

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Béjaia**

**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*

**Potentiel antibactérien de quelques bactéries  
lactiques à l'égard de *staphylococcus aureus*  
d'origine clinique.**

Présenté par :

**MESSAOUD Thinhinane & TAIBI Romaisa**

Soutenu le :12 septembre 2022

Devant le jury composé de :

**M. BENSALD K.**

**MAA**

**Président**

**Mme. BENACHOUR K.**

**MAA**

**Encadreur**

**M. NOURI H.**

**MCB**

**Examineur**

**Année universitaire : 2021 / 2022**

## *Remerciements*

*Nous tenons, en premier lieu, à rendre grâce à dieu le tout puissant de nous avoir fait naître musulmanes, de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Ces avec un grand honneur et un grand plaisir que nous remercions notre promotrice, **M<sup>me</sup> BENACHOUR Karima** de nous avoir encadrés. Merci madame pour votre soutien et votre disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.*

*Nous exprimons également nos vifs remerciements à **M. BENSALD K.** qui nous a fait un immense honneur de présider le jury ainsi que **M. NOURI H.** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous tenons à remercier également tous les techniciens du laboratoire de microbiologie pour leur présence et leur aide,*

*Ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont apportés leur aide, leur soutien et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

*Nos chaleureux remerciements s'adressent finalement à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation au sein de l'université de Bejaia.*

*Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.*

***Merci à tous et à toutes.***

## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*  
*À Mes chers parents, pour leurs sacrifices, leurs amours inestimables, leurs tendresses, leurs soutiens dans les moments difficiles, leurs prières et leurs encouragements tout au long de mes études. À la source de la tendresse de patience et de générosité, la flamme de mon cœur ma mère "Younsaoui Fadila ", qui m'a appris que la patience est le Secret du succès. À la lumière de mes jours, la source de mes efforts mon père "Nour Eddine".*

*À ma chère sœurs "Ouarda" pour son encouragement, son soutien moral et pour son aide dans les moments difficiles. Merci d'être là pour moi.*

*À mes très chers frères "Boubkeur" et "Akram" qui ont toujours été à mes côtés*

*"Que le bon dieu puisse vous préserver du tout mal et vous combler de santé et de bonheur".*

*À toute ma grande famille surtout ma chère tante "Nouara" qui ma toujours encouragé.*

*À ma chère binôme "Tinhinane" avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

*À mes chères amies : Asma, Laldja, Manel et Melissa qui n'ont pas cessé de m'encourager. Je vous aime énormément.*

*À tous mes camarades de la promotion de Microbiologie Appliquée.*



*Romaïssa*

## *Dédicaces*

*Avant tous je remercie le dieu qui m'a aidé et donné le courage pour  
faire ce travail*

*Avec un grand plaisir et beaucoup de joie que je dédie ce travail a :*

*À mes chers et beaux parents Mr Messaoud Abdelkader et Mm  
kebiche Ghenima qui ont été à mes côtés le long de mon parcours  
scolaire, pour leurs efforts, patience, encouragement, sacrifices qui  
m'ont donnés pour terminer mes études, sans vous je serai jamais ou je  
suis aujourd'hui je vous aime que dieu vous donne la santé et longue  
vie.*

*Grand merci*

*À mon petit frère Amar et ma chère grand-mère Taous*

*À mes collègues d'études et toute la famille Messaoud et Kebiche  
surtouts koussaïla et Mecipssa*

*À tous ceux que je porte dans mon cœur*



*Thinhinane*

---

*Listes d'abréviation, figures,  
et tableaux*

---

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARNr 16S** : Acide ribonucléique ribosomiques 16S

**Aw** : Activité de l'eau (Activity Water)

**BHIB** : Bouillon Brain Heart Infusion (Cœur-cervelle)

**BL** : Bactérie lactique

**BN** : Bouillon nutritif

**°C** : Degré Celsius

**Ca<sup>2+</sup>** : Calcium

**CG** : Cytosine Guanine

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**DL** : Dose létale

**EMP** : Embden Meyerhof Parnas

**EPA** : protéine d'adhérence extracellulaire

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer

**h** : heure

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**GN** : Gélose nutritive

**GRAS**: Generally Recognized as Safe

*Lb*: *Lactobacillus*

**MH**: Mueller-Hinton

**min**: minute

**Mg<sup>2+</sup>**: Magnesium

**ml**: millilitre

**mm**: millimètre

**Mn<sup>2+</sup>**: Manganese

**MRS**: Man Rogosa Sharp.

**MSCRAMM** : Microbial Surface Component Recognizing Adhésive Matrix Molécules

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide hydrique

**O<sub>2</sub>** : Dioxygène.

**OH** : Hydroxyde d'hydrogène

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

*S.aureus* : *Staphylococcus aureus*

*Sp* : Species (Espèce).

**TIA** : Toxi-infections alimentaires

**tr** : tour

**TSS** : Syndrome du choc toxique

**UFC** : Unité formant colonie

**ZI** : Zone d'inhibition

<b>N</b>	<b>Intitulé</b>	<b>page</b>
<b>01</b>	Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des spots.	<b>19</b>
<b>02</b>	Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des puits.	<b>20</b>
<b>03</b>	Aspect de bouillon MRS après croissance des souches des bactéries lactiques.	<b>22</b>
<b>04</b>	Aspect des colonies des souches lactiques.	<b>23</b>
<b>05</b>	Aspect des colonies <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman.	<b>23</b>
<b>06</b>	Résultat + de la catalase chez <i>S.aureus</i> .	<b>23</b>
<b>07</b>	Résultats du test de spots à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>25</b>
<b>08</b>	Diamètre de zones d'inhibition obtenues par le test des spots à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>25</b>
<b>09</b>	Diamètre de zones d'inhibition obtenues par le test des puits à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>27</b>
<b>10</b>	Résultats du test des puits à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>27</b>
<b>11</b>	les cultures pures et mixtes après 24h d'incubation.	<b>29</b>
<b>12</b>	Evolution du dénombrement en fonction du temps pour culture pures et mixtes des souches inhibitrices 1003 et 3081 et la souche pathogène S20.	<b>30</b>



<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b> : Toxines impliquées dans la virulence de <i>S.aureus</i> .	<b>13</b>
<b>Tableau II</b> : les différentes souches de bactéries lactiques utilisées.	<b>15</b>
<b>Tableau III</b> : dilutions utilisé dans chaque intervalle de temps.	<b>21</b>
<b>Tableau IV</b> : Résultats de la standardisation des souches lactiques et des souches pathogènes.	<b>24</b>
<b>Tableau V</b> : les valeurs de pH des surnageant des bactéries lactiques.	<b>26</b>
<b>Tableau VI</b> : Les valeurs de PH de test d'antagonisme sur milieu liquide des cultures pures et mixtes.	<b>30</b>
<b>Tableaux en annexe</b>	
<b>Tableau VII</b> : Résultats des tests d'identification de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau VIII</b> : Résultats des tests d'identification des bactéries lactiques.	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau IX</b> : Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par le test des spots à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau X</b> : Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par le test des puits à l'égard de <i>S.aureus</i> .	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau XI</b> : résultats de dénombrement des cultures mixtes et pures des souches inhibitrices 1003 et 3081 et la souche pathogène S20.	<b>Annexe II</b>

# Sommaire

Introduction .....	1
--------------------	---

## Partie I : Synthèse bibliographique

<b>I. Bactéries lactiques.....</b>	<b>3</b>
I.1. Définition et caractéristiques générales des bactéries lactiques.....	3
I.2. Habitat.....	3
I.3. Taxonomie et classification .....	4
I.4. Genre <i>Lactobacillus</i> .....	4
I.4.1. Propriétés générales de <i>Lactobacillus</i> .....	4
I.4.2. Caractères morphologique .....	5
I.4.3. Caractères biochimiques.....	5
I.4.4. Caractères cultureux.....	5
I.4.5. Les exigences nutritionnelles des <i>lactobacillus</i> .....	6
I.4.6. Effet antimicrobien des lactobacilles .....	6
<b>II. Activité antibactérienne des bactéries lactiques .....</b>	<b>7</b>
II.1. Métabolites antimicrobiens non peptidiques .....	7
II.1.1. Acides organiques.....	7
II.1.2. Acides gras.....	7
II.1.3. Peroxyde d'hydrogène .....	8
II.1.4. Dioxyde de carbone.....	8
II.1.5. Reutéline.....	8
II.1.6. Diacétyle et d'autre produits .....	8
II.2. Métabolites antimicrobiens peptidiques : Les bactériocines .....	9
<b>III. <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>	<b>9</b>
III.1. Historique .....	9
III.2. Classification .....	10
III.3. Habitat .....	10
III.4. Caractères bactériologiques .....	10
III.4.1. Caractères morphologiques .....	10
III.4.2. Caractères biochimiques .....	11
III.4.3. Caractères cultureux .....	11
III.5. Pouvoir pathogène.....	11

III.5. Facteurs de virulence .....	12
III.5.1. Protéines de surface .....	12
III.5.2. Facteurs de protection contre la phagocytose .....	12
III.5.3. Toxines.....	13
III.5.4. Les enzymes.....	13

## **Partie II : Partie pratique**

### **Matériel et méthodes**

I. Objectifs du travail.....	15
II. Origine des souches utilisées .....	15
II.1. Souches test.....	15
II.2. Souches cibles.....	16
III. Revivification et vérification de la pureté des souches conservées.....	16
III.1. Revivification.....	16
III.2. Vérification de la pureté .....	16
III.2.1. Examen macroscopique.....	17
III.2.2. Examen microscopique .....	17
IV. Standardisation des inoculas bactériens.....	18
V. Détermination de l'activité antibactérienne des souches lactiques.....	18
V.1. Test des spots (modifié) .....	18
V.2. Test des puits (modifié).....	19
V.3. Test d'antagonisme direct dans le milieu liquide .....	21

### **Résultats et discussion**

I. Revivification des souches utilisées .....	22
II. Vérification de la pureté .....	22
II.1. Examen macroscopique .....	22
II.2. Examen microscopique.....	23
II.3. Test de catalase .....	23
II. La standardisation des inoculas bactériens. ....	23
IV. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	24
IV.1. Test des spots.....	24
IV.2. Test des puits.....	26
IV.3. Test d'antagonisme direct dans le milieu liquide.....	28
<b>Conclusion .....</b>	<b>33</b>

---

# *Introduction*

---

La découverte de la relation symbiotique entre l'Homme et les bactéries a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes (Tripathi et Giri, 2014). Les bactéries lactiques ont une longue histoire d'exploitation par l'Homme, étant utilisées depuis des siècles dans la préservation des aliments, l'augmentation de la valeur nutritive et l'amélioration de la qualité organoleptique des aliments et dans la santé, certaines bactéries lactiques sont largement utilisées comme agents probiotiques pour promouvoir la santé humaine tels que : les lactobacilles et qui sont les microorganismes les plus utilisés en tant que probiotiques (Ajao et al., 2021).

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire lors de leur croissance des composés actifs tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyle et les bactériocines, douées d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de germes pathogènes et d'altération (Dortu et Thonart, 2009).

Les scientifiques s'intéressent à l'utilisation de nouveaux agents antimicrobiens dans le traitement des maladies infectieuses, notamment les infections des voies aériennes provoquées par les *Staphylococcus aureus* (Dortu et Thonart, 2009).

*Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus pathogène au sein du genre *Staphylococcus*. Il fait partie des germes les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine. On le retrouve aussi bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers. (Alioua, 2015). Il est responsable d'une variété importante des infections, allant d'atteintes cutanées bénignes (furuncles ou panaris) à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital (septicémies et les infections du système nerveux central) (Le loir et al., 2003). C'est l'un des principaux agents étiologiques en raison de la présence de nombreux facteurs de virulence, notamment des exotoxines, des enzymes, des protéines de surface, de la capacité à produire de biofilm et à l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Hosein et al., 2014).

Dans ce contexte s'inscrit cette étude qui a pour but de sélectionner des souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* douées d'une activité antimicrobienne et la mise en évidence de cette activité à l'égard de *Staphylococcus aureus* isolées à partir des amygdales des enfants malades, qui constitue une menace majeure pour la santé publique.

Ce manuscrit est structuré en deux parties :

- ✓ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui donne une vue générale sur les caractéristiques, classification et les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques ainsi que des généralités sur *Staphylococcus aureus*.
- ✓ Dans la seconde partie du manuscrit, une partie pratique où nous avons exposé le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation des objectifs de notre travail et les résultats obtenus étayés par une discussion.

---

*Partie I :*  
*Synthèse bibliographique*

---

### I. Bactéries lactiques

#### I.1. Caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent des bactéries hétérogènes procaryotes et chimioorganohétérotrophes, à Gram-positifs, généralement immobiles et non sporulée, elles ne possèdent ni catalase, ni oxydase, ni nitrate réductase et anaérobies facultatifs (ou microaérophiles). Elles ont l'aptitude à fermenter les glucides en acide lactique (D (-), L (+) ou DL) en utilisant les voies cataboliques d'Embden Meyerhof Parnas (EMP) et d'Entner Doudoroff (**Savadoغو et Traore, 2011**). Elles peuvent avoir différentes formes : sphériques (coques : *Streptococcus*, *Lactococcus*), bâtonnets (bacilles : *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (coccobacilles : *Leuconostoc sp*) (**Gálvez et al., 2011**).

De point de vue nutritionnel, elles se caractérisent par des exigences assez complexes : les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Badis et al., 2005**). Elles sont Capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 9,5 (**Galia, 2011 ; Salminen et al., 2004**).

Les bactéries lactiques sont caractérisées par un métabolisme exclusivement fermentaire leur permettant, en utilisant des sucres fermentescibles tels que le glucose, de produire principalement de l'acide lactique. Selon ce métabolisme, les bactéries sont dites homofermentaires si elles ne produisent que l'acide lactique, ou hétérofermentaires si la fermentation aboutit à la formation d'autres composés que l'acide lactique comme le CO<sub>2</sub>, l'acide acétique, et l'éthanol (**Raynaud, 2006 ; Pilet et al., 2005**)

#### I.2. Habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquistes (**Ouwehand et al., 2002**), susceptibles d'être retrouvés dans diverses niches écologiques en raison de leur bonne capacité d'adaptation (**Pelinescu et al., 2009**). Elles peuvent être trouvées à l'état libre dans l'environnement (sol, eau, eaux usées, fumier...) comme elles font partie de la flore intestinale et vaginale Humaine ou animale. Elles colonisent de divers produits alimentaires comme les produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage...) et se trouvent même sur la surface des végétaux (plantes, fruits et légumes...) (**Leroi, 2010 ; Klaenhammer et al., 2005**).



### I.3. Taxonomie et classification

Au début du XXe siècle, le terme bactérie lactique, a été introduit dans la monographie d'**Orla-Jensen (1919)**, ce qui constitue la base du système de classification actuelle. Les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques tel que: la morphologie cellulaire, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (**Holzappel et al., 2001**).

Par contre La taxonomie actuelle des bactéries lactiques repose sur les propriétés phylogénétiques, qui ont été révélées par des travaux approfondis sur la détermination de séquençage d'ARNr 16S, le pourcentage de GC de l'ADN et l'hybridation ADN – ADN, Qui permet d'augmenter le nombre de genres et d'affiner cette classification (**Schleifer et al., 1995**).

### I.4. Genre *Lactobacillus*

#### I.4.1. Propriétés générales de *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* regroupent de nombreuses espèces bactériennes omniprésentes dans la nature, mais rarement pathogènes (**Denis et al., 2007**). Ils sont quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Les lactobacilles sont découvert pour la première fois, par Beijerinck en 1901 (**Corrieu et Luquet, 2008**). Ils font partie du phylum des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Lactobacillales, la famille des *Lactobacellaceae* avec plus de 200 espèces reconnues présentant des caractères

phénotypiques très hétérogènes, cette hétérogénéité est due à un GC% allant de 32-55% (**Mokoena, 2017 ; Barinov et al., 2011**).

Plusieurs espèces de *Lactobacillus* sont essentielles dans la production d'aliments fermentés, en outre, certaines souches d'origine Humaine sont exploitées en tant que probiotiques (**Goh et al., 2009**). Ce genre comprend un nombre élevé des espèces GRAS (généralement reconnues comme sûres) (**Klaenhammer et al., 2005**).

Ils peuvent être isolées de différents biotopes : eau, sol, lait et produits laitiers, végétaux, produits carnés, poissons, bière, vin, fruits et jus de fruits (**Fredereghi, 2005**). En outre, ils constituent une partie importante du microbiote Humain et animal. Chez l'Homme sain, les lactobacilles se retrouvent tout au long du système digestif : de la bouche au côlon. Les espèces les plus rencontrées sont : *Lb.Salivarius*, *Lb.plantarum*, *Lb.brevis*, *Lb.casei*,

*Lb.gasseri*, *Lb.reuteri*, *Lb.fermentum*, *Lb.vaginalis* et *Lb.ruminis*(Ozgun et Vural, 2011 ; Etzold et al., 2014).

### I.4.2. Caractères morphologique

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes ou en paires et globalement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (Mami et Kihal.,2019).

### I.4.3. Caractères biochimiques

Ils sont des bactéries aéro-tolérants ou anaérobies facultatives (Salveti et al., 2012). Les lactobacilles sont catalase négative, nitrate réductase négative, gélatinase négative et dépourvus de cytochrome oxydase. Le métabolisme énergétique des lactobacilles est exclusivement fermentaire (Prescott et al., 2003).

Les lactobacilles sont subdivisés selon leur mode de fermentation en trois groupes :

- **Groupe I** : comprend les espèces homofermentaires obligatoires thermophiles. Produisent exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose et qui sont incapables de fermenter les pentoses ou le gluconate (Guiraud et Rosec, 2004).
- **Groupe II** : rassemble des espèces hétérofermentaires facultatives mésophiles, c'est-à-dire capable d'utiliser la voie hétérofermentaire, dans certaines conditions comme une concentration du glucose limitée (Guiraud et Rosec, 2004).
- **Groupe III** : comprend les espèces qui ont un métabolisme strictement hétérofermentaires et qui forme des quantités équimolaires de CO<sub>2</sub>, d'acide lactique et acétique et /ou éthanol Ce groupe rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles (Federighi et al., 2005 ; De vos et al., 2009).

### I.4.4. Caractères cultureux

La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C. Certaines souches dites « thermophiles » restent viables à 55 °C (Tailliez, 2004). Les lactobacilles se développent mieux dans des conditions acides, quand le pH avoisine les 4,5 à 6,4, mais leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine 3,5. Le milieu de culture et d'isolement des lactobacilles le plus connu est celui de Man Rogosa et Sharpe (MRS). Les colonies sont généralement petites tailles, lisses, brillantes, incolores, blanchâtres ou jaunâtres et arrondies (De Vos et al., 2009).

### I.4.5. Exigences nutritionnelles des *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses telles que :

- **Exigences en vitamines :** Les lactobacilles ont un besoin absolu en vitamine. Les déficiences en vitamines (B12) peuvent induire une diminution à la synthèse de l'ADN et entraîner des changements morphologiques et les cellules deviennent filamenteuses. (De Vos *et al.*, 2009).
- **Exigences en bases azotées :** Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles, exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. Ces exigences sont variables selon les espèces (Corrieu et Luquet, 2008).
- **Exigences en cations :** Les ions  $Mg^{2+}$  et  $Mn^{2+}$  ou  $Fe^{2+}$  sont nécessaires pour la croissance des lactobacilles. Le manganèse et le magnésium interviennent comme activateurs d'un grand nombre de réactions enzymatiques et comme stabilisateurs de la structure des acides nucléiques, de l'intégrité des ribosomes et de la membrane cellulaire des lactobacilles (De Vos *et al.*, 2009).

### I.4.6. Effet antimicrobien des lactobacilles

Grace à leurs effets bénéfiques, les lactobacilles sont utilisés dans plusieurs secteurs d'activités, notamment dans le domaine de l'agriculture, alimentaire et de santé.

Il jouent un rôle important pour assurer la sécurité alimentaire et prolonger la durée de vie des produits alimentaires, en exerçant un effet antagonisme contre de nombreux microorganismes, y compris les agents pathogènes d'altération des aliments (Al-Tawaha et Meng., 2018), montrent que le lait fermenté de consommation contenant *Lactobacillus plantarum* qui apporte une activité probiotique à l'hôte car elle empêche la croissance de cinq pathogènes alimentaires : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* et *Shigella flexneri* qui peuvent contaminer les produits alimentaires. La nisine est également capable d'inhiber les genres : *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Listeria* et *Clostridium* en particulier *Clostridium tyrobutyricum* responsable de la production de gaz dans les fromages semi solides (Walstra *et al.*, 2006).

En 2009, Bermudez et Langella ont montré l'importance de l'utilisation des souches recombinantes de *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus plantarum* en tant que vecteur vaccinal pour délivrer des protéines d'intérêt médical à la surface des muqueuses avec une forte stimulation de la réponse immunitaire.

La nisine est additionnée à certaines lotions utilisée comme bain de bouche pour traiter la gingivité et prévenir les caries dentaire en inhibant les micro-organismes en cause. Elle est aussi utilisée dans le traitement des ulcères gastriques vu sa stabilité aux pH acides et son activité contre *Helicobacter pylori* ( **Boakes et Wadman., 2008, Tong et al., 2010**).

## II. Activité antibactérienne des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques produisent divers composés aux propriétés antibactériennes lors de la fermentation lactique, tels que les acides organiques, le diacétyle, le peroxyde d'hydrogène et/ou les bactériocines (**Deegan et al., 2006 ; Dortu et Thonart, 2009**).

Les métabolites antimicrobiens des bactéries lactiques peuvent empêcher la croissance des bactéries pathogènes (**Guessas et al., 2006**).

Composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques sont :

### II.1. Métabolites antimicrobiens non peptidiques

#### II.1.1. Acides organiques

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation Les principaux acides produits sont : l'acide lactique, l'acide acétique et propionique. Ces derniers permettent d'inhiber la croissance des bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide (**Suskovic et al., 2010**).

L'effet inhibiteur de ces acides organiques est principalement provoqué par les molécules non dissociées qui diffusent à travers les couches lipidiques des membranes des microorganismes provoquant ainsi un abaissement du pH dans le cytoplasme qui a pour conséquence la déstabilisation des cellules (**Zhitnitsky et al., 2014**).

#### II.1.2. Acides gras

L'activité antimicrobienne des acides gras a été identifiée pendant plusieurs années. Dans certaines conditions, quelques souches de lactobacilles et lactocoques peuvent produire des quantités significatives d'acides gras insaturé qui présentent une activité contre les bactéries à Gram+, ainsi qu'une activité antifongique qui dépend de la composition, de la concentration, et du pH du milieu (**Gould, 1991 ; Mami et Kihal.,2019**).

### II.1.3. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est produit par les bactéries lactiques en présence de l'oxygène sous l'action de flavoprotéine oxydase du NADH. Ces enzymes catalysent la réduction d'O<sub>2</sub> en peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou en eau (H<sub>2</sub>O) (Mami et Kihal.,2019). Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a des propriétés antibactériennes, qui peuvent s'expliquer par la production de radicaux libres, tels que les groupes superoxyde (O<sub>2</sub>•) et les groupes hydroxyle (OH•), qui peuvent endommager l'ADN bactérien (Nair et al., 2017).

En outre, le pouvoir inhibiteur du peroxyde d'hydrogène pourrait être dû à l'oxydation des groupes sulfhydriles provoquant une modification de la conformation des protéines et donc la perte de fonction des enzymes. De plus, il peut engendrer la peroxydation des lipides membranaires, augmentant ainsi la perméabilité de la membrane du micro-organisme cible (Mami et Kihal.,2019).

### II.1.4. Dioxyde de carbone

Il est principalement produit par des bactéries hétérofermentaires. L'accumulation de dioxyde de carbone dans l'environnement extérieur crée une anaérobiose, qui peut être toxiques pour les microorganismes aérobies. Cependant, de faibles concentrations de dioxyde de carbone peuvent également stimuler la croissance de certaines bactéries (Singh, 2018).

### II.1.5. Reutéline

La Reutéline est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire lors de la fermentation anaérobie du glycérol par certaines souches de *Lactobacillus reuteri*. Elle est résistante aux enzymes protéolytiques et lipolytiques et stable dans une large gamme de pH (Montiel et al., 2014). Cette substance est active contre les bactéries à Gram positif et négatif, ainsi que les virus, les levures, les moisissures et les protozoaires (Cleusix et al., 2007 ; Vollenweider,2004).

### II.1.6. Diacétyl et d'autres produits

Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) est l'un des composants aromatiques essentiels du beurre et de quelques autres produits laitiers fermentés, synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*. Il empêche la croissance bactérienne en affectant l'utilisation de l'arginine (Samaoui, 2010 ; Heita, 2014).

### II.2. Métabolites antimicrobiens peptidiques : Les bactériocines

Le terme « bactériocine » fut utilisé pour la première fois en 1964 par André Lwoff, médecin et biologiste français (**Dillenseger, 2019**). Les bactériocines sont des peptides, produits et secrétés à l'extérieure de la cellule des bactéries lactiques . Leur spectre d'activité peut être plus ou moins large, quelquefois limité aux espèces proches phylogénétiquement des bactéries productrices (**Bouzaid et al., 2016 ; Cotter, et Ross,2005a, b**),

Elles représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leurs spectres d'action et de leurs modes d'action (**Taale et al., 2016**). Ces métabolites ne sont pas des antibiotiques mais elles possèdent des propriétés antibiotiques car elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (**Mekri, 2016**).

Les bactériocines interagissent avec la membrane cytoplasmique de la cellule hôte(**Dortu et Thonart, 2009**). Elles forment des pores dans la membrane cytoplasmique de la souche cible, qui causent l'efflux des petits composés intracellulaires, comme les ions et les acides aminés, et donc une dissipation de la force proton motrice, entraînant la mort de la cellule (**Patton et Van Der Donk, 2005**).

### III. *Staphylococcus aureus*

#### III.1. Historique

L'aventure scientifique de cette bactérie identifiée dès l'aube de la bactériologie moderne par plusieurs microbiologistes à l'instar de Koch, Pasteur, Ogston et Rosenbach (**Karthik, 2007 ; Avril et al.,2000**), commença à la fin du XIX ème siècle. Koch décrit le rôle pathogène des bactéries présentant sous forme de cocci Gram positif en 1878 (**Spicer, 2003**). Deux ans plus tard ces cocci ont été ensuite observés et identifiés dans le pus des furoncles par Louis Pasteur (**Grace et Fetsch, 2018**).

En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires. Ces amas sont à l'origine du nom *Staphylococcus*, (en grec « staphylos » désigne les grappes de raisins et « kokkos » : grains). En 1884, le physicien allemand Friedrich Julius Rosenbach isola des cultures pures de deux souches de staphylocoques sur milieu solide et il donna la première description du se germe différencié en fonction de la couleur des pigments produits par les colonies : *staphylococcus aureus*, du latin « aureus » qui signifie « Or » et *staphylococcus albus*, du latin « albus » qui signifie « blanc » (**Newson,2008 ; Licitra, 2013**).

### III.2. Classification

*Staphylococcus* est phylogénétiquement proche du genre *Enterococcus* (Schleifer et Bell, 2009), il comprend actuellement 47 d'espèces et sous-espèces réparties sur la base des techniques d'hybridation ADN—ADN et de séquençage du gène de l'ARNr16S. (Barbier, 2015).

L'espèce *Staphylococcus aureus* appartient au domaine de Bacteria ou Eubacteria, phylum des Firmicutes, ordre des Bacillales, classe de Bacilli, familles des *Staphylococcaceae*, genre *Staphylococcus* et l'espèce de *Staphylococcus aureus*. (Delarras, 2014), Subdivisée en deux sous espèces *S.aureus Subsp.aureus* et *S.aureus Subsp.anaerobius*. Cette dernière est moins connue, en revanche, seule *S. aureus* est traitée dans plusieurs travaux (Le loir et Gautier, 2010).

### III.3. Habitat

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans différentes niches écologiques (Zarazaga et al., 2018). Essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur (l'eau, la terre, l'air) et à la surface des objets usuels, mais aussi en commensal de la sphère rhinopharyngée, des épithéliums cutanés et muqueux de l'Homme aussi bien que les animaux. (Burns et al., 2014 ; Porrero, 2014).

Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'Homme est les muqueuses des fosses nasales. Celui-ci est fréquent chez les enfants que chez les adultes (Denis et al., 2016). Donc c'est un germe pathogène difficile à éliminer du fait qu'il est un habitant presque commensal, (Watson et al., 2006). *S.aureus* peut donc, à partir de ces réservoirs, infecter les lésions cutanées, les glandes mammaires et les muqueuses intestinales ou génitales (Williams, 1963).

### III.4. Caractères bactériologiques

#### III.4.1. Caractères morphologiques

Les *S.aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique et de taille comprise entre 0,5 et 1µm de diamètre. Ils sont immobiles, apparaissant à l'examen microscopique seules, par paires ou en grappes irrégulières ressemblant à des grappes de raisin (Arumugam et al., 2017). On y trouve chez peu de souches de *S.aureus* la présence de capsule visible en microscope optique (Denis et al., 2007).

### III.4.2. Caractères biochimiques

Les *S. aureus* sont des bactéries aéro-anaérobie facultatives, produisent une catalase mais pas d'oxydase (Arumugam et al., 2017). Ainsi, les souches de *S. aureus* sont : indole négative, acétone positif, uréase positifs, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Denis et al., 2007).

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. En effet, *S.aureus* métabolisent plusieurs sucres tel que : l'amidon, glucose, fructose, galactose, ribose, lactose..., le glucose est dégradé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol (Touaitia, 2016). La majorité des souches de *S.aureus* produisent une enzyme coagulase, un facteur de virulence et critères d'identification des staphylocoques dorés (Arumugam et al, 2017).

### III.4.3. Caractères cultureux

*S.aureus* se développe entre 10 et 42°C avec une température optimale de 37°C et de pH compris entre 7,4 et 7,6 .C'est un germe halotolérant et se multiplie dans des conditions hostiles (Nandy, 2013), peu exigeant sur le plan nutritif donc il se cultive plus facilement sur les milieux usuels et sur les milieux sélectifs (Vitko et Richardson , 2013).

En milieu liquide, *S.aureus* produit un trouble homogène abondant avec dépôt en surface (Kloos et al. 1990). Alors qu'en milieu solide, les colonies apparaissent lisses, brillante, rondes et bombées, plus ou moins pigmentées en jaune doré, leur diamètre est compris entre 2 et 3 mm (Tille, 2014). En gélose profonde, cette bactérie se développe sur toute la hauteur du tube témoignant son caractère aéro-anaérobie facultatif (Morgene, 2018). C'est une bactérie relativement résistante aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et le téllurite de potassium et elle tolère une activité en eau très réduite ( $A_w = 0,83$ ) (Winn et al., 2006).

### III.5. Pouvoir pathogène

- *S.aureus* est responsable d'infections suppuratives conduisant à des infections cutanées telles que l'impétigo, les furoncles et les escarboucles ; en outre les infections des muqueuses sont essentiellement des angines, des sinusites et des conjonctivites (Tong et al., 2015).
- Quelques maladies liées à la production de toxines, principalement :
  - Le syndrome du choc toxique (TSS) infection staphylococcique grave, est dû à la sécrétion d'exotoxine appelée « Toxine Du Choc Toxique Staphylococcique »(TSST-1) par *S.aureus* à activité super-antigène. (Caby et al., 2010).



- Les toxi-infections (TIA) à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliment dans lequel des entérotoxines préformé dans l'aliment. (**Le loir et Gautier, 2010**).
- *S.aureus* peut également causer des infections profondes : endocardite, péritonite, pneumonie nécrosante, bactériémie, ostéomyélite... (**Winn et al., 2006**).

### III.6. Facteurs de virulence

#### III.6.1. Protéines de surface

Les protéines de surface peuvent être impliquées dans la colonisation, l'adhésion, la diffusion et l'invasion dans un organisme cible (**Foster, 1998**) telles que :

- **MSCRAMM** : Les MSCRAMM (Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules) sont des protéines de surface attachées au peptidoglycane de la paroi bactérienne. Il existe plusieurs MSCRAMM et ils ont des rôles différents car ils agissent sur des composants différents (**Foster, 1998**).
- **Protéine A** : liée au peptidoglycane de la paroi cellulaire bactérienne de *S. aureus*, elle a la capacité de se lier à la région Fc de l'immunoglobuline G (IgG). Cette protéine inhibe l'opsonisation et la phagocytose des microorganismes par les cellules polynucléaires et l'activation du complément (**Biljana et al., 2015**).
- **SERAM** : C'est une protéine d'adhérence extracellulaire (EPA) qui est presque omniprésente chez les souches de *S. aureus*, joue un rôle de déterminant de la virulence dans des infections chroniques à *S. aureus* (**Lee et al., 2002**).

#### III.6.2. Facteurs de protection contre la phagocytose

Un total de 90% des souches de *S. aureus* ont une capsule polysaccharidique, qui est anti-phagocytaire. Cette capsule est également impliquée dans le phénomène d'adhérence (**Flandrois, 1997**). Dans certaines conditions, cette bactérie est capable de produire un biofilm polysaccharides entourant les colonies et permettant à la fois l'ancrage de la bactérie et une protection mécanique contre la phagocytose (**Benardl ,2006**). La présence de l'enzyme coagulase, un autre facteur de protection contre la phagocytose, protégeant ainsi les bactéries. (**Fauchere et Avril ,2002**).

### III.6.3. Toxines

Les toxémies staphylococciques sont causées par la diffusion de toxines à partir d'un foyer infectieux ou à l'ingestion d'une toxine préformée dans un aliment contaminé. (Vincenot *et al.*, 2008) (Tableau I).

**Tableau I :** Toxines impliquées dans la virulence de *S.aureus* (Vincenot *et al.*, 2008).

Familles	Principales toxines	Mécanismes d'action
Toxines super antigénique	- Toxine du choc toxique staphylococcique - Entérotoxines A à E, G, I à U	- Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation. - Réaction auto-immune. - Intoxication alimentaire.
Toxines formant des pores	- Toxines à hélice alpha - Alpha-hémolysine - Gamma-hémolysine - Leucocidine de Panton – Valentine	- Destruction des cellules de défense de l'hôte par formation de pores au niveau des membranes cellulaires.
Toxine à activité protéolytique	Exfoliatines	- Syndrome d'exfoliation généralisé

### III.6.4. Enzymes

Ces enzymes sont essentiellement :

- **Coagulase liée (Clumping factor):** Facteur d'affinité pour le fibrinogène, elle le fixe et entraîne l'agglutination des Staphylocoques (Jeljasze *et al.*, 1983).
- **Coagulase libre, ou Staphylocoagulase :** C'est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin c'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de *S.aureus*. Elle est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose (Le Minorl, 1990 ; Caby *et al.*, 2010).

- **Staphylokinase ou Fibrinolysine :** La Staphylokinase active le plasminogène en plasmine, et lyse les caillots de fibrine. Elle réduit la fonction du réseau de fibrine, en maintenant une infection staphylococcique localisée (**Otto, 2014**).
- **Nucléase :** La nucléase staphylococcique est connue sous le nom de Thermonucléase, en raison des résistances à l'inactivation thermique. Cette enzyme fonctionne à la fois comme endo et exonucléase, qui dégrade les substrats d'ADN et d'ARN par le clivage de la liaison ester 5' phosphorylé. Elle nécessite des ions  $\text{Ca}^{2+}$  pour son activité (**Tam et Torres, 2019**).

---

*Partie II :*  
*Partie pratique*

---

---

*Matériels et  
méthodes*

---

### I. Objectif du travail

L'objectif escompté à travers cette présente étude expérimentale est de déterminer les propriétés antimicrobiennes des souches de bactéries lactiques vis-à-vis de quelques souches de *Staphylococcus aureus* isolée d'angines infantiles.

### II. Origine des souches utilisées

#### II.1. Souches tests

Les souches de bactéries lactiques (souches test) utilisées pour réaliser cette étude sont des souches appartenant à la collation du laboratoire, isolées à partir de différents laits fermentés et conservées à 4°C dans un bouillon MRS et appartiennent au genre *Lactobacillus* (Tableau II).

**Tableau II** : les différentes souches de bactéries lactiques utilisées

Code des Souches	Origine
1003	Lben artisanal
3081	Beurre traditionnel
5367	Lben artisanal
8LB1	Lait cru de chèvre
BNBL	Beurre traditionnel
Plant YS	Lait cru de chèvre
PN	Lait cru

#### II.2. Souches cibles

Pour les souches cibles ; afin de sélectionner les souches lactiques les plus performantes, nous avons utilisé cinq souches de *Staphylococcus aureus* conservées à 4°C dans le bouillon nutritif, elles sont isolée à partir des amygdales des enfants malades. Les codes des souches sont E27, E46, S20, SRYS et P76.

### III. Revivification et vérification de la pureté des souches conservées

#### III.1. Revivification

La revivification des souches consiste à les repiquer successivement sur des milieux appropriés, puis à les incuber jusqu'à l'obtention d'une culture fraîche.

Les souches tests (lactiques) étaient conservées sur bouillon MRS à 4°C, elles sont revivifiées par le transfert de 1 ml de leur culture dans des tubes de 9 ml du bouillon MRS. Ensuite elles sont incubées à 37°C pendant 24h à 48 h. Pour les souches cibles (*S.aureus*), étaient conservées dans des bouillons nutritifs à 4°C. Leur revivification consiste à transférer 1ml de la culture de chacune d'elles dans 9 ml du bouillon nutritif. Ces bouillons sont incubés à 37°C, pendant 24h.

Cette opération est répétée plusieurs fois, afin d'avoir des cultures fraîches. Le développement de ces bactéries se traduit par un trouble et une pastille blanche au fond de tube qui caractérise les bactéries lactiques.

#### III.2. Vérification de la pureté

C'est indispensable de vérifier la pureté des souches utilisées et réaliser quelques tests rapides. Des repiquages successifs à partir des cultures bactériennes de 24h sont effectués sur gélose MRS pour les souches test et sur gélose nutritive et Chapman pour les souches de *S.aureus*. Sur gélose, l'ensemencement a été effectué par la méthode des stries, suivi d'une incubation à 37°C pendant 24h, l'incubation peut prolongée pour les bactéries lactiques à 48h jusqu' à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes. La pureté des souches a été vérifiée par une observation macroscopique, microscopique et un test de recherche de catalase.

##### III.2.1. Examen macroscopique

La morphologie des colonies et leur dimension sont étudiées à partir des cultures obtenues après isolement sur gélose MRS, gélose nutritive et Chapman, pour caractériser la taille, la forme et la couleur de ces dernières.

##### III.2.2. Examen microscopique

Il a été effectué sur un frottis bactérien, préparé à partir des colonies en cultures pure, coloré avec la coloration de Gram, afin de déterminer leur morphologie cellulaire bâtonnet pour les *Lactobacillus* et coques pour *S.aureus*, mode de regroupement et type de Gram (+/-).

### III.2.2.1. Principe de coloration de Gram

#### a. Préparation et fixation du frottis

Sur une lame en verre nettoyé avec de l'alcool, une goutte d'eau distillé a été déposée puis mélangée avec une colonie bactérienne prélevée à l'aide d'une l'anse de platine flambée et refroidie à partir d'une boîte de Pétri. Le frottis obtenu a été ensuite fixé par des passages rapides sous la flamme d'un bec bunsen.

#### b. Coloration

Le frottis fixé à la chaleur est coloré d'une solution de violet de gentiane pendant une minute puis traité par le lugol pendant 30 secondes. Il est ensuite exposé à une étape de décoloration en le traitant avec de l'alcool suivi d'un rinçage rapide à l'eau distillée courante. Finalement, ce frottis est soumis à une contre coloration de 30 secondes à 1 minute par la fushine, puis rincé immédiatement à l'eau.

L'observation microscopique est réalisée au grossissement ( $G \times 100$ ). Après coloration les bactéries à Gram négatif apparaissent roses et les bactéries à Gram positif apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à la nature de la paroi bactérienne.

### III.2.3. Test de catalase

Ce test sert à détecter la présence de l'enzyme catalase chez une souche bactérienne donnée.

La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame en verre, sur laquelle on ajoute une goutte du  $H_2O_2$  à 10 volumes. L'observation se fait immédiatement. La présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz (Delarras, 2014 ; Garnier et Denis, 2007), elle se fait selon l'équation :

## IV. Standardisation des inoculas bactériens

La standardisation de l'inoculum a pour objectif d'avoir la même charge de cellules vivantes des souches bactériennes dans 1ml de culture durant toute l'expérimentation.

A partir des cultures fraîches obtenues après 18h d'incubation sur bouillon MRS pour les *Lactobacilles* et le bouillon nutritif pour les souches de *Staphylococcus aureus*, un ensemencement en stries est effectué sur gélose MRS (bactéries lactiques) et gélose nutritive (bactéries pathogènes) puis incubé à 37°C pendant 24h. Après croissance, 3 colonies des



souches lactiques et 2 colonies de 2 mm de diamètre des souches pathogènes ; sont mises dans 9ml de bouillon MRS et dans 9ml du milieu BHIB respectivement, par la suite incubé à 37°C pendant 24h. Ensuite, à partir des cultures obtenues, des séries de dilution décimale sont réalisées dans de l'eau physiologique suivi d'ensemencement en masse des dilutions 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-8</sup> à raison de deux boites pour chaque dilution. Les boites sont alors incubées à 37°C pendant 24h. Un dénombrement est réalisé après développement des colonies sur gélose et la concentration cellulaire est exprimée en UFC/ml, suivant la formule :

$$N = \frac{\sum c}{v(n_1 + 0,1n_2)d}$$

**ΣC** : est la somme des colonies comptées sur les boites retenues (30 à 300).

**n1** : est le nombre de boites comptées à la dilution la plus faible.

**n2** : est le nombre de boites comptées à la dilution la plus élevée.

**d** : est la valeur correspondante à la dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements ont été retenus.

**N** : la concentration cellulaire exprimée en UFC/ml Unité Formant colonie.

**V** : volume de l'inoculum appliqué à chaque boite en millilitre (1ml)

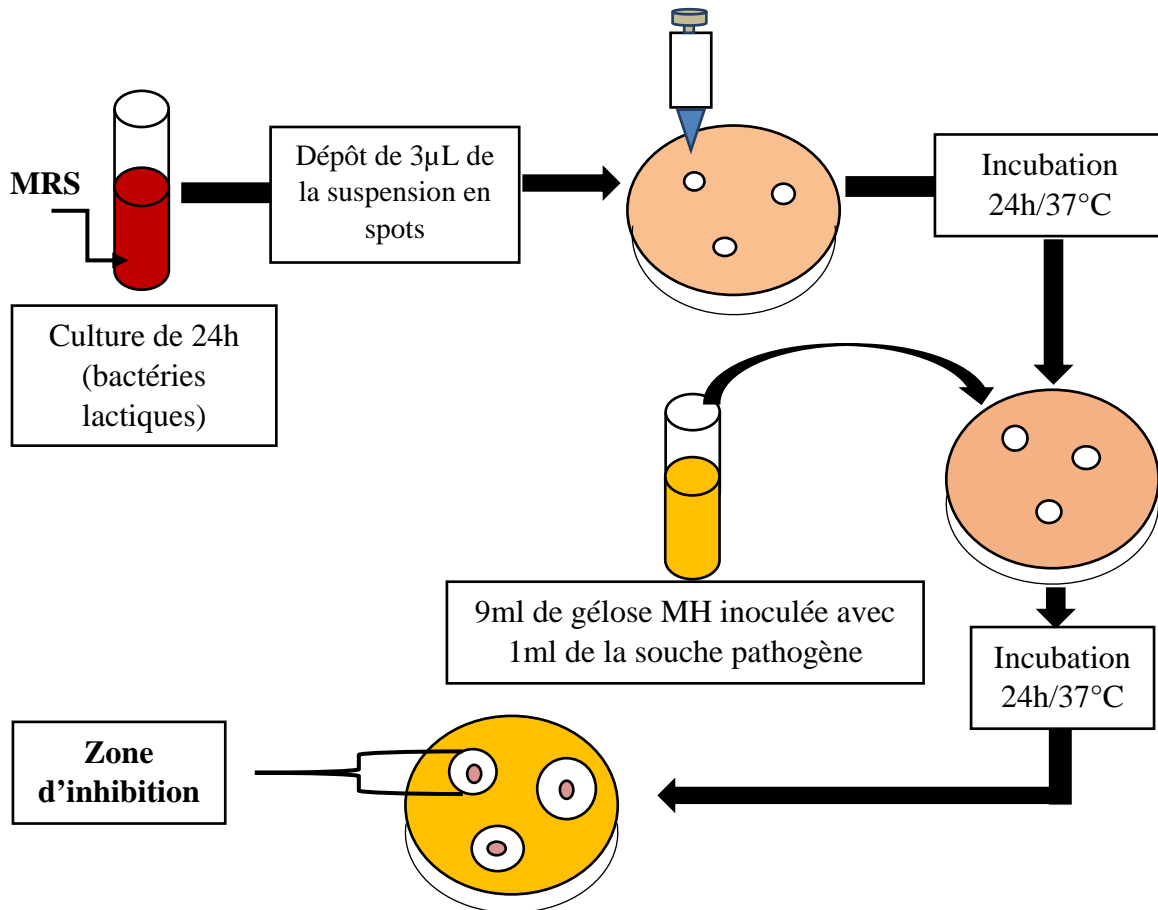
## V. Détermination de l'activité antibactérienne des souches lactiques

### V.1. Test des spots (modifié)

Après avoir coulées les boites de Pétri avec la gélose MRS, un volume de 3µl d'une culture fraîche de chaque souche lactique (7 souches lactiques), obtenue après 24h d'incubation à 37°C est déposé en spots. Ces boites ont été laissées pendant quelques minutes (10 à 15 min) à température ambiante, pour permettre leur séchage, puis incubées à 30°C/24h. En parallèle, des cultures fraîches des bactéries pathogènes *S. aureus* sont préparées en les cultivant dans 9ml du bouillon nutritif et incubées à 37°C/24h (Figure 01).

Après l'incubation, 9 ml de gélose Muller-Hinton en surfusion sont inoculées par 1 ml de la souche cible. Puis, le mélange est ensuite coulé sur la couche de MRS, en contact direct avec les spots puis incubées à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne se révèle par

l'apparition des zones claires autour des spots ; le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en millimètre. (Fleming et al., 1975 ; Tagg et al., 1976).



**Figure 01** : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des spots.

### V.2. Test des puits (modifié)

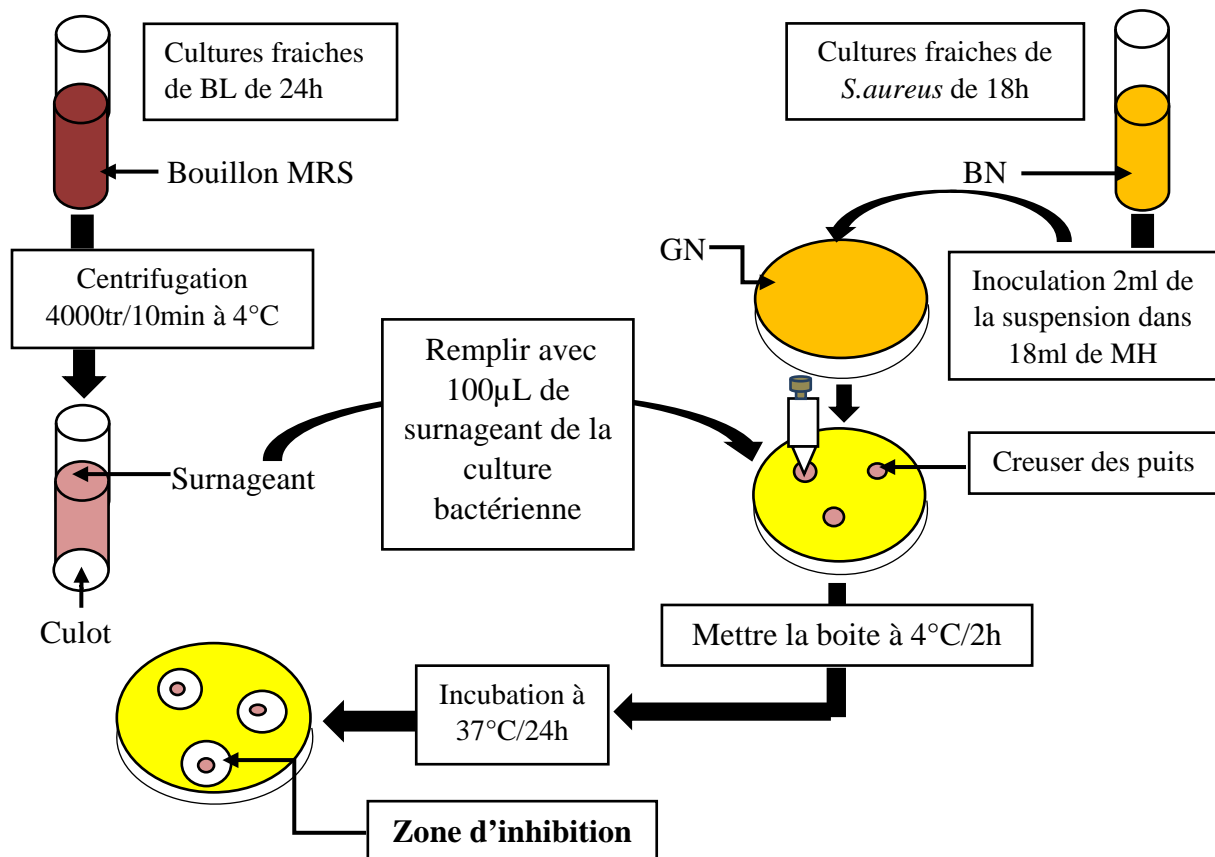
L'activité antibactérienne dans les surnageant des souches des bactéries lactiques est testée par la méthode des puits décrit par **Barfoot et Klaenhammer, (1983)**. Cette méthode consiste à mettre le surnageant de la souche de bactérie lactique en contact avec la souche cible pathogène.

Des cultures fraîches (24h) des bactéries lactiques sont préparées dans un bouillon MRS. Ces dernières sont par la suite centrifugées (centrifuge : Centurion Scientific UK) à 4000 tour /10 min à 4°C, les surnageant sont récupérés et filtrés à l'aide d'un filtre seringue stérile (0,22µm). Les valeurs de leur pH sont mesuré à l'aide d'un pH mètre.

Sur une fine couche de gélose nutritive préalablement coulée dans des boîtes de Pétri stériles et solidifiée, 18 ml de gélose Muller-Hinton en surfusion,ensemencé avec 2ml de la

suspension de la souche cible *S.aureus*, ont été coulées sur la surface. Des puits de 6 mm de diamètre sont ensuite creusés en utilisant des embouts stériles d'une micropipette de 1 ml. Un volume de 100µl de surnageant natif obtenu après la centrifugation de la culture fraîche sont introduites dans chaque puits. Les boîtes sont mises à 4°C pendant 2 heures afin de permettre la diffusion de surnageant dans la gélose puis incubées à 37°C/24h (Figure 02).

La lecture se fait par la mesure du diamètre, en mm, des zones inhibition formées autour des puits. Les résultats sont considérées positives si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 2 mm (Hernandez et al., 2005).



**Figure 02 :** Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des puits.

### V.3. Test d'antagonisme direct dans le milieu liquide

Afin de déterminer l'activité antagoniste des lactobacilles à l'égard de *S.aureus* sur le milieu liquide, on a sélectionné deux souches lactiques (1003, 3081) et une souche de *S.aureus*(S20), à partir de ces derniers, quatre cultures bactériennes ont été préparées dans des flacons contenant 95ml du bouillon MRS, deux flacons correspondent à deux cultures mixtes, l'une estensemencée avec 3ml d'une culture fraîche de la souche 1003 de 24h

d'incubation et 2ml de la suspension de la souche pathogène S20, l'autre flacon est ensemencé avec 3ml de la souche lactique 3081 et 2ml de la souche cible S20. Pour les deux autres flacons l'un est inoculé par 3ml de la souche 1003 et le dernier flacon par 2ml de la souche S20.

Les quatre cultures bactériennes (1003 et S20), (3081 et S20), (1003) et (S20), ont été incubées à 37 °C. Des dénombrements de bactéries lactiques et de *S. aureus* sont effectués à des intervalles de temps suivant : 0h, 2h, 4h, 6h et enfin 24h.

Ils consistent en un dénombrement des lactobacilles et la souche pathogène dans différentes cultures bactériennes, mixte et pure. Des dilutions décimales (jusqu'à  $10^{-10}$ ) sont dans l'eau physiologique, puis un ensemencement en masse est effectué sur gélose Chapman pour les cultures sauf la culture pure de la souche 1003 est effectué sur gélose MRS. Le tableau suivant montre les différentes dilutions utilisées dans chaque intervalle de temps.

**Tableau III :** dilutions utilisées dans chaque intervalle de temps.

Temps	Dilution
0h	$10^{-6}$ et $10^{-7}$
2h	$10^{-7}$ et $10^{-8}$
4h	$10^{-8}$ et $10^{-9}$
6h	$10^{-9}$ et $10^{-10}$
24h	$10^{-8}$ et $10^{-9}$

---

# *Résultats et discussion*

---

### I. Revivification des souches utilisées

Après 24h d'incubation de cinq souches pathogènes (*S.aureus*) dans le bouillon nutritif, le résultat obtenu est l'apparition d'un trouble homogène sur toute la longueur du tube. Il est lié à une croissance bactérienne. Le même résultat obtenu pour les sept souches lactiques ; la croissance est remarquée sur bouillon MRS après 48h d'incubation et ainsi que l'apparition d'un anneau clair au fond du tube indiquait que les souches utilisées préfèrent des faibles quantités d'oxygène (figure 03).



**Figure 03 :** Aspect du bouillon MRS après croissance des souches de bactéries lactiques.

### II. Vérification de la pureté

#### II.1. Examen macroscopique

Sur gélose MRS, après 24h d'incubation les bactéries lactiques apparaissent en petites colonies muqueuses de tailles variables arrondies de forme lenticulaire avec une couleur blanchâtre à jaunâtre (figure 04).

Sur milieu Chapman, après 24h d'incubation, *S.aureus* apparaissent en colonies jaunes doré, bombées, arrondies, opaques et d'un contour régulier. La fermentation du mannitol par le *S.aureus* se révèle par le virage du milieu d'une couleur rose vers un jaune d'orée (acidification du milieu)(figure 05).



**Figure 04 :** Aspect des colonies des souches lactiques.



**Figure 05 :** Aspect des colonies *S. aureus* sur milieu Chapman.

### II.2. Examen microscopique

L'observation microscopique des sept souches lactiques de genre *Lactobacillus* après une coloration de Gram, a montré qu'elles sont de Gram positif et se présentent sous forme de bacilles en chaînettes ou en paires. D'autre part les cinq souches de *S. aureus* apparaissent sous forme sphérique à Gram positif regroupés en amas ou en grappe de raisins.

### II.3. Test de catalase

Le test de catalase indique que les cinq souches de *S. aureus* sont catalase positif donc elles possèdent la capacité de produire l'enzyme de la catalase (Figure 06). Par contre les sept souches sont de catalase négative, ce qui confirme leurs appartenances aux bactéries lactiques.



**Figure 06 :** Résultat + de la catalase chez *S. aureus* .

### III. Standardisation des inoculas bactériens

Après le dénombrement effectué pour les souches lactiques ainsi que les souches pathogènes, les résultats enregistrés sont représentés dans le tableau V.

**Tableau IV** : Résultats de la standardisation des souches lactiques et des souches pathogènes.

Code des Souches	Concentration cellulaire obtenue après incubation pendant 24h
1003	1,2 10 <sup>8</sup> UFC/ml
3081	0,6 10 <sup>8</sup> UFC/ml
5367	1,5 10 <sup>8</sup> UFC/ml
8LB1	3 10 <sup>8</sup> UFC/ml
BNBL	1,2 10 <sup>8</sup> UFC/ml
Plant YS	0,6 10 <sup>8</sup> UFC/ml
PN	1,5 10 <sup>8</sup> UFC/ml
E27	2,2 10 <sup>8</sup> UFC/ml
E46	3,6 10 <sup>8</sup> UFC/ml
S20	4,2 10 <sup>8</sup> UFC/ml
SRYS	2,1 10 <sup>8</sup> UFC/ml
P76	1,1 10 <sup>8</sup> UFC/ml

#### IV. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

##### IV.1. Test des spots

Les résultats de ce test ont montré que toutes les souches lactiques étudiées ont un effet antibactérien vis-à-vis des cinq souches de *S.aureus* (Figure 07).L'activité a été évaluée par l'apparition de zones d'inhibition de diamètres différents allant de 15,7mm à 54,3mm selon la souche lactique testée et la souche cible (Tableau VIII, Annexe II).

Cependant on a observé une inhibition totale des souches S20, P76 et SRYS par les deux souches lactiques 3081 et 1003 ainsi que l'inhibition totale de la souche S20 par la souche lactiques 5367. Cette dernière montre une activité plus importante de diamètre 55,3mm à l'égard de la souche E27, par contre la souche PN montre une activité moins importante de diamètre 22,3mm à l'égard de même souche pathogène. Comme on a observé des zones d'inhibition les plus faible ZI=15,7 et ZI=17,7 vis-à-vis des souches P76 et SRYS respectivement inhiber par la souche 5367(Figure 08).



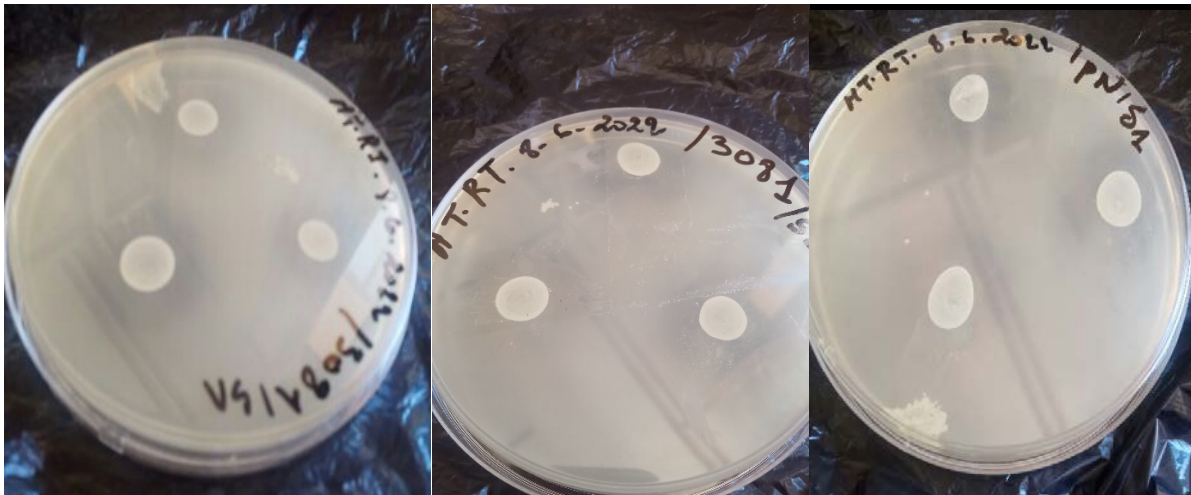


Figure 07 : Résultats du test de spots à l'égard de *S.aureus*.

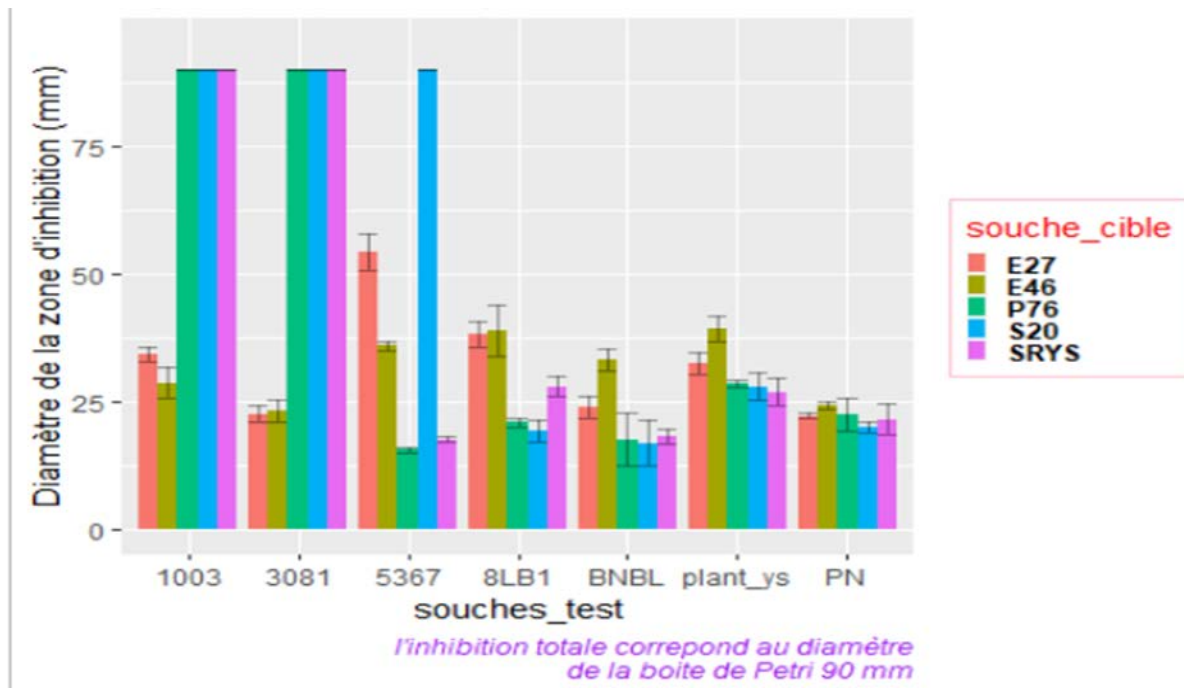


Figure 08 : Diamètre de zones d'inhibition obtenues par le test des spots à l'égard de *S.aureus*

Des résultats similaires ont été rapportés par **Bouguerra (2021)** et **Bouadjaib (2013)** dans leur travail où les souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits laitiers ont montré une activité à l'égard des bactéries pathogènes tel que les *Staphylococcus aureus* de 13 à 34mm de diamètre.

Les travaux de **Savadojo et al. (2004)**, ont reporté que les diamètres des zones d'inhibitions des bactéries lactiques isolées du lait fermenté sont de 9 à 10 mm vis-à-vis de *S.aureus*. Ces résultats montrent que les zones d'inhibitions sont inférieures à celles qu'on a obtenues dans cette étude.

**Noura et Ghoul (2017)**, ont reporté que les diamètres des zones d'inhibitions des lactobacilles isolées des selles d'enfants sont de l'ordre de 0 mm à 11 mm vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Selon Les travaux de **Mami et al. (2008)**, *Lb. plantarum* présente un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm, *Lb paracasei subsp. Paracasei* présente un diamètre de 15mm et *Lb. Rhamnosus* présente un diamètre de 14mm à l'égard de *S. aureus*. Pour les autres souches de genres *lactobacillus*, ont présenté un diamètre variable entre 12 et 15mm vis-à-vis de cette souche pathogène.

**Labioui et al. (2005) ; Bedjaoui et Djerrouden (2018)** ,ont trouvé que les bactéries lactiques ont un spectre d'activité à l'égard de *S. aureus* varier entre 23,3 et 32,5mm et entre 20 et 21mm respectivement.

En 2019, **Mami et Kihal** ont reporté que plusieurs souches de genre *lactobacillus* présente une activité antagoniste à l'égard des souches de *S.aureus* avec des zones d'inhibition allant de 15mm à 28mm et de 14mm à 20mm selon la souche lactique testée et la souche cible.

D'après les résultats que nous avons obtenus, les souches lactiques étudiées ont une activité antibactérienne à l'égard de *Staphylococcus aureus*. Cette activité serait probablement due à la synergie entre les différents métabolites : les acides organiques, le diacétyl, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (**Schillinger et al., 1996**).

La méthode de **Fleming et al. (1975)**, repose sur les interactions des cellules par contact directe, l'effet inhibiteur de ce test remonte à plusieurs facteurs : la concurrence pour les nutriments ou à la synthèse des métabolites inhibiteurs.

### IV.2. Test des puits

Les valeurs de pH des surnageant natif mesuré à l'aide d'un pH mètre sont présentées dans le tableau suivant :

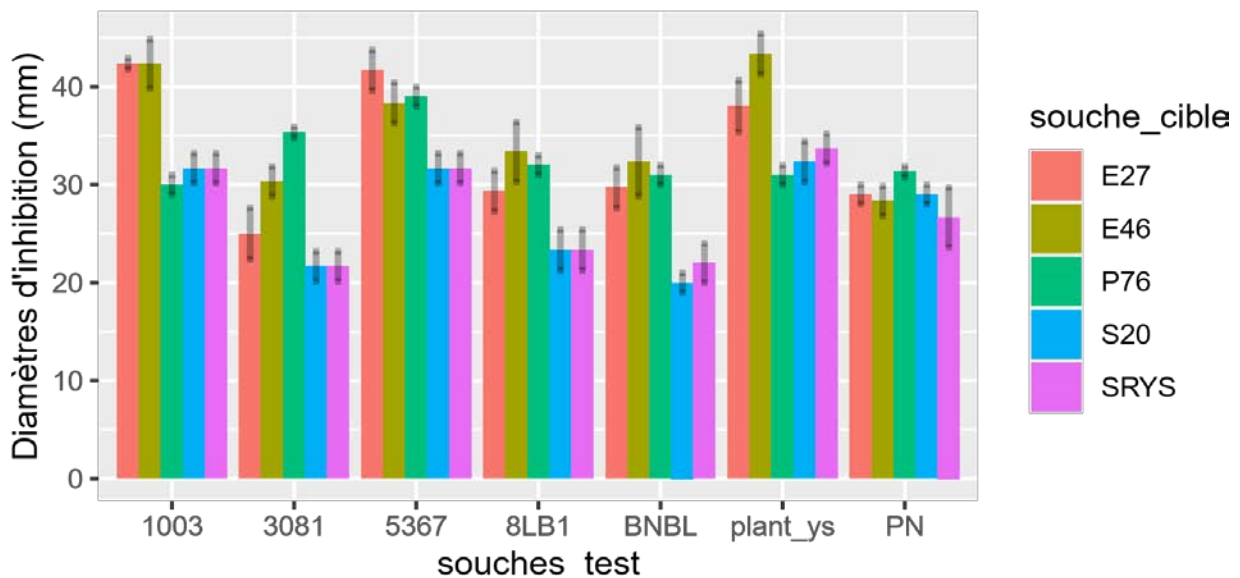
**Tableau V** : les valeurs de pH des surnageant des bactéries lactiques.

LB	1003	PN	Plant Ys	8LB1	BNBL	3081	5367
pH	5,35	5,62	5,48	5,32	5,27	3,65	3,53

Les résultats de pH des surnageant lactiques révèlent que la souche 3081 et 5367 sont les plus acidifiantes avec un pH de 3,65 et 3,53 respectivement. Cependant la souche PN marque la valeur 5,62, De ce fait cette souche est considérée la moins acidifiante. Les résultats de pH des souches 1003, PN, Plant Ys, 8LB1 et 3081 est peut proche.

Les résultats de test des puits ont montré que les sept souches de bactéries lactiques présentent une activité plus ou moins importante à l'égard de *S.aureus*, avec des zones d'inhibition allant de 20mm à 43,3mm(Figure16). La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la souche Plant Ys avec une zone d'inhibition égale 43,3mm.

Les souches 5367 et 1003 possèdent le même spectre d'action (ZI=31,7) contre les mêmes souches pathogènes S20 et SRYS. Ainsi que les souches BNBL et Plant Ys avec une ZI=31 à l'égard de la souche pathogène P76 (Tableau IX, Annexe II) (Figure 15).



**Figure 09** : Diamètre de zones d'inhibition obtenues par le test des puits à l'égard de *S.aureus*



**Figure 10** : Résultats du test des puits à l'égard de *S. aureus*.

Les plus grandes zones d'inhibition à l'égard des cinq souches de *S.aureus* ont été observée avec des souches que ont un pH moins acidifiant. Donc cette activité inhibitrice peut être lié à des bactériocines car leur stabilité a été détectée à une gamme de pH comprise entre 5 à 6 selon les travaux de **Allouche et al. (2010)**.

Selon plusieurs auteurs, cet effet antibactérien serait dû à l'effet combiné de plusieurs substances antibactériennes produites par les bactéries lactiques comme les acides organiques essentiellement l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle, ou encore des substances antibactériennes de nature protéique (bactériocines) (**Antanasova et al., 2003 ; Lozo et al., 2007**).

**Allouche et al. (2010)**. Dans leur travail sur des souches de lactobacilles utilisées dans l'industrie laitière, ont montrés une activité antimicrobienne à l'égard de *S.aureus*, Cette activité est révélée par l'apparition de zones d'inhibition allant de 14,5 à 22mm et de 12mm à 16,5mm selon la souche cible.

**Bouzaid et al. (2016)**, ont reporté que les bactéries lactiques de genre *lactobacillus* isolée à partir de lait de vache présentent des zones d'inhibition de 8 à 11 de diamètre vis-à-vis *S.aureus* cette activité est lié à la production des bactériocine. Et pour les résultats de **Boudersa et Nekkaa (2017)**, constate que les lactobacilles présentent la plus forte activité inhibitrice. Elle est dirigée contre *S. aureus* (9.67mm)

**Mami (2013)**, a montré que la souche *Lb. plantarum* présente une activité inhibitrice à l'égard de *S.aureus* et aux autres bactéries pathogènes. Cette activité est attribuée à des bactériocines.

Grâce à la méthode des puits, **Anas et al. (2008)**, montre qu'il y a une forte inhibition de *Staphylococcus aureus* par des souches de lactobacilles ont exprimé un spectre d'activité de 20mm du diamètre. Cette souche a été retenue comme productrice de bactériocine

### IV.3. Test d'antagonisme direct dans le milieu liquide

L'étude de la cinétique de croissance des souches 1003, 3081 et S20 en cultures pures et mixtes exprimée en UFC/ml a été réalisée dans le bouillon MRS (Figure11). Le dénombrement s'effectue à un intervalle de temps régulier.

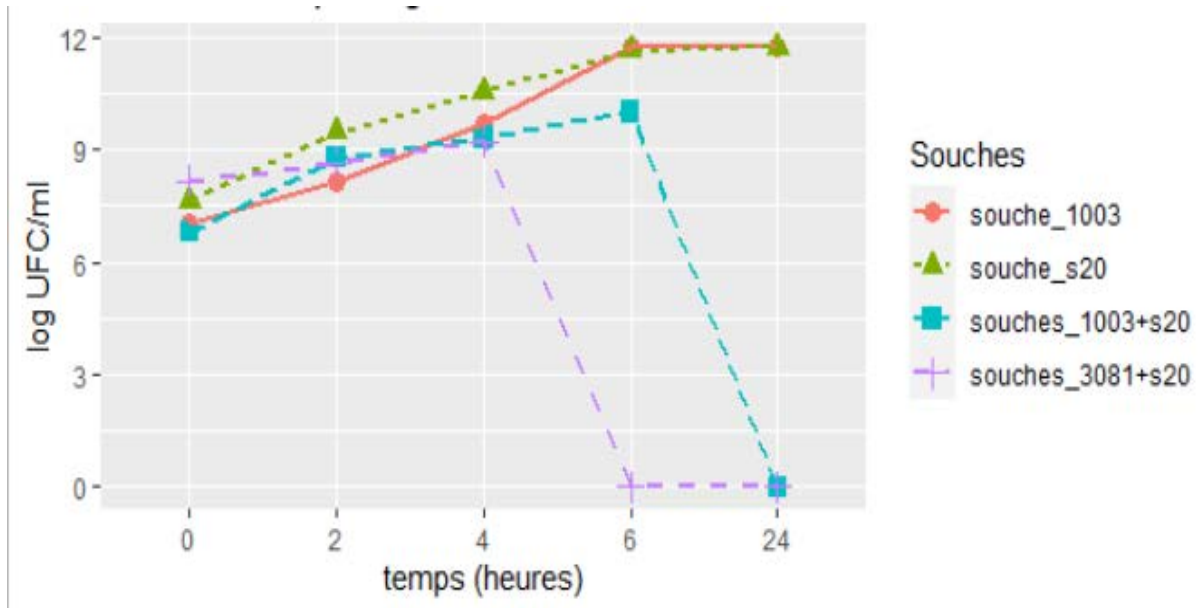


**Figure 11** : les cultures pures et mixtes après 24h d'incubation.

Le dénombrement au temps 0 h des deux souches S20 et 1003 qui était de 7,62 log UFC/ml et 7,05log UFC/ml respectivement, nous a indiqué le taux d'inoculum initiale, le nombre des deux souches augmente en fonction du temps. Après 24h le nombre de la souche lactiques1003 était de 11,76 log UFC/ml ; pour *Staphylococcus aureus*(S20) le nombre de cellules vivantes exprimées en UFC enregistrant ainsi une augmentation était de 11,74 log UFC/ml (Tableaux XI, annexe II).

On a remarqué une augmentation du nombre de la souche pathogène en culture mixte, pour la culture 1003+S20. À 0h, la densité cellulaire était de 6,80 log UFC/ml, et augmente jusqu'elle atteint une densité de 10 log UFC/ml à 6h, en revanche on décèle une charge microbienne à 0 log UFC/ml après 24h d'incubation. Pour la culture 3081+S20 au temps 0h, le nombre de cellule était de 8,15 log UFC/ml, la croissance bactérienne augmente jusqu'à 9,22 log UFC/ml après 4h d'incubation, on note une charge microbienne de 0 log UFC/ml après 6h et 24h d'incubation à 37°C (Figure 12).

Aucune croissance n'a pu être détectée pour *Staphylococcus aureus* après 24h d'incubation en présence les souches lactiques 1003 et 3081. Cette diminution témoigne l'effet inhibiteur de ces dernières.



**Figure 12 :** Evolution du dénombrement en fonction du temps pour culture pures et mixtes des souches inhibitrices 1003 et 3081 et la souche pathogène S20.

Les valeurs de pH des cultures pures et mixte en été mesuré à l'aide d'un pH mètre. Les résultats de pH montrent que les souches lactiques 1003 et 3081 ont un pouvoir acidifiant cela est constaté par la diminution de pH de la culture mixte S20+1003 et S20+3081 ainsi que la culture pure de la souche lactique 1003 de 5,6, 5,3 et 6,1 respectivement à 0h d'incubation, elle atteint 3,48, 3,42et 3,50 respectivement après 24h d'incubation à 37°C. Les résultats de pH des quatre cultures bactériennes dans les deux intervalles de temps est peut proche. Les résultats sont représentés dans le tableau VI.

**Tableaux VI :** les valeurs de pH des cultures pures et mixtes.

pH	t= 0h	t= 24h
<b>S20</b>	5,9	4,12
<b>1003</b>	6,1	3,50
<b>S20+1003</b>	5,6	3,48
<b>S20+3081</b>	5,3	3,42

L'étude de la cinétique de croissance et d'excrétion des substances antibactériennes a montré que leurs sécrétions dans le milieu de culture MRS liquide se fait au fur et à mesure de la croissance de la souche. D'une manière générale, l'activité antimicrobienne des sept souches sélectionnées est détectée au début de la phase exponentielle et n'atteint son niveau maximal de sécrétion qu'après acidification quasiment complète du milieu de culture.

**Gulahmadov et al., (2006)**, ont étudié l'effet des lactobacilles isolés à partir d'un fromage traditionnel d'Azerbaïdjan du lait cru sur la croissance de certaines bactéries pathogènes parmi lesquelles *Staphylococcus aureus*.

**Mami et Kihal (2019)**, ont montré que la croissance des souches lactiques et *Staphylococcus aureus* en culture pure augmente au fonction de temps. Des résultats similaires ont été rapportés dans notre étude. Par contre la croissance de *S.aureus* en trois cultures mixtes augmente jusqu'à 3,5 log UFC/ml , 3,22 log UFC/ml et 3,6 log UFC/ml à 6h, en revanche une diminution du nombre à 0,8 log UFC/ml , 2 UFC/ml et 1,60 UFC/ml respectivement est observé après 24h d'incubation. Comme ils ont rapporté que l'inhibition de *Staphylococcus aureus* par les souches *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. paracasei subsp. Paracasei* est due à la production de substances antibactérienne cependant l'acidité produite joue un rôle combiné dans cette inhibition.

Des résultats semblables ont été rapportés par **Noonpakdee et al., (2003)**, qui ont isolé un nombre considérable de bactéries lactiques à partir des produits de charcuterie et ont constaté que seulement une souche de *Lactobacillus* était capable d'atteindre un pH final de 4,3.

Des résultats similaires ont été présenté par **Mami et al., (2008)**, dans leurs travaux sur l'effet inhibiteur des espèces de *Lactobacillus* isolées du lait cru de chèvre sur la croissance de *Staphylococcus aureus* où ils ont montré que le nombre des cellules en cultures mixtes diminue comparé au témoin ou le nombre est élevé, cette diminution est de l'ordre log 1,6 UFC/ml. Cependant ils ont enregistré une augmentation dans le nombre de cellule allant de 3,19 log UFC/ml à 0h jusqu'à 8,19 log UFC/ml pour la culture pure de *Lb. Plantarum* et de l'ordre de 1,85 log UFC/ml pour *Staphylococcus aureus*. Le suivit de la variation du pH montre que *Lb. plantarum* a diminué le pH jusqu'à 4.32 en 24h. Alors quant aux cultures mixtes le pH peut atteindre 4.45 pour *Lb. paracasei subsp. Paracasei*, 4.57 pour *Lb. rhamnosus* et 4.6 pour *Lb. plantarum*.

D'autres travaux conduits par **Rodriguez et al.,(2005)** sur l'inhibition de *Staphylococcus aureus* en fromagerie ainsi le nombre de *Staphylococcus aureus* a été de 0.40 log après 24 h comparé au témoin qui été de 5,16 log.

La souche de *Lactobacillus plantarum* a montré un potentiel conséquent dans l'inhibition de *Staphylococcus aureus* dans le milieu liquide. Cette inhibition est due à la production multiple de bactériocines (**Hernandez et al., 2005**).



---

# *Conclusión*

---

À chaque étude effectuée, les lactobacilles montrent des particularités très surprenantes. Leur variété et leur hétérogénéité nous permet d'étudier leur capacité d'inhiber le développement d'autres microorganismes indésirables ou pathogènes.

Dans ce travail, nous avons revivifié, purifié, standardisé sept souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus*, isolées à partir de différents laits fermentés afin de sélectionner les souches douées d'activité antibactérienne à l'égard de cinq souches de *Staphylococcus aureus* d'origine clinique. Trois tests sont appliqués pour évaluer cette activité, sur gélose (test des spots et test des puits) et en culture. Ce dernier consiste à suivre l'évolution de la croissance de *S.aureus* en culture pure et mixte.

Le résultat du test des spots a montré que toutes les souches lactiques testées présentent des zones d'inhibition vis-à-vis des cinq souches cibles allant de 15,7mm à 54,3mm de diamètre. Cependant, on a observé une inhibition totale des souches S20, P76 et SRYS par les deux souches lactiques 3081 et 1003 ainsi que l'inhibition totale de la souche S20 par la souche lactiques 5367.

Le résultat du test des puits nous a permis de mettre en évidence la nature de ces métabolites produits par les souches lactiques. Les résultats obtenus montrent une activité antibactérienne à l'égard des cinq souches de *Staphylococcus aureus* avec des surnageants. Effectivement, cette activité inhibitrice notée par toutes les souches de bactéries lactiques avec des zones d'inhibition allant de 20mm à 43,3mm. L'activité antibactérienne la plus importante a été obtenue par la souche Plant Ys avec une zone d'inhibition égale 43,3mm.

La cinétique de croissance de la souche S20 a été évaluée en culture pure et mixte dans le bouillon MRS en présence des souches productrices des substances antimicrobiennes ; la souche 1003 et la souche 3081. Les résultats ont montré que la croissance de *S.aureus* et de la souche lactique 1003 en culture pure augmente en fonction de temps, après 24h le nombre de cellules vivantes était de 11,76 log UFC/ml et de 11,74 log UFC/ml. Pour les cultures mixtes, aucune croissance n'est apparue pour *Staphylococcus aureus* (S20) après 24h d'incubation en présence des souches lactiques 1003 et 3081. Cette diminution témoigne de l'effet inhibiteur de ces dernières.

Les perspectives pour continuer cette étude sont très larges, mais on peut suggérer dans l'avenir de :

- ✓ Rechercher la nature exacte des métabolites inhibiteurs produits par les souches utilisées (bactériocines, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diacétyl...).
- ✓ Déterminer l'effet des bactéries lactiques à l'égard des souches de *Staphylococcus aureus* (bactéricide ou bactériostatique).
- ✓ Étudiée l'activité antimicrobienne des souches des bactéries lactiques à l'égard des souches de *Staphylococcus aureus* multi résistantes.
- ✓ Utilisation des combinaisons afin de mieux optimiser l'activité antibactérienne des souches de bactéries lactiques.
- ✓ Remplacer le glucose dans le milieu de culture (MRS) par d'autres sucres (amidon, saccharose, lactose...).

---

*Références  
bibliographiques*

---

### A

**Ajao O., Banwo K., Ogunremi O., et Sanni A. (2021).** Antimicrobial properties and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from raw beef in Ibadan, Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 770-773.

**Alaoui H., Belhadj A., Aissaoui Y., Seddiki R., Zoubir M. et Bougalem, M. (2017).** Syndrome de choc toxique staphylococcique chez un hémodialysé chronique. *Pan African Medical Journal*, 27.

**Allouch F. N., Hellal A. et Laraba A. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacillus thermophilus* utilisées dans l'industrie laitière. *Revue Nature et Technologie*, 30, 13-20.

**Al-Tawaha R. et Meng C. (2018).** Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotics and its advantages in human health and industrial applications: a review. *Advances in Environmental Biology*, 12(1), 16-27.

**Arumugam G., Hariharan P. et Paul-Satyaseela M. (2017).** *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology-Clinical Diseases. Epidemiology, Antibiotic Resistance and therapeutic Approach. In *Frontiers in Staphylococcus aureus*. IntechOpen. P.4-28.

**Atanassova M., Choiset Y., Dalgalarrrondo M., Chobert J.-M., Dousset X., Ivanova I., et Haertle T. (2003).** Isolation and partial biochemical characterization of a proteinaceous anti-bacteria and anti-yeast compound produced by *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* strain M3. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 63–73.

**Avril J.L., Dabernath H., Denis F. et al. (2000).** *Bactériologie clinique*. Paris : Ellipses, p602  
**Spicer W. (2003).** *Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie*. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. p28 – 29.

### B

**Badis A., Laouabdia-sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences et Technologie*, 23 : 30–37.

**Barbier, F. (2015).** Staphylocoques à coagulase négative : quand, comment et pourquoi sont-ils responsables d'infections ? *Journal Des Anti-Infectieux*, 17(1), 15–19.

**Barfoot 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.

**Barinov A., Bolotin A., Langella P., Maguin E. et Van De G. (2011).** Genomics of the genus *Lactobacillus*. In « *Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research* » Sonomoto and Yokota/ Caister Academic Press éd. Norfolk. United kingdom. pp. 3-32.

**Benhamouche N.(2005).** Sélection de Bactéries Lactiques Productrices de Substances Antimicrobiennes de la Collection du Laboratoire de Microbiologie Appliquée L.M.A  
MEMOIRE DE MAGISTER Option : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

**Bernard L. (2006).** Mécanismes physiopathologiques des infections sur matériel orthopédique. *Rev Rhum.*, 73(4) : 327-331.

**Bermudez-Humaran L.G. et Langella P. (2009).** Utilisation des bactéries lactiques comme vecteurs vaccinaux. *Revue Francophone des Laboratoires*, 41(3), 79-89.

**BILJANA M.S., DINIC M., ORLOVIC J. et BABIC T (2015).** « *Staphylococcus aureus*: immunopathogenesis and human immunity ». *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 32(4), 243-257.

**Boakes S. et Wadman S. (2008).** The therapeutic potential of lantibiotic. *Innov. Phurm. Technol.*, 27: 22-25.

**Boudersa W et Nekkaa R., (2017).** Étude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté : le yaourt brassé. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. 43-42p

**Bouguerra, A. (2012).** Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamelle. Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas, Sétif.

**Bouzaid M, Chatoui R ; Latrache H, Hasib A. (2016).** Activité antimicrobienne des souches des bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et de lait cru de vache. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* vol 10, N°1, p : 1-12.

**Burns A., Shore C.A., Brennan G.I., et al. (2014).** A longitudinal study of *Staphylococcus aureus* colonization in pigs in Ireland. *Veterinary Microbiology*. 174(3): p., 504-513

### C

**Caby F., Bismuth R. et Bossi P. (2010).** Infezioni da Staphylococco. EMC Trattato di Medicina AKOS. Elsevier, 12(3), p1-7.

**Caby F., Bismuth R. et Bossi P. (2010).** Infections à staphylocoques. EMC (Elsevier Masson SAS Paris). Traité de médecine Akos, 4-1045.

**Cleusix V., Lacroix C., Vollandweider S., Duboux M. et Le Blay G. (2007).** Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteria* gainst intestinal bacteria. *BioMed Central Microbiology*. 7, 101.

**Corrieu G. et Luquet F.M. (2008).** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Edition : Tac & Doc. *Immunol*.10 :348-421.

**Corrieu G. et Luquet F.M. (2008).** Bactéries lactiques et probiotique, édition Tec. Et Doc.Lav.

**Cotter P.D., Hill C. et Ross R.P.(2005a).** Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbial*.3:777-788.

**Cotter P.D., Hill C. et Ross R.P.(2005b).** Bacterial lantibiotic : Strategies 'to improve therapeutic potential *Curr Protein Pept Sci*. 6:61-75oisier, Paris France, p9, 10, 25, 51. Drider Dj., Prevost H. (2009).

### D

**Deegan L.H., Cotter P.D., Hill C. et Ross P. (2006).** Bacteriocins: Biological tools for biopreservation and shelf-life extension. *Int. Dairy J*. 16 : 1058-1071.

**DE BUYSER M.L. et SUTRA L. (2005).** « *Staphylococcus aureus* », In « Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments », 2ème édition, ECONOMICA, Paris

**Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. Paris. 772p.

**Denis F., Cécile P., Martin C., Bingen E. et Quentin R. (2007).** Bactériologie Médicale technique usuelles. Edition Masson. p 252-264.

**Denis F., poly M.C., Bengen E. et Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale, techniques usuelles. 2ème Ed., Elsevier Masson, paris : p.417.

**Denis F., Ploy M.C., Martin C., Cattoir V., Barbeyrac B.D., Barraud O.B.C. et Fumat C. (2016).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3eme édition. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, p. 394-396.

**De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K-H. et Whitman W. B. (2009).** Bergey's manual of Systematic Bacteriology, Second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 1422p.

**De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer KH, 108 Whitmanet WB (2009).** Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*. In: « Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York. Pp.19-51.

**Dillenseger H. (2019).** Les bactériocines : en alternative aux traitements antibiotiques (Thèse de doctorat, Université de Bordeaux).

**Dortu C. et Thonnart P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bio-conservation des produits alimentaires. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 13(1), 349-356.

## E

**Etzold S., Kober O., Mackenzie D., Tailford L., Gunning A., Walshaw J., Hemmings A. et Juge N. (2014).** Structural basis for adaptation of lactobacilli to gastrointestinal mucus. Environmental Microbiology 16 (3): 888-903.

## F

**Farnandez L.G. et Turner M.C. (2017).** « The chronicles of incision management: clinical insights, perspectives, and treatment approaches ». Duke University Medical Center and University of Texas Medical Center. Volume1.



**Fauchere J.L. et Avril J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipes, Paris. 213-217pp.

**Federighi M., Magras C., Pilet M. F. (2005).** Bactériologie alimentaire: compendium d'hygiène des aliments. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : 220 p.

**Federighi M. (2005).** Bactériologies alimentaire, compendium d'hygiène des aliments. 2<sup>em</sup> édition, ECONOMICA, Paris. pp 25-50.

**Flandrois J.P. (1997).** Bactériologie médicale. Ed : Presses universitaires de Lyon. ISBN : 2-7297-0567-8. 98-112pp.

**Fleming H.P., Etohells J.L. et Costilow R.N. (1975).** Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber Brins. *Appl. Microbiol*, 30 (6) : 1040-1042.

**Fredereghi M. (2005).** Les bactéries lactiques. In : « Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments ». Lavoisier éd., Paris. France. pp. 101-130.

### G

**Galia W. (2011).** Caractérisation de la variabilité du système protéolytique de surface de la bactérie lactique *Streptococcus thermophilus*. Thèse de Doctorat. Institut Polytechnique de Lorraine. Département des Sciences Agronomiques. P16-32.

**Gálvez A., Abriouel H., Ben Omar N. et Lucas R. (2011).** Food application and Regulation. In: Drider D., et Rebuffat S. (eds). *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to applications*. Springer Verlag. Jaen, Spain, 253-390.

**Garnier F. et Denis F. (2007).** Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.

**Grace D. et Fetsch A. (2018).** *Staphylococcus aureus* \_a food borne pathogen: epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: an overview. In: *Staphylococcus aureus*.

**Goh YJ, Klaenhammer TR (2009).** Genomic Features of *Lactobacillus* species. *Front Biosci* 14 : 1362-1386.doi :10.2741/3313.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR: 241 p.

**Guessas B., Ghazi F. Z., Aggad H., Henni D. et Kihal M., (2006).** Phenotypic identification and whole cell protein analysis by SDS-Page for dominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *Journal Algérien des zones arides*, 5: 25-35.

### H

**Heita, L. (2014).** Antimicrobial activity profile of traditional fermented milk starter cultures from North-Eastern Namibia (Thèse de doctorat, Université de Namibia)

**Hernandez, D., Cardell, E., et Zarate, V. (2005).** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheeses: Initial characterization of plantaricin TF 711, bacteriocin like substance produced by *Lactobacillus plantarum*. TF 711. *J. Appl. Microbiol.* 99 : 77-84

**Holzappel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotics microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl): 365S–73S.

**Hosein A.S.M., Motamedifar M., Hadi N., Sedigh E.S.H. (2014).** « Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Stains, Jundishapur). *Journal of Microbiology*, 7(6), e10741.

### J

**Jagadeesh K.S. (2015).** Lactic acid bacteria as a source of functional ingredients. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 1(2), 70-71.

**Jeljaszewicz J., Switalski M. et Adlam C. (1983).** Staphylocoagulase and clumping factor. In «Staphylococci and Staphylococcal infections», CSF Easmon and C. Adlam (Ed). Vol.2, Academic Press, London. 525-557.

### K

**Karthik S. (2007).** Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. The University of Southern Mississippi.: Edition UMI Microform USA .20-24pp.

**Klaenhammer T.R., Barrangou R., Buck B. L., Azcarate-Peril M.A. et Altermann E. (2005).** Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMSMicrobial Rev* 29: 393-409.

**Kong E.F., Johnson J.K. et Jabra-Rizk M.A. (2016).** Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us. *PLoS Pathog.* 12(10). p 165.

### L

**Labioui H, Elmoualdi L, El Yachioui M et Ouhssine . (2005).** Selection de souches de bactéries lactique Antibactérienne. *Bull. Soc. Pharm, Bordeaux.* **144**, 237-250.

**Lee L.Y., Miyamoto Y.J., McIntyre B.W., Hook M., McCrean K.W., McDevitt D. et Brown E.L. (2002).** « The *Staphylococcus aureus* map protein is an immunomodulator that interferes with T cell-mediated responses ». *Journal of Clinical Investigation*, 110, 1461–1471.

**Leroi F. (2010).** Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27: 698–709.

**Le loir Y. et Gautier M. (2010).** Identification de l'Espèce au Sein du Genre. In : *Staphylococcus aureus*. Paris : Tec et Doc, p.282 p.8- 207.

**Le minor L. et Veron M. (1982).** « Bactériologie Médicale », 1ère édition, Flammarion, Paris

**Le Minor L., Veron M. (1990).** Bactériologie médicale : « *Staphylococcus* et *Micrococcus* », 2ème édition. Paris: Flammarion médecine- sciences. 773-794pp.

**Licitra G. (2013).** Etymologia : *Staphylococcus*. *Emerg. Infect.* 19(9) :1553.

**Lozo J., Jovic B., Kojic M., Dalgarrondo M., Chobert J.M., Haertle T . et Topisirovic L. (2007).** Molecular characterisation of a novel Bacteriocin and an unusually large aggregation factor of *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* BGSJ2-8, a natural isolate from homemade cheese. *Current Microbiology.*, 55 :266-271.

### M

**Mami A., Henni J.D. et Kihal M. (2008).** Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species Isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. Word. J. Dairy. Food Sci. 3 : 39-49

**Mami A., et Kihal M. (2019).** Activité antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* : le bio-contrôle des bactéries d'altérations alimentaire par les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus*. Editions : universitaires européennes. 17p.18p. 19p.

**Mami A., et Kihal M. (2019).** Activité antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* : le bio-contrôle des bactéries d'altérations alimentaire par les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus*. Editions : universitaires européennes.12-13p.

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

**MC comick J.K., Yarwood J.W. et Schlievert P.M. (2001).** « Toxic shock syndrome and bacterial superantigens : an update ». Annual Review of Microbiology, 55, 77-104.

**Mekri M. (2016).** Effet de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et pseudo lactiques et des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les germes pathogènes (Thèse de doctorat, Université de Djilali liabes de Sidi bel Abbes).

**Montiel R., Martín-Cabrejas I., Langa S., El Aouad N., Arqués J. L., Reyes F., et Medina, M. (2014).**Antimicrobial activity of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. Food Microbiology, 44, p1-5 .

**Morgene, M. F. (2018).** Modélisation in vitro de la colonisation à *Staphylococcus aureus* ; interactions avec l'infection à rhinovirus. Thèse de doctorat : Biologie moléculaire et cellulaire. Lyon : Université de Lyon, 261p.

## N

**Nair M. S., Amalaradjou M. A., et Venkitanarayanan K. (2017).** Ant virulence properties of probiotics in combating microbial pathogenesis. Advances in applied microbiology, 98, 1-29.

**Nandy P., Roy S., Thakur A. R. et Chaudhuri S.R. (2013).** Comparative study on characterization of three staphylococcal isolates from varied origin. JOURNAL OF CULTURE COLLECTIONS, 6, p52-60.

**Newsom, S.W.B. (2008).** Ogston's coccus. The journal of hospital infection, 70(4), p.369-72.

### O

**Ogeston, A. (1881).** Report upon Micro-Organisms in Surgical Diseases. Br Med, 1(1054). p.369 b2\_75.

**Orla-Jensen, S. (1919).** The Lactic Acid Bacteria. Fred Host and Son. Copenhagen.

**Otto, M. (2014).** *Staphylococcus aureus* toxins. Current Opinion in Microbiology, 17, 32–37.

**Ouwehand, A.C., Salminen, S. et Isolauri, E. (2002).** Probiotics: an overview of beneficial Effects. A Van Leeuw. 82:279-289.

**Ozgun D. et Vural HC (2011).** Identification of *Lactobacillus* strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrums by API 50 CHL system. J.M.G.G. 3(3): 46-49.

### P

**Patton G. C. et Van Der Donk, W. A. (2005).** New developments in lantibiotic biosynthesis and mode of action. Current opinion in microbiology, 8(5), 543-551.

**Pelinescu D. R., Sasarman E. L. E. N. A., Chifiriuc M. C., Stoica I. L. E. A. N. A., Nohit A. M., Avram I. O. N. E. L. A., ... et Dimov, T. V. (2009).** Isolation and identification of some *Lactobacillus* and *Enterococcus* strains by a Polyphasic taxonomical approach. Romanian Biotechnological Letters, 14(2), 4225-4233.

**Pilet M-F, Mográs C. et Federighi M. (2005).** Bactéries lactiques. In: Federighi M. Bactériologie Alimentaire. Economica. Paris. Pp219-242.

**Porrero M.C, al.(2014).** Carriage of *Staphylococcus aureus* by free-living wild animals in Spain. Applied and Environmental Microbiology, 2014. 80(16):p.4865- 4870

**Prescott L.M., Harley J.P et Klein D.A (2003).** Les bactéries lactiques : les Gram – positif pauvres en GC. Dans : microbiologie, 2eme éd. française. Prescott, L.M., MP Harley, D.A. Klein (eds). De Book Université, Bruxelles, Belgique.5A-535

### R

**Raynaud S, (2006).** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat. Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries. Toulouse.826. P309.

**Rodriguez E., Calzada J., Arquès JL, Rodrigues JM, Nunez M. et Medina M. (2005).** Antimicrobial activity of Pediocinproducing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157 :H7 in cheese. Inter. Dairy J. 15: 51

### S

**Salminen S., Wreight A. V., et Ouwehand A. (2004).** Lactic acid bacteria. Microbiology and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.

**Salvetti E., Torriani S., et Felis G.E. (2012).** The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. Probiotics and antimicrobial proteins, 4(4), 217-226.

**Samaoui. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifier. Université de Toulouse.

**Savadogo, A., Ouattara, C.A.T., Bassole, I.H.N., Traore, A.S. (2009).** Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Burkina Faso Fermented Milk. Pakistan Journal of Nutrition, 3(3), 174–179.

**Savadogo A., et Traore A. S. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. International Formulae Group. All rights reserved, Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(5): 2057-2075.

**Schleifer K.H. et Ludwig. W. (1995).** Phylogeny of the genus *LLX~O~L&/~~S* and related genera. System. Appl. Microbial. 18, 461 467.

**Schleifer K.H. et Bell, J.A. (2009).** *Staphylococcaceae*. In: Bergy's Manuel York: Springer, p1-21.

**Schillinger U., Geisen R., et Holzapfel W.H. (1996).** Potentiel of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Science and Technology*, 7: 158-164.

**Singh V. P. (2018).** Recent approaches in food bio-preservation-a review. *Open veterinary journal*, 8(1), 104-111.

**Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010).** Antimicrobial activity—the most important property of probiotics and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.

### T

**Taale E., Savadogo A., Zongo C., Tapsoba F., Karou S. D., et Traore, A. S. (2016).** Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 384-399.

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

**Tailliez P. (2004).** *Les lactobacilles* : propriétés, habitat, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*. 6(1): 35-41.

**Tam K., Torres V. J. (2019).** *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiology spectrum*, 7(2), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0039-2018.

**Tille P.M. (2014).** *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 13ème édition. P.185.

**Tong S.Y., Davis J.S., Eichenberger E., Holland T.L., Fowler Jr V.G. (2015).** Infections à *Staphylococcus aureus* : épidémiologie, physiopathologie, manifestation chimiques et pris en charge. *Clin Microbiol.* 28, p. 603-61.

**Touaitia, R. (2016).** *Staphylococcus aureus* résistant à la Methicillin : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat : Microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar Annaba, 125p.

### V

**Vollenweider. (2004).** Hydroxypropionaldehyde applications and perspectives of biotechnologica lproduction. *Appl. Microbiol. Biotech.* 64:16-27.

**Vincenot F., Saleh M., Prévost G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(407), 61–69.

**Vitko N.P. et Richardson A.R. (2013).** Laboratory Maintenance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current protocols in microbiology*, 28(1), p9C-2.

### W

**Waston K., Carville K., Bowman J., Jacoby P., Riley TV., Leach AJ. et Lehmann D. (2006).** « Upper respiratory tract bacterial carriage in aboriginal and non-aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia ». *Pediatrics infectious Diseases Journal*, 25, 782-790.

**Williams R.E. (1963).** « Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance ». *Bacteriology Review*, 27, 56-71.

**Winn W., Allen S., Janda W., Konemman E., Procop G., Schreckenberger P. et Woods G. (2006).** *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Sixth Edition. Ed Lippincott Williams and Wilkins. p 645-662.

### Z

**Zarazaga M., Gomez P., Ceballos S. et Torres C. (2018).** Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* Lineages in the Animal-Human Interface. In: *Staphylococcus aureus*. pp.189-214.

**Zhitnitsky D., Rose J. et Lewinson, O. (2017).** The highly synergistic, broad spectrum, antibacterial activity of organic acids and transition metals. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.



---

# *Annexes*

---

## Annexe 1 : Milieux de culture utilisés

### 1. Bouillon MRS :

- Peptone.....10g /l
- Extrait de viande.....8g /l
- Extrait de levure.....4g/l
- TWEEN 80.....1ml
- Glucose.....20g/l
- Acétate de sodium.....5g/l
- PH=6,2

### 2. Bouillon nutritif :

- Peptones.....10g/l
- Chlorure de sodium.....5g/l
- Extrait de viande.....10g/l
- PH=7,3

### 3. Gélose MRS:

- Peptone.....10g/l
- Extrait de viande.....8g/l
- Glucose.....20g/l
- Tween 80.....1ml
- Acétate de sodium.....5g/l
- Agar.....10g
- PH=6,2

### 4. Gélose nutritive :

- Peptones.....6g/l
- Extrait de viande.....1g/l
- Extrait de levure.....2g/l
- Chlorure de sodium.....5g/l
- Agar.....14g/l
- PH final= 7.3±0.2

### 5. Bouillon BHIB:

- Digestion enzymatique de tissus animaux.....10g/l
- Infusion de cervelle de veau déshydraté.....12,5g/l
- Infusion de cœur de bœuf déshydraté.....5g/l
- Glucose.....2g/l
- Chlorure de sodium.....5g/l
- Hydrogenophosphate disodique anhydre.....2,5g/l

### 6. Gélose Muller Hinton (MH) :

- Infusion de viande de bœuf.....300ml
- Peptones de caséine.....17.5g/l
- Amidon de maïs.....1.5g/l
- Agar.....17g/l
- PH final= 7.4

### 7. Gélose Chapman :

- Extrait de viande.....1g/l
- Peptones.....10g/l
- Mannitol.....10g/l
- Chlorure de sodium.....75g/l
- Rouge de phénol.....0.025g/l
- PH final= 7.4

### 8. Eau physiologie :

- Eau distillée ..... 1L
- Chlorure de sodium.....9g
- pH =7

## Annexe II : Résultats

Tableau VII : Résultats des tests d'identification de *Staphylococcus aureus*

Souches	Gram	Catalase	Mobilité
S20	+	+	-
E27	+	+	-
E46	+	+	-
P76	+	+	-
SRYS	+	+	-

Tableau VIII : Résultats des tests d'identification des bactéries lactiques

Souches	Gram	Catalase	Mobilité
Plant Ys	+	-	-
8LB1	+	-	-
1003	+	-	-
3081	+	-	-
PN	+	-	-
5367	+	-	-
BNBL	+	-	-

Tableau IX: Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par le test des spots à l'égard de *S.aureus*.

test Souche cible		PN	3081	5367	Plant Ys	8LB1	1003	BNBL
E27	La moyenne des zones d'inhibition en (mm)	22.3	22.7	54.3	32.7	38.3	34.3	24
	Ecart type	0,57735027	1,52752523	3,51188458	2,081666	2,51661148	1,52752523	2
E46	La moyenne des zones d'inhibition en (mm)	24.3	23.3	36	39.3	39	28.7	33.3
	Ecart type	0,57735027	2,081666	1	2,51661148	5	3,05505046	2,081666

<b>S20</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	20	Inhibition total	Inhibition total	28	19.3	Inhibition total	17
	<b>Ecart type</b>	1	0	0	2,64575131	2,081666	0	4,35889894
<b>P76</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	22.7	Inhibition total	15.7	28.7	21	Inhibition total	17.7
	<b>Ecart type</b>	3,21455025	0	0,57735027	0,57735027	1	0	5,13160144
<b>SRYS</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	21.7	Inhibition total	17.7	27	28	Inhibition total	18.3
	<b>Ecart type</b>	2,88675135	0	0,57735027	2,64575131	2	0	1,52752523

**Tableau X : Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par le test des puits à l'égard de *S.aureus*.**

<b>Souche test</b>		<b>PN</b>	<b>3081</b>	<b>5367</b>	<b>Plant Ys</b>	<b>8LB1</b>	<b>1003</b>	<b>BNBL</b>
<b>Souche cible</b>								
<b>E27</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	29	25	41.7	38	29.3	42.3	29.6
	<b>Ecart type</b>	1	2,64575131	2,081666	2,64575131	2,081666	0,57735027	2,081666
<b>E46</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	28.3	30.3	38.3	43.3	33.3	42.3	35.7
	<b>Ecart type</b>	1,52752523	1,52752523	2,081666	2,081666	3,05505046	2,51661148	3,51188458
<b>S20</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	29	21.7	31.7	32.3	23.3	31.7	20
	<b>Ecart type</b>	1	1,52752523	1,52752523	2,081666	2,081666	1,52752523	1
<b>P76</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	31.3	35.3	39	31	32	30	31

	<b>Ecart type</b>	0,57735027	0,57735027	1	1	1	1	1
<b>SRYS</b>	<b>La moyenne des zones d'inhibition en (mm)</b>	26.7	21.7	31.7	33.7	23.3	31.7	22
	<b>Ecart type</b>	3,05505046	1,52752523	1,52752523	1,52752523	2,081666	1,52752523	2

**Tableau XI** : résultats de dénombrement des cultures mixtes et pures des souches inhibitrices 1003 et 3081 et la souche pathogène S20.

<b>Temps(h)</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>24</b>
<b>Souches Log UFC/ml</b>					
<b>Souche lactiques 1003</b>	7,05	8,15	9,72	11,71	11,76
<b>Souche pathogène S20</b>	7,62	9,47	10,54	11,63	11,74
<b>Souche lactique 1003 avec la souche S20</b>	6,80	8,79	9,32	10	0
<b>Souche lactique 3081avec la souche S20</b>	8,15	8,64	9,22	0	0

### Résumé :

Les bactéries lactiques peuvent exercer plusieurs effets bénéfiques, en particulier l'inhibition de bactéries pathogènes et d'altération. Dans cette étude, l'activité antimicrobienne de sept souches des bactéries lactiques de genre *Lactobacillus* isolées à partir de différents laits fermentés, a été testée sur cinq souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir des amygdales des enfants malades. Trois tests sont appliqués pour évaluer cette activité ; test des spots, test des puits et test d'antagonisme sur milieu liquide. Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches lactiques ont une bonne activité à l'égard *Staphylococcus aureus*.

**Mots clé :** *Staphylococcus aureus*, bactéries lactiques, activité antimicrobienne, *Lactobacillus*  
Effet antagoniste.

### Abstract:

Lactic acid bacteria can exert several beneficial effects, in particular the inhibition of pathogenic and spoilage bacteria. In this study, the antimicrobial activity of seven strains of lactic acid bacteria of the *Lactobacillus* genus isolated from different fermented milks was tested on five strains of *Staphylococcus aureus* isolated from the tonsils of sick children. Three tests are applied to assess this activity; spot test, well test and antagonism test on liquid medium. The results obtained showed that all the lactic strains have good activity against *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, lactic acid bacteria, antimicrobial activity, *Lactobacillus*, antagonistic effect.