

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude des activités antibactérienne et
antiadhésive de souches de bactéries
lactiques isolées de fruits**

Présenté par :

BENSALEM Sonia & MOULAOUI Katia

Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mr. BETTACHE AZEDDINE.
Mme. BENDALI FARIDA.
Mme. KERAMANE BADRIA.

MCA
Professeur
MAA

Président
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A Mes très chers parents :

Vous avez fait beaucoup d'efforts pour nous, pour nous donner une meilleure éducation, vous avez su créer en nous l'amour du travail bien fait, vous nous avez guidé avec rigueur mais aussi avec amour, vous avez été toujours là quand nous avions besoin de vous et sans vous nous ne serions pas devenu ce que nous sommes aujourd'hui.

Vous êtes les être les plus chers à mon cœur, je t'aime maman, je t'aime papa. Que dieu vous procure du bonheur, de la santé et vous accord une belle longue vie a mes cotes, si je suis arrivé la c'est grâce à vous.

À Mon Cher frère Abdelmalek et à mes chères sœurs Salima (qui nous a quitté si tôt que dieu t'accueil dans son vaste paradis). Kenza, Kahina, et a mes deux chouchou Cecilia et Rania, que dieux me les gardes a mes cotés, Merci pour votre soutien moral durant mon parcours. Que la solidarité fraternelle que nous cultivons depuis toujours ne s'estompe a jamais.

A mon beau-frère Rédha

et à mes adorables nièces et neveux : KAMI, SARAH et ADAM que j'aime plus que tout, merci pour le charme que vous avez ajouter a ma vie.

A Ma tante Dalila, même si tu habite loin de chez nous tu as toujours été là pour nous, merci ma tante chérie !

A mes chères copines, Sihem.D, Sihem.T, Lydia, A tata Salima, islem, A mon ami d'enfance Aki, et mes meilleurs amis, Amir, salim, Merci pour votre soutien permanent

Enfin, que tous ceux qui ont contribués, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de cette trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

KATIA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

***A mes très chers parents qui ont toujours été derrière moi et
qui m'ont donné un magnifique model
De labeur, de persévérance, de l'amour et de la force et dont je
suis fière et reconnaissante
D'avoir comme parents.***

Pour vous mes très chers et irremplaçables :

Mon cher frère RAFIK.

Mon meilleur et adorable ami FOUAD.

*Mes chères cousines : MAYA, TINA, DYHIA, VANESSA,
FAIROUZ, HABIBA et AMIRA.*

*Mes cousins : FERHAT, SID ALI, YOUNA, ANIS, ZINE DINNE,
RAMI et ZAKI.*

*Mes chères amies : SAMRA, SOUAD, SARA, NACHIDA,
CHANA.*

*A tous les gens de ma promotion, enseignants et étudiants de
Microbiologie Appliquée.*

*A ceux qui m'ont soutenu et aidé de près ou de loin à réaliser ce
travail.*

SONIA



Remerciements

Louange à Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de réaliser ce travail.

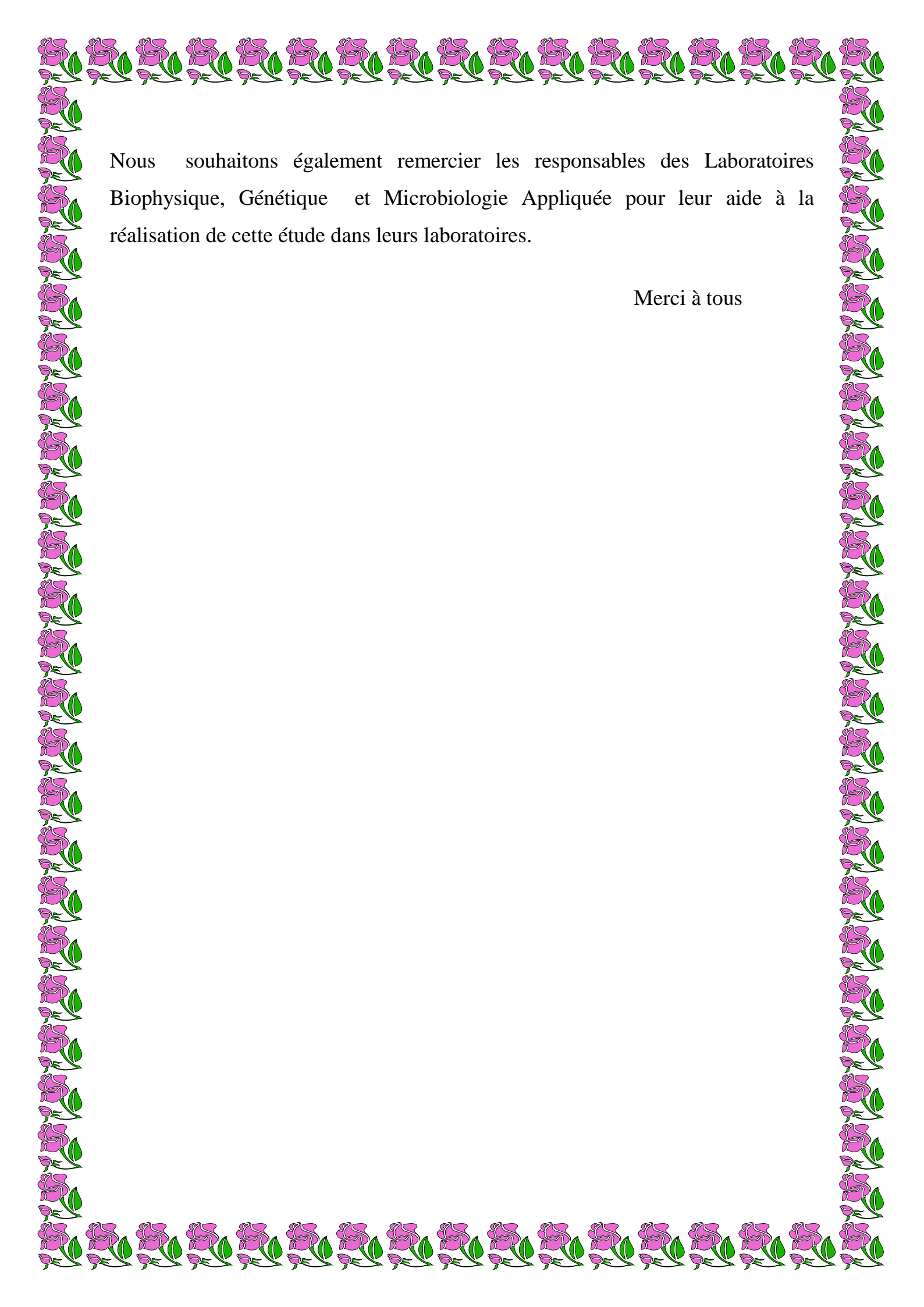
Nous tenons avant tout à exprimer nos plus chaleureux remerciements à ceux qui ont rendu possible ce travail par leur enseignement.

En premier lieu, nous voudrions témoigner notre reconnaissance au Professeur BENDALI Farida, qu'avant qu'elle soit notre encadreur était notre enseignante. Vous êtes le professeur qui a réussi à nous inspirer et nous donner confiance en soi et en l'avenir mais aussi qui a réussi à nous donner l'envie d'apprendre. Merci pour tout ce que vous avez fait, ainsi là aujourd'hui Vous nous avez inspiré ce thème et vous avez guidé nos premiers pas dans la recherche. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité, votre efficacité et surtout votre rigueur scientifique qui nous a apporté une compréhension approfondie sur le plan scientifique. Merci pour votre aide et votre regard critique qui ont été grandement utiles au cours de notre travail et lors de la rédaction de ce manuscrit.

Nous remercions chaleureusement Mr BETTACHE Azeddine, de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de notre soutenance. Veuillez trouver ici le témoignage de notre haute considération et de notre profond respect.

Nous remercions très sincèrement Mme KERAMANE Badria, pour ses conseils, son enseignement et d'avoir honoré ce travail en acceptant de l'examiner. Soyez assurées de notre profonde reconnaissance.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à l'équipe du laboratoire de Microbiologie 1 (Bloc 9) de l'université de Bejaia, qui nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.



Nous souhaitons également remercier les responsables des Laboratoires Biophysique, Génétique et Microbiologie Appliquée pour leur aide à la réalisation de cette étude dans leurs laboratoires.

Merci à tous

Liste des abréviations

A: Absorbances

BN: Bouillon nutritif

E. coli : *Escherichia coli*

MH: Mueller Hinton

MRS: de Man Rogosa et Sharpe

PCA: Plate Count Agar

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TSB: Trypticase- Soy Broth

Zi: zone d'inhibition

Lb : *Lactobacillus*

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Exemple de biofilm du genre <i>Lactobacillus</i> adhérent sur les olives) a : <i>Lactobacillus</i> GG b : <i>L. paracasei</i> IMPC2.1	07
02	Schéma représentatif du test des puits	11
03	Technique du criblage sur microplaque	13
04	Diamètres des zones d'inhibition des 15 souches lactiques à l'égard d' <i>Escherichia coli</i> S1.	15
05	Diamètres des zones d'inhibition des 15 souches lactiques sélectionnées à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> S2.	17
06	Exemple de résultats obtenus par le test des puits avec les surnageants natifs et neutralisés à l'égard d' <i>Escherichia coli</i> (a,b) et de <i>Staphylococcus aureus</i> (c).	18
07	Résultats de la capacité d'adhésion des Lactobacilles et pathogènes sur microplaque en polystyrène.	19
08	Résultats de l'activité antiadhésive des souches de <i>Lactobacillus</i> à l'égard d' <i>Escherichia coli</i> sur microplaque en polystyrène.	21
09	Résultats de l'activité antibactérienne de <i>Lactobacillus</i> à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> sur microplaque en polystyrène.	22
10	Résultats de l'effet détachement des surnageants de cultures des souches lactiques à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> .	23
11	Résultats du criblage des <i>Escherichia coli</i> ainsi que les souches lactiques quant à leur capacité antiadhésives sur microplaque en polystyrène.	24

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Bactéries lactiques du genre <i>Lactobacillus</i> isolées à partir de fruits fermentés spontanément.	03
II	Bactéries lactiques du genre <i>Lactobacillus</i> isolées à partir de légumes fermentés spontanément.	04
III	Bactéries lactique du genre <i>Lactobacillus</i> isolées à partir de céréales.	04
IV	Les souches de lactobacilles utilisées et leurs codes	09
V	Comparaison des pH de certaines souches quant à leurs activités antibactériennes	15

Listes des Tableaux en Annexes

N°	Titre
I	Bouillon MRS (Man Rogosa et Sharpe) pH =6,5
II	Bouillon TSB (Trypticase-Soy Broth) pH =7
III	Gélose Chapman pH= 7,3
IV	Bouillon nutritif pH =7,0
V	Gélose EMB pH =7,2
VI	Gélose Muller-Hinton pH= 7,0
VII	Gélose PCA (Plate Count Agar) pH= 7,05 (LIOFIL.CHEM,Italy)
VIII	Résultats du test des puits
IX	Résultats du test d'adhésion
X	Résultats de l'activité antiadhésive vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i>
XI	Résultats de l'activité antiadhésive vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i>
XII	Résultats de l'effet de détachant vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i>
XIII	Résultats de l'effet détachant vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i>

Sommaire

Introduction	01
---------------------------	----

Chapitre 1 Synthèse bibliographique

I. Bactéries lactiques d'origine végétale.....	02
I.1. Fruits.....	03
I.2. Légumes et Céréales.....	04
II. Activités des bactéries lactiques.....	05
II.1. Activité antibactérienne.....	05
II.2. Adhésion et activité antiadhésive.....	06
II.2.1. Facteurs influençant l'adhésion microbienne.....	06
II.2.2. Adhésion des bactéries lactiques.....	07
II.2.3. Activité antiadhésive des bactéries lactiques.....	08

Chapitre 2 Matériel et Méthodes

I. Origine des souches.....	09
I.1. Souches test.....	09
I 2. Souches Cibles.....	09
II. Préparation de cultures fraîches.....	10
III. Test de l'activités antibactériennes.....	10
III.1. Surnageant natif.....	10
III.2. Surnageant neutralisé.....	11
IV. Potentiel d'adhésion des souches lactiques et pathogènes sur surface abiotique (microplaque en polystyrène).....	12
V. Activité antiadhésive des souches lactiques à l'égard de souches pathogènes.....	12

Chapitre 3 Résultats et discussion

I. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des puits.....	14
I.1. Cas du surnageant natif.....	14
I.1.1. Test des puits à l'égard d' <i>Escherichia coli</i>	14

I.1.2. Test des puits à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
I.2. Cas du surnageant neutralisé.....	17
II. Mise en évidence de l'activité antiadhésive.....	18
II.1.Capacité d'adhésion (formation de biofilms) et antiadhésive.....	18
II.2. Activités d'adhésion des souches lactiques et pathogènes	19
II.2.1. Capacités antiadhésives des souches de <i>Lactobacillus</i>	20
III.2.2. Activités de détachement.....	22
Conclusion	25

Références bibliographiques

Annexes

Résumé



Introduction

Dans le monde entier, on se préoccupe de l'impact des infections microbiennes d'origine alimentaire sur la santé humaine (White et *al.*, 2002). Ces infections pourraient avoir comme origine la bio-contamination des surfaces, une cause de plus en plus identifiée comme une source de sévères problèmes en industrie alimentaire et ceci par la formation de biofilms constitués de micro-organismes indésirables (Simoës et *al.*, 2010) . Ces derniers réduisent la durée de conservation des aliments et sont à l'origine de la transmission de plusieurs infections (Giaouris et *al.*, 2014).

Les biofilms sont actuellement définis comme des communautés microbiennes associées aux surfaces et enrobées dans une matrice extracellulaire d'origine microbienne (Lebeaux et *al.*, 2014). On peut distinguer deux sortes de biofilms, les biofilms dits « positifs » formés de micro-organismes bénéfiques et les biofilms indésirables appelés également biofilms « négatifs » (Carpentier et Cerf, 1993).

Afin d'éradiquer et/ou d'inhiber la formation des biofilms indésirables, les chercheurs ont opté pour de nouvelles approches telle que la recherche de molécules capables de bloquer la synthèse de la matrice, car elle constitue l'armure de la protection des micro-organismes. D'autres cherchent à développer des surfaces anti-biofilms par recouvrement des surfaces des matériaux avec des substances antimicrobiennes (Dat et *al.*, 2012). Parmi ces molécules, celles produites par les bactéries lactiques ont suscité un grand intérêt. Cependant, la majorité des travaux effectués concernent des souches isolées de produits laitiers et des tractus gastro-intestinal et urogénital de l'Homme et de l'animal (Klein et *al.*,1998).

L'objectif de notre travail est de tester les activités antibactérienne et antiadhésive de souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* d'origine végétale, isolées de figues fraîches, vis-à-vis de deux souches pathogènes, une appartenant à *Escherichia coli* et l'autre à *Staphylococcus aureus*. Pour ce faire, le document est structuré comme suit :

Une partie bibliographique relative aux bactéries lactiques d'origine végétale et à leurs activités antibactérienne et antiadhésive, suivie d'une partie pratique où nous avons exposé la méthodologie et les résultats obtenus étayés par une discussion.

Et en dernier lieu, nous rapportons les conclusions auxquelles nous a conduit cette étude et quelques perspectives.



*Synthèse
Bibliographique*

I. Bactéries lactiques d'origine végétale

Les bactéries lactiques sont très répandues dans la nature, aussi exigeantes soient elles, elles peuvent se retrouver soit :

- En association avec l'hôte (Homme et animal), dans un écosystème microbien complexe, tels que la cavité buccale ou les tractus gastro-intestinal et génital (Klein et *al.*, 1998),
- A l'état libre dans l'environnement (sol, eau, eaux usées, fumier, ensilage...), et dans les divers produits alimentaires tels que les produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage...) (Holzapfel et *al.*, 2001),
- Sur la surface des végétaux (plantes, fruits et légumes...) (Konig et Frohlich, 2009 ; Di Cango et *al.*, 2012).

Si les trois écosystèmes, intestinal, vaginal et alimentaire, sont largement explorés quant à la présence des bactéries lactiques, peu ou pas de travaux se sont intéressés aux niches écologiques peu conventionnelles comme l'écosystème végétal.

Les bactéries lactiques représentent une petite partie du microbiote autochtone des légumes et fruits (Buckenhüskes., 1997), leur diversité dépend des paramètres intrinsèques et extrinsèques de la matrice végétale; elles sont responsables de la fermentation lactique spontanée des légumes crus et fruits (Harris, 1998 ; Karovicová et Kohajdová., 2003 ; Kim et Chun., 2005). Des espèces telles que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus sakei* ont été fréquemment isolées des fruits et légumes frais et secs (Trias et *al.*, 2008 ; Emerenini et *al.*, 2013).

Lorsque des conditions favorables d'anaérobiose, d'activité de l'eau, de la concentration de sel et de température sont réunies, les légumes crus et les fruits sont soumis à une fermentation lactique spontanée.

I.1. Fruits

Les principales espèces du genre *Lactobacillus* et des exemples de fruits dont elles ont été isolées sont illustrés dans le tableau I illustré ci-dessous :

Tableau I : Bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* isolées à partir de fruits fermentés spontanément.

Espèce	Type de fruits	Références
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Tomate, Câpres, Ananas, Prunes, Kiwi, Cerise, papayes.	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Plenghvidhya et al., 2007 ; Di Cagno et al., 2008a, 2008b, 2010a, 2011a, 2011b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Câpres, Papayes.	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Di Cagno et al., 2011a ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus rossiae</i>	Ananas	(Di Cagno et al., 2010a,b)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Câpres, Gousse de melon.	(Offonry et Achi, 1998 ; Sánchez et al., 2000 ; Seseña et Palop, 2007 ; Cagno et al., 2008b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	Câpres	(Plenghvidhya et al., 2007 ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus brevis</i>	tomates, Câpres, Gousses de melon.	(Offonry et Achi, 1998 ; Sánchez et al., 2000 ; Seseña et Palop, 2007 ; Di Cagno et al., 2008b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Mûres	(Yi-sheng Chen et al., 2010)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Abricot, Orange, Pêche, Melon, Pomme, Raisin, Banane, Tomate, Pamplemousses	(Mahroshnaeem et al., 2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Raisins, Fraise	(Mahroshnaeem et al., 2012)
<i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus paraplantarum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Tomate, Agrumes, Banane	(Emerenini., et al., 2013)
<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus mentum</i> , <i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> <i>Lactobacillus trichodes</i>	Raisins et mout de raisins	(Du Toit et al., 2011).
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>lactobacillus brevis</i>	Olive naturelle	(Korukluoglu et al., 2002)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Olives vertes naturelles	(Kacem et al., 2004)
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	Olives vertes naturelles	(Kacem et Karam, 2006)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Olives naturelles	(Chamkha et al., 2008)
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> ,	Olives noires de Jijel	(Idoui et al., 2009)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i>	Olives fermentées	(Pessione et al., 2015)

I.2. Légumes et Céréales

➤ Légumes

Le tableau II, ci-dessous énumère les principales espèces du genre *Lactobacillus* et des exemples de légumes dont elles ont été isolées.

Tableau II : Bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* isolées à partir de légumes fermentés spontanément

Espèce	Type de légumes	Références
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Courges, Carottes, Concombres, Aubergines, Betteraves rouges, Fenouils, Choux.	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Plenghvidhya et al., 2007 ; Di Cagno et al., 2008b, 2008a, 2010a, 2011a, 2011b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Aubergines, Concombre	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Di Cagno et al., 2011a ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Haricot vert, Betteraves rouge, Aubergine.	(Offonry et Achi, 1998 ; Sánchez et al., 2000 ; Seseña et Palop, 2007 ; Di Cagno et al., 2008b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Poivron	(Di Cagno et al., 2009)
<i>Lactobacillus brevis</i>	Aubergine, Choux, Concombre,	(Offonry et Achi, 1998 ; Sánchez et al., 2000 ; Seseña et Palop, 2007 ; Cagno et al., 2008a ; Pulido et al., 2012)

➤ Céréales

Les principales espèces du genre *Lactobacillus* et des exemples de Céréales dont elles ont été isolées sont énumérées dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III : Bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* isolées à partir de céréales.

Espèces	Type de plantes	Références
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Figuier de barbarie	(Hernán et al., 2017)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevisia</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Manioc	(Ogunbanwo et al., 2004 ; Annan et al., 2003 ; Yao et al., 2009)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus fermentum</i>	Sorgho	(Viera-Dalode et al., 2008)
<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>	Céréales	(Orjiet al., 2003 ; Yao et al., 2009)

II. Activités des bactéries lactiques

Au cours des dernières décennies, le potentiel probiotique des bactéries lactiques et leur rôle dans l'inhibition des micro-organismes pathogènes ont ouvert de nouveaux horizons dans les domaines des sciences médicales et de la biotechnologie alimentaire (Menard et Bretelle, 2008 ; Guessas et *al.*, 2007). Mais, la documentation sur les bactéries lactiques d'origine végétale et les connaissances sur les mécanismes d'adhésion des bactéries sont limités, La formation des biofilms est décrite comme se déroulant en plusieurs phases successives. Cependant peu d'études sur sa constitution existent et les auteurs ont rapporté l'implication de protéines, de polysaccharides, de glycoprotéines, et/ou de substances humiques (Rubio, 2002).

II.1. Activité antibactérienne

Les bactéries lactiques Elles ont également été décrites en tant qu'agents bio-protecteurs (Milani et *al.*, 1998). Efficaces dans l'inhibition des agents phytopathogènes (Bennik et *al.*, 1999), elles sont classées parmi les agents de contrôle biologique (Milani et *al.*, 1998). Dans la majorité des études réalisées sur les bactéries lactiques, isolées de fruits et légumes, le genre *Lactobacillus* est le genre le plus répondu (Emerenini et *al.*, 2013)

Des souches lactiques du genre *Lactobacillus*, isolées à partir du jus de presse de la canne à sucre, ont montré une bonne activité antibactérienne envers des souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* d'origine urinaire (Labioui et *al.*, 2005). De même, parmi les espèces de *Lactobacilles* les plus fréquemment isolés à partir de fruits et légumes frais, on a *Lactobacillus plantarum*, qui a montré une faible activité antifongique mais une bonne inhibition des bactéries phytopathogènes telles que *Xanthomonas campestris* et *Erwinia carotovora* (Trias et *al.*, 2008).

Des souches de *Lactobacillus plantarum* et de *Lactobacillus pentosus*, isolées des olives, étaient capables de produire des quantités importantes d'acide lactique, acétique, propionique et butyrique (Pessione et *al.*, 2015). Dans une autre étude, des souches de *Lactobacillus plantarum* isolées d'olives vertes espagnoles (Jiménez-Díaz et *al.*, 1993) ont montrés une activité antibactérienne contre des bactéries d'altération comme *Propionibacterium* et *Clostridium* par la production de bactériocines (Maldonado et *al.*, 2002). De même, des souches de *Lactobacillus plantarum*, isolées des mûres (Chen et *al.*, 2010), des raisins et de fraises (Mahrosh et *al.*, 2012) ont révélé une bonne activité

antibactérienne par la production de bactériocines. Récemment des souches de *Lactobacillus plantarum*, isolées du kimchi Coréen (plat à base de chou fermenté) ont montré une grande activité antibactérienne à l'égard de champignons pathogènes humains et phytopathogènes ainsi qu'à l'encontre du virus de la grippe (Kwak et *al.*, 2017).

II.2. Adhésion et activité antiadhésive

Les bactéries se regroupent entre elles pour se développer sur une surface, ce regroupement peut se faire avec d'autres micro-organismes et des produits organiques sous forme de biofilm. Ce dernier peut être constitué de bactéries, champignons, algues ou protozoaires adhérant à une surface ou une interface en milieux humides ou aqueux (Lock, 1993 ; Costerton et *al.*, 1994). Les bactéries se développent en biofilm sur une variété de surfaces tels que les métaux, le plastique, les tissus vivants (Tissus humains, feuilles et racines des végétaux) (Coghlan, 1996 ; Donlan et Costerton, 2002) et il n'existe pas de réel consensus concernant la structure d'un biofilm, chaque biofilm est unique (Tolker-Nielsen et Molin, 2000).

II.2.1. Facteurs influençant l'adhésion microbienne

L'adhésion des micro-organismes à une surface est un processus complexe qui est affecté par les interactions physico-chimiques des surfaces de micro-organismes et de contact. Des études ont montré que des paramètres tels que l'hydrophobicité et les charges de surfaces affectent significativement l'adhésion microbienne. Il est important de noter que les conditions environnementales, telles que le pH, les forces ioniques, la température et le temps d'exposition, ainsi que les structures et la densité cellulaires affectent fortement l'adhérence des micro-organismes (Kachouri et *al.*, 2016).

Les modifications de chaque paramètre impliqué dans le processus d'adhésion pourrait augmenter ou diminuer le potentiel d'adhésion à une surface (Kachouri et *al.*, 2016). Il a été montré que les protéines, polysaccharides, minéraux ou les résidus de produits de nettoyage pourraient s'adsorber aux interfaces solide-liquide et ainsi influencer le comportement bio-adhésif des bactéries en modifiant les propriétés physiques de surfaces (Van Oss, 1996 ; Beloin et *al.*, 2008).

II.2.2. Adhésion des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques peuvent être utilisées comme d'autres flores pour coloniser les surfaces pour former des biofilm dit « biofilms positifs » (Garry et al., 2008).

La formation d'un biofilm sur les surfaces du matériel utilisé dans l'industrie alimentaire pourrait être bénéfique car sa présence peut modifier les propriétés physico-chimiques des surfaces et réduire le niveau d'adhésion des micro-organismes indésirables (Kachouri et al., 2016). En effet, Ait Ouali et al. (2014) ont montré qu'une souche de *Lactobacillus pentosus* était en mesure d'entraver fortement l'adhérence de *S. aureus* SA3 sur des surfaces abiotiques en polystyrène et en acier inoxydable.

La figure 1 montre une micrographie d'un biofilm formé sur la surface des olives vertes.

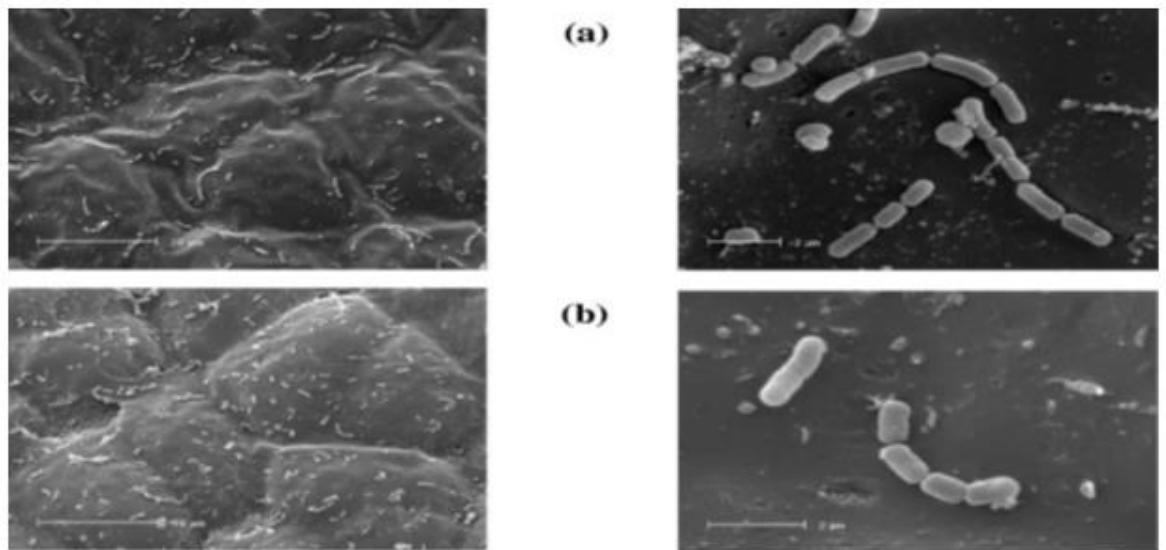


Figure 1 : Exemple de biofilm du genre *Lactobacillus* adhérent sur les olives) a : *Lactobacillus* GG b : *L. paracasei* IMPC2.1 (Paola et al., 2005)

Une étude a démontré qu'une souche de *Lactobacillus plantarum*, isolée à partir d'olives vertes traditionnellement fermentées, était capable d'adhérer à la surface des olives en formant un biofilm protecteur. Cette adhésion pourrait être considérée comme bénéfique car sa présence semble inhiber efficacement l'adhésion des micro-organismes planctoniques indésirables (Kachouri et al., 2016).

D'autres souches de bactéries lactiques, isolées à partir d'olives fermentées, telles que *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* ont également montré une capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale par la sécrétion de plusieurs protéines impliquées dans les processus d'adhésion (Pessione et al., 2015). D'autres auteurs ont même décrit les gènes responsables de l'adhésion et de la formation de biofilm chez *Lactobacillus plantarum* (Lebeer et al., 2007; Fujii et al., 2008).

II.2.3. Activité antiadhésive des bactéries lactiques

Les substances issues du métabolisme des bactéries lactiques, dont le genre *Lactobacillus*, peuvent intervenir dans l'inhibition du développement de bactéries indésirables au sein d'un biofilm (Speranza et al., 2009 ; Gudina et al., 2010 ; Winkelstroter et al., 2011). Cette inhibition pourrait s'exercer de différentes manières telle que la compétition pour des sites d'adhésion ou la production de différents métabolites antagonistes tels que les biosurfactants (Faracchia et al., 2010), les bactériocines et exopolysaccharides (Winkelstroter et al., 2011 ; Kim et al., 2009).

D'après Meylheuc et al.(2006), la surlactine produite par *Lactobacillus acidophilus* RC14 était capable d'inhiber l'adhésion initiale d'*Enterococcus faecalis* 1131 sur du matériel en caoutchouc.

De même, des études ont montré que la sakacine 1 produite par *Lactobacillus sakei* permet d'inhiber les premières étapes de l'adhésion de *Listeria monocytogenes* (Winkelstroter et al., 2011).

Dans une autre étude, des exopolysaccharides produits par *Lactobacillus acidophilus* A4 étaient capables de réduire la formation des biofilms formés par *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) de 87% sur microplaques en polystyrène, et ceci en affectant les gènes liés à la production des *curli* (*crl*, *csgA*, et *csgB*) (Kim et al., 2009).



Matériel et Méthodes

I. Origine des souches

I 1. Souches test

Quinze souches de *Lactobacilles* (tableau IV), isolées à partir de figues fraîches sont testées dans cette étude. Ces souches font partie de la collection des souches microbiennes du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA, Université de Bejaia).

Tableau IV : Les Souches de *Lactobacilles* utilisées et leurs codes

Souche	Code
<i>Lactobacillus</i> ssp	NCA1
	NCA2
	NCA3
	NCA5
	NC1
	SC4
	SC8
	SCA7
	SCA11
	SCA12(10)
	SCA12(11)
	SCA13
	SCA15
	SCA17
	SCA18

I.2. Souches cibles

Les deux souches pathogènes utilisées sont d'origine humaine et font partie de la collection des souches pathogènes du LMA. Il s'agit d'une souche représentative des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et une souche représentative des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*).

II. Préparation de cultures fraîches

- Repiquage de 5 colonies (de 48 h) de chaque culture bactérienne des 15 souches de *Lactobacilles* dans 5 ml de bouillon de Man Rogosa et Sharpe (MRS) (TM Media, Inde) et incubation à 37°C/24 h.
- Repiquage d'une colonie (de 48 h) de chacune des deux souches pathogènes dans 5 ml de bouillon nutritif (BN) (Diagnostici Liofilchem, Italie) et incubation à 37°C/24 h.

III. Test de l'activité antibactérienne

Le test des puits est réalisé dans le but de détecter l'activité antibactérienne des souches lactiques à l'égard des deux souches pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*). Ce test consiste à mettre en contact le surnageant de culture des souches lactiques avec la souche cible. Les souches lactiques étant acidifiantes, le test est réléisé en utilisant le surnageant de culture natif et neutralisé.

III.1. Surnageant natif

Le test est réalisé avec des cultures bactériennes de 18 h suivant la méthode de double couche décrite par Ennahar et *al.*, (1998). Pour se faire, une fine couche de gélose PCA (Plate Count Agar, Liofilchem, Italie) est coulée dans des boites de petri stériles. Après solidification, 10 ml de gélose Mueller Hinton (MH, TM MEDIA,) en surfusion, préalablement inoculée avec la souche cible (10^6 UFC/ml) sont ajoutés. Après solidification, des puits de 6 mm de diamètre. Ces puits sont remplis de 100 µl de surnageant de culture natif des souches lactiques (10^9 UFC/ml) obtenu après centrifugation des cultures à 2000 g/20 min (4°C) (SIGMA 2-&-PK) et filtration à l'aide de filtres à seringues de 0,45 µm de porosité .Les boites ainsi préparées sont entreposées au regrigerateur à une température de 4°C pendant une heure pour permettre la diffusion des eventuelles substances antibacétreinnes présentes dans le susrnageant, puis incubées à 37°C/24 h. L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits. Les diamètres des zones d'inhibition apparues sont mesurés en millimètres. Le résultat est considéré positif si le diamètre de la

zone d'inhibition est supérieur à 1 mm selon Schillinger et Lucke (1989). Le test est refait plusieurs fois pour une confirmation des résultats obtenus.

III.2. Surnageant neutralisé

Le surnageant de culture est neutralisé dans le but d'éliminer l'effet du pH acide, dû aux acides organiques produits (Acides lactique et acide acétique). Le surnageant récupéré par centrifugation est neutralisé par l'addition de la soude (NaOH) 2 N de façon à obtenir un pH aux alentours de 6,5 (Kim *et al.*, 2001 ; Labioui *et al.*, 2005). Le test des puits est par la suite réalisé comme décrit plus haut (paragraphe III.1).

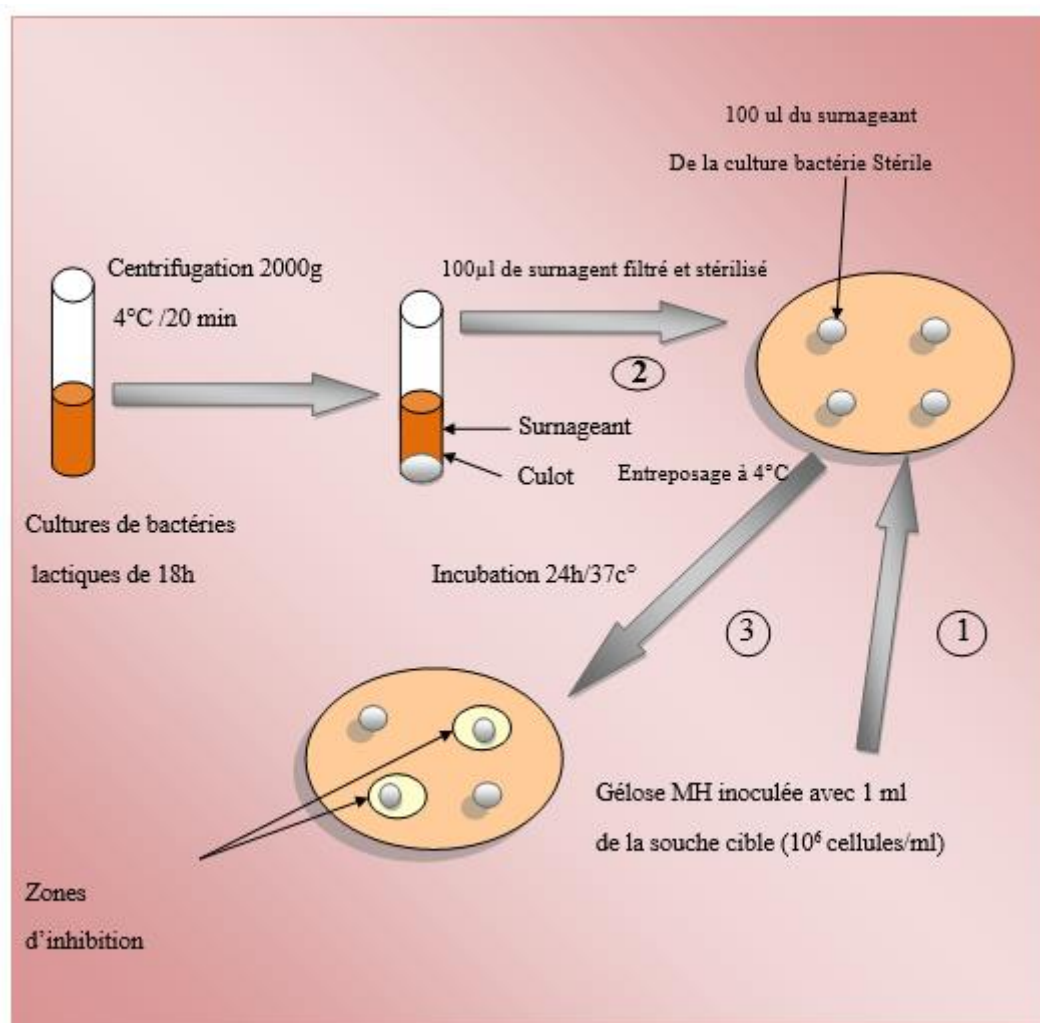


Figure 2 : Schéma représentatif du test des puits.

IV. Potentiel d'adhésion des souches lactiques et pathogènes sur surface abiotique (microplaque en polystyrène)

L'adhésion des souches lactiques et pathogènes est évaluée sur des microplaques en polystyrène suivant la méthode recommandée par O'Toole *et al.*, (1999).

Des cultures fraîches de *Lactobacilles* (MRS, 18 h) ou d'*E. coli* et *S. aureus* (BN, 18 h) sont centrifugées à 2000 g/20 min à 4°C. Les culots bactériens récupérés sont remis en suspension dans du bouillon Trypticase- Soja (TSB, Pronadisa). Après avoir remplis les puits avec 100 µl de bouillon TSB stérile, les puits sont inoculés en triple (trois répétitions par souche) avec 100 µl de la suspension bactérienne préparée dans le TSB. La microplaque est par la suite incubée à 37°C/24 h. Après incubation, le contenu des puits est soigneusement aspiré et les puits sont lavés deux fois avec de l'eau physiologique stérile sous agitation douce à l'aide d'une plaque agitatrice, pendant 1 min pour chaque lavage. Par la suite, les cellules adhérentes sont fixées avec de l'alcool absolu (200 µl) (Sigma-ALDRICH) pendant 1 min, puis coloré avec du cristal violet (0,1 %, m/v, Biochem-Chemopharma, Québec) sous agitation pendant 20 min. A la suite de la coloration, les puits sont vidés et deux lavages successifs, avec de l'eau physiologique, sous agitation douce pendant 1 min, sont effectués. Une fois le rinçage est terminé, les microplaques sont décolorées par addition de 200 µl d'éthanol 96% et agitation. La lecture est relayée à l'aide d'un lecteur microplaque (Biotek ELx 800) à une longueur d'onde de 495 nm. Des puits remplis uniquement avec 200 µl de bouillon TSB stérile sont inclus en tant que témoins.

V. Activité antiadhésive des souches lactiques à l'égard des souches pathogènes

Des cultures fraîches de *Lactobacilles* (MRS, 18 h) sont centrifugés à 2000 g/20 min à 4°C. La moitié du surnageant est récupérée et stérilisée à travers des filtres à seringues (0,45 µm) tandis que l'autre moitié est neutralisée à un pH de 6,5 puis filtré.

Après avoir remplis les puits avec 50 µl de bouillon TSB stérile, les puits sont inoculés avec 50 µl de la suspension bactérienne de la souche cible (*E. coli* ou *S. aureus*). Un volume de 100 µl de surnageant de culture natif ou neutralisé sont ajoutés au niveau de chaque puit. Une microplaque est préparée pour chaque souche cible, chaque surnageant de culture (natif ou neutralisé) est testé en triple (3 répétitions dans la même microplaque). La microplaque est

Matériel et Méthodes

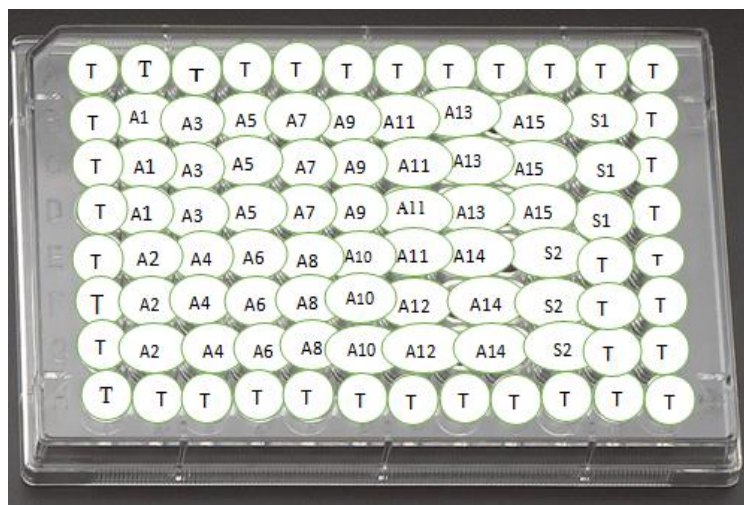
par la suite incubée à 37°C/24 h. Des puits remplis uniquement avec 200 µl de bouillon TSB stérile sont inclus en tant que témoins.(Figure 3)

La préparation des microplaques après incubation (Lavage, coloration et decoloration) ainsi que la lecture sont réalisés comme décrit plus haut (IV).



100µl du TSB + 100µl du surnageant de la souche test

Témoin : T
NC1 :A5 NCA1 : A2
NCA2 :A3
NCA3 :A4 NCA5 :A1 SC4 :A6
SC8 :A7 SCA7 :A8 SCA11 :A9
SCA12(10) :A10
SCA12(11) :A11
SCA13 :A12 SCA15:A13
SCA17:A14 SCA18 :A15
<i>Staphylococcus aureus</i> : S1
<i>Escherichia coli</i> :S2



Incubation 24h/37°C

Mesure de l'absorbance à 495 nm

Figure 3 : Technique du criblage sur microplaque



Résultats et Discussion

I. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des puits

L'objectif principal de ce test était de déterminer que l'activité antibactérienne est due à la production de métabolites antibactériens extracellulaires.

L'agent inhibiteur a été recherché dans le surnageant de culture des souches lactiques, pour cela, un test de diffusion sur gélose (Test des puits) a été réalisé pour éliminer l'hypothèse des compétitions nutritionnels. (Ennahar et *al.*, 1998).

I.1. Cas du surnageant natif

Le test a été réalisé avec du surnageant de culture au contact de la souche cible.

I.1.1. Test des puits à l'égard d'*Escherichia coli*

Après 24h d'incubation la plupart des souches de bactéries lactiques étudiées ont montré une activité inhibitrice plus ou moins importante à l'égard d'*Escherichia coli* dont la zone d'inhibition maximale a été de $Z_i = 16$ mm.

L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure 1 mm selon Schillinger et Lucke (1989). D'après cette étude, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 0 à 16 mm, uniquement 4 souches (SC8, SCA13, SCA15 et SCA18) n'ont montré aucune activité antibactérienne (absence de zones d'inhibition) (figure 4).

L'inhibition des souches d'*Escherichia coli* par certaines souches du genre *Lactobacillus* a été déjà décrite par plusieurs travaux (Todorov et *al.*, 2004 ; Karthikeyan et Santosh, 2009).

Résultats et discussion

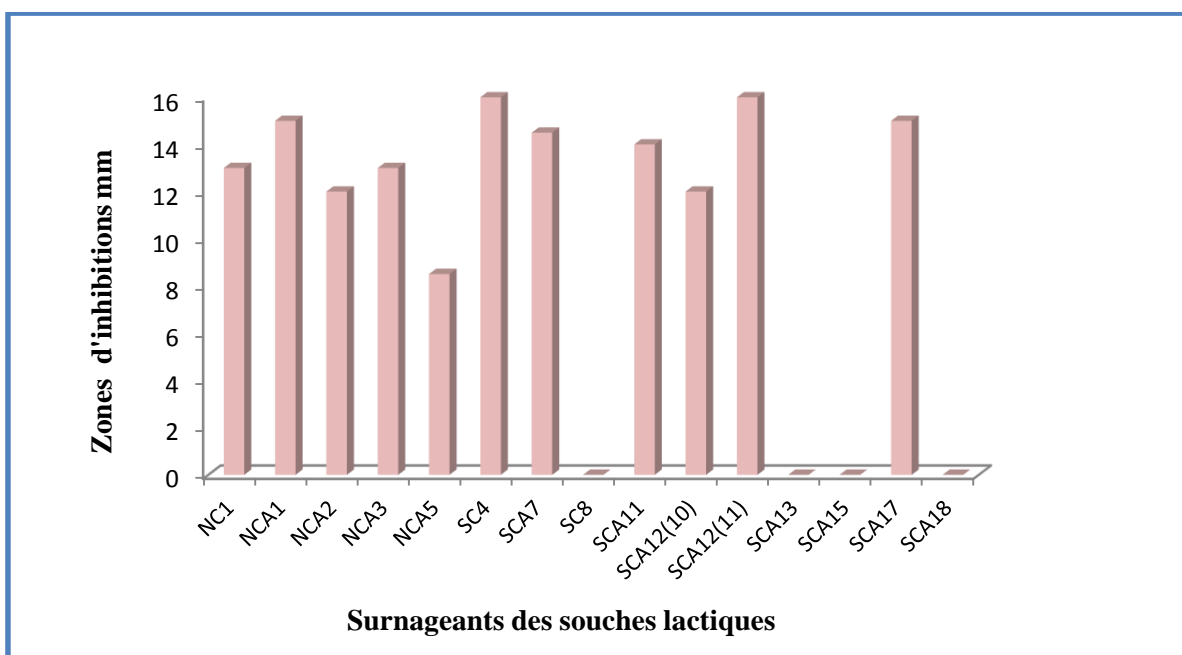


Figure 4 : Diamètres des zones d'inhibition des 15 souches lactiques à l'égard d'*Escherichia coli* S1.

D'après les résultats obtenus, on remarque que certaines souches possèdent des pH plus acides que d'autres, tandis que leurs zones d'inhibition sont moins importantes (tableau V).

Tableau V : Comparaison des pH de certaines souches quant à leurs activités antibactériennes

Souches	pH	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
SCA13 - NCA1	3,90 – 4,94	0 – 15
SC4- SCA12(10)	3,90 – 3,90	16 – 7,5
NCA2 - SCA17	4,03 – 4,03	12 – 15
NCA1 – NCA13	4,94 – 3,9	15 – 13
NC1 - NCA3	3,93 - 3,9	13 - 13
NCA5 - SCA7	4,04 - 4,01	8,5 – 14,5
SCA11- SCA12 (11)	3,9 – 4,03	14 - 12
SC8 - SCA15	4,8 – 3,95	0 – 0
SCA18	3,9	0

Résultats et discussion

Les souches (SCA13, SC8, SCA15 et SCA18), présentent des pH (3.9, 4.8, 3.95, 3.9) plus acide que les autres souches, mais elles ne possèdent aucune activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* (absence de zones d'inhibition), contrairement aux autres souches qui ont des pH supérieurs à ces derniers, mais présentent une bonne activité antibactérienne. Cela pourrait être dû probablement à la présence d'autres substances antibactériennes que les acides organiques tels que les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène (Labioui et *al.*, 2005) ; ou pourrait également être relié au fait que les souches n'ayant montré aucune activité antibactérienne ne produisent pas ou peu d' H_2O_2 et que ce dernier a été éliminé par la souche cible en utilisant sa propre catalase, sachant qu'*E. coli* est à catalase positif,

L'effet antimicrobien du peroxyde d'hydrogène résulterait de l'oxydation des groupes sulfhydriques causant une dénaturation d'un certain nombre d'enzymes. Il limite ainsi la croissance des bactéries pathogènes (Yüksekdağ et *al.*, 2004).

Autres souches comme NCA2 et SCA17 possédant des pH égaux (4,03) alors que les diamètres de leurs zones d'inhibitions sont différents (12 et 15 mm respectivement). Cela s'explique par le type et la quantité d'acide organique non dissocié (Lactique ou acétique) produit par la souche lactique ; Sachant qu'à un pH donné l'effet antibactérien de l'acide acétique est plus élevé que celui de l'acide lactique à cause de leurs PKa (Acide lactique 3,9 et acide acétique 4,75) et donc sa plus grande quantité sous forme non dissociée par rapport à l'acide lactique à un pH donné, De plus sa pourrait être du à la présence de bactériocines car les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* sont connues en leur production de bactériocines (Navaro et *al.*, 2000 ; Todorov et *al.*, 2004). On a rapporté que la bactériocine ST13BR produite par *Lactobacillus plantarum* ST13BR, inhibe la croissance d'*Escherichia coli* (Todorov et *al.*, 2004).

I.1.2. Test des puits à l'égard de *Staphylococcus aureus*

Dans ce test, 7/15 souches (NC1, NCA3, NCA5, SC8, SCA13, SCA15 et SCA18) n'ont présenté aucune zone d'inhibition à l'égard de *Staphylococcus aureus*, les autres souches ont montré des zones d'inhibitions avec des diamètres de 7,5 à 13 mm.

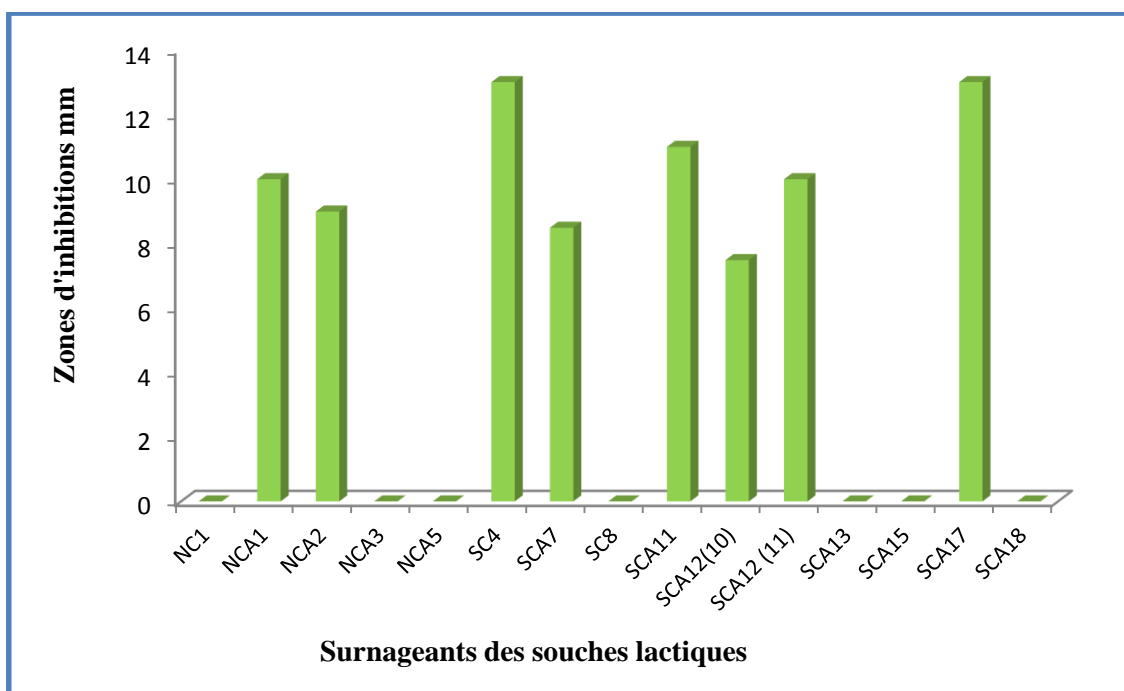


Figure 5 : Diamètres des zones d'inhibition des 15 souches lactiques à l'égard de *Staphylococcus aureus*.

Des résultats similaires ont été rapportés par Mami (2013) dont les diamètres étaient de 10 à 28 mn.

I.2. Cas du surnageant neutralisé

➤ Test des puits à l'égard d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Après ajustement du pH des surnageants de cultures des souches lactiques à 6,5, aucune activité antibactérienne n'est restée visible à l'égard d'aussi bien *Escherichia coli* que *Staphylococcus aureus*.

Ceci laisse penser que cette activité serait probablement due aux acides organiques, en particulier les acides lactique et acétique, qui ont un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ou à des substances actives uniquement à pH acide (De Vuyst et Vandamme, 1994). Ce résultat a déjà été rapporté pour certaines bactériocines produites par *Lactobacillus plantarum* qui ne sont actives qu'à pH acide (Lade et al., 2005), de même la pediocine produite par *Lactobacillus plantarum* DDER 11007 était plus active à pH acide qu'à pH neutre (Bernbom et al., 2006).

D'après Dortu et Thonar (2009), cela serait dû à :

Résultats et discussion

- De faibles concentrations des bactériocines produites
- Ou bien l'activité antibactérienne déjà observée pourrait être due à des bactériocines, qui seraient restés fixer sur la paroi bactérienne.

De plus, l'acidité reste le principal inhibiteur chez les bactéries lactiques.

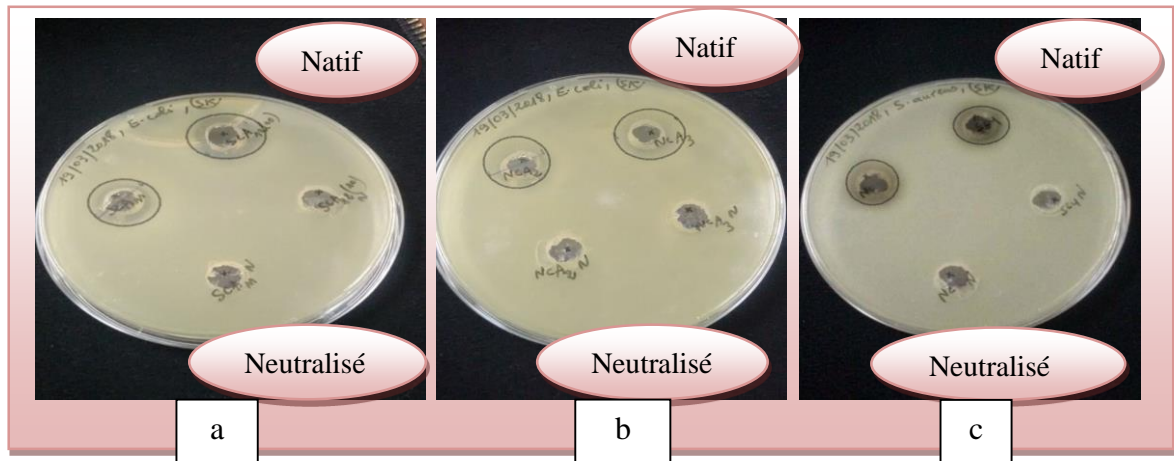


Figure 6: Exemple de résultats obtenus par le test des puits avec les surnageants natifs, et neutralisés à l'égard d'*Escherichia coli* (a,b) et de *Staphylococcus aureus* (c).

Buchanan et Edelson (1999) affirment que l'acide lactique est efficace pour limiter la croissance *in vitro* des bactéries pathogènes comme *E. coli*. En effet, ils ont montré que l'inhibition de la croissance de cette dernière par *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* est liée principalement à l'acide lactique (Abedi et al., 2012).

II. Mise en évidence de l'activité antiadhésive

II.1. Capacité d'adhésion (formation de biofilm) et antiadhésive

Dans le but d'étudier l'activité antiadhésive des souches lactique, un criblage des quinze souches de *Lactobacillus* a été effectué sur des microplaques en polystyrène. De même, la capacité de deux souches pathogènes a été évaluée.

II.2. Capacité d'adhésion des souches lactiques et pathogènes

Dans ce test, la détection de l'adhésion des souches de *Lactobacillus* que de deux souches pathogènes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a été menée en utilisant des microplaques en polystyrène de 96 puits, incubés à 37°C pendant 24 h. Mais, l'importance

Résultats et discussion

de cette adhésion ne peut pas être estimée que par la mesure des absorbances après coloration au cristal violet.

La mesure de l'absorbance (A) à 495 nm des suspensions bactériennes correspondant aux cellules des souches lactiques et pathogènes adhérentes et après coloration au cristal violet, ont donné des valeurs comprises entre 0,048 et 0,084.

Ces différences dans les valeurs d'absorbance indiquent une différence dans la capacité d'adhésion des souches étudiées (Figure 8).

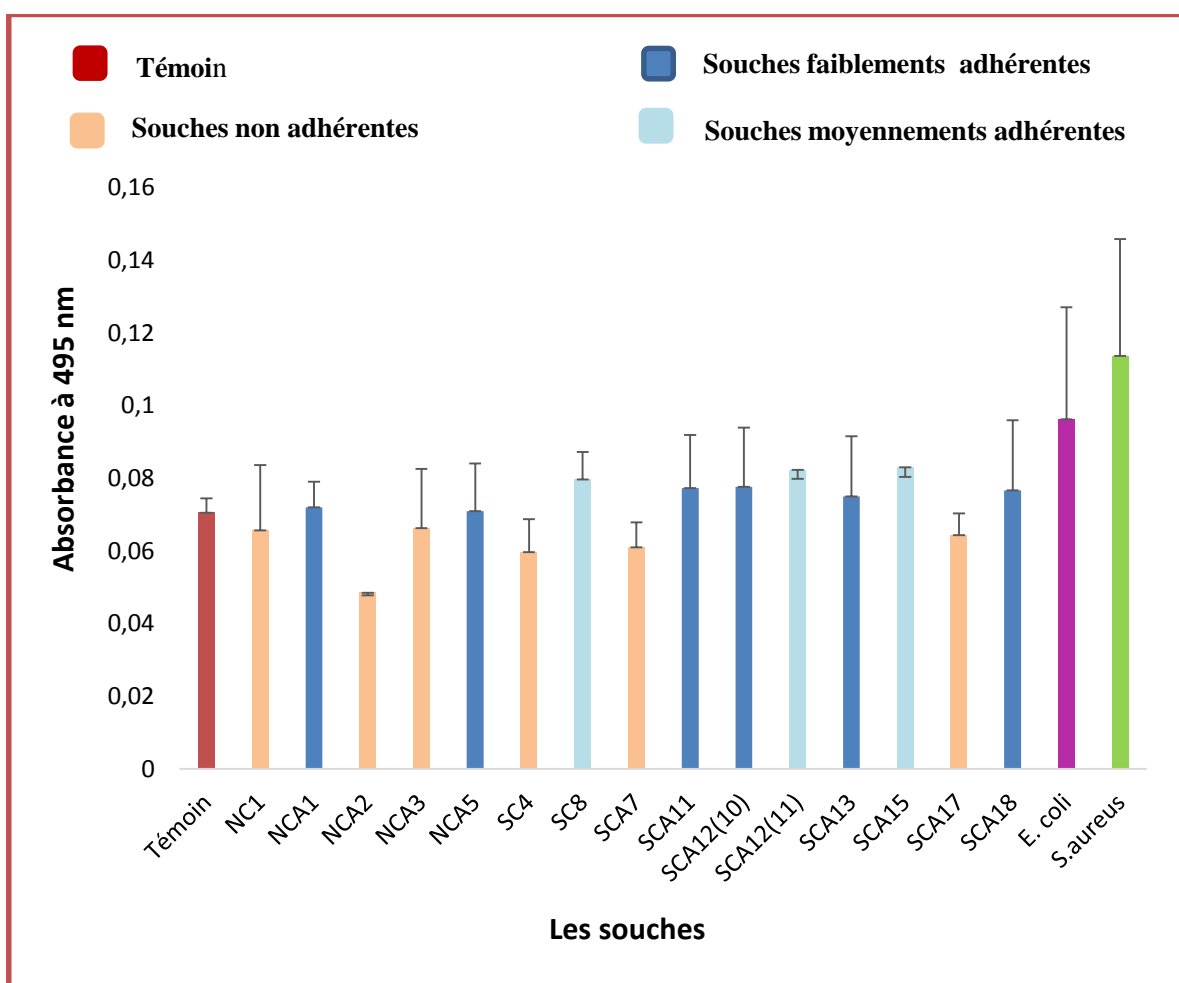


Figure 8 : Résultats de la capacité d'adhésion des Lactobacilles et pathogènes sur microplaque en polystyrène.

La capacité de production de biofilms positifs peut être considérée comme une propriété très importante chez les bactéries lactiques car elle pourrait conduire à la formation d'une barrière aux agents pathogènes. Selon les résultats présentés sur figure 8, il s'avère que les deux pathogènes sont plus adhérentes que les souches de *Lactobacillus*. En effet,

Résultats et discussion

parmi ces derniers uniquement 3 souches sont moyennement adhérentes (SC8, SCA12(11) et SCA15), 6 souches faiblement adhérentes (NCA1, NCA5, SCA11, SCA12(10), SCA1 et SCA18) et les 6 autres souches n'ont montré aucune capacité d'adhésion (NC1, NCA2, NCA3, SC4, SCA7 et SCA17). Par contre *E. coli* et *S. aureus* se sont révélés moyennement adhérentes.

Une étude a évalué la formation de biofilm en microplaques en polystyrène par *S. aureus*, *E. coli* et *Listeria monocytogenes*, il s'est révélé que ses souches étaient moyennement adhérentes (Rodriguez et al., 2010).

D'après une étude de Bharathi et al. (2011), sept souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius* et *Lb. casei* ssp *pseudoplantarum*) étaient toutes capables de former un biofilm en cultures pures et mixtes sur du polystyrène. Une autre étude, menée sur trois souches de bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* a montré que Ces dernier étaient capables d'adhérer sur des lamelles en verre (Kubota et Shoukosenda, 2008).

Selon une étude menée sur la souche *E. coli* K12, il a été montré que cette souche utilise diverses structures de surface comme le *Fimbriae* de type 1, le flagelle et l'antigène 43 pour le phénomène d'adhésion (Schembri et al., 2003).

II.2.1. Activité antiadhésive des souches de *Lactobacillus*

➤ A l'égard d'*Escherichia coli*

Selon les résultats illustrés sur la figure 9, on constate que quatre souches (NCA1, NCA5, SCA7 et SCA12(11)) exercent un effet antiadhésif vis-à-vis d'*E. coli* aussi bien avec leurs surnageants natifs que neutralisés, Par contre, la souche NC1 inhibe l'adhésion d'*E. coli* qu'a pH natif, et ce contrairement aux souches NCA3, SC4, SCA11 et SCA17 qui n'ont montré l'activité antiadhésive qu'aux pH neutralisés. Ceci qui pourrait être expliqué par le présence de métabolites inactif a pH acide (Lade et al., 2005). Et le reste des souches n'ont montré aucun effet antiadhésif ni avec le surnagent natif ni avec le surnagent neutralisé, pour les absorbances supérieurs à celle du témoin NCA2, SCA13, SCA15, SC8 on peut expliquer par le fait que ces souches produisent des molécules qui ont favorisé l'adhésion d'*E. coli*.

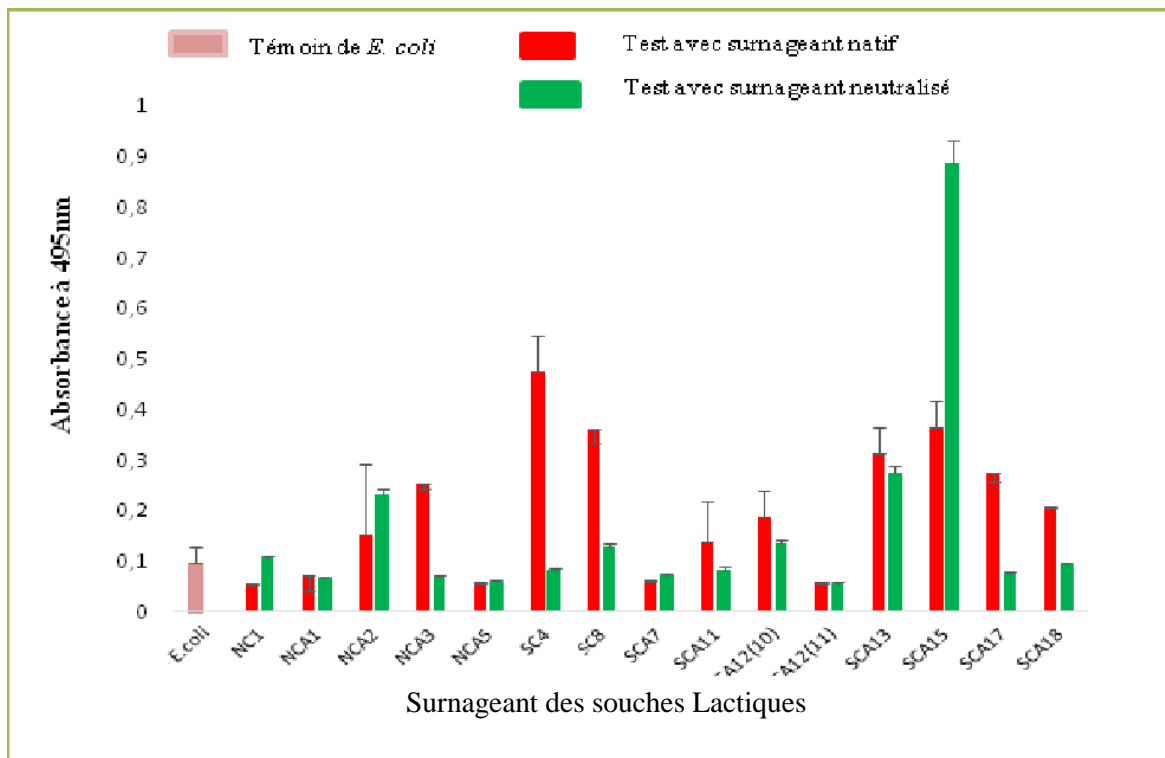


Figure 9 : Résultats de l'activité antiadhésive des souches de *Lactobacillus* à l'égard d'*Escherichia coli* sur microplaque en polystyrène.

➤ **A l'égard de *Staphylococcus aureus***

D'après les résultats montrés sur la figure 10, on déduit que toutes les souches lactiques ont une activité antiadhésive (surnageant natif) vis-à-vis de *S. aureus*. Uniquement SC8 et SCA15 qui n'ont montré aucune activité aussi bien à pH natif que neutralisé, contrairement aux souches SC4, SCA12(10), SCA13 et SCA18 qui ont exercé un effet antiadhésif avec les surnageants natif et neutralisé, pour les absorbances supérieures à celle du témoin on pourrait expliquer probablement par le fait que ces souches produisent des molécules qui ont favorisé l'adhésion de *Staphylococcus aureus*.

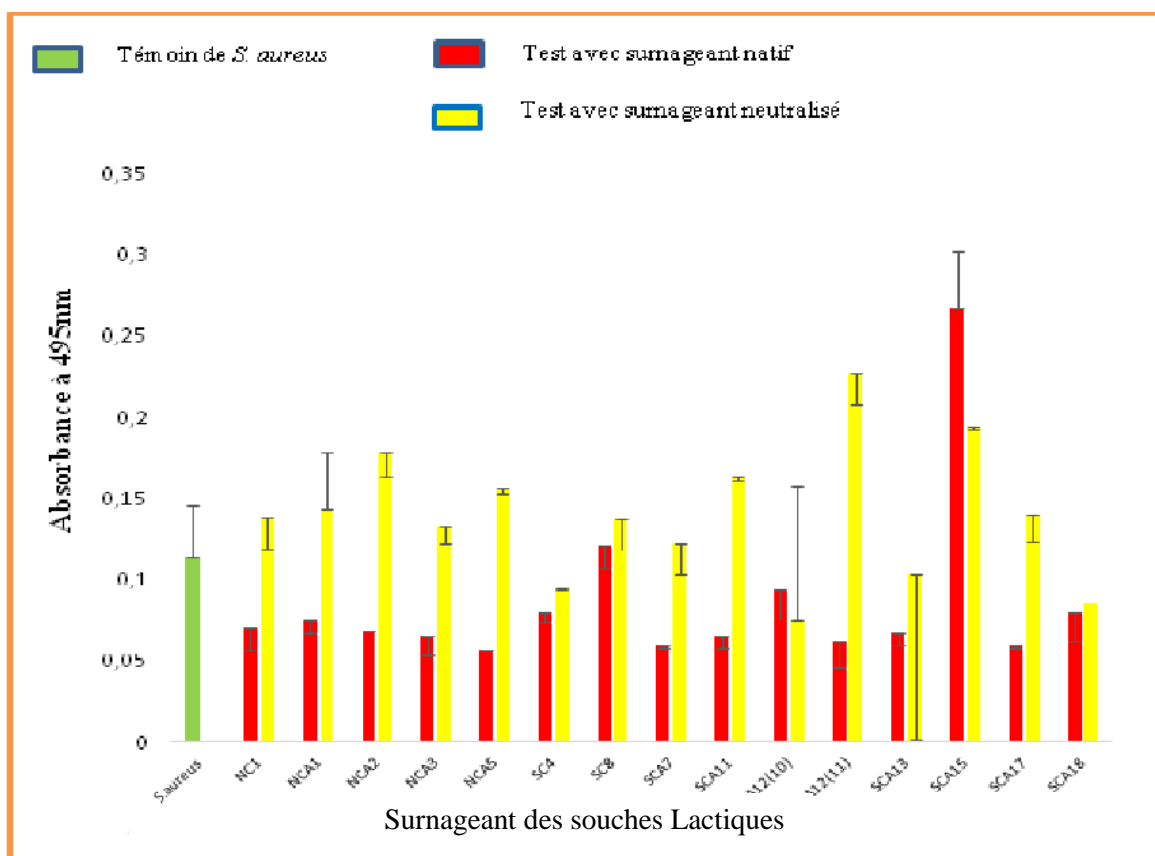


Figure 10 : Résultats de l'activité antibactérienne de *Lactobacillus* à l'égard de *Staphylococcus aureus* sur microplaque en polystyrène.

II.2.2. Activité de détachement

➤ A l'égard de *Staphylococcus aureus*

La mesure des absorbances a donné des valeurs comprises entre 0,09 et 0,127 (figure11).

Dix souches de *Lactobacillus* n'ont eu aucun effet sur *S. aureus*, car elles n'ont pas pu le détacher, contrairement aux cinq souches restantes NCA5, SC4, SCA12(10), SCA13 et SCA15, qui ont un léger détachement de *S. aureus*.

Les souches NC1, NCA2, NCA3, SC8, SCA7, SCA11, SCA12(11), SCA17 et SCA18, en présence des surnageants de culture des souches lactiques la capacité d'adhésion de *Staphylococcus aureus* a augmenté, probablement dû à la production des souches lactiques des molécules qui favorisent l'adhésion de *Staphylococcus aureus*.

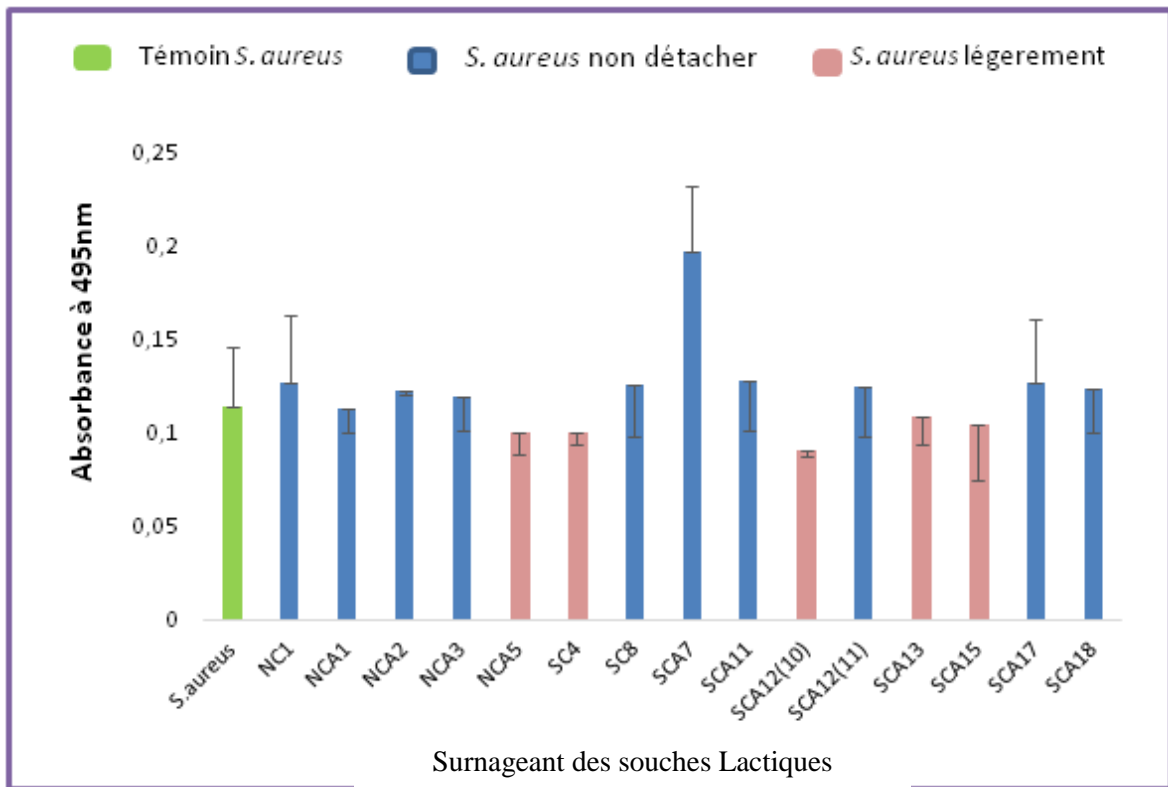


Figure 11 : Résultats de l'effet détachant des surnageants de cultures des souches lactiques à l'égard de *Staphylococcus aureus*.

➤ **A l'égard d'*Escherichia coli***

La mesure des absorbances a donné des valeurs comprises entre 0,065 et 0,193 (figure 12), huit souches de *Lactobacillus* n'ont montré aucun effet sur *E. coli*, contrairement aux sept souches restantes NCA3, NCA5, SC8, SCA12(10), SCA12(11), SCA13 et SCA18 qui ont peu légèrement détacher *E. coli*.

En présence des surnageants de culture des souches lactiques, NC1, NCA1, NCA2, SC4, SCA7, SCA11, la capacité d'adhésion d'*Escherichia coli* a augmenté, probablement dû à la production de molécules qui favorisent l'adhésion d'*Escherichia coli*

Résultats et discussion

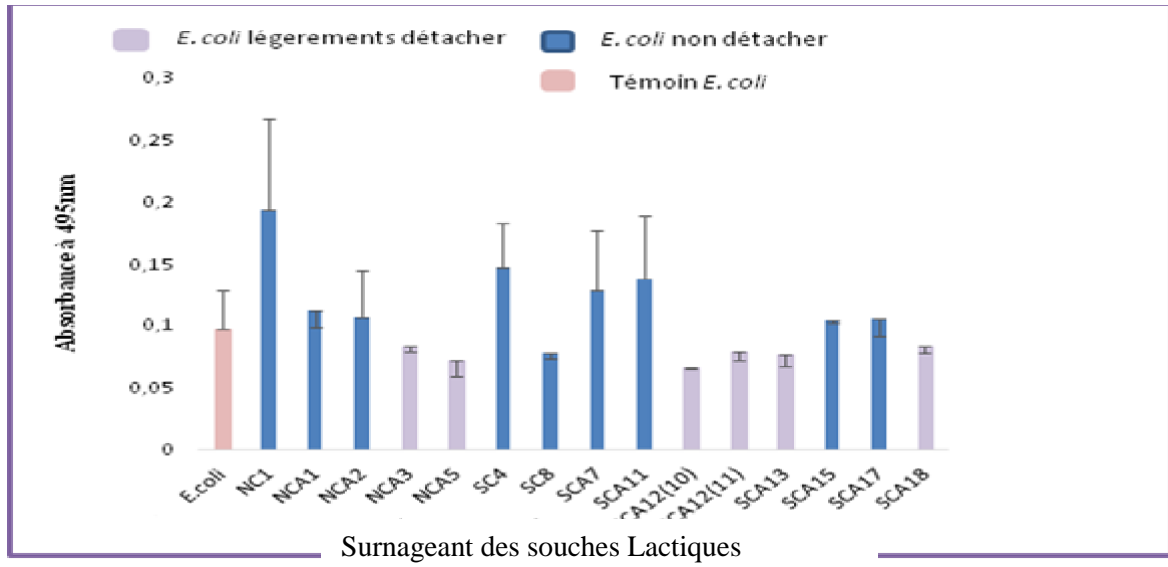


Figure 12 : Résultats de l'effet détachant des surnageants de cultures des souches lactiques à l'égard d' *Escherichia coli* .

A decorative banner with a brown outline and a white fill. The banner has a central rectangular section with rounded corners, and two triangular flaps extending outwards from the top and bottom edges. The word "Conclusion" is written in a black, serif font in the center of the banner.

Conclusion

Dans cette étude 15 souches lactiques, isolées de figes fraîches et faisant partie de la collection des souches du laboratoire de Microbiologie Appliquée, ont été testées quant à leurs activités antibactérienne et antiadhésive à l'égard d'*Escherichia coli* S2 et de *Staphylococcus aureus* S1.

L'activité antibactérienne a été évaluée par l'application du test des puits dans le but de déterminer la nature de cette activité. Les résultats obtenus ont révélé une importante activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* ainsi que de *S. aureus*; 11 souches d'entre elles ont été trouvées capables d'inhiber la croissance d'*E. coli* avec des zones d'inhibition bien distinctes dont le diamètre variait entre 8,5 et 16 mm. A l'égard de *S. aureus* 10 souches ont montré une activité antibactérienne avec des zones d'inhibition de diamètre variant entre 7,5 et 13. Pour exclure l'hypothèse que l'activité soit exclusivement due à l'acidité le test a été réalisé avec des surnageants de cultures neutralisés, aucune inhibition n'a été observée, ce qui laisse penser que cette activité serait probablement due aux acides organiques.

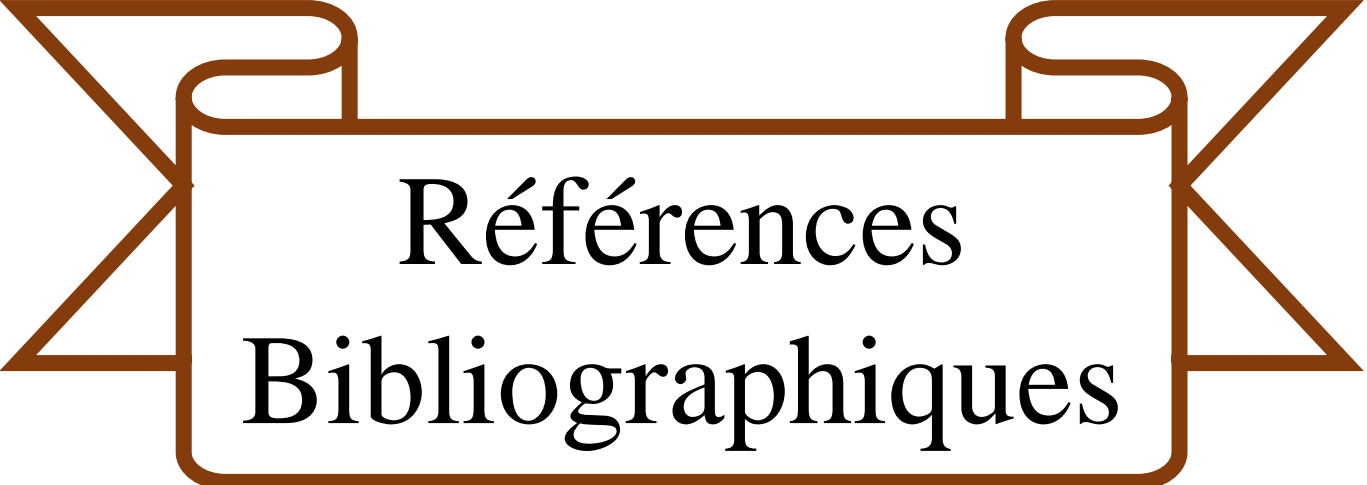
L'évaluation de l'activité antiadhésive a été effectuée sur des microplaques en polystyrène. En premier lieu, la capacité d'adhésion des 15 souches lactiques ainsi que des deux souches pathogènes (*Escherichia coli* S2 et *Staphylococcus aureus* S1) a été testée. Parmi les 15 souches de *Lactobacillus*, 3 souches se sont avérées être moyennement adhérentes et 6 souches faiblement adhérentes tandis que les deux souches d'*E. coli* et *S. aureus* se sont révélées fortement adhérentes.

Pour le test d'inhibition de l'adhésion, il a été réalisé avec les surnageants natif et neutralisé. Suite à ce test, 4 souches ont exercé un effet antiadhésif vis-à-vis d'*E. coli* avec les deux surnageants, contrairement à 4 autres qui n'ont révélé d'activité qu'avec le surnageant neutralisé. De même pour *S. aureus*, 13 souches lactiques ont montré une activité antiadhésive avec uniquement leurs surnageants natifs et 4 ont pu exercer un effet avec le surnageant neutralisé. Quant au test du détachement des cellules adhérentes, une légère activité a été notée.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les souches de *Lactobacillus*, isolées des figes fraîches locales, exercent un effet inhibiteur sur la croissance ainsi que l'adhésion des souches pathogènes.

Cependant, les résultats obtenus au cours de cette étude restent préliminaires, il serait intéressant d'aborder d'autres points et des études plus poussées sont nécessaires pour tirer des conclusions définitives. En perspective nous suggérons :

- Refaire plusieurs tests pour confirmation
- Analyse statistique pour comparer les résultats et permettre un meilleur screening
- Identifier les molécules à l'origine des activités antibactérienne et antiadhésive
- Tester l'activité sur d'autres souches pathogènes
- Tester l'effet antiadhésif sur d'autres surfaces biotiques (lignées cellulaires) et abiotiques (acier inoxydable).



Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abedi D., Feizizadeh S., Akbari V., Jafarin-Dehkordi A., 2012. *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 8(4); 261-268.

Ait ouali F., Al Kassaa I., Cudennec B., Abdallah M., Bendali F., Sadoun D., Chihib N.E., Drider D., 2014. Identification of lactobacilli with inhibitory effect on biofilm formation by pathogenic bacteria on stainless steel surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, 191: 116-124.

Allouche F.N., Hellal A., Laraba A., 2010. Etude de l'activité antimicrobienne des Souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature et Technologie*, 3: 13-20.

Annan N.T., Poll L., Sefa-Dedehe S., Plahar W.A., Jakobsen M., 2000. Volatile compounds produced by *Lactobacillus fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida krusei* in single starter culture fermentations of Ghanaian maize dough. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 462-474.

B

Barefoot S. F. et Klaenhammer T R., 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45 (6) : 1808-1815.

Bazo M. 2007. L'effet de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques sur le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM). Thèse de Doctorat de Biologie. Université de Québec, 124p.

Beloin C., Houry A., Froment M., Ghigo G M., Henry N., 2008. A Short time Scale colloidal system reveals early bacterial adhesion dynamics and adhesion-dependent behaviours. *Plos Biology*, 167:15449-1558.

Références bibliographiques

Bennik M.H.J., Overbeek W.V., Smid E.J., Gorris L.G.M., 1999. Biopreservation in modified atmosphere stored mungbean sprouts: the use of vegetable-associated bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control the growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 28: 226-232.

Bernhom N., Licht R.I.P., Vogensen F.k., Norrung B., 2006. *Lactobacillus plantarum* inhibits growth of *Listeria monocytogenes* in an *in vitro* continuous flow gut, but promotes intervasion of *L. monocytogenes* in the gut of gnotobiotic rats. *International Journal of Food Microbiology*, 108: 10-14.

Bharathi P., Bhowmick P.P., Shekar M., Karunagar I., 2011. Biofilm formation by pure and mixed culture of *Lactobacillus* isolated on polystyrene surface in varying nutrient conditions. *Biotechnology Bioinformatics and Bioengineering*, 1(1):93-98.

Böckelmann U., Szewzyk U., Grohmann E., 2003. A new enzymatic method for the detachment of particle associated soil bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 55: 201-211.

Brul S., Coote. P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50: 1-1

Buchanana R.L., Edelson-Mammela S.G., Boydb G., Marmerb B.S., 2004. Influence of acidulant identity on the effects of pH and acid resistance on the radiation resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 21: 51-57.

Buckenhüskes H.J. (1997). Fermented vegetables. In: Doyle, P.D., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, seconded*. ASM Press, Washington, DC, pp. 595-609.

C

Carpentier B. et Cerf O., 1993. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 499-511.

Références bibliographiques

Chamkha M., Sayadia S., Brub V., Godon J.J., 2008. Microbial diversity in Tunisian olive fermentation brine as evaluated by small subunit rRNA single strand conformation polymorphism analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 211-215.

Cogan T.M., Barbosa M., Beuvier E., Bianchi-Salvadori B., Cocconcelli P.S., Fernandez I., Gomez M J.E., Gomez R. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal dairy*, 64: 409-421.

Coghlan A., 1996. Slime city. *New Science*, 204 (5): 32-36.

Costerton J.W., Lewandowski Z., De Beer D., Caldwell D., Korber D., James G., 1994. Minireview: biofilm, the customized microniche. *Journal of bacteriology*, 176:2137-2142.

D

Dat N.M., Hamanaka D., Tanaka F., Uchino, T., 2012. Control of milk pH reduces biofilm formation of *Bacillus licheniformis* and *Lactobacillus paracasei* on stainless steel. *Food Control*, 23: 215-220.

De Vuyst L., Vandamme, E. J., 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria* Springer US. Belgique. pp. 91-142.

Di Cagno R., Surico R.F., Siragusa S., De Angelis M., Paradiso A., Minervini F., De Gara L., Gobbetti M., 2008a. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *International Journal of Food Microbiology*, 127: 220-228.

Di Cagno R., Surico R.F., Paradiso A., De Angelis M., Salmon J.C., Buchin S., De Gara L., Gobbetti M., 2008b. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *International Journal of Food Microbiology*, 128: 473-483.

Références bibliographiques

Di Cagno R., Surico R.F., Minervini G., De Angelis M., Rizzello C.G., Gobbetti M., 2009. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers (*Capsicum annum*L.) to be stored at room temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 130: 108-116.

Di Cagno R., Cardinali G., Minervini G., Antonielli L., Rizzello C.G., Ricciuti P., Gobbetti M., 2010a. Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. *Food Microbiology*, 27: 381-389.

Di Cagno R., Minervini G., Sgarbi E., Lazzi C., Bernini V., Neviani E., Gobbetti M., 2010b. Comparison of phenotypic (Biolog System) and genotypic (random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction, RAPD-PCR, and amplified fragment length polymorphism, AFLP) methods for typing *Lactobacillus plantarum* isolates from raw vegetables and fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 143: 246-253.

Di Cagno R., Minervini G., Rizzello C.G., De Angelis M., Gobbetti M., 2011a. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28: 1062-1071.

Di Cagno F., Coda R., De Angelis M., Gobbetti, M., 2012. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation, *Food Microbiology*, 33: 1-10.

Di Cagno R., Minervini G., Rizzello C.G., Lovino R., Servili M., Taticchi A., Urbani S., Gobbetti M., 2011b. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 28: 900-909.

Donlan R. M., Costerton J. W., 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganism. *Clinical Microbiology Review*, 15:167-193.

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.

Références bibliographiques

Du Toit M., Engelbrecht L., Lerm E., Krieger-Weber S., 2011. *Lactobacillus*: the Next Generation of Malolactic Fermentation Starter Cultures. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6):876-906.

E

Emerenini E.C., Afolabi O.R., Okolie P. I., Akintokun A. K., 2013. Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fresh Fruits and Vegetables Using Nested PCRL Analysis. *British Microbiology Research Journal*, 3 368-377.

Ennahar S., Aoude-Werner D., Assobhei O., Hasselman C. 1998. Antilisterial activity of enterocin 81, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* WHE 81 isolated from cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 521-526.

F

Fakruddin M.d., 2012. Biosurfactant: Production and Application. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 3:124

Faracchia L et al., 2010. A *Lactobacillus* derived biosurfactant inhibits biofilm formation of human pathogenic *Candida albicans* producers. Department of chemical, food, pharmaceutical and pharmacological sciences University of Eastern Piedmont, via Bovio 6, 28100, Novara, Italy

Faten K., Hamida K., Soumya el A., Saad I.S., Hasna M., Hassan L., Moktar H., 2016. *Lactobacillus plantarum*: Effect of a protective biofilm on the surface of olives during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1): 202-209.

Fujii T., Ingham C., Nakayama J., Beerthuyzen M., Kunuki R., Molenaar D., Sturme M., Vanghan E., Kleerebezem M., De vos W., 2008. Two homologous agr-like quorum-sensing systems cooperatively control adherence, cell morphology and cell viability properties in *Lb. plantarum* WCFS1. *Journal of Bacteriology*, 190:7655-7665.

Références bibliographiques

G

Garry P., Christeans S., Cartier P., 2008. Food biopreservation strategies. *International Journal of Food Science and Technology*, 28: 327-334.

Giaouris E., Heir E., Hébraud M., Chorianopoulos N., Langsrud S., Møretrø T., Habimana O., Desvaux M., Renier S., Nychas G.J., 2014. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes ,implications,role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat science*, 97:298-309.

Guessas B et Kihal M. 2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*. 3 (6), 339-342.

Gudina E.J., Teixeira J.A., Rodrigues L.A., 2010. Isolation and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lb.paracasei*. *Colloids and Surfaces B. Biointerface*, 76: 298-304.

H

Harris L. (1998). The microbiology of vegetable fermentations. In: Wood, B.J.B. (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, second ed. *Blackie Academic and Professional*, London, pp. 46-72.

Herná.E., Di Risio, H.D., Isla, Marí.Iné., Torres, S., 2017. Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntiaficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina, *LWT - Food Science and Technology*, doi: 10.1016/j.lwt.2017.05.058.

Holzappel W.H., Habeer P., Geisen R., Bjorkroth A, Schillinger U., 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganism in food and nutrition. *American Journal of clinical Nutrition*, 73: 365 -73.

I

Références bibliographiques

Idoui T., Boudjerda J., Leghouchia E., Karam N.E., 2009. Naturally fermented Jijelian black olives: microbiological characteristics and isolation of lactic acid bacteria. *Grasas y Aceites*, 60, 514-518.

Iwona D., Malgorzata M., et Tadeusz T., 2013. Isolation and Identification of Microorganisms Including Lactic Acid Bacteria and their Use in microbial deacidification of wines from domestic vineyards, *Polish Journal of Microbiology*. 62(3), 331–334.

J

Jiménez-Díaz R., Ríos-Sánchez R.M., Desmazeaud M., Ruiz-Barba J.L., Piard J.C. (1993). Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 isolated from a green olive fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 1416-1424.

K

Kacem M., Zadi-Karam H., Karam N., 2004. Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green Algerian olives. *Grasas y Aceites*, 55, 385-393.

Kachouri F., Ksontini H., Soumya E.A., Saad, I.S.K., Hasna, M., Latrache H., Hamdi M., 2016. *Lactobacillus plantarum*: Effect of a protective biofilm on the surface of olives during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1) 202-209.

Karam M., Kacem N., 2006. Microbiological study of naturally fermented Algerian green olives: isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts along with the effects of brine solutions obtained at the end of olive fermentation on *Lactobacillus plantarum* growth. *Grasas y Aceites*, 57, 292-300

Karovicová J., Kohajdová Z., 2003. Lactic acid fermented vegetable juices. *Horticultural Science*, 30, 152-158.

Références bibliographiques

Karthikeyan V. Santosh S.W., 2009. Isolation and partial characterization of bacteriocin produced from *Lactobacillus plantarum*. *African Journal of Microbiology Research - Academic Journals*, 3(5), 233-239.

Kim J.W., Rajagopal S.N., 2001. Antibacterial activities of *Lactobacillus crispus* ATCC33820 and *Lactobacillus gasserii* ATCC 33323. *The Journal of Microbiology*. 39 (2), 146-178

Kim M., Chun, J., 2005. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 91-96.

Kim S.H et Wei C.I., 2009. Molecular characterization of biofilm formation and attachment of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104 on food contact surfaces. *Journal of food protection*, 9(72), 1841-1847

Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of food Microbiology*, 41, 103-125.

König H. et Fröhlich J. (2009). "Lactic acid bacteria," *Biology of Microorganisms on grapes, in Must and in Wine*, editions König H., Unden G., Fröhlich J. editeur: Verlag Berlin Heidelberg: Springer. 3-30.

Korukluoglu M., Gurbuz O., Sahin I., 2002. Identification of lactic acid bacteria in fresh olive microflora (Turkish). *Turkish Journal of Biology*, 8, 109-111.

Kubota H., Shouko S., 2008. Biofilm formation by Lactic Acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106, 381-386.

Kwak M.K., Liu R., Kang S.O., 2017. Antimicrobial activity of cyclic dipeptides produced by *Lactobacillus plantarum* LBPK10 against multidrug-resistant bacteria, pathogenic fungi, and influenza A virus. *Food Control*doi: 10.1016/j.foodcont.2017.10.001.

L

Références bibliographiques

Labioui H., Elmoualdi L., EL yachioui M. Ouhssine M., 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin de La Société de Pharmacie de Bordeaux*, 144, 237-250.

Lade H.S., Chitanand M.P., Gyananath G., Kadam T.A., 2006. Studies On some Properties Of bacteriocins Produced By *Lactobacillus* Species Isolated From Agro Based Waste. *The International Journal of Microbiology*, 2 (1), 1-4.

Lavermicocca P., Valerio F., Lonigro S.L., De Angelis M., Morelli L., Callegari M.L., Rizzello C.G., Visconti A., 2005. Study of Adhesion and Survival of Lactobacilli and Bifidobacteria on Table Olives with the Aim of Formulating a New Probiotic Food .*Applied and Environmental Microbiology*, 71 (8), 4233-4240.

Lebeaux D., Ghigo J.M., Beloin C., 2014. Tolérance des biofilms aux antibiotiques : Comprendre pour mieux traiter. *Journal des anti-infectieux*, 97, 1016-1026.

Leeber S., De Keersmaecker S.J., Verhoeven T.L.A., Fadda A.A., Marchal K., Vanderleyden J., 2007. Functional analysis of LuxS in the probiotic strain *Lb.plantarum* GG reveals a central metabolic role important for growthe and Biofilm formation. *Journal of Bacreriology* 189, 860-871.

Lock M.A. (1993). Attached microbial communities in rivers .In ford TE. (ed).*Aquatic Microbiology*. Blackwell scientific publication (Cambridge), pp:113-138.

M

Mami A., (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliquées dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat de Microbiologie appliquée. Université d'Oran. 121p.

Références bibliographiques

Menard J-P et Bretelle F. 2012. Vaginose bactérienne et accouchement prématuré. *Gynécologie Obstétrique et fertilité*, 40, 48-54.

Maret du Toit, Lynn Engelbrecht, Elda Lerm, Sibylle Krieger-Weber, 2011. *Lactobacillus*: the Next Generation of Malolactic Fermentation Starter Cultures, 4 , 876–906.

Martine M.C et al.,1996. Inhibition of initial Adhesion of Uropathogenic *Enterococcus faecalis* by biosurfactants from *Lactobacillus* Isolates. *Applied and Environnement Microbiology*.62(6):1958-1963.

Meylheuc T., Renault M., et Bellon-Fontaine M.N.(2006). Adsorption of biosurfactant on surfaces to enhance the disinfection of surfaces contaminated with *Listeria monocytogenes*. *International journal of Food Microbiology* .109:71-78.

Milani L.I.G., Fries L.I.M., Boeira L.S., Melo V. Terra N.N., 1998. Bioprotection of frankfurter sausages. *Acta. Alimentaria*, 27, 221-229.

N

Navarro L., Zarazaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F. Torres C., 2000. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 44-51.

O

Offonry S.U., Achi O.K., 1998. Microbial populations associated with the retting of melon pods (*Colocynthiscitrullus* L.) during seed recovery. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52, 37-47.

Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., Olinude A.A., 2004. Effect of bacteriogenic *Lactobacillus* spp. on the shelf life of fufu, a traditional fermented cassava product. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 20, 57-63.

Références bibliographiques

Oliveira A., Cunha M.D., 2010. Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase- negative *Staphylococci*. *BMC Research Notes*, 3, 260.

Orji M.U., Mbata T.I., Aniche G.N., Ahonkhai I., 2003. The use of starter cultures to produce 'Pito', a Nigerian fermented alcoholic beverage. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 19, 733-736.

O'Toole G., Pratt A.L.A., Watnick P.I., Newman D.K., Weaver V.B., Kolter R., 1999. Genetic approaches to study of biofilms. *Methods in Enzymology*, 310, 91-109.

P

Pessione A., Mangiapane E., Cirrincione S., Pessione E., 2015. Characterization of potentially probiotic lactic acid bacteria isolated from olives: Evaluation of short chain fatty acids production and analysis of the extracellular proteome. *Food Research International*. 67, 247–254.

Plenghvidhya V., Breidt F., Lu Z., Fleming H.P., 2007. DNA fingerprinting of lactic acid bacteria in sauerkraut fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7697-7702.

Pulido R.P., Benomar N., Cañamero M.M., Abriouel H., Gálve, A. (2012). Fermentation of caper products. In: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of Plant-based Fermented Food and Beverage Technology*, second ed. CRC Press, Boca Raton, USA.pp: 201-208.

R

Rodriguez L.B., Santos L.R., Tagliari V.Z., Rizzo N.N., Trenhago G., Oliveira A.P., Goetz F., Nacsimento V.P., 2010. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. *Brazilian journal of Microbiology*, 41, 1082-1085.

Références bibliographiques

Rubio, C., 2002. Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention. Thèse de Doctorat de Métallurgie et Matériaux de l'Université Paris 6, 43p.

S

Sánchez I., Palop L., Ballesteros C., 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of "Almagro" egg plants. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 9-17.

Sanni A.I., Morlon-Guyot J., Guyot J.P., 2002. New efficient amylase-producing strains of *Lactobacillus plantarum* and *L. fermentum* isolated from different Nigerian traditional fermented foods. *International Journal Food Microbiology*, 72, 53-62.

Schillinger U., Lucke F.K., 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied Environmental Microbiology*, 55, 1901.

Seseña S., Palop M.L.I., 2007. An ecological study of lactic acid bacteria from Almagro eggplant fermentation brines. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1553-1561.

Shembri M., Kjaergaard K., Klemm P., 2003. Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Molecular Microbiology*, 48, 253-267.

Simoš M., Simoes L., Vieira M.J., 2010. A review of current and emergent biofilm control strategies. *Food science and technology*, 43, 573-583.

Speranza B., Sinigaglia M., Corbo M.R., 2009. Non Starter lactic acid bacteria biofilm : A means to control the growth of *L. monocytogenes* in soft cheese . *Food Control* 20, 868-865.

T

Références bibliographiques

Tabak S., Bensoltane A., 2011. L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. *Nature et Technologie*, (6), 71-79.

Tagg J. R., Mcgiven A. R., 1971. Assay system for bacteriocins. *Applied Microbiology*, 21(5), 943.

Tamminen M., Joutsjoki T., Sjöblom M., Joutsen M., Palva A., Ryhäne, E.L., 2004. Screening of lactic acid bacteria from fermented vegetables by carbohydrate profiling and PCR-ELISA. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 439-444.

Todorov S.D., Van Reenen C.A., Dicks L.M., 2004. Optimization of Bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barely beer. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 50, 149-157.

Tolker-Nielsen T., Molin S., 2000. Spatial organization of microbial communities. *Microbial Ecology*. 40, 75-84.

Trias R., Bañeras L., Montesinos E., Badosa E., 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*, 11, 231-236.

V

Van Oss C. J. (1996). Forces interfaciales en milieu aqueux. Edition Masson(Paris), 230p.

Vieira-Dalode E.G., Malode Y.E., Hounhouigan D.J., Jespersen L., 2008. Use of starter cultures of lactic acid bacteria and yeasts as inoculum enrichment for the production of gowe, a sour beverage from Benin. *African Journal of Microbiology Research*, 2, 179-186.

W

Références bibliographiques

White D.G., Zhao S., Simjee S., Wagner D.D., McDermott P.F., 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes and Infection*, 4, 405-412.

Wimpenny, J., 2009. Microbial metropolis. *Advances in Microbial Physiology*, 56, 29-84.

Winkelstroter L. K., Gomes B.C., Thomas M.R.S., Souza V.M., Martinis C.P., 2011. *Lb.sakei* 1 and its bacteriocin influence adhesion of *L.monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control*. 22 ; 1404-1407.

Y

Yao A.A., Egounlety M., Kouame L.P., Thonart P., 2009. Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylicés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest : leur utilisation actuelle, *Annales de Medecine Veterinaire*. 153, 54-65.

Yüksekdağ Z., Beyatli Y., Aslim B., 2004. Determination of some characteristics of coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *Journal of Food Science and Technology*, 37, 663-667.

Yi-sheng Chen, Hui-chung Wu¹,D, Fujitoshi Yanagida, 2010. ISOLATION AND CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM RIPE MULBERRIES IN TAIWAN, *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 916-921.

A decorative banner with a brown outline and a white fill. The banner has a central rectangular area with rounded corners. On either side of this central area, there are two vertical rectangular tabs that extend upwards and downwards, each with a rounded top. The word "Annexes" is written in a bold, black, serif font in the center of the banner.

Annexes

Annexes

Annexe I : Composition des milieux de cultures

Tableau I : Bouillon MRS (Man Rogosa et Sharpe) pH =6,5

Composants	g/l
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Tween 80	1 ml
Phosphate dipotassique	2
Acétate de Sodium	3
Citrate triammoniacale	2
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0.5
Eau distillée	Qsp 1L

Pour milieu gélosé, ajouter 15g/l d'agar.

Tableau II : Bouillon TSB (Trypticase-Soy Broth) pH =7

Composants	g/l
Peptone de caseine	17
Peptone de soja	3
Glucose	2.5
Phosphate dipotassique	2.5
Chlorure de sodium	5
Extrait de levure	6
Eau distillée	Qsp 1L

Annexes

Tableau III : Gélose Chapman pH= 7,3

Composants	g/l
Peptone	10
Extrait de viande de boeuf	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	2.5
Rouge de phénol	0.025
Agar	15
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau IV : Bouillon nutritif pH =7,0

Composants	g/l
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2.5
Peptone	5
Chlorure de Sodium	5
Eau distillée	Qsp 1L

Annexes

Tableau V : Gélose EMB pH =7,2

Composants	g/l
Peptone	10
Lactose	10
Phosphate dipotassique	2
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	65mg
Agar	15
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau VI: Gélose Muller-Hinton pH= 7,0

Composants	g/l
Hydrolysat acide de caseine	17.5
Fécule	1.5
Extrait de boeuf	3
Agar	15
Eau distillée	Qsp 1L

Annexes

Tableau VII: Gélose PCA (Plate Count Agar) pH= 7,05 (LIOFIL.CHEM,Italy)

Composants	g/l
Tryptone	05
Glucose	01
Extrait de la levure	2.5
Agar	15
Eau distillée	Qsp 1L

Solution de cristal violet à 0,1%

Cristal violet1g

Eau distillée1L

Annexes

Annexe II : Résultats

Tableau VIII: Résultats du test des puits :

Code des souches	pH natif des surnageants de culture	Diamètre d'inhibition	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
NC1	3,90	13	0
NCA1	4,94	15	10
NCA2	4,03	12	9
NCA3	3,95	13	0
NCA5	4,04	8,5	0
SC4	3,90	16	13
SCA7	4,01	14,5	8,5
SC8	4,80	0	0
SCA11	3,90	14	11
SCA12 (10)	3,90	12	7,5
SCA12 (11)	4,03	16	10
SCA13	3,90	0	0
SCA15	3,95	0	0
SCA17	4,03	15	13
SCA18	3,90	0	0

Annexes

Tableau IX : Résultats du test d'adhésion :

Code des souches	pH	A 495 nm
NC1	4,14	0,0657
NCA1	5,66	0,072
NCA2	4,14	0,0485
NCA3	3,98	0,0663
NCA5	3,99	0,071
SC4	4,14	0,0597
SCA7	4,02	0,0797
SC8	3,93	0,061
SCA11	4,08	0,0773
SCA12 (10)	3,97	0,0777
SCA12 (11)	3,97	0,0823
SCA13	3,97	0,075
SCA15	4,14	0,083
SCA17	4,08	0,0643
SCA18	4,03	0,0767
<i>E. coli</i>	–	0,0963
<i>S. aureus</i>	–	0,1138

Témoin TSB : A= 0,0705

Annexes

Tableau X : Résultats de l'activité antiadhésive vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*

Code des souches	pH	Valeurs de l'absorbance A 495 nm	
		Surnageant Natif	Surnageant neutralisé
NC1	4,14	0,0706	0,1385
NCA1	5,66	0,075	0,1435
NCA2	4,14	0,0685	0,1785
NCA3	3,98	0,0655	0,1325
NCA5	3,99	0,0566	0,1565
SC4	4,14	0,0795	0,0945
SCA7	4,02	0,1215	0,137
SC8	3,93	0,06	0,1225
SCA11	4,08	0,065	0,163
SCA12 (10)	3,97	0,0935	0,074
SCA12 (11)	3,97	0,062	0,2265
SCA13	3,97	0,067	0,103
SCA15	4,14	0,267	0,1945
SCA17	4,08	0,0595	0,1405
SCA18	4,03	0,0795	0,0855

Adhésion *S.aureus* : A= 0.011375

Annexes

Tableau XI: Résultats de l'activité antiadhésive vis-à-vis d'*Escherichia coli*

Code des souches	pH	Valeurs de l'absorbance A 495 nm	
		Surnageant Natif	Surnageant Neutralisé
NC1	4,14	0,055	0,1055
NCA1	5,66	0,0725	0,066
NCA2	4,14	0,154	0,232
NCA3	3,98	0,2536	0,0686
NCA5	3,99	0,058	0,0575
SC4	4,14	0,475	0,0833
SCA7	4,02	0,3595	0,12766
SC8	3,93	0,061	0,071
SCA11	4,08	0,137	0,084
SCA12 (10)	3,97	0,1885	0,1345
SCA12 (11)	3,97	0,0595	0,0545
SCA13	3,97	0,311	0,27433
SCA15	4,14	0,363	0,887
SCA17	4,08	0,2735	0,075
SCA18	4,03	0,2065	0,09266

Adhésion *E.coli* A=0,09625

Annexes

Tableau XII : Résultats de l'effet de détachant vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*

Code des souches	pH	A 495 nm
NC1	4,14	0,127
NCA1	5,66	0,113
NCA2	4,14	0,1225
NCA3	3,98	0,119
NCA5	3,99	0,1005
SC4	4,14	0,1005
SCA7	4,02	0,1255
SC8	3,93	0,197
SCA11	4,08	0,127
SCA12 (10)	3,97	0,09
SCA12 (11)	3,97	0,124
SCA13	3,97	0,1086
SCA15	4,14	0,1043
SCA17	4,08	0,12633
SCA18	4,03	0,123

Adhesion de *S.aureus* A= 0,11375

Annexes

Tableau XIII: Résultats de l'effet détachant vis-à-vis d'*Escherichia coli*

Code des souches	pH	A 495 nm
NC1	4,14	0,1935
NCA1	5,66	0,112
NCA2	4,14	0,106
NCA3	3,98	0,0826
NCA5	3,99	0,071
SC4	4,14	0,146
SCA7	4,02	0,0765
SC8	3,93	0,1273
SCA11	4,08	0,1385
SCA12 (10)	3,97	0,0655
SCA12 (11)	3,97	0,0785
SCA13	3,97	0,0753
SCA15	4,14	0,1035
SCA17	4,08	0,104
SCA18	4,03	0,083

Adhésion *E.coli* ; A= 0,09625

Résumé

Les bactéries lactiques occupent une place importante en industrie agroalimentaire, grâce à leur rôle dans la fermentation et la conservation des aliments, elles comptent aussi parmi les principaux probiotiques. L'objectif de ce travail était d'étudier les pouvoirs antibactérien et antiadhésif de quinze souches du genre *Lactobacillus*, isolées de figes fraîches, vis-à-vis de deux souches pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*). Les résultats obtenus à partir du test des puits ont montré que 11/15 souches lactiques avaient une activité antibactérienne dans leurs surnageants de culture natifs vis-à-vis d'*E. coli*, et 10/15 ont montré de l'activité vis-à-vis de *S. aureus*. Parmi les souches ayant montré une bonne activité, nous avons NCA1, SC4, SCA11, SCA12 (11) et SCA17). Par contre, aucune activité n'a été observée avec leurs surnageants neutralisés. Pour l'activité antiadhésive, après avoir montré la capacité des souches lactiques ainsi que des deux souches pathogènes à adhérer sur microplaque en polystyrène, l'effet barrière des souches lactiques sur l'adhésion d'*E. coli* et de *S. aureus* a été révélé chez 13/15 souches lactiques vis-à-vis de *S. aureus* et uniquement 4 vis-à-vis d'*E. coli* (surnageant natif). Parmi les souches ayant montré le meilleur potentiel antiadhésif nous avons NCA1, NCA5, SCA7 et SCA12(11). De même, uniquement 4/15 souches lactiques, ont pu détacher les deux souches pathogènes. A partir de ces résultats, nous pouvons conclure que les souches de *Lactobacillus*, isolées des figes fraîches, exercent un effet inhibiteur sur la croissance ainsi que l'adhésion de des souches pathogènes. L'hypothèse de l'implication d'autres substances inhibitrices actives uniquement à pH acide n'est pas à exclure et constitue une piste qui reste à explorer. Cependant, des études plus poussées sont nécessaires afin de tirer des conclusions définitives.

Mots clés : Bactéries lactiques, bactéries pathogènes, activité antibactérienne, activité antiadhésive.

Abstract

Lactic acid bacteria are an important part of the agri-food industry because of their role in fermentation and food preservation, and they are also among the main probiotics. The aim of this work was to study the antibacterial and antiadhesive properties of fifteen strains of the genus *Lactobacillus*, isolated from fresh figs, with respect to two pathogenic strains (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*). The results obtained from the well-diffusion test showed that 11/15 lactic acid strains had an antibacterial activity in their native supernatant against *E. coli*, and 10/15 of them showed activity against *S. aureus*. Among the strains showing better activity, we have NCA1, SC4, SCA11, SCA12 (11) and SCA17), whereas, no activities were observed with their neutralized supernatants. For the anti-adhesive activity and after showing the ability of the lactic acid and the two pathogenic strains to adhere to polystyrene microplates, the barrier effect exerted by the lactic acid strains on the adhesion of *E. coli* and *S. aureus* was revealed in 13/15 lactic acid strains against *S. aureus* and only 4/15 against *E. coli* (native supernatants). Among the strains that showed the best anti-adhesive potential, we have NCA1, NCA5, SCA7 and SCA12 (11). Similarly only 4/15 lactic acid strains, were able to detach the adherent pathogens. From these results, we can conclude that the *Lactobacillus* strains, isolated from fresh figs exert an inhibitory effect on the growth and adhesion of pathogens. The hypothesis of the implication of other active inhibiting substances than acidic pH is not to be excluded and constitutes a track that remains to be explored. However, further studies are needed to draw definitive conclusions.

Keywords: Lactic acid bacteria, pathogens, antibacterial activity, anti-adhesive activity.