, 8945655. <https://doi.org/10.1155/2022/8945655>
76. Thomas, T. D., Ellwood, D. C., & Longyear, V. M. C. (1979). Change from homolactic to heterolactic fermentation by *Streptococcus lactis* resulting from glucose limitation in anaerobic chemostat cultures. *Journal of Bacteriology*, 138(1), 109–117. <https://doi.org/10.1128/jb.138.1.109-117.1979>
77. Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T. (2005). *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against *Listeria monocytogenes*. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(2-3), 318-326. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.09.008>
78. Toomey, N., Bolton, D., & Fanning, S. (2009). Characterisation and transferability of a plasmid-encoded, transferable, vancomycin and erythromycin resistance determinant in a *Leuconostoc* spp. isolate from a food source. *International Journal of Food Microbiology*, 131(1), 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.007>
79. Van Tieghem, P. (1878). Sur la gomme de sucrerie (*Leuconostoc mesenteroides*). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 6*, 7, 180–203.
-

- 
80. Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, 60(2), 407-438. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.407-438.1996>
81. Wac-Godiń, M., Wójcik, A., & Staroń, A. (2024). Thermotolerant Probiotic Bacteria and Their Heat-Adaptation Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5898. <https://doi.org/10.3390/ijms25115898>
82. Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., & Li, W. (2021). Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*, 9(5), 521. <https://doi.org/10.3390/nu9050521>
83. Whittenbury, R. (1964). Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *Journal of General Microbiology*, 35(1), 13–26. <https://doi.org/10.1099/00221287-35-1-13>
84. Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033-1040. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009>
85. Zang, J., Du, M., Fan, X., Li, T., & Xu, Y. (2021). A review of the metabolic characteristics of lactic acid bacteria and its application in the food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
86. Zhang, X., Wang, J., & Li, Q. (2018). Role of Ddl, a VanX-like D-Alanyl-D-Alanine dipeptidase, in vancomycin resistance of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology*, 200(12), e00146-18. <https://doi.org/10.1128/JB.00146-18>
87. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (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. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
-