



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : علم الاحياء الدقيقة

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaires des microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Optimisation de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques

Présenté par : Bouafia Roumeissa

Le : 23/06/2025

Attoui Aya

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. ARABET Dallel (MCA – UFM Constantine 1).

Encadrante : Dr. DERABLI Besma (MCB - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Dr. BOUFERCHA Oumeima (MCB - UFM Constantine 1).

Année universitaire
2024 – 2025

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance tout au long de ce parcours. Nous souhaitons remercier sincèrement notre encadrante Dr. DERABLI Besma, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, son suivi rigoureux et ses encouragements constants tout au long de ce travail.

Nous remercions la Présidente du jury Dr. ARABET Dallel pour avoir accepté d'évaluer notre travail, ainsi que pour ses remarques pertinentes et enrichissantes qui ont contribué à l'amélioration de ce mémoire. Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury, en particulier L'examinatrice Dr. BOUFERCHA Oumeima pour l'intérêt porté à notre recherche, sa lecture attentive et ses observations constructives qui ont permis d'enrichir notre réflexion scientifique.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants et personnels du département de Microbiologie pour la qualité de l'enseignement dispensé et leur accompagnement tout au long de notre formation. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à adresser un remerciement tout particulier au Laboratoire d'Hygiène Régionale de Constantine pour leur précieuse collaboration. Leur accueil, leur soutien technique ainsi que leur disponibilité ont grandement facilité la réalisation de ce travail et ont enrichi cette expérience scientifique.



Dédicace

À ma famille, qui ont toujours été notre source de force, d'amour et de soutien inconditionnel.

À mes parents à ceux qui sont la source de ma vie, À mon père Attoui Fethi, mon pilier et ma forteresse, exemple de force, de sagesse et de dignité.

À ma mère Leïla Lachouri, ma vie et le battement de mon cœur, symbole de tendresse et de patience

Ce mémoire est le fruit de votre foi en moi, pour leurs sacrifices, leurs prières, leur patience et leur confiance à moi, Qu'Allah les préserve et les comble de Ses bienfaits.

*À mon frère adouma et ma petite sœur loulou
Pour leur présence réconfortante et leurs encouragements tout au long de ce parcours, je t'aime infiniment.*

*À mes grands-mères bien-aimées,
Pour ses invocations sincères et son affection inégalable.
À mes amis fidèles (iman, Roumeissa, Zakia, chouchou, israa, Roudy)
Qui ont su nous remonter le moral dans les moments de doute et partager notre joie dans les moments de réussite.*

*À nos collègues et binômes
Avec qui nous avons partagé des heures de travail, des discussions scientifiques, mais aussi des souvenirs inoubliables.
À toutes les personnes, de près ou de loin, qui ont contribué à notre réussite.*

Ce travail vous est dédié, avec tout notre respect et notre reconnaissance.

Aya





Dédicace

À mon père, Bouafia Lakhdar

Pour ta sagesse, ton calme et ton soutien silencieux mais inestimable

À ma mère, Nadji Khadija

Ton amour, tes sacrifices et tes prières ont été la lumière de mon chemin.

Qu'Allah te protège et te récompense pour tout ce que tu fais pour moi.

À ma sœur Dr. Fatima Zohra

Pour ta tendresse et ton soutien de chaque instant.

À mes frères Abd Rahim et Adem

Pour votre présence réconfortante et vos encouragements sincères.

À ma chère grand-mère, Zakia,

À mes amis fidèles, mes collègues et mon binôme,

Merci d'avoir partagé cette expérience avec moi, dans la bonne humeur et solidarité.

À toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin, je vous exprime ma profonde reconnaissance.

Ce travail vous est dédié avec tout mon amour, ma gratitude et mon respect.

Roumeissa

Résumé

Résumé

Dans le cadre de la recherche d'alternatives naturelles aux antibiotiques face à la montée de la résistance microbienne, cette étude s'est focalisée sur l'évaluation et l'optimisation de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques. La démarche expérimentale a débuté par l'isolement de souches de bactéries lactiques à partir de produits fermentés du commerce, cultivées sur milieu MRS et M17. Les isolats ont ensuite été soumis à un criblage contre un panel de bactéries pathogènes fournies par le laboratoire d'hygiène régionale de constantine, parmi lesquelles *Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Bacillus* ont été retenues sur la base de leur implication fréquente dans les toxi-infections. L'évaluation préliminaire par la méthode des puits en gélose a permis de détecter une inhibition variables, avec une sensibilité marquée d'*E. coli*. Un criblage secondaire en milieu liquide a ensuite été réalisé, en exposant ces pathogènes à du petit-lait fermenté pendant un mois, révélant une intensification de l'effet antimicrobien au fil du temps. Suite à un test de confrontation en co-culture, *E. coli* a été identifiée comme la souche la plus sensible, ce qui a justifié son choix pour les essais ciblés. L'optimisation de l'activité anti-*E. coli* a été entreprise par l'enrichissement du milieu avec des probiotiques commerciaux. Un plan Plackett-Burman a ensuite permis d'identifier les facteurs expérimentaux les plus déterminants dans l'augmentation de l'activité antibactérienne, tels que la source de carbone, la durée de fermentation et l'origine des souches. Enfin, une série d'expériences a été menée pour analyser l'effet d'une double exposition des bactéries lactiques à une bactérie pathogène, montrant une réponse adaptative significative. Les résultats ont démontré une nette amélioration des zones d'inhibition après optimisation, atteignant des diamètres plus larges comparés aux conditions initiales, et confirmant une augmentation de la production de substances bioactives, probablement des bactériocines. Ces observations confirment non seulement le potentiel des bactéries lactiques comme agents antimicrobiens naturels, mais suggèrent aussi leur capacité d'adaptation face à une pression microbienne prolongée, ce qui renforce leur intérêt comme alternative crédible aux traitements antibiotiques classiques.

Mots-clés : Bactéries lactiques, Activité antibactérienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, alternatives d'antibiotiques.

المخلص

في إطار البحث عن بدائل طبيعية للمضادات الحيوية لمواجهة الارتفاع المتزايد في مقاومة الميكروبات، ركزت هذه الدراسة على تقييم وتحسين النشاط المضاد للبكتيريا لدى البكتيريا اللبنية. بدأت المنهجية التجريبية بعزل سلالات من البكتيريا اللبنية من منتجات مخمرة تجارية، وزُرعت على وسطي MRS و M17 ثم خضعت العزلات لعملية غربلة ضد مجموعة من البكتيريا الممرضة التي زود بها مخبر النظافة الجوية بقسنطينة، من بينها *Escherichia coli* و *Staphylococcus* و *Bacillus* والتي تم اختيارها بناءً على شيوع دورها في التسممات الغذائية. أظهرت التقييمات الأولية باستخدام طريقة الآبار في وسط الأغار مناطق تثبيط متفاوتة، وكانت *E. coli* الأكثر حساسية. تلت ذلك عملية غربلة ثانوية في وسط سائل، حيث تم تعريض هذه الممرضات إلى مصل اللبن المخمر لمدة شهر، مما أظهر زيادة تدريجية في النشاط المضاد للميكروبات بمرور الوقت. ومن خلال اختبار المواجهة في الزرع المشترك، تم تحديد *E. coli* كأكثر السلالات تأثراً، مما برّر اختيارها للاختبارات المستهدفة. تم تحسين النشاط المضاد لـ *E. coli* من خلال إثراء الوسط بمكملات بروتينيك تجارية. بعد ذلك، استُخدم تصميم Plackett-Burman لتحديد العوامل التجريبية الأكثر تأثيراً في تعزيز النشاط المضاد للبكتيريا، مثل مصدر الكربون، ومدة التخمر، وأصل السلالات. وأخيراً، أُجريت سلسلة من التجارب لدراسة تأثير التعرض المتكرر للبكتيريا اللبنية إلى سلالة ممرضة، مما كشف عن استجابة تكيفية ملحوظة. أظهرت النتائج تحسناً واضحاً في مناطق التثبيط بعد التحسين، مع أقطار أكبر مقارنةً بالظروف الأولية، مما يؤكد زيادة في إنتاج المركبات النشطة بيولوجياً، والتي يُرجّح أن تكون بكتريوسينات. تؤكد هذه النتائج ليس فقط إمكانات البكتيريا اللبنية كعوامل طبيعية مضادة للميكروبات، بل أيضاً قدرتها على التكيف مع الضغط الميكروبي، مما يعزز أهميتها كبديل واعدة للمضادات الحيوية التقليدية.

الكلمات المفتاحية : بكتيريا حمض اللاكتيك، النشاط المضاد للبكتيريا، *Escherichia coli*

Staphylococcus ، البدائل المضادة للبكتيريا.

Abstract

In the context of searching for natural alternatives to antibiotics in response to the rise of microbial resistance, this study focused on the evaluation and optimization of the antibacterial activity of lactic acid bacteria. The experimental approach began with the isolation of bacterial strains from commercial fermented products, cultured on MRS and M17 media. The isolates were then subjected to an screening against a panel of pathogenic bacteria provided by the Regional Hygiene Laboratory of Constantine, among which *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, and *Bacillus* were selected due to their frequent involvement in foodborne infections. Preliminary evaluation using the agar well diffusion method revealed variable inhibition zones, with *E. coli* showing the highest sensitivity. A secondary screening was then conducted in liquid medium by exposing these pathogens to whey fermented for one month, showing a progressive increase in antimicrobial activity over time. Following a confrontation test in co-culture, *E. coli* was identified as the most sensitive strain, justifying its selection for targeted testing. Optimization of the anti-*E. coli* activity was carried out by enriching the culture medium with commercial probiotics. A Plackett-Burman design was then applied to identify the most influential experimental factors in enhancing antibacterial activity, such as the carbon source, fermentation duration, and strain origin. Finally, a series of experiments was conducted to assess the effect of repeated exposure of lactic acid bacteria to a pathogenic strain, revealing a significant adaptive response. The results showed a clear improvement in inhibition zones after optimization, with larger diameters compared to initial conditions, confirming an increased production of bioactive compounds, likely bacteriocins. These findings not only confirm the potential of lactic acid bacteria as natural antimicrobial agents, but also suggest their ability to adapt under microbial stress, reinforcing their relevance as credible alternatives to conventional antibiotics.

Keywords : Lactic acid bacteria, antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, antibiotic alternatives.

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Synthèse bibliographique	2
Bactéries lactiques (BL)	3
1. Utilisation des BL	4
Activité antimicrobienne des BL.....	7
1. Composés antimicrobiens	8
1.1. Acides organiques.....	8
1.2. Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	9
1.3. Bactériocines	9
1.4. Diacétyle	10
1.5. Reuterine (3-hydroxypropionaldéhyde	10
1.6. Acides gras libres.....	10
2. Méthodes de la détermination de l'activité antimicrobienne	12
2.1. Méthode de diffusion sur gélose (<i>Agar Well Diffusion ou Disk Diffusion</i>).....	12
2.2. Méthode de co-culture.....	12
2.3. Méthode de micro dilution en bouillon.....	13
3. Spécificité de l'activité antimicrobienne des BL.....	13
3.1. Etude du spectre antimicrobien des BL	13
3.2. Résistance des pathogènes aux composés antimicrobiens.....	15
Optimisation d'activité antimicrobienne des BL.....	17
1. Importance de l'optimisation	17
2. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des BL	17
2.1. Paramètres biologiques.....	17
2.2. Facteurs environnementaux	18
3. Optimisation de l'activité antimicrobienne	20
3.1. Stratégies d'optimisation	20

3.2. Techniques avancées d'optimisation.....	20
3.3. Modélisation et prévisions	20
Matériels et méthodes	
1. Lieux de réalisation du stage.....	23
2. Durée du stage.....	23
3. Objectifs de travail.....	23
4. Isolement des bactéries lactiques.....	23
5. Criblage et isolement des bactéries pathogènes	23
5.2. Criblage secondaire des bactéries pathogènes	24
5.3. Préparation des co-cultures sur milieu liquide	24
5.3.1. Test de confrontation (co-culture sur milieu solide).....	24
6. Etude de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i>.....	25
6.1. Identification biochimique d' <i>E.coli</i>	25
6.2. Test d'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	25
6.3. Test de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i> (méthode des puits)	25
7. Optimisation de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i>	26
7.1. Optimisation de l'activité antibactérienne contre <i>E.coli</i> par enrichissement des probiotiques	26
8. Optimisation de l'activité antibactérienne par un enrichissement par les probiotiques et les prébiotiques	26
8.1. Etude de l'effet de la concentration initiale des sucres sur l'activité antibactérienne ...	26
8.2. Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Burman	26
8.3. Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Behnken.....	28
9. Effet de différentes concentrations de glucose sur l'activité anti-<i>E.coli</i>	30
10. Effets de taux d'inoculum de <i>Staphylococcus</i> sur l'activité anti-<i>E.coli</i>	30
11. Méthodes analytiques	30
11.1. Test des puits.....	30
11.2. Mesure de pH.....	30
12. Visualisation des données	30
Résultats et discussions	
1. Isolement des BL	31
2. Criblage et isolement des bactéries pathogènes	34
2.1. Criblage initial des bactéries pathogènes	34
2.2.1. Préparation des co-cultures en milieu liquide.....	37
2.2.2. Test de confrontation (co-fermentation sur milieu solide).....	42

3. Etude de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i>.....	45
3.1. Identification biochimique d' <i>E.coli</i>	45
3.2. Test d'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	46
3.3. Test de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i> (méthode des puits)	48
4. Optimisation de l'activité antibactérienne des BL sur <i>E.coli</i>	49
4.1. Optimisation de l'activité antibactérienne contre <i>E.coli</i> par enrichissement des probiotiques	49
5. Optimisation de l'activité antibactérienne par un enrichissement par les probiotiques et les prébiotiques	50
5.1. Etude de l'effet de la concentration initiale des sucres sur l'activité antibactérienne	50
5.2. Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Burman	51
5.3. Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Behnken.....	55
6. Effets de différentes concentrations de glucose sur l'activité anti-<i>E.coli</i>	57
7. Effets de taux d'inoculum de <i>Staphylococcus</i> sur l'activité anti-<i>E.coli</i>.....	59
Conclusion et perspectives.....	62
Références bibliographiques	64
Annexes	

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius.

BL : Bactéries lactiques.

CIP : Ciprofloxacine.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CT : Céfotaxime.

CytK : Cytotoxine K.

DO : Densité optique.

DoE : Expériences *Design of Experiments*.

EPS : Exopolysaccharides.

FEP : Céfépime.

GN : Gélose nutritive.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

hbl : Hémolysine à liaison binaire.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

MRS : *Man, Rogosa et Sharpe*.

SARM : Méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

MYP : *Mannitol Egg Yolk Polymyxin*.

NaCl : Chlorure de sodium.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

nhe : Entérotoxine non hémolytique.

PGPR : Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.

RSM : La Méthodologie des Surfaces de Réponse.

Liste des abréviations

SHU : syndromes hémolytiques et urémiques.

SIM : *Sulfide Indole Motility*.

STEC : *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxine.

Stx : Shiga-toxine.

TMN : Triméthoprim.

TSI : *Triple Sugar Iron*.

UHT : *Ultra Haute Température*.

Liste des Figures

Figure 1 : Répartition écologique des BL à usage technologique, alimentaire et sanitaire (Raman et <i>al.</i> , 2022).	4
Figure 2 : Résultats de la mesure du pH des échantillons	32
Figure 3 : Observation macroscopique des <i>Lactococcus</i> et de <i>Bifidobacterium</i> isolées à partir de yaourt enrichi par <i>Bifidobacterium</i>	32
Figure 4 : Observation macroscopique d'absence des <i>Lactobacillus</i> sur milieu sélectif de MRS.	33
Figure 5 : Observation macroscopique des <i>Lactococcus</i> et de <i>Bifidobacterium</i> isolées à partir de petit lait enrichi par <i>Bifidobacterium</i>	33
Figure 6 : Observation macroscopique à partir des échantillons de lait et de yaourt sucré ensemencé sur le milieu M17.....	33
Figure 7 : Aspect macroscopique d'une croissance ordinaire d' <i>E.coli</i> sur GN.	34
Figure 8 : Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus</i> sur GN.....	35
Figure 9 : Aspect macroscopique de <i>Bacillus</i> sur GN.	36
Figure 10 : Le petit lait enrichi par <i>Bifidobacterium</i> après incubation d'un mois avec la bactérie pathogène <i>Bacillus</i> spp.....	37
Figure 11 : Le petit lait enrichi par <i>Bifidobacterium</i> après incubation D'un mois avec la bactérie pathogène <i>E.coli</i>	38
Figure 12 : Le petit lait enrichi par <i>Bifidobacterium</i> après incubation D'un mois avec la bactérie pathogène <i>Staphylococcus</i> spp.	40
Figure 13 : Résultats du petit lait co-cultivé par les BL et l' <i>E.coli</i> sur milieu Mac-Conkey après un mois d'incubation.....	41
Figure 14 : Résultats du petit lait co-cultivé par les BL et <i>Staphylococcus</i> spp sur le milieu sélectif Chapman et les deux milieux M17 et MRS respectivement.....	42
Figure 15 : Résultat de test de confrontation entre les BL et la bactérie pathogène <i>Bacillus</i> spp.	43
Figure 16 : Résultat de test de confrontation entre les BL et <i>staphylococcus</i> spp.	44
Figure 17 : Résultat de teste de confrontation entre les BL et la bactérie pathogène <i>E.coli</i>	45
Figure 18 : Résultat de galerie biochimique.	46
Figure 19 : Résultat de teste de sensibilité d' <i>E .coli</i> aux différents antibiotiques.	47
Figure 20 : Résultats de l'activité antimicrobienne des BL incubées pendant 0 (JM), 24, 48 et 72h sur la croissance d' <i>E. coli</i>	49

Liste des Figures

Figure 21 : Résultats de l'optimisation de l'activité antibactérienne contre <i>E.coli</i> par enrichissement des probiotiques.....	50
Figure 22 : Résultats de l'effet de la concentration initiale des sucres (G : glucose), (S : sucre), (L : lactose) et (T : témoin) sur l'activité anti- <i>E.coli</i>	51
Figure 23 : Résultats après incubation des tubes contiennent 06 variables utilisant Plackett-Buremen	52
Figure 24 : Résultats de l'optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Buremen.	53
Figure 25 : Résultats d'enrichissement des probiotiques par extrait de levure (EL) témoin (T) et co-cultivés avec <i>E.coli</i> , avec <i>Bacillus</i> sp. (B), avec <i>Staphylococcus</i> sp. (S).....	53
Figure 26 : Résultats après incubation des tubes de Box Benhken.....	56
Figure 27 : Résultats d'optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Benhken.	57
Figure 28 : Résultats d'incubation des tubes contiennent des concentrations variables de glucose (5,10 et 15 g/L).....	58
Figure 29 : Effet de la concentration initiale (5, 10 et 15%) de glucose (G) sur l'activité anti- <i>E.coli</i>	59
Figure 30 : Résultats d'incubation des tubes avec un taux d'inoculum de <i>staphylococcus</i> (25, 50, 75 et 100µL).....	60
Figure 31 : Effet de taux d'inoculum de <i>Staphylococcus</i> (S) (25, 50, 75 et 100µL) sur l'activité anti- <i>E.coli</i>	61

Liste des tableaux

Tableau 01 : Applications des composés antimicrobiens des BL dans l'industrie alimentaire.	11
Tableau 02 : Évaluation du spectre antimicrobien des bactéries lactiques selon les groupes de pathogènes ciblés.	14
Tableau 03 : Plackett-Burman (Taux d'inoculum : 5% (v/v) (Probiotiques), Volume réactionnel (10 mL de lait UHT partiellement écrémé).	27
Tableau 04 : Niveaux de variables.	28
Tableau 05 : Plan expérimental Box Benhken (Taux d'inoculum : 5% (v/v) (Probiotiques), Volume réactionnel (10 mL de lait UHT partiellement écrémé).	29
Tableau 6 : Zones d'inhibition autour chaque puits d'antibiotiques.	47
Tableau 07 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.	54
Tableau 08 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.	54
Tableau 09 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.	55

Introduction

Les bactéries lactiques (BL) constituent un groupe de micro-organismes largement répandus dans la nature, notamment dans les environnements riches en glucides tels que les produits laitiers, les légumes fermentés et le tractus gastro-intestinal (Ibrahim et *al.*, 2021).

Au-delà de leur usage traditionnel, les BL suscitent un intérêt croissant en tant qu'alternatives naturelles aux antibiotiques, dans un contexte où la résistance bactérienne constitue une menace majeure pour la santé publique mondiale. L'abus et la surconsommation d'antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en agriculture, ont favorisé l'émergence de souches bactériennes multirésistantes, rendant certaines infections de plus en plus difficiles, voire impossibles à traiter. Face à cette problématique, les BL apparaissent comme une solution prometteuse (Şanlıbaba et Güçer, 2015). Elles produisent divers composés antimicrobiens naturels, notamment des acides organiques, des bactériocines et des peroxydes, qui permettent de limiter la croissance des pathogènes sans nuire à l'équilibre du microbiote. Ainsi, leur utilisation pourrait non seulement contribuer à réduire le recours aux antibiotiques de synthèse, mais aussi à prévenir la propagation de la résistance (Wang et *al.*, 2023). Cependant, pour que ce potentiel soit pleinement exploité, il est essentiel d'optimiser les conditions de culture des BL afin de maximiser leur efficacité antimicrobienne, tant dans le domaine de la santé humaine que dans celui de la sécurité alimentaire (Canon et *al.*, 2020).

Bien que les BL soient reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes naturelles, l'efficacité de ces micro-organismes peut varier considérablement en fonction des conditions de culture, des souches utilisées, et de l'environnement dans lequel elles sont appliquées. Afin d'en faire des agents antimicrobiens alternatifs réellement efficaces, il devient crucial d'identifier et d'optimiser les facteurs qui influencent leur activité.

De ce fait, une question centrale se pose : comment améliorer l'activité antimicrobienne des BL de manière à renforcer leur efficacité contre les micro-organismes pathogènes ?

L'objectif principal de cette étude est d'optimiser l'activité antimicrobienne des BL contre des bactéries pathogènes.

Ce manuscrit est scindé en deux grandes parties : une partie théorique divisée en trois chapitres et une partie pratique composée de matériel et méthodes, suivi des résultats et de la discussion avec une conclusion.

Synthèse bibliographique

Bactéries lactiques (BL)

Les bactéries lactiques (BL) sont des micro-organismes hétérotrophes, *Gram* positifs, non sporulés, immobiles, de forme cocci ou bacillaire, catalase négative, aérotolérantes (Szatraj et *al.*, 2017 ; Bintsis, 2018). Elles sont reconnues pour leur grande tolérance aux pH acide compris entre 5,5 et 5,8, avec une température de croissance idéale d'environ 30°C (Özogul et *al.*, 2018). En outre, les BL nécessitent des apports nutritionnels complexes en acides aminés, peptides, bases nucléiques, vitamines, minéraux, acides gras et glucides elles sont donc des bactéries exigeantes (Özogul et *al.*, 2018). Les BL jouent un rôle essentiel dans l'amélioration de la saveur et de la texture des produits fermentés. Elles sont fréquemment isolées à partir du sol, de l'eau, des plantes, d'ensilage, du levain, ainsi que d'aliment et d'environnements intestinaux, génitaux et respiratoires humains. Elles sont également présentes dans une grande variété d'aliments et de produits fermentés, notamment la viande, les produits laitiers, les légumes fermentés, les boissons et les produits de boulangerie, ce qui souligne leur caractère ubiquitaire (Zielinska et *al.*, 2018 ; Ayivi et *al.*, 2020).

L'identification des BL a longtemps reposé sur des méthodes phénotypiques, mais les avancées technologiques ont introduit des techniques moléculaires plus précises, telles que le séquençage de l'ADN ribosomal 16S et l'amplification par PCR de l'ARNr. Ces approches permettent de différencier avec précision les souches individuelles (Şanlibaba et Güçerç, 2015 ; Mokoena, 2017 ; Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019 ; Abiom et *al.*, 2024). Les critères de classification des BL incluent notamment leur morphologie cellulaire (forme et arrangement des cellules), leur mode de fermentation du glucose (homofermentaire ou hétérofermentaire), leur tolérance aux conditions environnementales telles que le pH, la température et la concentration en sel, le type d'acide lactique produit (L(+), D(-) ou un mélange des deux) (Şanlibaba et Güçerç, 2015 ; Antonio et *al.*, 2021).

Les BL appartiennent au domaine *Bacteria*, au phylum *Firmicutes*, à la classe *Bacilli* et à l'ordre *Lactobacillales*. Elles se distinguent principalement par leur morphologie et leur mode de fermentation (Ayivi et *al.*, 2020). Sur le plan morphologique, les BL se présentent généralement sous deux formes principales. Certaines ont une forme sphérique ou ovoïde, appelées cocci, comme c'est le cas pour les genres *Streptococcus* et *Lactococcus*. D'autres se présentent sous une forme allongée en bâtonnets, désignées sous le terme de bacilles, à l'image du genre *Lactobacillus*. En ce qui concerne le mode de fermentation, les BL métabolisent les

glucides afin de produire de l'énergie. Deux types de fermentation sont distingués, la fermentation homofermentaire et la fermentation hétérofermentaire. Dans la fermentation homofermentaire, le glucose est principalement converti en acide lactique (Mokoena, 2017). Cette voie métabolique est typique des espèces telles que *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus*. En revanche, la fermentation hétérofermentaire aboutit à la production de plusieurs composés, dont l'acide lactique, l'acide acétique, l'éthanol et le dioxyde de carbone (Antonio et al., 2021). Des exemples représentatifs de ce type de fermentation incluent *Leuconostoc mesenteroides* et *Lactobacillus brevis* (Şanlıbaba et Güçer, 2015 ; Gupta et al., 2018 ; Zheng et al., 2020).

1. Utilisation des BL

Les BL sont des micro-organismes largement distribués dans divers écosystèmes naturels, allant des produits alimentaires fermentés aux environnements aquatiques et terrestres, en passant par le tractus digestif des humains et des animaux (Maky et al., 2025). Cela est illustré par la figure 01.

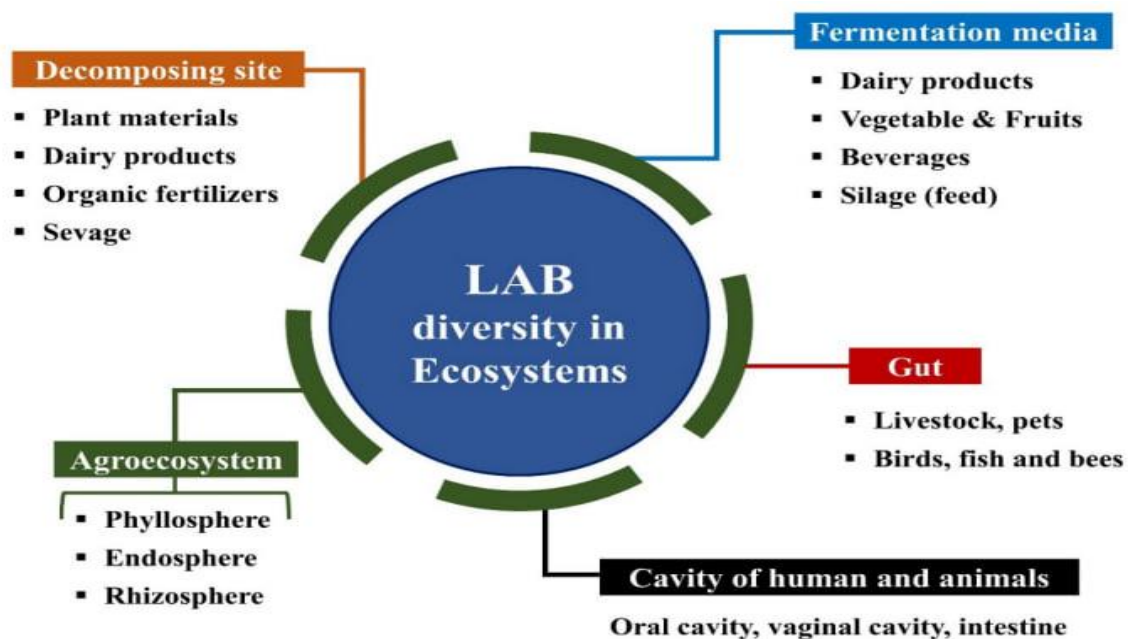


Figure 1: Répartition écologique des BL à usage technologique, alimentaire et sanitaire (Raman et al., 2022).

Cette large distribution reflète leur capacité d'adaptation et leur diversité fonctionnelle, grâce à leur production de métabolites bioactifs tel que les acides organiques (López-García et *al.*, 2023). Elles jouent un rôle essentiel :

- Dans la production des aliments fermentés tels que les yaourts, fromages, légumes fermentés, viandes et les céréales. Elles jouent un rôle clé dans la conservation des aliments en produisant de l'acide lactique, qui inhibe la croissance des pathogènes et prolonge la durée de vie des produits. En outre, elles influencent positivement la texture, l'arôme et la qualité nutritionnelle des aliments fermentés (Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019).
- Leur consommation régulière via des aliments fermentés pourrait renforcer leur présence et améliorer certaines fonctions métaboliques et immunitaires. Elles produisent divers métabolites bioactifs, comme des peptides antimicrobiens, des acides gras conjugués et des enzymes aux effets bénéfiques, Elles favorisent la digestion et peuvent contribuer à la prévention des maladies telles que les troubles digestifs, l'obésité et les maladies cardiovasculaires. De plus, elles réduisent l'absorption des toxines et produisent des vitamines essentielles comme les vitamines B et K (Muhialdin et *al.*, 2020 ; Zapašnik et *al.*, 2022).
- Les BL possèdent des mécanismes de détoxification par adsorption et biotransformation des toxines. *Lactobacillus rhamnosus* est capable de fixer jusqu'à 80 % des aflatoxines, tandis que *Lactiplantibacillus plantarum* dégrade certaines toxines grâce à des enzymes spécifiques. Certaines souches peuvent également séquestrer les métaux lourds (plomb, cadmium) et dégrader des pesticides, contribuant ainsi à la sécurité alimentaire et environnementale (Petrova et *al.*, 2022 ; Chen et *al.*, 2025).
- Les BL sont des rhizobactéries promotrices de croissance des plantes (PGPR). Elles améliorent l'absorption des nutriments (azote, phosphore, potassium), renforcent la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques et inhibent les pathogènes agricoles grâce à la production des molécules antimicrobiennes (Wang et *al.*, 2023 ; Yaghoubi Khangahi et *al.*, 2024).

De nombreuses études ont mis en évidence leur aptitude à inhiber la croissance des pathogènes, (Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019) à dégrader les mycotoxines (Wang et *al.*, 2023) et à exprimer des propriétés probiotiques bénéfiques, (Raman et *al.*, 2022) les rendant utilisables comme cultures de départ (pré-culture). Les BL suscitent un intérêt croissant, notamment face

à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques. D'où l'importance de l'exploitation des avancées technologiques pour l'identification de nouvelles souches présentant une activité antimicrobienne efficace, notamment contre les uropathogènes et d'autres agents infectieux (Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019 ; Raman et *al.*, 2022).

Activité antimicrobienne des BL

La société des BL constitue une relation microbienne très développée, où ces dernières occupent un rôle central, notamment dans les fermentations alimentaires (Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019). Au sein de l'écosystème, les interactions des BL avec d'autres microbes sont responsables de la stabilité, de la qualité et de la sécurité des aliments fermentés. Ces interactions peuvent être symbiotiques, compétitives ou antagonistes. Au niveau coopératif, certaines souches peuvent produire des métabolites ou des nutriments essentiels qui favorisent la croissance d'autres BL (Harper et *al.*, 2022). Par exemple, *Lactobacillus helveticus* peut libérer des peptides favorisant la croissance d'autres souches (George et *al.*, 2018). La compétition entre les souches pour les nutriments, tels que les glucides, ou pour l'occupation des niches spécifiques dans la matrice alimentaire est courante, ce qui influence leur dominance dans l'écosystème (Ibrahim et *al.*, 2021). De plus, les BL possèdent des activités antagonistes en produisant des métabolites antimicrobiens tels que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène ou les bactériocines, qui inhibent la prolifération d'autres bactéries, en particulier les pathogènes (Canon et *al.*, 2020). De plus, les BL communiquent entre eux via un système de détection de quorum, basé sur des peptides auto-inducteurs, afin de contrôler divers processus tels que la production d'enzymes, la formation des biofilms ou la réponse au stress environnemental de manière synchronisée. Elles possèdent également une bonne capacité d'adaptation, rendue possible par l'échange de matériel génétique par conjugaison, transformation ou transduction, leur conférant ainsi des fonctions précieuses telles que la résistance aux environnements acides, ou la capacité à synthétiser des composés aromatiques (Armes et *al.*, 2022). Ces diverses interactions ont des effets significatifs sur la dynamique fermentaire, ainsi que la texture des produits finaux, notamment par l'action des exopolysaccharides (EPS), particulièrement recherchés dans les yaourts à base végétale pour améliorer leurs caractéristiques rhéologiques (Nguyen et *al.*, 2020). Des co-cultures spécifiques, comme celle entre *L. lactis* et *S. thermophilus*, illustrent la synergie potentielle entre les souches, qui augmente la croissance, la viabilité et l'amélioration globale de la qualité organoleptique des aliments fermentés (Ruiz Rodriguez et *al.*, 2019). Elles soulignent également l'existence d'interactions fonctionnelles avec d'autres micro-organismes, comme les levures. Par exemple, *Saccharomyces cerevisiae* peut utiliser l'acide lactique produit par *Lactobacillus sanfranciscensis*, réduisant ainsi l'acidification du milieu et favorisant indirectement la croissance de ce dernier (Harper et *al.*, 2022), un élément qui témoigne de l'importance des interactions symbiotiques dans l'optimisation des processus de fermentation (George et *al.*, 2018 ; Canon et *al.*, 2020).

1. Composés antimicrobiens

Les BL sont des organismes capables de produire une large gamme des molécules antimicrobiennes, essentielles à la biopréservation des aliments et à la lutte contre les agents pathogènes nocifs pour l'homme. Des composés antimicrobiens de composition chimique et d'action variée confèrent aux BL la capacité d'empêcher le développement d'autres micro-organismes potentiellement nuisibles, le tableau 01 représentant le spectre d'action des divers composées antimicrobiennes produites par les BL (Wang et *al.*, 2021).

1.1.Acides organiques

1.1.1. Acide lactique

L'acide lactique, a été découvert en 1780 par le chimiste suédois *Carl Wilhelm Scheele* dans du lait aigre. Plus tard, en 1857, *Louis Pasteur* a mis en évidence sa production par fermentation microbienne. Ce composé est un produit courant du métabolisme du glucose, présent chez de nombreux êtres vivants et dans divers aliments fermentés. Il joue un rôle important dans la réduction du pH, ce qui permet de limiter la croissance des bactéries pathogènes, notamment en perturbant leur membrane cellulaire (Arqués et *al.*, 2015 ; Salomskiene et *al.*, 2019). L'acide lactique possède un atome de carbone asymétrique, ce qui lui permet d'exister sous deux formes le L(+) acide lactique, le plus fréquent dans la nature et utilisé en alimentation et en médecine car il est facilement métabolisé, et le D(−) acide lactique, plus rare. Environ 90 % de sa production industrielle repose sur la fermentation de sucres (comme le glucose ou des matériaux végétaux) par des BL (Komesu et *al.*, 2017 ; Kralik et *al.*, 2018). Cette méthode écologique, utilise des matières premières renouvelables, fonctionne à des températures modérées, et permet d'obtenir un seul type d'isomère selon la souche utilisée. Une autre méthode, la synthèse chimique, permet de produire un mélange des deux formes (DL acide lactique) à partir d'un composé appelé lactonitrile, principalement pour des usages industriels spécifiques. Sur le plan physique, l'acide lactique est un liquide incolore à légèrement jaunâtre, inodore à température ambiante, avec une densité de 1,249 g/L à 20 °C et un pKa d'environ 3,8, ce qui montre son caractère acide (Arqués et *al.*, 2015 ; Komesu et *al.*, 2017 ; Kralik et *al.*, 2018 ; Salomskiene et *al.*, 2019 ; Mora-Villalobos et *al.*, 2020 ; Wang et *al.*, 2021).

1.1.2. Acide acétique

L'acide acétique est un acide lipophile, possède un effet antimicrobien plus prononcé à pH équivalent (Wang et *al.*, 2021).

D'autres acides comme l'acide formique, propionique et butyrique participent aussi à l'effet antimicrobien par perturbation du gradient de protons (Kralik et *al.*, 2018).

1.2. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Produit principalement dans des conditions aérobies par l'action de la NADH oxydase, le H₂O₂ génère un stress oxydatif par la formation de radicaux libres, oxydant les lipides et les protéines membranaires des micro-organismes cibles, ce qui induit une perméabilité membranaire après cela la mort cellulaire, Il est particulièrement actif contre *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* et *Clostridium botulinum* (Arqués et *al.*, 2015 ; Şanlıbaba et Güçer, 2015 ; Wang et *al.*, 2021).

1.3. Bactériocines

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens synthétisés par certaines bactéries, en particulier BL, et jouent un rôle clé dans la compétition microbienne en inhibant la croissance de bactéries concurrentes. Elles peuvent avoir un spectre d'action étroit ou large, selon qu'elles ciblent des bactéries proches ou appartenant à d'autres genres (Şanlıbaba et Güçer, 2015). Leur classification repose sur des critères structuraux et biochimiques, la classe I regroupe les peptides thermostables de petite taille, la classe II comprend des peptides de plus grande taille souvent thermolabiles, tandis que la classe III englobe des complexes lipidiques ou glucidiques et certains peptides modifiés post-traductionnellement. Le mécanisme d'action principal des bactériocines implique la formation de pores dans la membrane cytoplasmique des bactéries cibles, entraînant une perte d'intégrité membranaire et la mort cellulaire, certaines inhibent également la synthèse de l'ADN, de l'ARN ou des protéines. Leur production est régulée par des facteurs environnementaux tels que le pH, la température, la composition du milieu de culture et la phase de croissance, ce qui peut nécessiter des ajustements industriels pour optimiser leur expression. Les bactériocines sont particulièrement valorisées dans la bioconservation alimentaire, car elles permettent de contrôler les pathogènes sans nuire aux cellules eucaryotes (López-Cuellar et *al.*, 2016). Parmi les exemples les plus utilisés figurent la nisine, produite par *L. lactis*, efficace contre de nombreuses bactéries Gram-positives, et la pédiocine PA-1 de *Pediococcus acidilactici*, active contre *L. monocytogenes*. (Antonio et *al.*, 2021). Des études sur la modification génétique de souche des BL pour lutter contre *Enterococcus faecium* multirésistantes (Sugrue et *al.*, 2024), aussi des études sur l'amélioration de la production de pédiocine en industrie laitière (Antonio et *al.*, 2021). Les gènes codant ces peptides sont souvent situés sur des plasmides, facilitant leur transfert horizontal et leur manipulation génétique. Des stratégies de génie génétique permettent aujourd'hui de concevoir

des bactériocines hybrides ou d'améliorer leur expression dans des hôtes industriels, renforçant ainsi leur potentiel en biotechnologie et en thérapeutique (Arqués et *al.*, 2015 ; López-Cuellar et *al.*, 2016 ; Mathur et *al.*, 2017 ; Chikindas et *al.*, 2018 ; Wang et *al.*, 2021).

1.4.Diacétyle

Produit aromatique issu du métabolisme du citrate, notamment par *L. lactis* et *Leuconostoc*, le diacétyle est capable d'inhiber la croissance de bactéries *Gram*-négatives comme *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, et *Yersinia*, en perturbant l'utilisation de l'arginine et la perméabilité membranaire à fortes concentrations (Arqués et *al.*, 2015 ; Şanlıbaba et Güçer, 2015 ; Wang et *al.*, 2021).

1.5.Reuterine (3-hydroxypropionaldéhyde)

Spécifiquement synthétisée par *Lactobacillus reuteri* à partir du glycérol, la reutérine a un large spectre d'action contre des bactéries pathogènes telles que *Salmonella*, *Clostridium*, et *Staphylococcus*, ainsi que contre les levures et moisissures, limitant la formation de mycotoxines. Elle agit en inhibant l'ADN, la synthèse des protéines, et les enzymes essentielles, via interaction avec les groupes thiol des protéines cibles (Şanlıbaba et Güçer, 2015 ; Kralik et *al.*, 2018).

1.6.Acides gras libres

Certains BL produisent des acides gras à chaîne courte et moyenne (C6–C12) comme l'acide caprique et l'acide l'aurique, qui s'insèrent dans les membranes bactériennes, compromettant leur intégrité. Ces acides sont actifs notamment contre *L. monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* (Wang et *al.*, 2021).

Tableau 01 : Applications des composés antimicrobiens des BL dans l'industrie alimentaire.

Composé antimicrobien	Producteur principal (Bactéries lactiques)	Pathogènes ciblés	Applications alimentaires	Références
Acide lactique	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	Saumon tranché	(Arqués et al., 2015 ; Komesu et al., 2017 ; Salomskiene et al., 2019 ; Mora-Villalobos et al., 2020).
Acide acétique	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	Saumon tranché	(Kralik et al., 2018 ; Ibrahim et al., 2021 ; Wang et al., 2021).
Acide formique	<i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i>	<i>E. coli, Listeria spp. Salmonella spp.</i>	Viandes, aliments pour animaux	(Gómez-García et al., 2019 ; Ricke et al., 2020 ; Ibrahim et al., 2021).
Acide succinique	<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Viande de poulet	(Radkowski et al., 2018 ; Sharma et al., 2022).
Acide propionique	<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>	<i>Campylobacter spp.</i>	Produits avicoles	(Ibrahim et al., 2021 ; Sharma et al., 2022).
Reuterine	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>	Pathogènes variés	Lait écrémé	(Şanlıbaba et Güçer, 2015 ; Kralik et al., 2018 ; Wang et al., 2021).
Nisine	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Listeria monocytogenes, Bacillus cereus</i>	Lait, homard, truite, cidre de pomme, lactosérum liquide	(Shin et al., 2016 ; Özel et al., 2018 ; Ibrahim et al., 2021).
Lactococcine	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Lait	(Yıldırım et al., 2016 ; Ibrahim et al., 2021).
Gasséricine	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Crème pâtissière	(Maldonado-Barragán et al., 2016 ; Garcia-Gutierrez et al., 2020 ; Taghizad et al., 2021).
Entéroccine	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Listeria monocytogenes, Escherichia coli</i>	Jus de pomme, salades prêtes à consommer	(Yildirim et al., 2016 ; Ibrahim et al., 2021).

2. Méthodes de la détermination de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne est un processus essentiel pour identifier les BL présentant une valeur probiotique ou de biopréservation. Il a été démontré que les BL sont capables de produire une grande variété des substances antimicrobiennes, notamment des acides organiques (acide lactique, acide acétique), H₂O₂, des bactériocines et d'autres peptides antimicrobiens. Ces substances inhibent la croissance des micro-organismes pathogènes ou d'altération, améliorant ainsi la sécurité microbiologique des aliments ou de l'hôte (Hossain, 2024).

Plusieurs méthodes *in vitro* permettent de déterminer cette activité, notamment la diffusion en gélose, la co-culture et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

2.1.Méthode de diffusion sur gélose (*Agar Well Diffusion ou Disk Diffusion*)

La méthode de diffusion sur gélose constitue l'une des techniques les plus couramment utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne des BL. Elle repose sur le principe de la diffusion des composés antimicrobiens produits par les BL (tels que les acides organiques ou les bactériocines) à travers un milieu solide, permettant ainsi d'observer leur effet inhibiteur sur des bactéries pathogènes cibles. Cette méthode est largement utilisée dans les études récentes portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des BL. Dans l'étude de (Tlemsani et *al.*, 2023), le surnageant des BL isolées du lait cru a été appliqué dans des puits sur gélose ensemencée avec différentes bactéries pathogènes *E. coli*, *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes*), révélant des zones d'inhibition nettes et reproductibles (Sameh et *al.*, 2016 ; Bungenstock et *al.*, 2020 ; Asadzadegan et *al.*, 2023 ; Kalhor et *al.*, 2023 ; Hossain, 2024).

2.2.Méthode de co-culture

La méthode de co-culture est utilisée pour évaluer l'effet inhibiteur direct des BL sur des bactéries pathogènes lorsqu'elles sont cultivées simultanément dans un même milieu. Contrairement aux tests basés sur la diffusion, cette méthode reproduit un environnement compétitif dynamique, permettant d'observer les interactions réelles entre les micro-organismes, notamment en termes de production de métabolites antimicrobiens, d'acidification du milieu ou de compétition pour les nutriments. La souche de BL et la bactérie pathogène sont inoculées dans un même tube ou microplaque contenant un milieu de culture approprié, (tel que le *Brain Heart Infusion Broth* ou le *Tryptic Soy Broth*), puis incubées ensemble. La croissance des bactéries est suivie au cours du temps, par mesure de la densité optique (DO600)

et/ou par dénombrement sur milieux sélectifs, afin de comparer la croissance du pathogène en présence et en absence des BL (Mountcastle et al., 2020 ; Peters, 2021 ; Liu et al., 2022 ; Wang et al., 2022 ; Esmaeili et al., 2024).

2.3.Méthode de micro dilution en bouillon

La microdilution en bouillon est une méthode normalisée pour évaluer l'activité antibactérienne d'un antibiotique. Elle permet de déterminer la CMI, c'est-à-dire la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la croissance visible d'une bactérie. Des concentrations d'un antibiotique sont préparées dans un bouillon de culture liquide dans des plaques à 96 puits, puis l'ajout d'une suspension bactérienne standardisée, après incubation. L'absence de turbidité indique une inhibition (Secilmis et al., 2021 ; De Luca et al., 2025).

D'autres méthodes peuvent également être utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne, notamment les tests ciblant spécifiquement l'activité des bactériocines, la PCR pour identifier les gènes associés à la production de substances antimicrobiennes, ainsi que des techniques analytiques telles que la spectrométrie de masse et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Ces approches offrent une meilleure compréhension des composés actifs et de leurs mécanismes d'action, et pourraient être intégrées dans des travaux de recherche ultérieurs (Yadav et Tiwari, 2023).

3. Spécificité de l'activité antimicrobienne des BL

La spécificité de l'activité antimicrobienne des BL fait référence à leur capacité à inhiber ou tuer des micro-organismes pathogènes ou altérants, en fonction du type de composé antimicrobien qu'elles produisent et de la nature du micro-organisme ciblé. Ces propriétés antimicrobiennes sont exploitées dans les domaines de la sécurité alimentaire, de la conservation des aliments et des applications probiotiques (Bharti et al., 2021).

3.1.Etude du spectre antimicrobien des BL

Le spectre antimicrobien des BL reflète leur capacité à inhiber une diversité de micro-organismes. Des études ont démontré que des souches de BL, telles que *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. lactis* et *Pediococcus acidilactici*, possèdent une activité antibactérienne significative contre des bactéries pathogènes tels que *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* et *Bacillus cereus* (Eji et al., 2023). Les levures telles que *Candida albicans* (Hernández Figueroa et al., 2024). Les BL ont également démontré une capacité à inhiber la croissance des moisissures responsables de la détérioration des produits alimentaires, telles que *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger* et *Mucor* spp (Shi et

al., 2022). Cette spécificité varie selon les composés antimicrobiens produits (acides organiques, bactériocines, etc.) et dépend des caractéristiques propres aux pathogènes ciblés, comme la structure de leur paroi, leur métabolisme ou leur tolérance à l'acidité, le tableau 02 qui illustre cette diversité d'action en mettant en relation les types de pathogènes, les mécanismes d'inhibition associés et les niveaux d'efficacité observés (El Ahmadi et *al.*, 2025 ; Yang et *al.*, 2025).

Tableau 02 : Évaluation du spectre antimicrobien des bactéries lactiques selon les groupes de pathogènes ciblés.

Type de pathogène	Exemples ciblés	Composés produits par les BL	Efficacité / Résistance	Références
Bactéries <i>Gram +</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Clostridium spp.</i>	Bactériocines (ex : nisine), acide lactique, peroxyde d'hydrogène.	Élevée – très sensibles aux bactériocines.	(Bharti et <i>al.</i> , 2021 ; Zhao et <i>al.</i> , 2024).
Bactéries <i>Gram -</i>	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Acide lactique, peroxyde d'hydrogène.	Variable – souvent résistantes aux bactériocines.	(Marcelli et <i>al.</i> , 2024 ; Gutiérrez-Cortés et <i>al.</i> , 2025).
Levures	<i>Candida albicans</i> , <i>S. cerevisiae</i>	Acides organiques, peptides antifongiques.	Modérée – dépend de la concentration en acides.	(Gutiérrez-Cortés et <i>al.</i> , 2025).
Moisissures	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i>	Acides organiques, composés volatils antifongiques.	Faible à modérée – inhibition surtout par acidification du milieu.	(Huang et <i>al.</i> , 2025).

3.2. Résistance des pathogènes aux composés antimicrobiens

La résistance des pathogènes aux composés antimicrobiens varie selon plusieurs facteurs. La structure de leur paroi, notamment la distinction entre les bactéries Gram positif et Gram négatif, joue un rôle crucial. De plus, leur capacité à tamponner l'acidité ou à produire des enzymes neutralisant les antimicrobiens contribue à cette résistance. L'adaptation génétique, par le biais de mutations ou de l'acquisition de plasmides de résistance, est également un mécanisme important. Par exemple, *S. aureus* est très sensible à la nisine, tandis qu'*E. coli* est plus résistant mais peut être inhibé par des acides à forte concentration. Certaines souches de *Candida* et *Penicillium* peuvent développer une tolérance aux faibles niveaux d'acidité ou aux antifongiques (Bharti et al., 2021 ; Gutiérrez-Cortés et al., 2025).

Face à la montée préoccupante de la résistance aux antibiotiques, Les BL apparaissent comme des candidates prometteuses dans la recherche de solutions alternatives. Leur capacité à produire des métabolites antimicrobiens, leur confère un potentiel thérapeutique important contre un large spectre de pathogènes multirésistants (Thomas et al., 2018). Plusieurs études ont démontré que certaines souches de *Lactobacillus*, telles que *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ou encore *L. acidophilus*, sont capables d'inhiber la croissance de souches résistantes d'*E. coli*, *S. aureus* (y compris MRSA), *L. monocytogenes* ou *Pseudomonas aeruginosa* (Sharma et al., 2019). Ces effets sont souvent attribués à la synergie entre les composés antimicrobiens et les mécanismes de compétition pour les nutriments et l'adhésion.

Par exemple, une étude menée par (Ruiz Rodríguez et al., 2019) a montré que certaines souches de *Lactobacillus* isolées de produits laitiers fermentés présentaient une activité antimicrobienne remarquable contre des isolats cliniques multirésistants. De plus, (Raman et al., 2022) ont rapporté l'efficacité des BL dans le traitement d'infections urinaires récurrentes, soulignant leur rôle préventif grâce à leur capacité à moduler le microbiote urogénital. Dans un contexte clinique, les BL sont également explorées comme adjuvants aux traitements antibiotiques. Leur utilisation en combinaison avec des antibiotiques conventionnels peut améliorer l'efficacité thérapeutique tout en réduisant les doses nécessaires, ce qui diminue le risque d'émergence de résistances supplémentaires (Aghamohammad et al., 2023). Cette approche est particulièrement pertinente dans les infections nosocomiales.

Enfin, les propriétés immunomodulatrices des BL renforcent leur intérêt thérapeutique. En stimulant la production de cytokines protectrices et en régulant

l'inflammation, elles peuvent indirectement renforcer la réponse de l'hôte contre les infections bactériennes (Zhang et *al.*, 2023).

Optimisation d'activité antimicrobienne des BL

L'optimisation des conditions de production des composés antimicrobiens par les BL est une étape cruciale pour valoriser leur potentiel biotechnologique. Cette optimisation vise à améliorer la synthèse de métabolites bioactifs tels que les acides organiques, les bactériocines et les peptides antimicrobiens, et à maximiser leur efficacité contre les agents pathogènes cibles (Chen et *al.*, 2025).

1. Importance de l'optimisation

Les conditions environnementales et les paramètres de culture influencent fortement la production des substances antimicrobiennes. Ainsi, l'ajustement des variables comme le pH initial, la température d'incubation, le temps de fermentation, et la source de carbone et d'azote permet d'augmenter la productivité des BL et leur efficacité contre une large gamme de micro-organismes indésirables (Veetil et *al.*, 2022).

2. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des BL

2.1. Paramètres biologiques

2.1.1. Diversité génétique des souches

La diversité génétique au sein des souches de BL est un facteur déterminant de leur activité antimicrobienne. Chaque souche possède un génome unique qui influence sa capacité à produire des métabolites antimicrobiens, tels que les bactériocines, et à interagir avec d'autres micro-organismes. Par exemple, une étude de (Rodríguez-González et *al.*, 2025) a révélé une variabilité significative dans la production de bactériocines parmi différentes souches de BL isolées de lait de chèvre, soulignant l'importance de la diversité génétique dans le potentiel antimicrobien des BL (Rodríguez-González et *al.*, 2025).

2.1.2. Capacité de production de bactériocines

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens produits par certaines souches de BL, offrant une inhibition ciblée contre des pathogènes spécifiques. La production de ces peptides est codée par des gènes spécifiques, dont la présence et l'expression varient selon les souches. Par exemple, une étude (Prete et *al.*, 2021). a compilé l'occurrence de la production multiple de bactériocines chez certaines souches nouvelles de BL, mettant en évidence des mécanismes de partage uniques (Prete et *al.*, 2021).

2.1.3. Production d'acides organiques

Toutes les souches de BL produisent des acides organiques, principalement l'acide lactique, qui abaissent le pH du milieu environnant, créant un environnement défavorable à de nombreux pathogènes. Cependant, la quantité et le type d'acides produits peuvent varier selon la souche. Certaines souches produisent également de l'acide acétique, renforçant l'effet antimicrobien en synergie avec l'acide lactique (Chen et *al.*, 2022 ; Ren et *al.*, 2022).

2.1.4. Production de H₂O₂

Certaines souches de BL produisent du H₂O₂, un composé aux propriétés antimicrobiennes. La production de H₂O₂ est particulièrement importante dans des environnements anaérobies, où il peut inhiber la croissance de bactéries pathogènes sensibles au peroxyde. La capacité à produire du H₂O₂ varie significativement entre les souches, influençant ainsi leur potentiel antimicrobien (Ingle et *al.*, 2022).

2.1.5. Compétition pour les nutriments et adhésion aux surfaces

Les BL peuvent inhiber les pathogènes en compétition pour les nutriments essentiels et en adhérant aux surfaces, empêchant ainsi l'adhésion des agents pathogènes. Cette capacité d'adhésion est souche-dépendante et est influencée par des facteurs tels que la présence de protéines de surface spécifiques et la composition de la paroi cellulaire (Anjana et Tiwari, 2022).

2.1.6. Production de substances antimicrobiennes spécifiques

Outre les bactériocines et les acides organiques, certaines souches de BL produisent d'autres substances antimicrobiennes, telles que le diacétyl et le CO₂, qui contribuent à leur activité antimicrobienne. Par exemple, *Lactobacillus reuteri* produit la reutéline, un composé antimicrobien efficace contre un large éventail de micro-organismes indésirables (Caulier et *al.*, 2019).

2.2. Facteurs environnementaux

2.2.1. Influence de la température

La température joue un rôle fondamental dans la croissance des BL et la synthèse de leurs composés antimicrobiens, tels que les bactériocines, les acides organiques et les peroxydes (Łepecka et *al.*, 2021). Une plage allant de 30 à 37°C est généralement favorable à cette production. D'autres études ont montré que certaines BL peuvent inhiber efficacement des pathogènes comme *E. coli* ou *S. aureus* dès 12°C, en induisant une phase stationnaire précoce

chez ces derniers (Yang et *al.*, 2018). Ainsi, la température agit à la fois sur la cinétique de croissance, les voies de biosynthèse antimicrobienne et l'induction du stress cellulaire chez les pathogènes cibles (Yang et *al.*, 2018).

2.2.2. Influence du pH

Le pH du milieu est un facteur déterminant dans l'expression de l'activité antimicrobienne des BL. Des valeurs proches de la neutralité (pH 6,4 à 7) sont optimales pour la production de bactériocines. En revanche, un pH acide ou basique (4–5 ou 8) peut limiter cette activité par effet sur la stabilité des métabolites (Łepecka et *al.*, 2021). Par ailleurs, les BL produisent naturellement des acides organiques (ex. : lactique, acétique) qui abaissent le pH des milieux, ce qui limite la croissance des pathogènes. Le pouvoir inhibiteur dépend aussi de la forme chimique des acides : seuls les acides sous forme non dissociée (à bas pH) peuvent traverser la membrane cellulaire et induire une destruction interne (Łepecka et *al.*, 2021).

2.2.3. Présence d'oxygène

L'oxygène ambiant influence également l'activité des BL. En conditions aérobies, ces bactéries peuvent produire du H₂O₂, un composé antimicrobien puissant, notamment lorsqu'il agit en synergie avec la lactoperoxydase naturellement présente dans certains aliments comme le lait cru. Cette activité ajoute une dimension oxydative au spectre d'action des BL, en complément de l'acidification du milieu (Yang et *al.*, 2018).

2.2.4. Disponibilité des nutriments

Les substrats disponibles dans le milieu conditionnent la croissance et la biosynthèse antimicrobienne (Ibrahim et *al.*, 2021). Des sucres fermentescibles comme le glucose ou le lactose favorisent la production d'acide lactique et de bactériocines. Par ailleurs, la compétition nutritionnelle constitue une stratégie indirecte de domination, les BL limitent la croissance d'autres microorganismes en consommant les ressources essentielles plus efficacement (Ibrahim et *al.*, 2021).

2.2.5. Interactions microbiennes et co-cultures

Les BL peuvent interagir avec d'autres microorganismes de manière synergique ou compétitive. Par exemple, dans le levain, la co-culture avec des levures telles que *Saccharomyces cerevisiae* stimule la croissance des BL en modifiant le pH ou en libérant des

vitamines. Ces interactions modifient l'environnement de culture, renforçant ou affaiblissant l'effet antimicrobien des BL (Ibrahim et *al.*, 2021).

3. Optimisation de l'activité antimicrobienne

3.1.Stratégies d'optimisation

Les stratégies d'optimisation de la production de bactériocines par les BL, comme *Lactobacillus sakei*, incluent l'ajustement des conditions de culture. L'ajout de glucose et de surfactants comme le Tween 20 dans le milieu MRS, combiné à un pH initial compris entre 5,5 et 6,5 et une température d'incubation entre 25 et 30 °C, favorise significativement la production de bactériocines. Ces paramètres ont été évalués à l'aide d'un plan expérimental factoriel complet, permettant de cibler les combinaisons les plus efficaces pour maximiser l'activité antimicrobienne (Malheiros et *al.*, 2015 ; El Ahmadi et *al.*, 2025).

3.2.Techniques avancées d'optimisation

L'utilisation de la Méthodologie des Surfaces de Réponse (*RSM*) représente une technique avancée d'optimisation. Elle permet d'analyser les effets combinés de plusieurs facteurs sur la production de bactériocines et de modéliser ces interactions sous forme d'équation polynomiale (Malheiros et *al.*, 2015 ; Bartkiene et *al.*, 2019).

3.3.Modélisation et prévisions

La modélisation statistique obtenue par *RSM* permet de prévoir la production de bactériocine en fonction des paramètres de culture (pH, température, glucose, Tween 20). L'équation polynomiale générée permet d'identifier des effets significatifs et de visualiser les conditions optimales par des graphes en surface de réponse. Cette capacité prédictive est essentielle pour une mise à l'échelle industrielle maîtrisée et efficace de la production antimicrobienne des BL (Malheiros et *al.*, 2015 ; Pujato et *al.*, 2024).

L'approche des plans d'expériences *Design of Experiments (DoE)*, notamment les plans de *RSM* et les plans factoriels complets ou fractionnaires, permet une évaluation systématique des facteurs influents et de leurs interactions (Shehata et *al.*, 2022). Ces plans permettent d'identifier rapidement les conditions optimales tout en réduisant le nombre d'expériences nécessaires (Parada Fabián et *al.*, 2025).

Matériel et méthodes

1. Lieux de réalisation du stage

Le stage de fin d'études a été réalisé dans deux structures distinctes. La première partie a été effectuée au Laboratoire d'Hygiène Régional, spécialisé dans le contrôle microbiologique appliqué à l'hygiène et à la sécurité des produits.

La seconde partie du stage a eu lieu aux laboratoires 08 et 09 de Microbiologie de l'Université Frères Mentouri 01 de Constantine.

2. Durée du stage

La première partie du stage, réalisée au laboratoire d'Hygiène Régional, s'est étendue sur une période d'un mois de 04 avril jusqu'au 01 mai.

La seconde partie, effectuée aux laboratoires 08 et 09 de Microbiologie de l'Université Frères Mentouri 01, sur une durée de 21 jours, début le 28 mai et fini le 04 juin.

3. Objectifs de travail

- Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers ;
- Etudier l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques contre des bactéries pathogènes ;
- Optimiser l'activité antibactérienne des BL contre *E.coli*.

4. Isolement des bactéries lactiques

Afin d'isoler les BL à partir de 04 produits laitiers commercialisés ; petit lait enrichi avec *Bifidobacterium* (leben), lait UHT (partiellement écrémé), yaourt sucré et yaourt enrichi avec *Bifidobacterium* (Annexe 2). Deux milieux sélectifs ont été utilisés : *Man*, *Rogosa* et *Sharpe* (MRS) dont la composition (Annexe 2) et M17 dont la composition (Annexe 2). Les manipulations ont été réalisées en duplicate, par un ensemencement en surface. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures (El Ahmadi et *al.*, 2025).

5. Criblage et isolement des bactéries pathogènes

5.1.Criblage initiale des bactéries pathogènes

Le laboratoire d'hygiène nous a offert plusieurs souches bactériennes pathogènes ; *E. coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*.

Dans cette étude on se limite aux souches responsables des toxi-infections. En se basant sur la littérature, seules *E. coli*, *Staphylococcus* spp et *Bacillus* spp sont choisies (Antunes et Peixe, 2020).

Pour chaque souche, une suspension bactérienne a été préparée à partir de colonies isolées cultivées antérieurement. Quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et transférées dans de l'eau physiologique stérile, Ensuite, ont été ensemencées la gélose nutritive (GN) (Annexe 2). Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

5.2.Criblage secondaire des bactéries pathogènes

Afin de trouver la bactérie la plus sensible parmi les trois souches choisies, nous avons préparés une co-culture entre les bactéries pathogènes cibles et les BL isolées, et un test de confrontation pour chercher la bactérie sensible.

5.2.1. Préparation des co-cultures sur milieu liquide

Des colonies isolées de chacune des 03 souches pathogènes (*E. coli*, *Bacillus* spp. et *Staphylococcus* spp.) Ont été prélevées à partir des boîtes de culture précédentes, puis ensemencées dans trois flacons contenant chacun 100 mL de petit-lait stérile. Ces milieux ont été incubés à 37°C.

Après une incubation d'un mois, ont été prélevées à l'aide d'anse de platine un volume à partir de flacon contenant *Staphylococcus* spp, et ensemencés sur le milieu sélectif Chapman aussi sur MRS et M17. Parallèlement, ont été ensemencées sur un milieu sélectif Mac-Conkey un volume issu du flacon contenant *E. coli*, puis incubées à 37°C Pendant 24 heures (Madi et al., 2017).

5.2.2. Test de confrontation (co-culture sur milieu solide)

Afin d'évaluer l'interaction entre les *Lactococcus* et *Bifidobacterium* isolées et les bactéries pathogènes choisies et déterminer la capacité d'un microorganisme d'inhiber un autre. Un test de confrontation sur le milieu Muller-Hinton a été effectué.

Les deux souches (*Lactococcus* et *Bifidobacterium* / une des trois souches pathogènes) inoculées côte à côte sur une gélose Muller-Hinton (Annexe 2). Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures (Serna-Cock et al., 2019).

6. Etude de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli*

A partir des résultats de la section 5.2.2. La souche la plus sensible est *E.coli*. Avant de tester l'effet de l'activité antibactérienne des BL une identification préalable d'*E.coli* a été réalisée comme suit :

6.1. Identification biochimique d'*E.coli*

Afin de confirmer l'identité de la souche isolée, une galerie biochimique classique pour les entérobactéries (Mannitol mobilité, Citrate de Simmons, *Triple Sugar Iron* (TSI) et Indole) a été réalisée.

Une suspension bactérienne a été préparée en suspendre quelques colonies d'*E. coli* dans de l'eau physiologique stérile. Chaque test a été ensemencé selon la méthode appropriée ;

- Mannitol mobilité : par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Citrate de Simmons : par stries en surface ;
- TSI : par stries de la pente et piqûre du fond ;
- Indole : ensemencement dans le milieu SIM, suivi de l'ajout du réactif de

Kovacs après incubation.

Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures.

6.2. Test d'antibiogramme d'*E. coli*

Afin d'évaluer le profil de sensibilité aux antibiotiques de la souche *E. coli*, un test d'antibiogramme a été réalisé. Les antibiotiques sélectionnés pour cette analyse comprenaient Triméthoprim (TMN), Céfoxime (CT), Céfépime (FEP), Ampicilline (AMP) et Ciprofloxacine (CIP).

La méthode consiste à prélever une colonie pure, préparer une suspension bactérienne, puis la densité cellulaire est ajustée en la comparant à 0,5 McFarland, ensemencer une gélose Mueller-Hinton, déposer les disques d'antibiotiques, puis incubé à 37 °C pendant 24 heures.

6.3. Test de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli* (méthode des puits)

Afin de tester l'activité antibactérienne, des fermentations de : 0, 24, 48 et 72 heures à 37°C ont été réalisées en ajoutant 5% (v/v) des *Lactococcus* et *Bifidobacterium* préalablement isolées de yaourt enrichi dans 100 ml du lait UHT.

Une suspension fraîche de *E. coli* a été préparée et utilisée pour ensemencer par inondation une boîte de Pétri contenant du milieu Müller-Hinton. Et les puits ont été remplis par 50 µl de la suspension bactérienne de 0, 24, 48 et 72 h.

La boîte a été incubée à 37°C pendant 24 heures, puis les zones d'inhibition ont été mesurées (Imade et *al.*, 2021 ; Sanam et *al.*, 2022).

7. Optimisation de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli*

7.1.Optimisation de l'activité antibactérienne contre *E.coli* par enrichissement des probiotiques

Afin d'optimiser l'activité anti-*E.coli*, un enrichissement par des probiotiques commercialisés (*Lactobacillus acidophilus* ; *Lactobacillus plantarum* ; *Bifidobacterium lactis* ; *Bifidobacterium breve*) préalablement réactivés et conservés dans le lait UHT.

Dans un premier temps, 5% (v/v) des *Lactococcus* et *Bifidobacterium* sont co-cultivé par les pathogènes issues de la section 5.2.1. Incube à 37°C durant 24 heures.

Dans un deuxième temps, 5% (v/v) des probiotiques co-cultivé par les pathogènes issues de la section 5.2.1. Incube à 37°C durant 24 heures.

Ensuite, l'activité anti-*E.coli* est testée par la méthode des puits sur la gélose Muller-Hinton. La lecture par mesure des zones d'inhibition a été réalisée après 72 heures (Benfreha et *al.*, 2022).

8. Optimisation de l'activité antibactérienne par un enrichissement par les probiotiques et les prébiotiques

8.1. Etude de l'effet de la concentration initiale des sucres sur l'activité antibactérienne

5 et 10 g/L des sucres : simple (glucose) et disaccharides (Saccharose et lactose) ont été ajouté au lait UHT partiellement écrémé et inoculé par 5% (v/v) des probiotiques.

Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 72h.

8.2.Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Burman

Afin de trouver le (s) facteur (s) influençant l'activité antibactérienne, 6 variables ont été testés (Acétate de sodium (5g/L), Acide ascorbique (0,5 g/L), extrait de levure (4g/L), peptone (10g/L), NaCl (0,1 g/L) et tween 80 (1ml/L)) utilisant la Plackett-Burman (tableau 03).

12 manipulations ont été effectuées selon le tableau généré par le logiciel Minitab selon deux niveaux (+/-), présence ou absence des variables. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 72 heures.

Matériel et méthodes

La réponse Y est la mesure de la zone d'inhibition, 50 μ L de chaque manipulation est injecté dans un puits.

Tableau 03 : Plackett-Burmen (Taux d'inoculum : 5% (v/v) (Probiotiques), Volume réactionnel (10 mL de lait UHT partiellement écrémé).

Tubes	Acétate de sodium	Acide ascorbique	Extrait de levure	Peptone	NaCl	Tween 80
1	-	+	+	-	+	-
2	-	-	+	+	+	-
3	-	+	-	-	+	+
4	+	+	-	+	+	-
5	-	-	-	-	-	-
6	+	-	+	-	-	-
7	-	-	-	+	+	+
8	-	+	+	+	-	+
9	+	-	+	+	-	+
10	+	+	+	-	+	+
11	+	-	-	-	+	+
12	+	+	-	+	-	-

8.3.Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Benhken

A partir des résultats de la section précédente et afin d'identifier le facteur le plus influençant pour optimiser l'activité antimicrobienne, ainsi que d'analyser et de comprendre les interactions entre les différents variables testées, un modèle de Box-Benhken a été proposé avec 15 manipulations (tableau 05) avec 3 niveaux (tableau 04). La réponse Y est la mesure de la mesure de la zone d'inhibition. Les boites ont été incubées à 37 °C pendant 72 h.

Tableau 04 : Niveaux de variables.

Variables	Code	-1	0	+1
Extrait de levure (g/L)	X ₁	3	5	7
Tween 80 (mL/L)	X ₂	0,5	1	1,5
Acide ascorbique (g/L)	X ₃	0,25	0,5	0,75

Matériel et méthodes

Tableau 05 : Plan expérimental Box Benhken (Taux d'inoculum : 5% (v/v) (Probiotiques), Volume réactionnel (10 mL de lait UHT partiellement écrémé).

Tubes	Extrait de levure	Tween 80	Acide ascorbique
1	1	1	0
2	1	-1	0
3	0	1	-1
4	-1	0	-1
5	0	0	0
6	-1	0	1
7	0	-1	1
8	1	0	-1
9	-1	-1	0
10	0	0	0
11	0	-1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	-1	1	0
15	1	0	1

9. Effet de différentes concentrations de glucose sur l'activité anti-*E.coli*

Afin d'évaluer l'effet de différentes concentrations de glucose sur l'activité anti-*E.coli* des probiotiques, trois tubes ont été préparés, chacun contenant 10 mL de lait UHT avec 5 % (v/v) de culture probiotique. Les milieux ont été enrichis respectivement avec 5, 10 et 15 g/L de glucose. Les tubes ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 72 heures.

10. Effets de taux d'inoculum de *Staphylococcus* sur l'activité anti-*E.coli*

Dans cette phase expérimentale, l'étude visait à évaluer, d'une part, l'influence du taux d'inoculum de *staphylococcus* spp issue de la section 5.2.1. sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis *E. coli*, et d'autre part, le comportement des BL en réponse à une exposition répétée à cette bactérie pathogène.

Des volumes d'inoculum 25, 50, 75 et 100 µL ont été ajoutés respectivement dans 04 tubes contenant chacun 10 ml de lait UHT enrichi à 5 % (v/v) de probiotiques. Les échantillons ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 72 heures.

La réponse Y est la mesure de la zone d'inhibition d'où on ensemencée par 50µL.

11. Méthodes analytiques

11.1. Test des puits

Le test des puits, également appelé test de diffusion sur gélose, il consiste à créer de petits puits dans une boîte de gélose ensemencé par le microorganisme cible. Les BL sont ensuite ajoutées à ces puits. Après incubation, la présence d'une zone d'inhibition claire autour du puits indique l'efficacité de l'agent antimicrobien.

11.2. Mesure de pH

La mesure du pH est effectuée par pH mètre à 25°C.

12. Visualisation des données

Les plans de Plackett-Burman et de Box-benhken ont été générés à l'aide du logiciel Minitab, et les représentations graphiques ont été créées avec Excel.

Résultats et discussions

1. Isolement des BL

L'isolement des BL a été entrepris à partir de 04 types d'échantillons : lait, petit-lait enrichi en *Bifidobacterium*, yaourt enrichi en *Bifidobacterium*, et yaourt sucré avec des valeurs de pH de 6,02, 4,04, 4,24 et 4,31 respectivement (Figure 02). L'identification dans cette étude est basée sur l'aspect morphologique des bactéries sur les deux milieux de culture sélectifs : MRS et M17.

Après incubation ; 37°C, 24 h ; aucune croissance bactérienne n'a été observée sur le milieu sélectif de MRS indiquant l'absence des *Lactobacillus* dans les échantillons utilisés (Figure 04). À l'inverse, une croissance bactérienne a été constatée sur le milieu M17 indiquant la dominance des *Lactococcus* et de *Bifidobacterium* dans les échantillons de yaourt enrichi en *Bifidobacterium* (croissance abondante) (Figure 03) et de petit-lait enrichi en *Bifidobacterium* (croissance modérée) (Figure 05), dans ce milieu les colonies apparaissent en petite taille de couleur blanche à crème, elle présentent une forme ronde avec des bords réguliers, avec un surface légèrement bombée. En revanche, Aucune croissance n'a été constatée à partir des échantillons de lait ou de yaourt sucré sur ce milieu (Figure 06).

Il est important de souligner que nos résultats diffèrent de manière significative de celles publiées par Taye et *al.*, 2021 qu'ils sont trouvés que les *Lactobacillus* sont majoritaire dans les produits laitiers particulièrement le fromage et le yaourt.

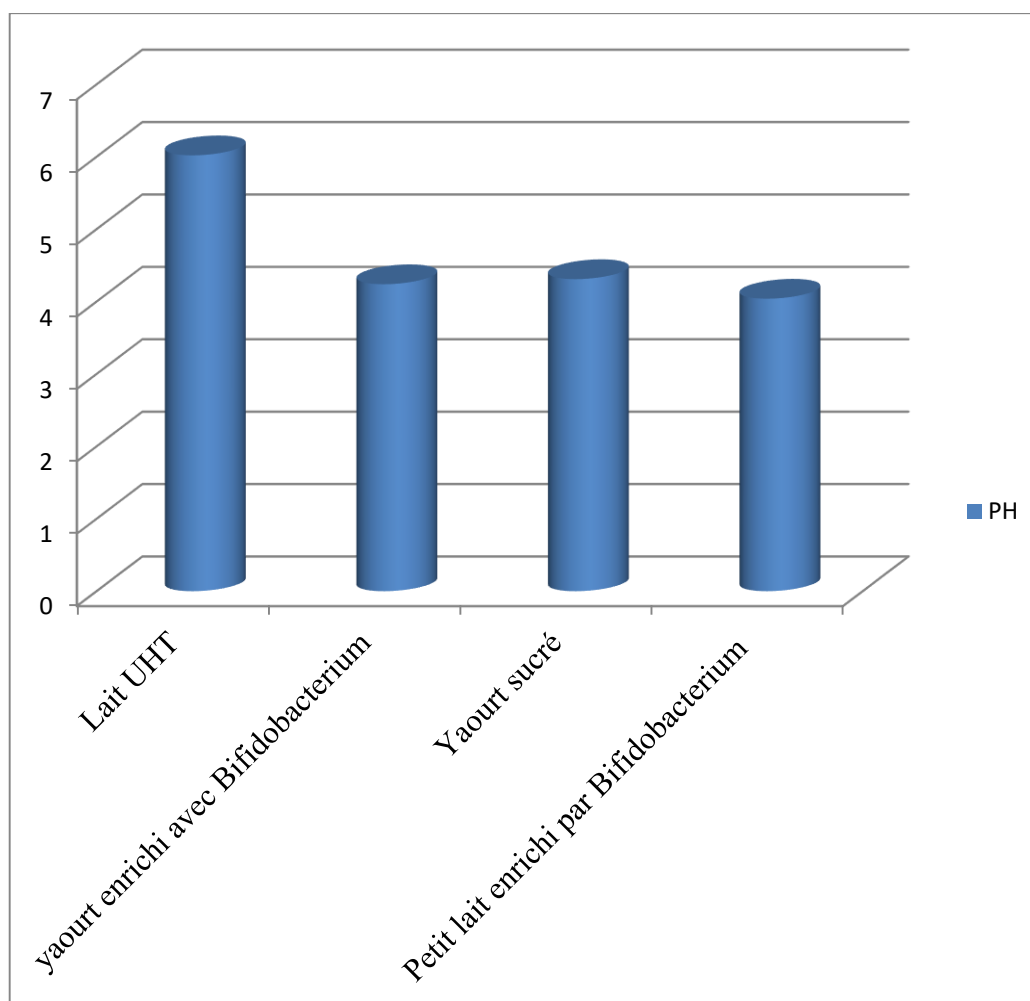


Figure 2 : Résultats de la mesure du pH des échantillons.



Figure 3 : Observation macroscopique des *Lactococcus* et de *Bifidobacterium* isolées à partir de yaourt enrichi par *Bifidobacterium*.

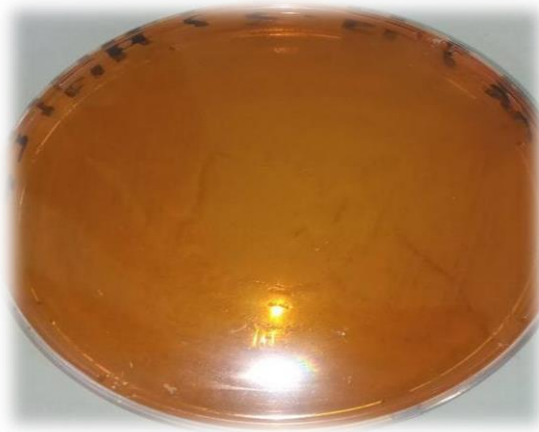


Figure 4: Observation macroscopique des *Lactobacillus* sur milieu sélectif de MRS.



Figure 5: Observation macroscopique des *Lactococcus* et de *Bifidobacterium* isolées à partir de petit lait enrichi par *Bifidobacterium*.

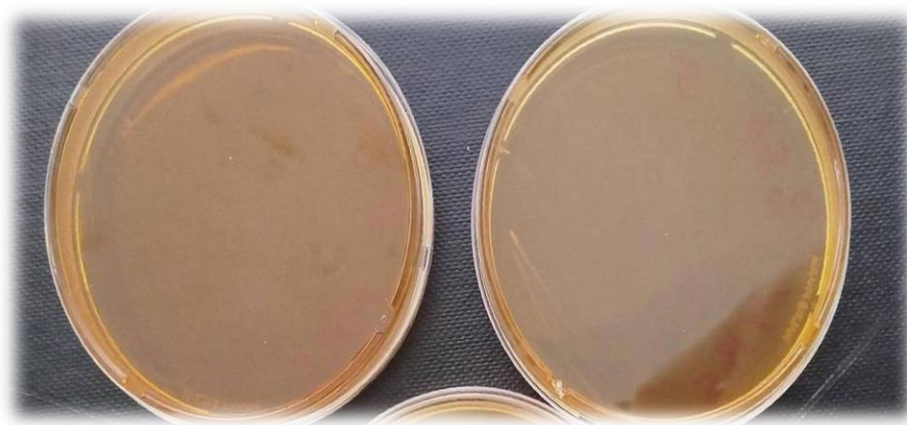


Figure 6: Observation macroscopique à partir des échantillons de lait et de yaourt aromatiséensemencé sur le milieu M17.

2. Criblage et isolement des bactéries pathogènes

2.1. Criblage initial des bactéries pathogènes

Parmi les souches bactériennes pathogènes fournies par le laboratoire et en se basant sur la littérature; uniquement *E. coli*, *Staphylococcus* et *Bacillus* sp. Ont été retenues.

- *E. coli*

Certaines souches pathogènes comme *E. coli* O157 :H7 produisent des shigatoxines, responsables de diarrhées hémorragiques et de syndromes hémolytiques et urémiques (SHU). La contamination est généralement liée à l'ingestion de viande crue, de légumes souillés ou d'eau non potable (Kashima et *al.*, 2021).

Après incubation de 24 h à 37°C (Figure 07), une croissance d'*E. coli* sur le milieu GN, les colonies apparaissent rondes, de taille petite à moyenne, à bords réguliers. Elles présentent une surface lisse et brillante, un relief légèrement bombé, une couleur beige à grisâtre et une opacité marquée. La croissance est dense du côté de l'ensemencement initial et devient plus dispersée vers le centre de la boîte. Cette morphologie est conformée à la description classique des colonies d'*E. coli* sur milieu nutritif, telles que rapportées dans la littérature Deng et *al.*, 2022. En complément, les travaux de Chen et *al.*, 2025 portant sur l'isolement de souches *Shiga toxin-producing Escherichia coli* (STEC) à partir de viande de bœuf crue ont mis en évidence des caractéristiques morphologiques semblables à celles observées ici, confirmant la cohérence des résultats avec la littérature.

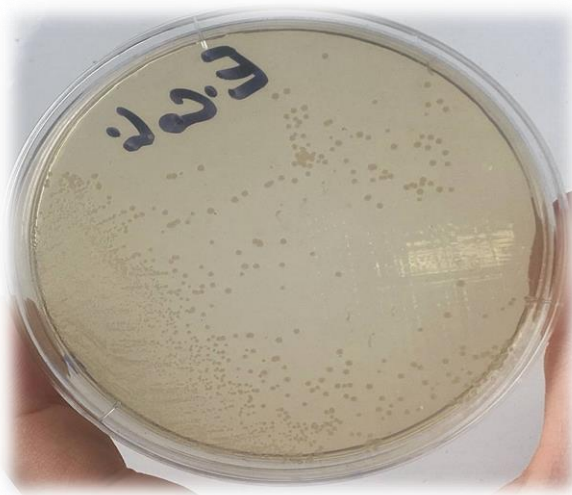


Figure 7: Aspect macroscopique d'une croissance ordinaire d'*E. coli* sur GN.

- *Staphylococcus* spp.

Productrice d'entérotoxines thermorésistantes, cette bactérie est responsable d'intoxications rapides (2 à 6 heures après ingestion), entraînant vomissements, douleurs abdominales et diarrhée. Elle est souvent retrouvée dans des plats préparés et mal réfrigérés (Wu et *al.*, 2016).

Après incubation de 24 h à 37°C, on constate une croissance de *Staphylococcus* spp sur le milieu GN (figure 08). Les colonies apparaissent rondes, de couleur blanchâtre à crème, avec un relief bombé. Elles présentent des bords réguliers, une surface lisse, opaque et légèrement brillante. Ces caractéristiques morphologiques sont typiques des colonies de *Staphylococcus* sp, ce qui confirme leur présence sur le milieu de culture. Comme décrit dans plusieurs travaux. Par exemple, Abdalrahman et *al.*, 2015 ont rapporté des colonies blanches opaques à crémeuses, bien limitées et convexes sur GN et milieux enrichis. De même, Lim et *al.*, 2023 confirment ces observations en identifiant des colonies similaires chez des isolats de viande contaminée.



Figure 8: Aspect macroscopique de *Staphylococcus* sur GN.

- ***Bacillus* spp.**

Responsable de deux types d'intoxications : une forme émétique causée par une toxine stable à la chaleur et une forme diarrhéique due à une toxine thermolabile. Elle est souvent présente dans des plats à base de riz ou pâtes conservés à température ambiante (Dietrich et *al.*, 2021).

Après incubation de 24 à 37°C, on constate une croissance de *Bacillus* sur le milieu GN (Figure 09). Les colonies sont circulaires, de taille moyenne à grande, d'aspect lisse à légèrement irrégulier, opaques, et de couleur crème à beige. Leur disposition est dispersée sur l'ensemble de la surface du milieu, traduisant une croissance homogène. L'odeur est légèrement caractéristique, typique des bactéries du genre *Bacillus*. Selon Bursava et *al.*, 2024, les colonies de *Bacillus cereus* cultivées sur GN ou *Mannitol Egg Yolk Polymyxin* (MYP) apparaissent typiquement rondes, mates ou légèrement brillantes, avec des bords irréguliers, une coloration crème à grise, et une légère odeur spécifique. La présence de cette odeur particulière, souvent décrite comme « terreuse » ou « ammoniacale », est également rapportée par les travaux de Ceuppens et *al.*, 2015 comme un critère empirique supplémentaire pour suspecter la présence de *Bacillus* spp.



Figure 9 : Aspect macroscopique de *Bacillus* sur GN.

2.2. Criblage secondaire des bactéries pathogènes

2.2.1. Préparation des co-cultures en milieu liquide

Après un mois d'incubation à 37°C, les résultats de la co-culture entre les BL et les bactéries pathogènes sont illustrés sur les figures 10, 11 et 12.

La figure 10 présente les résultats de la co-culture entre les *Lactococcus*, *Bifidobacterium* et *Bacillus* spp après incubation, on observe une homogénéité apparente du mélange, sans stratification marquée, et une texture qui semble plus stable. La surface du liquide, quant à elle montre une opalescence typique. L'absence de séparation nette pourrait indiquer une activité enzymatique plus modérée ou une meilleure tolérance du produit aux souches sporulées de *Bacillus*. Les espèces du *Bacillus cereus* sont connues pour produire des toxines (diarrhéiques ou émétique) sans nécessairement induire de déphasage visible dans les milieux alimentaires fermentés. Selon Farina et *al.*, 2024 et Dietrich et *al.*, 2021 leur croissance dans les produits laitiers peut engendrer une altération progressive, souvent perceptible par un goût amer, une modification de l'odeur ou une floculation tardive.



Figure 10 : Petit lait enrichi par *Bifidobacterium* après incubation d'un mois avec la bactérie pathogène *Bacillus* sp.

La figure 11 montre les résultats de la co-culture entre les *Lactococcus* et de *Bifidobacterium* et *E.coli*, Après incubation, un flacon contenant un mélange d'*E. coli* et de lait fermenté (leben). Visuellement, on observe une séparation nette en deux phases une couche

supérieure plus épaisse, floconneuse et blanchâtre, et une phase inférieure plus liquide et jaunâtre. Cette stratification suggère une activité métabolique intense d'*E. coli*, associée à une dégradation des composants du leben, notamment les protéines et les lipides. De telles modifications physiques sont fréquemment rapportées dans la littérature lors de la contamination de produits laitiers par *E. coli*, en particulier les souches entéropathogènes (Lim et al., 2023). Cette modification du milieu est souvent attribuée à la production d'enzymes extracellulaires telles que des protéases et lipases, mais également à la production d'acides organiques modifiant le pH, ce qui favorise la précipitation des caséines (Gonçalves et al., 2024). De plus, des travaux récents de Hossain et al., 2024 ont montré que les interactions entre *E. coli* et la flore lactique peuvent influencer la texture du lait fermenté, en perturbant l'équilibre microbiologique du produit.

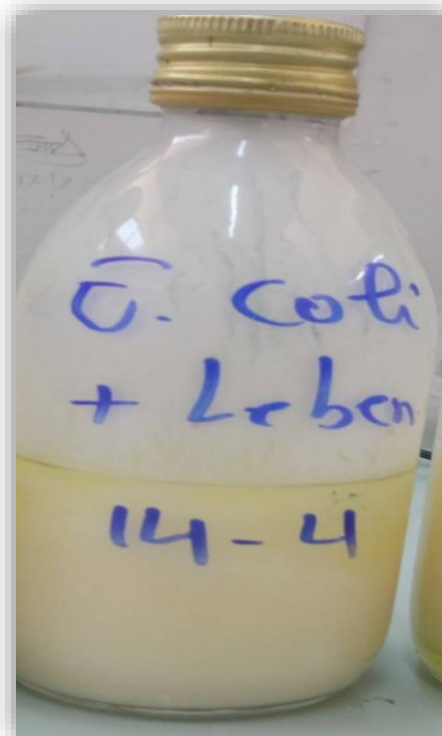


Figure 11 : Petit lait enrichi par *Bifidobacterium* après incubation d'un mois avec la bactérie pathogène *E.coli*.

La figure 12 montre les résultats de la co-culture entre les *Lactococcus* et de *Bifidobacterium* et *Staphylococcus* spp. Le flacon présenté un changement de couleur vers le jaune, une importante production de gaz, et une odeur spécifique. Aucune coagulation n'a été observée. Ces modifications traduisent une activité microbienne notable, sans altération visible de la phase liquide. Plusieurs études récentes comme Mousavi Khaneghah et *al.*, 2020 ont montré que les co-cultures de BL, notamment *Lactococcus* et *Bifidobacterium*, peuvent exercer une activité antimicrobienne significative contre des pathogènes comme *Staphylococcus aureus*. Cette inhibition repose principalement sur la production d'acides organiques (acide lactique, acétique), l'abaisse du pH, et la synthèse de bactériocines, des peptides antimicrobiens spécifiques. Ces mécanismes permettent non seulement de limiter la croissance de *Staphylococcus* mais également d'altérer ses capacités de colonisation, ce qui correspond aux changements observés dans la co-culture en petit-lait, tels que la modification de la couleur du milieu ou la diminution de la turbidité.

Par ailleurs, des recherches Dinkci et *al.*, 2023 ont mis en évidence que la fermentation du petit-lait par des co-cultures probiotiques peut entraîner une production naturelle de gaz (principalement du CO₂), liée au métabolisme des sucres présents dans le lactosérum. Cette production de gaz contribue à une carbonatation naturelle, accompagnée souvent de changements visuels et sensoriels comme la mousse, les bulles et parfois des modifications d'arôme ou de couleur du substrat. D'autres études Gutierrez-Cortés et *al.*, 2023 ont montré que la co-culture de souches comme *Lactococcus lactis* avec d'autres probiotiques améliore la viabilité bactérienne, stimule la production de composés antimicrobiens, et augmente la tolérance au stress. Cette synergie entre souches permet de renforcer l'effet inhibiteur contre des contaminants comme les staphylocoques, en particulier lorsqu'elles sont incubées dans des milieux riches comme le lactosérum, une recherche plus récente Islam et *al.*, 2020 a confirmé que les co-cultures multistrains intégrant *Bifidobacterium lactis* ont un effet inhibiteur direct sur *Staphylococcus aureus* en conditions simulées gastro-intestinales. Cette interaction microbienne est modulée par plusieurs paramètres tels que la température, la durée d'incubation et les conditions de culture anaérobie ou aérobie.

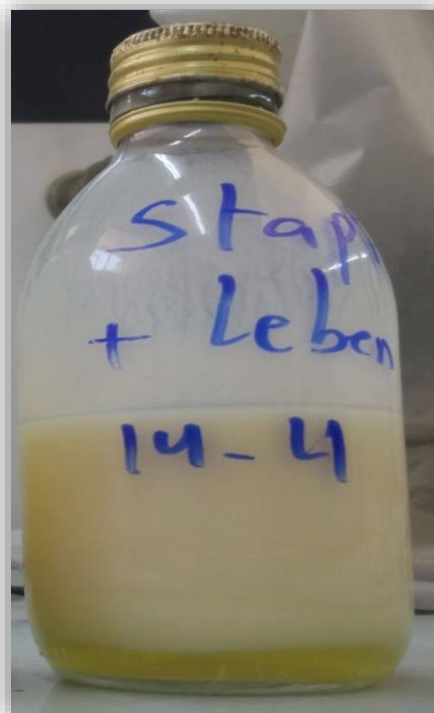


Figure 12: Petit lait enrichi par *Bifidobacterium* après incubation d'un mois avec la bactérie pathogène *Staphylococcus* sp.

La figure 13 montre un milieu sélectif Mac-Conkey ensemencé avec un extrait de fermentation à base de petit-lait ayant incubé pendant un mois avec *E. coli*. Aucune colonie visible n'est présente sur boîte suggérant une inhibition complète ou une forte réduction de la croissance d'*E. coli*, très probablement en raison de l'activité antimicrobienne des BL présentes dans le petit lait fermenté. De nombreuses études récentes ont mis en évidence la capacité des BL à inhiber la croissance d'*E. coli* dans divers milieux, notamment les sous-produits laitiers fermentés. Ces bactéries, comme *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum* ou *L. casei*, produisent des substances antimicrobiennes. Par exemple, Ibrahim et al., 2021 Ont démontré que l'acidification du milieu, combinée à la production de bactériocines, peut inhiber significativement la croissance de pathogènes tels qu'*E. coli* dans des environnements alimentaires simulés, Une autre étude menée par Lee et al., 2020 a évalué l'effet antimicrobien du petit-lait fermenté par *Lactobacillus plantarum* contre *E. coli* et d'autres pathogènes entériques. Les résultats ont montré une réduction de plus de 4 CFU/ml d'*E. coli* après 48 heures de fermentation,

Par ailleurs, une recherche récente de Prete et al., 2021 a exploré l'efficacité de BL productrices d'exopolysaccharides (EPS), isolées de produits laitiers fermentés, contre *E. coli*.

L'étude a révélé une synergie entre les EPS et les métabolites acides produits, renforçant l'effet inhibiteur sur les entérobactéries. Une revue approfondie par Wei *et al.*, 2022 montre que les aliments fermentés, en particulier les produits laitiers comme le yaourt et le petit-lait, constituent d'excellents vecteurs de probiotiques capables d'exercer une action antimicrobienne naturelle contre des pathogènes intestinaux.



Figure 13: Résultats du petit lait co-cultivé par les BL et *E.coli* sur milieu Mac-Conkey après un mois d'incubation.

La figure 14 montre un isolement bactérien a été effectué à partir d'un flacon de petit lait ayant incubé durant un mois, contenant à la fois des BL et quelques colonies de *Staphylococcus*. Pour évaluer leur interaction, des échantillons ont été ensemencés sur trois milieux de culture : le milieu Chapman, sélectif pour les staphylocoques, ainsi que les milieux MRS et M17, favorables à la croissance des BL. Les résultats ont révélé une croissance modérée de *Staphylococcus* sur le milieu Chapman et une croissance abondante sur le milieu M17. Cette croissance importante en milieu M17 indique que, bien que les BL soient actives, elles n'ont pas totalement inhibé *Staphylococcus*, mais ont exercé une inhibition partielle. Ainsi, il est possible qu'il existe une activité antimicrobienne exercée par les BL contre *Staphylococcus*, même si cette action reste modérée dans les conditions expérimentales appliquées. Ces résultats sont en accord partiel avec ceux de la littérature récente. Par exemple, Islam *et al.*, 2020 et Liu *et al.*, 2022 ont rapporté une inhibition significative de *Staphylococcus aureus* par les BL, principalement par la production d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène ou de bactériocines.

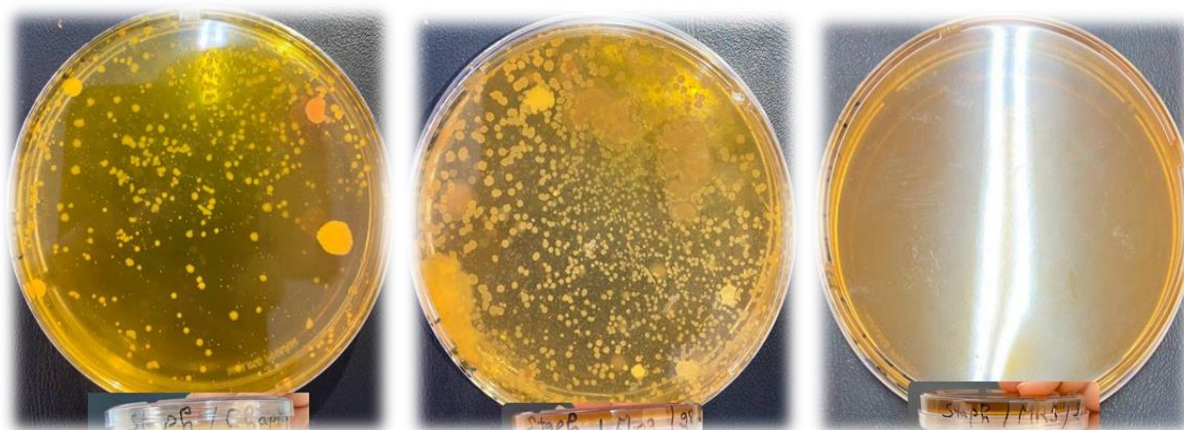


Figure 14 : Résultats de l'isolement du petit lait co-cultivé par des BL et *Staphylococcus* spp sur le milieu sélectif Chapman et les deux milieux M17 et MRS.

2.2.2. Test de confrontation (co-fermentation sur milieu solide)

Afin d'étudier l'effet des BL sur la croissance des 03 bactéries pathogènes et de sélectionner la bactérie la plus sensible, les figures 15, 16 et 17 montrent les résultats.

La figure 15 représente le résultat après l'incubation de boîte de Pétri contenant les deux types de bactéries, *Bacillus* spp et les BL. Le test de confrontation a été réalisé afin d'évaluer l'effet antimicrobien potentiel exercé par les BL sur la souche pathogène. Une croissance modérée de *Bacillus* a été constatée, visible par la formation de colonies dispersées sur le milieu. En parallèle, une croissance plus abondante des BL a été observée, notamment dans les zones où les stries ont été déposées initialement. Plusieurs revues récentes Nguyen et *al.*, 2020 montrent que les souches de BL (en particulier *Lactobacillus plantarum* et *L. gasseri*) produisent des bactériocines et exopolysaccharides capables d'inhiber la formation de biofilms de *Bacillus* spp, limitant ainsi la virulence sans bloquer complètement la croissance planctonique.

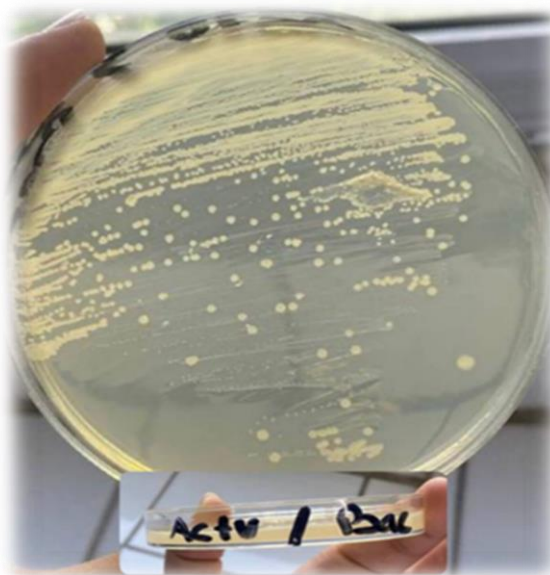


Figure 15: Résultat de test de confrontation entre les BL et la bactérie pathogène *Bacillus* spp.

Après incubation (figure 16), une croissance très abondante de *Staphylococcus* est observée, recouvrant presque toute la surface du milieu. La croissance des BL est modérée, sans formation de zone d'inhibition nette. La revue intégrative Islam et *al.*, 2020 met en évidence que les bactériocines produites par certaines souches de *Lactobacillus* (ex *L. casei*, *L. acidophilus*) possèdent une activité ciblée contre *S. aureus* (notamment les souches résistantes), souvent en perturbant le quorum sensing et la formation de biofilm. Toutefois, la croissance en phase libre (planctonique) de *S. aureus* reste souvent élevée malgré la présence des lactiques, reflétant une inhibition plus efficace du biofilm que du nombre global de bactéries. Cela rejoint nos observations expérimentales d'une croissance importante de *Staphylococcus* et seulement modérée pour les BL.



Figure 16 : Résultat de test de confrontation entre les BL et *staphylococcus* spp.

Après incubation (figure 17), une croissance abondante des BL est observée, tandis que la croissance d'*E. coli* reste très faible. Ces résultats indiquent qu'*E. coli* est la bactérie la plus sensible à l'activité antimicrobienne des BL. La revue de Nguyen et *al.*, 2020 consacrée au rôle probiotiques des BL soulignent que des souches telles que *L. plantarum* et *L. rhamnosus* produisent des «proteobiotics» (peptides bioactifs), de l'acide lactique ou des lectines, capables d'inhiber fortement l'adhésion, la virulence et la croissance d'*E. coli* pathogènes, jusqu'à supprimer quasi totalement leur développement tout en favorisant la prolifération des BL. Ce constat concorde parfaitement avec nos résultats montrant une croissance minimale d'*E. coli* en présence de BL.



Figure 17 : Résultat de test de confrontation entre les BL et la bactérie pathogène *E.coli*.

Suite aux résultats obtenus lors des tests de co-culture, une différence notable de sensibilité des souches pathogènes vis-à-vis des BL a été observée. Afin de poursuivre l'étude de l'activité antimicrobienne et d'optimiser les conditions de culture en vue de renforcer cette activité, la souche pathogène la plus sensible a été retenue comme indicateur principal. Ainsi, *E. coli*, ayant montré une croissance minimale en présence des BL, a été sélectionnée. Ce choix permet de maximiser la mise en évidence des effets antimicrobiens des BL, dans le but d'obtenir des résultats plus significatifs et exploitables.

3. Etude de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli*

3.1. Identification biochimique d'*E.coli*

Afin de confirmer l'identité de la souche isolée en tant que *E. coli*, une série de tests biochimique a été réalisée, incluant le test de production d'indole, le test TSI (*Triple Sugar Iron*), le de Mannitol-Mobilité et le test citrate de Simmons.

- Test à l'indole : un anneau rouge s'est formé à la surface après l'ajout du réactif de Kovacs, indiquant une production positive d'indole.
- Test TSI : le fond du tube était jaune et la pente rouge, traduisant une fermentation du glucose uniquement, sans production de sulfure d'hydrogène (H_2S) ni gaz.

- Test Mannitol-Mobilité : changement de couleur vers le jaune donc la bactérie est mannitol+, aucune turbidité n'a été observée autour de la ligne d'inoculation, indiquant une absence de mobilité bactérienne.
- Test au citrate de Simmons : le milieu est resté vert, sans virage au bleu, traduisant une incapacité à utiliser le citrate comme unique source de carbone (résultat négatif). L'ensemble de ces résultats est compatible avec le profil biochimique typique d'*E. coli* (Figure 18).



Figure 18 : Résultat de galerie biochimique.

3.2. Test d'antibiogramme d'*E. coli*

Afin d'évaluer la sensibilité de la souche pathogène *E. coli* dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne, un test d'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion en gélose. Les standards utilisés sont ceux du CLSI (Clinical and laboratory standards institute), qui définissent les conditions expérimentales et les seuils cliniques d'interprétation des diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique. Ces normes précisent notamment :

- La composition du milieu de culture : gélose Mueller-Hinton, recommandée pour sa reproductibilité et sa faible interaction avec les antibiotiques ;

Résultats et discussions

- La concentration standardisée de l'inoculum bactérien, ajustée à une échelle 0,5 de McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL) ;
- Le temps et la température d'incubation : 18 à 24 heures à 35 ± 2 °C ;
- Les diamètres critiques pour déterminer si une souche est sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à un antibiotique (Haley et al., 2024). Les résultats obtenus ont montré dans le tableau 06, les diamètres suivants des zones d'inhibition autour des disques antibiotiques. La figure 19 montre que la souche d'*E. coli* testée est sensible à la plupart des antibiotiques utilisés. On constate une formation d'un "8" entre les zones d'inhibition d'antibiotiques (CIP et FEP) qui témoigne d'une synergie entre deux substances antimicrobiennes.

Tableau 6 : Zones d'inhibition autour chaque puits d'antibiotiques

Antibiotiques	Diamètres
Triméthoprim (TMN)	19 mm
Céfotaxime (CT)	15 mm
Céfépime (FEP)	40 mm
Ampicilline (AMP)	20 mm
Ciprofloxacine (CIP)	43 mm



Figure 19 : Résultat de teste de sensibilité d'*E. coli* aux différents antibiotiques.

3.3. Test de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli* (méthode des puits)

Dans cette expérience, l'activité antimicrobienne des BL issues de la fermentation du petit-lait (Leben) a été évaluée par la méthode des puits contre *E. coli*. 04 extraits ont été préparés selon différentes durées de fermentation (0, 24, 48 et 72 h). Le test de diffusion en gélose (figure 20) a révélé des zones d'inhibition de 11 mm pour les extraits fermentés pendant 24 et 72 h, indiquant une activité antimicrobienne notable. En revanche, les extraits fermentés pendant 48 h et l'échantillon témoin (T0, non fermenté) n'a montré aucune zone d'inhibition, suggérant l'absence d'effet antimicrobien dans ces cas. Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux publiés dans la littérature scientifique. D'après l'étude de Somashekaraiah et *al.*, 2015, l'activité antimicrobienne des BL dépend largement du temps de fermentation, de la souche utilisée et du milieu de culture. L'étude souligne que les métabolites antimicrobiens (comme les bactériocines, l'acide lactique, et le peroxyde d'hydrogène) atteignent leur concentration optimale à des périodes spécifiques, généralement entre 24 et 72 heures, selon les souches et les conditions. De même, Malheiros et *al.*, 2015 dans leur revue sur les BL, mentionnent que certaines souches produisent des composés antimicrobiens maximaux entre 18 et 30 h de fermentation, avec une diminution d'activité après des durées plus longues, probablement en raison de la dégradation des composés actifs ou d'une diminution de viabilité des cellules. Dans l'étude présente, l'absence d'effet pour les extraits à 48 h pourrait s'expliquer par une phase transitoire où la production de métabolites actifs est réduite, ou bien par une dégradation de ces composés. Cela est cohérent avec les observations de Ibrahim et *al.*, 2021, qui notent également que l'activité antibactérienne peut fluctuer fortement selon la dynamique de croissance et le métabolisme des BL.

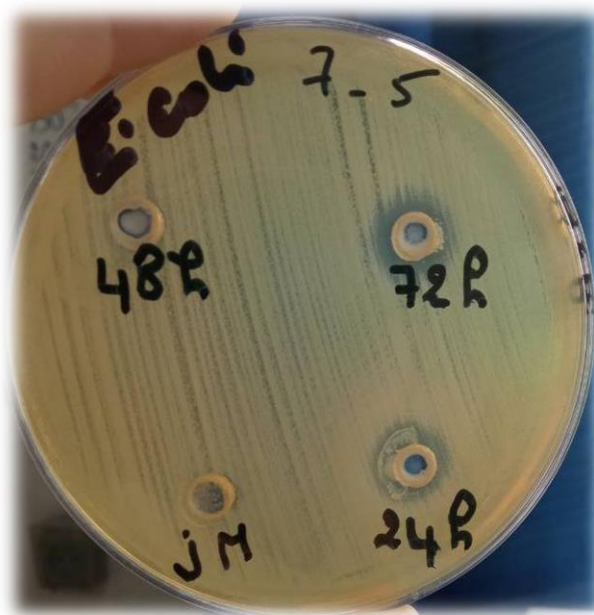


Figure 20 : Résultats de l'activité antimicrobienne des BL incubées pendant 0 (JM), 24, 48 et 72h sur la croissance d'*E. coli*.

4. Optimisation de l'activité antibactérienne des BL sur *E.coli*

4.1. Optimisation de l'activité antibactérienne contre *E.coli* par enrichissement des probiotiques

Dans le cadre de cette expérience, une optimisation de l'activité antimicrobienne contre *E. coli* a été entreprise par enrichissement en probiotiques. L'approche expérimentale s'est déroulée en deux étapes : dans un premier temps, une co-culture a été réalisée en combinant 5 % de BL isolées à partir de yaourt, avec les probiotiques commerciaux préalablement réactivés et incubés dans du lait UHT à 37 °C pendant 24 heures. Ensuite, cette culture enrichie a été incubée avec *E. coli* à 37 °C durant 24 heures supplémentaires. Les observations finales sur milieu solide (gélose) ont révélé l'absence de colonies d'*E. coli*, mais également l'absence de halos d'inhibition ou de zones claires autour des points d'ensemencement (figure 21). Ces résultats suggèrent que, malgré l'absence de développement visible d'*E. coli*. Selon Dimidi et al., 2019, l'efficacité antimicrobienne des probiotiques contre *E. coli* dépend fortement de la souche utilisée, du milieu de culture, de la méthode d'administration et du temps d'incubation. Ils soulignent que certaines souches probiotiques peuvent inhiber *E. coli* par acidification du milieu ou par production de métabolites antimicrobiens, mais que ces effets ne sont pas systématiques en condition *in vitro*, surtout en présence de lait qui peut neutraliser l'acidité. Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude sont cohérents avec les données de la littérature,

qui montrent que l'enrichissement en probiotiques ne garantit pas nécessairement une activité antimicrobienne observable contre *E. coli*, surtout en conditions co-cultures courtes.



Figure 21: Résultats de l'optimisation de l'activité antibactérienne contre *E. coli* par enrichissement des probiotiques.

5. Optimisation de l'activité antibactérienne par un enrichissement par les probiotiques et les prébiotiques

5.1. Etude de l'effet de la concentration initiale des sucres sur l'activité antibactérienne

Dans le cadre de cette expérience, l'effet de différentes sources de carbone (glucose, lactose, saccharose) sur l'activité antimicrobienne de BL, Des concentrations de 0,5 % et 1 % ont été testées pour chaque sucre, et les extraits fermentés obtenus ont été incorporés dans des puits réalisés sur une boîte ensemencée avec *Escherichia coli*, afin d'observer les zones d'inhibition (figure 22).

Les résultats ont montré que les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues avec le glucose, notamment aux concentrations de 0,5 % et 1 %, suggérant une synergie d'effet antimicrobien entre les deux concentrations. Cette synergie pourrait refléter une réponse métabolique optimisée des BL en présence de glucose, favorisant la production de composés antimicrobiens. En revanche, les milieux enrichis en lactose et en saccharose aux mêmes concentrations ont généré des zones d'inhibition nettement plus faibles (tableau 07), ce qui suggère une utilisation moins efficace de ces substrats par les BL dans le cadre de la production d'agents antimicrobiens.

Yang et *al.*, 2018 ont montré que l'ajout de glucose augmentait significativement la production de nisine chez *Lactococcus lactis*, alors que le lactose et le saccharose donnaient des rendements plus faibles.

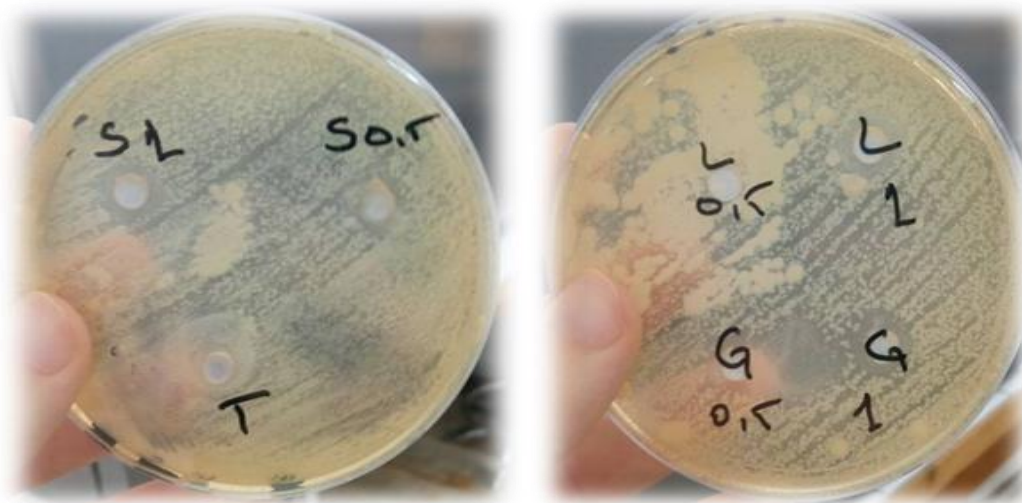


Figure 22 : Résultats de l'effet de la concentration initiale des sucres (G : glucose), (S : sucre), (L : lactose) et (T : témoin) sur l'activité anti-*E.coli*.

5.2.Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Burman

La figure 23 montre les résultats d'incubation des tubes contenant les 06 variables, les résultats ont révélé des transformations visibles dans plusieurs tubes, notamment au niveau de la structure du lait. On a noté une absence de coagulation significative, accompagnée de modifications de la couleur et de l'odeur dans la majorité des essais. Cependant, les tubes numérotés 3, 5 et 11 ont présenté des profils particuliers. En effet, ces derniers n'ont montré aucun changement notable de couleur et ont présenté une faible coagulation. Suite à l'optimisation des conditions de culture par la méthode de Plackett-Burman, un test de diffusion sur gélose a été réalisé afin d'évaluer l'effet des différentes variables testées sur l'activité antimicrobienne des BL vis-à-vis d'*E. coli*. Pour cela, des puits ont été creusés dans une gélose ensemencée avec une suspension d'*E. coli*, puis remplis avec 50 μ L issus des milieux de culture contenant différentes combinaisons de facteurs. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures comme le montre la figure 24, les zones d'inhibition autour des puits ont été mesurées comme indicateur de l'efficacité antimicrobienne (tableau 05). Les résultats ont montré que la plus grande zone d'inhibition a été observée dans le puits contenant la combinaison suivante (tube 8) : extrait de levure, Tween 80, NaCl et acide ascorbique. Cela suggère que l'interaction synergique entre ces composés pourrait jouer un rôle déterminant dans l'amplification de l'activité antimicrobienne des BL contre *E. coli*.



Figure 23 : Résultats après incubation des tubes contiennent 06 variables utilisant Plackett-Burmen.

Suite aux manipulations de la plackett-Burmen d'autres tests en été réalisés les probiotiques ont été enrichis par l'extrait de levure et les bactéries pathogènes ; *E.coli*, *Staphylococcus* sp. et *Bacillus* sp. Une zone d'inhibition nettement (figure 25) plus importante a été observée autour du puits contenant l'extrait co-fermenté avec *Staphylococcus* par rapport aux autres conditions. Les puits contenant *Bacillus* sp., *E. coli* et le témoin ont montré des zones d'inhibition plus faibles, voire quasi nulles (tableau08).

Ces résultats suggèrent que la présence prolongée de *Staphylococcus* dans le système fermentatif a pu induire une stimulation de la production de métabolites antimicrobiens par les BL, probablement en réponse à un stress interspécifique, ce qui a renforcé leur capacité inhibitrice vis-à-vis d'*E. coli*. Mokoena, 2017 a mis en évidence l'effet synergique entre les extraits de levure et les BL sur la production d'acides organiques et de composés inhibiteurs.

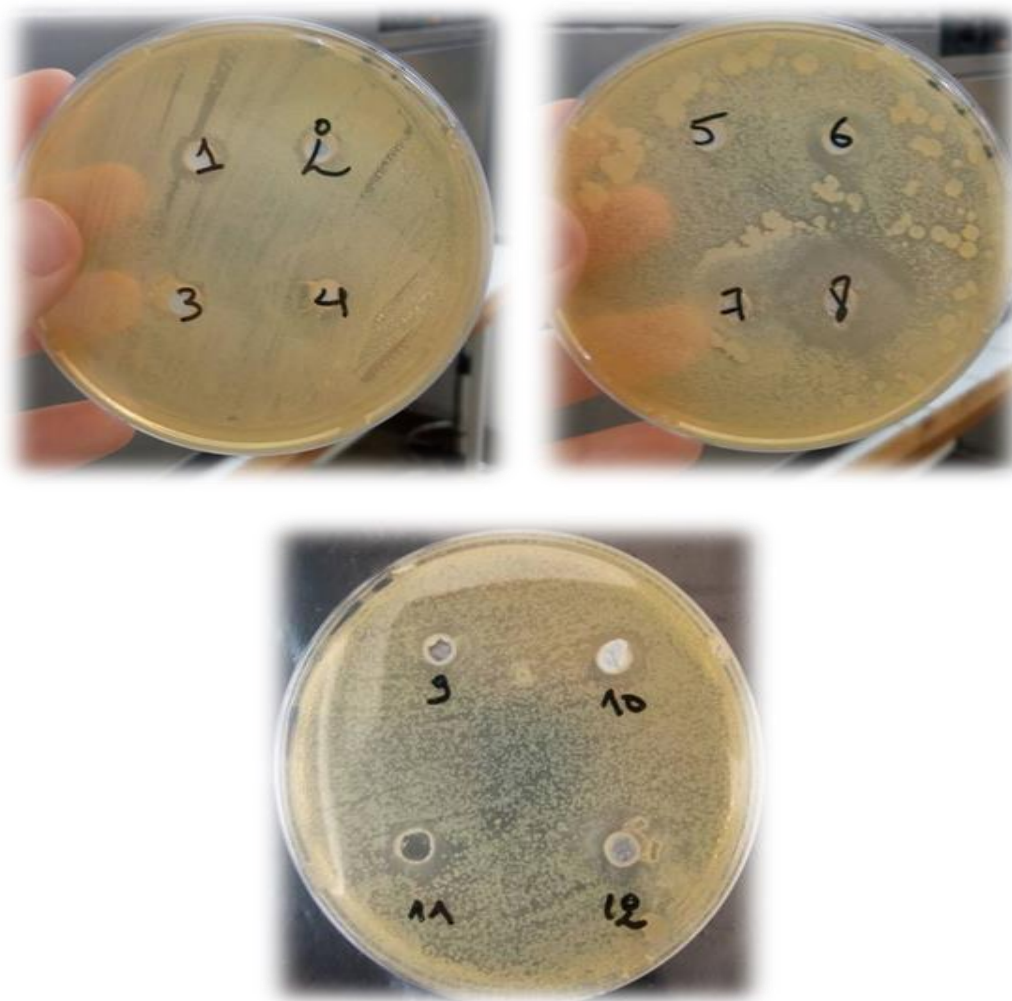


Figure 24 : Résultats de l'optimisation de l'activité antibactérienne utilisant Plackett-Burmen.

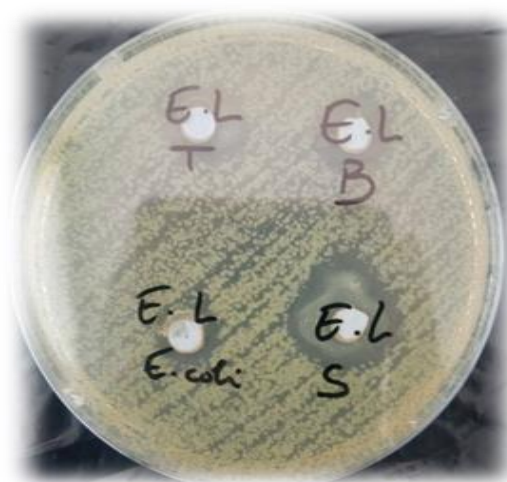


Figure 25: Résultats d'enrichissement des probiotiques par extrait de levure (EL) témoin (T) et co-cultivés avec *E.coli*, avec *Bacillus* sp. (B), avec *Staphylococcus* sp. (S).

Résultats et discussions

Tableau 07 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.

Manipulations	Y= Diamètre de zone d'inhibition	pH
1	5mm	3,70
2	3mm	4,40
3	4mm	5,22
4	1mm	5,41
5	1mm	5,02
6	8mm	4,80
7	4mm	4,64
8	15mm	4,15
9	5mm	5,14
10	7mm	5,19
11	8mm	5,03
12	8mm	5,31

Tableau 08 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.

Manipulations	Y= Diamètre de zone d'inhibition	pH
Glucose 0.5	10mm	3,81
Glucose 1	9mm	3,57
Lactose 0.5	1mm	4,30
Lactose1	6mm	3,97
Saccharose 0.5	5mm	9,89
Saccharose 1	8mm	3,80

Tableau 09 : Résultats de diamètres des zones d'inhibitions et le pH.

Manipulations	Y= Diamètre de zone d'inhibition	pH
Extrait de levure témoin	10mm	3,75
Extrait de levure <i>Bacillus</i>	8mm	7,79
Extrait de levure <i>E.coli</i>	6mm	3,79
Extrait de levure <i>Staphylococcus</i>	15mm	3,75

5.3.Optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Benhken

Sur la base des résultats obtenus lors des étapes précédentes, les 03 variables les plus prometteuses à savoir l'extrait de levure, le Tween 80 et l'acide ascorbique, ont été retenues pour une validation ciblée de leur effet sur l'activité antimicrobienne des BL vis-à-vis d'*E. Coli*. Les cultures ont été préparées en incorporant ces 03 variables dans le milieu contenant les BL, puis incubées dans des tubes contenant du lait UHT (15 manipulations). Une coagulation significative a été observée dans la majorité des tubes comme le montre la (figure 26), accompagnée d'un aspect clarifié du surnageant, témoignant d'une activité métabolique accrue. Parallèlement, un test de diffusion sur gélose a été réalisé avec 50 µL. Les résultats (figure 27) ont révélé des zones d'inhibition larges et bien définies sur la plupart des boîtes, avec une croissance très réduite d'*E. coli*, limitée aux bordures périphériques des boîtes. Ces observations confirment l'effet synergique des 03 composés dans le renforcement de l'activité antimicrobienne des BL.



Figure 26 : Résultats après incubation des tubes de Box Benhken.

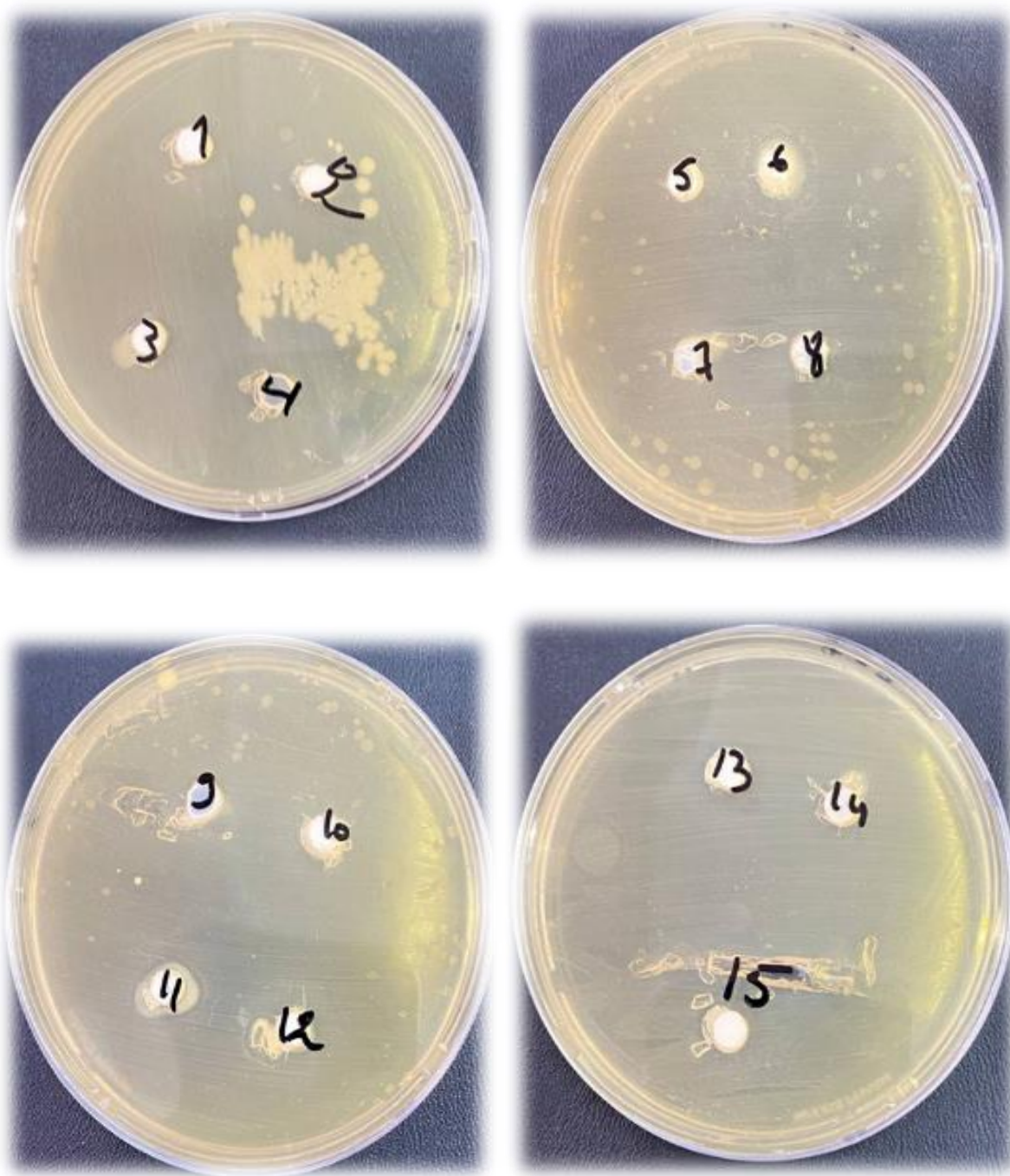


Figure 27 : Résultats d'optimisation de l'activité antibactérienne utilisant le Box Benhken.

6. Effets de différentes concentrations de glucose sur l'activité anti-*E.coli*

Dans cette phase expérimentale, l'effet de différentes concentrations en glucose (5, 10 et 15 g/L) sur l'activité antimicrobienne des BL a été évalué. Les souches bactériennes ont été cultivées dans du lait UHT supplémenté avec les concentrations indiquées, puis incubées à 37 °C pendant 72 heures. Les observations visuelles des cultures (figure 28) ont révélé une coagulation marquée dans tous les tubes, avec une modification notable de la couleur, traduisant une activité métabolique intense. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la disponibilité

en glucose pourrait favoriser la production de métabolites bioactifs par les BL. Par ailleurs, les tests de diffusion sur gélose (figure 29) ont mis en évidence des zones d'inhibition larges autour des puits, indiquant une forte activité antimicrobienne contre *E. coli*. La croissance bactérienne pathogène a été très limitée, ne se manifestant que sous forme de développement marginal sur les bordures des boîtes. Ces résultats concordent avec plusieurs études récentes qui ont montré que l'enrichissement en glucose du milieu de culture favorise la biosynthèse de substances antimicrobiennes par les BL. Par exemple, Zhou et *al.*, 2016 ont démontré que l'augmentation de la concentration en glucose améliorait significativement la production de lactate et d'autres métabolites inhibiteurs chez *Lactobacillus plantarum*. De même, Gaspar et *al.*, 2018 ont observé une relation directe entre la concentration en sucre et l'activité antimicrobienne de *Lactobacillus acidophilus* contre des entérobactéries pathogènes.



Figure 28 : Résultats d'incubation des tubes contiennent des concentrations variables de glucose (5,10 et 15 g/L).



Figure 29 : Effet de la concentration initiale (5, 10 et 15%) de glucose (G) sur l'activité anti-*E.coli*.

7. Effets de taux d'inoculum de *Staphylococcus* sur l'activité anti-*E.coli*

Dans le but d'évaluer l'impact d'une exposition prolongée et répétée des BL à une souche pathogène, et l'effet d'inoculum différent, une série d'expériences a été réalisée en incubant les BL avec différentes concentrations d'un inoculum de *Staphylococcus* (25, 50, 75 et 100 ml). Cette co-incubation a été effectuée dans du petit lait pendant une période de 30 jours, afin de simuler une exposition prolongée au pathogène. L'objectif était de déterminer si une exposition initiale influence la réponse antimicrobienne des BL lors d'une exposition ultérieure. À l'issue de l'incubation (figure 30), une coagulation significative du lait a été observée dans tous les tubes, indiquant une activité métabolique intense des BL, probablement liée à la production d'acides organiques et autres composés antimicrobiens. Le test de diffusion sur gélose (figure 31) mis en évidence des zones d'inhibition de grande taille contre *E.coli*. Une faible croissance bactérienne a été détectée uniquement aux bordures des boîtes de Pétri, ce qui reflète une forte activité antimicrobienne persistante. Les observations obtenues sont en accord avec plusieurs travaux récents ayant exploré les interactions entre BL et pathogènes. Des études ont montré que l'exposition répétée ou prolongée à des bactéries pathogènes peut moduler le comportement des BL, en stimulant la production de métabolites antimicrobiens. Anjana et Tiwari, 2022 ont mis en évidence que certaines souches de *Lactobacillus rhamnosus* augmentent la production de bactériocines et d'acides organiques après une première exposition à *Staphylococcus aureus*, renforçant ainsi leur effet inhibiteur lors d'une exposition ultérieure.

Résultats et discussions

De même, Ibrahim et *al.*, 2021 ont rapporté que la co-culture prolongée de *Lactobacillus plantarum* avec des souches pathogènes induit une modulation de l'expression génique, notamment des gènes liés à la synthèse de composés antimicrobiens.

Plus récemment, Anjana et Tiwari, 2022 ont montré qu'une exposition répétée à des agents pathogènes peut renforcer la résistance des BL et améliorer leur efficacité antimicrobienne, en particulier contre des cocci Gram positifs comme *S. aureus*.

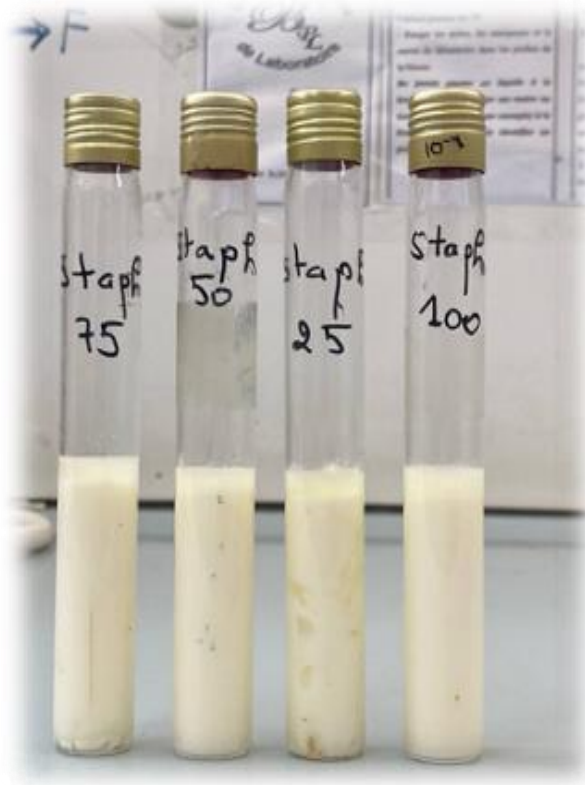


Figure 30 : Résultats d'incubation des tubes avec un taux d'inoculum de *staphylococcus* (25, 50, 75 et 100µL).

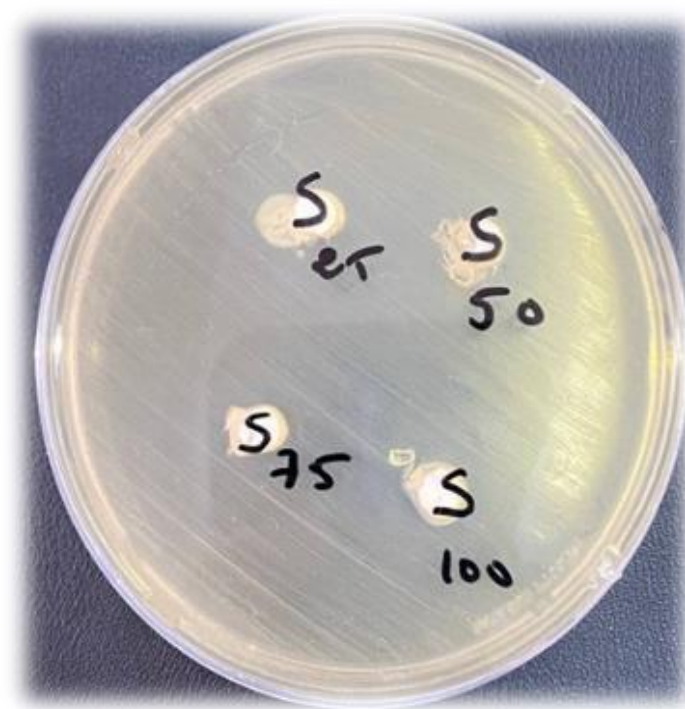


Figure 31 : Effet de taux d'inoculum de *Staphylococcus* (S) (25, 50, 75 et 100 μ L) sur l'activité anti-*E.coli*.

Conclusion et perspectives

Ce travail de recherche avait pour objectif principal d'optimiser l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques (BL) vis-à-vis des certaines bactéries pathogènes, dans le but d'explorer leur potentiel en tant qu'agents bioactifs. Dans un contexte marqué par la montée alarmante de la résistance antimicrobienne, une attention particulière a été portée à l'évaluation des bactéries lactiques comme alternatives potentielles aux antibiotiques conventionnels. Par ailleurs, l'étude visait également à analyser le comportement adaptatif des BL suite à une première interaction avec une bactérie pathogène, afin de déterminer si une exposition antérieure, qu'elle soit à la même souche ou à une autre souche pathogène, peut modifier leur réponse antimicrobienne lors d'un contact ultérieur.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont mis en évidence l'existence de plusieurs leviers d'optimisation de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques. Il a notamment été observé que l'ajout de certains composés prébiotiques tels que l'extrait de levure, le Tween 80 et l'acide ascorbique au milieu de culture a permis de stimuler significativement l'effet inhibiteur des BL, en particulier contre *Escherichia coli*. Ces substances, intégrées au processus de fermentation, semblent jouer un rôle favorable dans l'induction ou la modulation de la biosynthèse des composés antimicrobiens.

Par ailleurs, les résultats ont montré que l'exposition préalable des bactéries lactiques à une souche pathogène entraîne une réponse antimicrobienne renforcée lors d'un contact ultérieur, même lorsque la seconde exposition concerne une souche pathogène différente. Cela suggère que les BL pourraient développer une forme de mémoire adaptative ou une réactivité accrue après une interaction initiale, ce qui ouvre des perspectives intéressantes pour leur valorisation en tant qu'agents antimicrobiens naturels.

Sur le plan scientifique, ce travail met en évidence la possibilité d'orienter ou d'intensifier l'activité antimicrobienne des BL en agissant sur les conditions de culture ou par des expositions contrôlées à des souches pathogènes. Cette capacité d'adaptation ou de modulation, observée après une première interaction, suggère une forme de plasticité fonctionnelle des BL, potentiellement exploitable dans des applications thérapeutiques ou agroalimentaires.

Bien que les résultats obtenus soient prometteurs, certaines limitations expérimentales doivent être prises en compte. En premier lieu, le nombre de souches bactériennes testées a été

restreint, ce qui ne permet pas de généraliser les conclusions à l'ensemble des bactéries pathogènes ou lactiques. Par ailleurs, le temps alloué à l'expérimentation n'a pas permis d'approfondir certains aspects, notamment la répétition des tests sur une plus grande variété de conditions de culture ou d'interactions microbiennes.

De plus, l'identification précise des molécules responsables de l'activité antimicrobienne n'a pas pu être réalisée, en raison de l'absence d'analyses biochimiques poussées (comme la chromatographie ou la spectrométrie de masse). Cette étape aurait permis de mieux comprendre les mécanismes d'action sous-jacents.

Enfin, les conditions expérimentales contrôlées en laboratoire ne reflètent pas toujours fidèlement les environnements réels (digestif, alimentaire ou clinique), ce qui peut limiter l'extrapolation des résultats à une échelle appliquée.

À la lumière des résultats obtenus, plusieurs perspectives scientifiques et appliquées peuvent être envisagées. Une suite logique de ce travail consisterait à purifier et caractériser les molécules bioactives produites par les bactéries lactiques, notamment les métabolites secondaires ou peptides antimicrobiens responsables de l'effet inhibiteur. Cette étape permettrait de mieux comprendre leur mécanisme d'action et d'évaluer leur potentiel en tant que molécules alternatives aux antibiotiques, notamment dans le domaine clinique.

D'autre part, l'exploitation de ces composés naturels pourrait être envisagée dans la formulation de compléments alimentaires, visant à renforcer la flore intestinale, à favoriser la digestion ou encore à prévenir les infections intestinales causées par des bactéries pathogènes. Ces axes de recherche ouvrent ainsi la voie à une valorisation biotechnologique durable des bactéries lactiques dans les secteurs de la santé humaine et de l'agroalimentaire.

En somme, ce travail a permis de poser les premières bases expérimentales en faveur d'une utilisation raisonnée et innovante des bactéries lactiques dans la lutte contre les pathogènes, en proposant des alternatives naturelles prometteuses face aux enjeux mondiaux de la résistance antimicrobienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdalrahman, L., Stanley, A., Wells, H., & Fakhr, M. (2015). Isolation, Virulence, and Antimicrobial Resistance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) Strains from Oklahoma Retail Poultry Meats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *12*(6), 6148-6161. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606148>
2. Abdul Hakim, B. N., Xuan, N. J., & Oslan, S. N. H. (2023). A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria : Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods*, *12*(15), 2850. <https://doi.org/10.3390/foods12152850>
3. Abiom, L. A., Ire, F. S., & Ahaotu, I. (2024). Production and characterization of bacteriocin from lactic acid bacteria isolated from fermented food products. *Scientia Africana*, *23*(3), 101-114. <https://doi.org/10.4314/sa.v23i3.10>
4. Anjana, & Tiwari, S. K. (2022). Bacteriocin-Producing Probiotic Lactic Acid Bacteria in Controlling Dysbiosis of the Gut Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*, 851140. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.851140>
5. Antonio, L. A., Alfonso, P. A., Tolentino, E. J. C., Tabios, C. P., Sebastian, P. D. S., Salamat, G. V., Gracila, D. C., Tabug, M. I. N., & Hagosojos, B. M. (2021). A Review of Lactic Acid Bacteria and their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis, and Mechanism against Oral Pathogens. *Asian Journal of Biological and Life sciences*, *10*(2), 291-299. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2021.10.41>
6. Antunes, P., Novais, C., & Peixe, L. (2020). Food-to-Humans Bacterial Transmission. *Microbiology Spectrum*, *8*(1), 8.1.1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MTBP-0019-2016>
7. Armes, A. C., Walton, J. L., & Buchan, A. (2022). Quorum Sensing and Antimicrobial Production Orchestrate Biofilm Dynamics in Multispecies Bacterial Communities. *Microbiology Spectrum*, *10*(6), e02615-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02615-22>
8. Arqués, J. L., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J. M., & Medina, M. (2015). Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria in Dairy Products and Gut : Effect on Pathogens. *BioMed Research International*, *2015*, 19. <https://doi.org/10.1155/2015/584183>
9. Arriola-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their

Références bibliographiques

- applications with fresh beef. *Food Control*, 115, 107286. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107286>
10. Asadzadegan, R., Haratian, N., Sadeghi, M., Maroufizadeh, S., Mobayen, M., Sedigh Ebrahim Saraei, H., & Hasannejad-Bibalan, M. (2023). RETRACTED : Antibiofilm and antimicrobial activity of *Lactobacillus* cell free supernatant against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wounds. *International Wound Journal*, 20(10), 4112-4121. <https://doi.org/10.1111/iwj.14305>
11. Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. D., & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic Acid Bacteria : Food Safety and Human Health Applications. *Dairy*, 1(3), 202-232. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
12. Bartkiene, E., Lele, V., Sakiene, V., Zavistanaviciute, P., Ruzauskas, M., Bernatoniene, J., Jakstas, V., Viskelis, P., Zadeike, D., & Juodeikiene, G. (2019). Improvement of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria in combination with berries/fruits and dairy industry by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(8), 3992-4002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9625>
13. Bartkiene, E., Lele, V., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Zokaityte, E., Varinauskaite, I., Pileckaite, G., Paskeviciute, L., Rutkauskaite, G., Kanaporis, T., Dmitrijeva, L., Viskelis, P., Santini, A., & Ruzauskas, M. (2020). Plants and Lactic Acid Bacteria Combination for New Antimicrobial and Antioxidant Properties Product Development in a Sustainable Manner. *Foods*, 9(4), 433. <https://doi.org/10.3390/foods9040433>
14. Benfreha, H., Pereira, E. C. V., Rolim, L. A., Chelli, N., Almeida, J. R. G. D. S., Tirtouil, A., & Meddah, B. (2022). Additive effect of the probiotics *Lactobacillus* exopolysaccharides and the *Satureja calamintha* extracts on enteropathogenic *Escherichia coli* adhesion. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e20015. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e20015>
15. Bharti, R., Khamparia, A., Shabaz, M., Dhiman, G., Pande, S., & Singh, P. (2021). Prediction of Heart Disease Using a Combination of Machine Learning and Deep Learning. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2021(1), 8387680. <https://doi.org/10.1155/2021/8387680>
16. Bintsis, T. & Department of Agricultural Technology, TEI of West Macedonia, 53100 Florina, Greece. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures : An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665-684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>

Références bibliographiques

17. Bungenstock, L., Abdulmawjood, A., & Reich, F. (2020). Evaluation of antibacterial properties of lactic acid bacteria from traditionally and industrially produced fermented sausages from Germany. *PLOS ONE*, 15(3), e0230345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230345>
18. Canon, F., Nidelet, T., Guédon, E., Thierry, A., & Gagnaire, V. (2020). Understanding the Mechanisms of Positive Microbial Interactions That Benefit Lactic Acid Bacteria Co-cultures. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2088. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>
19. Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C., & Mahillon, J. (2019). Overview of the Antimicrobial Compounds Produced by Members of the *Bacillus subtilis* Group. *Frontiers in Microbiology*, 10, 302. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00302>
20. Ceuppens, S., Boon, N., & Uyttendaele, M. (2015). Diversity of *Bacillus cereus* group strains is reflected in their tolerance to food-relevant stresses and in their ability to grow in food. *Food Microbiology*, 45, 288–298. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.013>
21. Chen, C., Guo, T., Wu, D., Shu, J., Huang, N., Tian, H., Yu, H., & Ge, C. (2025). Study on *Lactocaseibacillus casei* TCS fermentation kinetic models and high-density culture strategy. *Microbiology Spectrum*, e02590-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02590-24>
22. Chen, X., Bai, H., Mo, W., Zheng, X., Chen, H., Yin, Y., Liao, Y., Chen, Z., Shi, Q., Zuo, Z., Liang, Z., & Peng, H. (2025). Lactic Acid Bacteria Bacteriocins : Safe and Effective Antimicrobial Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4124. <https://doi.org/10.3390/ijms26094124>
23. Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A., & Dicks, L. M. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.011>
24. Cyril Arinze Eji, Goodluck Chigozie Okwuokei, Janet Ginikachi Okafor, Ibukun Akinboyewa, Ojinika Dabeluchukwu Ononye, Chidinma John, Nancy Okoro, Joseph Ochigbano, Prince Chiugo Chidi, & Nnanna Onwuka Orji. (2023). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented food against food pathogen. *GSC Advanced Research and Reviews*, 15(2), 020-031. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2023.15.2.0036>

Références bibliographiques

25. De Filippis, F., Pasolli, E., & Ercolini, D. (2020). The food-gut axis : Lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 454-489. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa015>
26. De Luca, D. G., Li, X. R., Alexander, D. C., Dingle, T. C., Dufresne, P. J., Hoang, L. M., Kus, J. V., Sheitoyan-Pesant, C., & Bharat, A. (2025). Comparison of broth microdilution and Etest® methods for susceptibility testing of amphotericin B in *Candida auris*. *Medical Mycology*, 63(3), myaf019. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaf019>
27. Zhou, W., Lin, R., Zhou, Z., Ma, J., Lin, H., Zheng, X., Wang, J., Wu, J., Dong, Y., Jiang, H., Yang, H., Yang, Z., Tang, B., & Yue, M. (2022). Antimicrobial resistance and genomic characterization of *Escherichia coli* from pigs and chickens in Zhejiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1018682>
28. Dietrich, R., Jessberger, N., Ehling-Schulz, M., Märklbauer, E., & Granum, P. E. (2021). The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins*, 13(2), 98. <https://doi.org/10.3390/toxins13020098>
29. El Ahmadi, K., Haboubi, K., El Allaoui, H., El Hammoudani, Y., Bouhrim, M., Eto, B., Shahat, A. A., & Herqash, R. N. (2025). Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria for antimicrobial potential from raw milk. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1565016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565016>
30. Elbing, K. L., & Brent, R. (2019). Recipes and Tools for Culture of *Escherichia coli*. *Current Protocols in Molecular Biology*, 125(1), e83. <https://doi.org/10.1002/cpmb.83>
31. Emeanuru, P. C., & Braide, W. (2024). Screening and Identification of Biosurfactant-Producing Bacteria from Crude Oil Contaminated Soil and Water in the Niger Delta Area, Nigeria. *Nigerian Journal of Microbiology*, 38(1), 6838-6846. [Nigerian Society for Microbiology] https://www.nsmjournal.org.ng/2024-38-1/45_6838-6846_404
32. Esmaeili, A., Hosseini, S., & Baghaban Eslaminejad, M. (2024). Co-culture engineering : A promising strategy for production of engineered extracellular vesicle for osteoarthritis treatment. *Cell Communication and Signaling*, 22(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01467-9>
33. Fan, X., Yu, L., Shi, Z., Li, C., Zeng, X., Wu, Z., & Pan, D. (2023). Characterization of a novel flavored yogurt enriched in γ -aminobutyric acid fermented by *Levilactobacillus brevis* CGMCC1.5954. *Journal of Dairy Science*, 106(2), 852-867. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22590>

Références bibliographiques

34. Farina, D., Bianco, A., Manzulli, V., Castellana, S., Parisi, A., Caruso, M., Fraccalvieri, R., Serrecchia, L., Rondinone, V., Pace, L., Fasanella, A., Vetritto, V., Difato, L. M., Cipolletta, D., Iatarola, M., & Galante, D. (2024). Antimicrobial and Phylogenomic Characterization of *Bacillus cereus* Group Strains Isolated from Different Food Sources in Italy. *Antibiotics*, 13(9), 898. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090898>
35. Fayad, N., Abboud, J., Driss, F., Louka, N., & Kallassy Awad, M. (2022). Optimization of Culture Conditions and Wheat Bran Class Selection in the Production of *Bacillus thuringiensis*-Based Biopesticides. *Fermentation*, 8(12), 666. <https://doi.org/10.3390/fermentation8120666>
36. Fijan, S., Kocbek, P., Steyer, A., Vodičar, P. M., & Strauss, M. (2022). The Antimicrobial Effect of Various Single-Strain and Multi-Strain Probiotics, Dietary Supplements or Other Beneficial Microbes against Common Clinical Wound Pathogens. *Microorganisms*, 10(12), 2518. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122518>
37. Islam, R., Hossain, Md. N., Alam, Md. K., Uddin, Md. E., Rony, M. H., Imran, Md. A. S., & Alam, Md. F. (2020). Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria and Extraction of Bacteriocin Protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(02), 49-59. <https://doi.org/10.4236/abb.2020.112004>
38. García-Díez, J., & Saraiva, C. (2021). Use of Starter Cultures in Foods from Animal Origin to Improve Their Safety. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 2544. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052544>
39. Garcia-Gutierrez, E., O'Connor, P. M., Colquhoun, I. J., Vior, N. M., Rodríguez, J. M., Mayer, M. J., Cotter, P. D., & Narbad, A. (2020). Production of multiple bacteriocins, including the novel bacteriocin gassericin M, by *Lactobacillus gasseri* LM19, a strain isolated from human milk. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(9), 3869-3884. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10493-3>
40. Gaspar, C., Donders, G. G., Palmeira-de-Oliveira, R., Queiroz, J. A., Tomaz, C., Martinez-de-Oliveira, J., & Palmeira-de-Oliveira, A. (2018). Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *AMB Express*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0679-z>
41. George, F., Daniel, C., Thomas, M., Singer, E., Guilbaud, A., Tessier, F. J., Revol-Junelles, A.-M., Borges, F., & Foligné, B. (2018). Occurrence and Dynamism of Lactic Acid Bacteria in Distinct Ecological Niches: A Multifaceted Functional Health

Références bibliographiques

- Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2899. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02899>
42. Gómez-García, M., Sol, C., De Nova, P. J. G., Puyalto, M., Mesas, L., Puente, H., Mencía-Ares, Ó., Miranda, R., Argüello, H., Rubio, P., & Carvajal, A. (2019). Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts and essential oils against swine enteropathogenic bacteria. *Porcine Health Management*, 5(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0139-4>
43. Gonçalves, C., Silveira, L., Rodrigues, J., Furtado, R., Ramos, S., Nunes, A., & Pista, Â. (2024). Phenotypic and Genotypic Characterization of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Isolates from Pigs at Slaughterhouse and from Commercial Pork Meat in Portugal. *Antibiotics*, 13(10), 957. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13100957>
44. Dinkçi, N., Akdeniz, V., & Akalın, A. S. (2023). Probiotic Whey-Based Beverages from Cow, Sheep and Goat Milk: Antioxidant Activity, Culture Viability, Amino Acid Contents. *Foods*, 12(3), 610. <https://doi.org/10.3390/foods12030610>
45. Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). 'Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)'. *Rahul International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (www.jetir.org)*, 5(10). www.jetir.org (ISSN-2349-5162)
46. Gutiérrez-Cortés, I., Simpson, S., Manzano, M., Villca, H., Castro, B., Ramond, J.-B., Murillo, M. D. P. F., & Alfaro, F. D. (2025). The impact of *Polylepis tarapacana* on soil microbial communities in the Andean Dry Puna of Chile. *Journal of Arid Environments*, 227, 105332. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2025.105332>
47. Haley, E., Cockerill, F., Pesano, R., Festa, R., Luke, N., Mathur, M., Chen, X., Havrilla, J., & Baunoch, D. (2024). Pooled Antibiotic Susceptibility Testing Performs Within CLSI Standards for Validation When Measured Against Broth Microdilution and Disk Diffusion Antibiotic Susceptibility Testing of Cultured Isolates. *Antibiotics*, 13(12), 1214. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121214>
48. Hardy Diagnostics (2020). SIM (Sulfide, Indole, Motility) Medium Technical Data Sheet. <https://hardydiagnostics.com/media/assets/product/documents/SIMMedium.pdf>
49. Harper, A. R., Dobson, R. C. J., Morris, V. K., & Moggré, G. (2022). Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology*, 15(5), 1404-1421. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14008>

Références bibliographiques

50. Hayek, S. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., & Ibrahim, S. A. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *Journal of Dairy Research*, 86(4), 490-502. <https://doi.org/10.1017/S002202991900075X>
51. Heo, S., Lee, J.-H., & Jeong, D.-W. (2020). Food-derived coagulase-negative *Staphylococcus* as starter cultures for fermented foods. *Food Science and Biotechnology*, 29(8), 1023-1035. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00789-5>
52. Hernández Figueroa, R. H., López-Malo, A., & Mani-López, E. (2024). Antimicrobial activity and applications of fermentates from lactic acid bacteria – a review. *Sustainable Food Technology*, 2(2), 292-306. <https://doi.org/10.1039/D3FB00241A>
53. Hezil, D., Zaidi, S., Benseghir, H., Zineddine, R., Benamrouche, N., & Ghalmi, F. (2021). *Salmonella* Dublin associated with abortion in dairy cattle in Algiers and comparison of different diagnostic methods. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(2), 211-222. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v22i2.14>
54. Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity : A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), 97-115. <https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>
55. Huang, X., Nzekoue, F. K., Wang, J., Attili, A. R., Coman, M. M., Verdenelli, M. C., Fiorini, D., Rossi, G., Marchini, C., Miceli, C., & Silvi, S. (2025). A Study of Bioactivities and Composition of a Cocktail of Supernatants Derived from Lactic Acid Bacteria for Potential Food Applications. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10442-w>
56. Bursová, Š., Haruštiaková, D., Necidová, L., Krobotová, E., Mlejnková, Z., Tkáč, M., Stojanová, K., & Golian, J. (2024). EVALUATION OF *BACILLUS CEREUS* GROWTH IN COOKED RICE. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, e10985. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.10985>
57. Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., & Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial Agents : Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. *Foods*, 10(12), 3131. <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
58. Imade, E. E., Omonigho, S. E., Babalola, O. O., & Enagbonma, B. J. (2021). Lactic acid bacterial bacteriocins and their bioactive properties against food-associated antibiotic-resistant bacteria. *Annals of Microbiology*, 71(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01652-6>

Références bibliographiques

59. Ingle, A. A., Ansari, S. Z., Shende, D. Z., Wasewar, K. L., & Pandit, A. B. (2022). Progress and prospective of heterogeneous catalysts for H₂O₂ production via anthraquinone process. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(57), 86468-86484. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21354-z>
60. Jakubczyk, K., Melkis, K., Janda-Milczarek, K., & Skonieczna-Żydecka, K. (2023). Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Fermented Beetroot Juices Enriched with Different Additives. *Foods*, 13(1), 102. <https://doi.org/10.3390/foods13010102>
61. Kalhor, M. S., Anal, A. K., Kalhor, D. H., Hussain, T., Murtaza, G., & Mangi, M. H. (2023). Antimicrobial Activities and Biopreservation Potential of Lactic Acid Bacteria (LAB) from Raw Buffalo (*Bubalus bubalis*) Milk. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2023/8475995>
62. Kashima, K., Sato, M., Osaka, Y., Sakakida, N., Kando, S., Ohtsuka, K., Doi, R., Chiba, Y., Takase, S., Fujiwara, A., Shimada, S., Ishii, R., Mizokoshi, A., Takano, M., Lee, K., Iyoda, S., & Honda, A. (2021). An outbreak of food poisoning due to *Escherichia coli* serotype O7:H4 carrying astA for enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin1 (EAST1). *Epidemiology and Infection*, 149, e244. <https://doi.org/10.1017/S0950268821002338>
63. Komesu, A., De Oliveira, J. A. R., Martins, L. H. D. S., Wolf Maciel, M. R., & Maciel Filho, R. (2017). Lactic acid production to purification : A review. *BioResources*, 12(2), 4364-4383. <https://doi.org/10.15376/biores.12.2.4364-4383>
64. Kovac, J., Miller, R. A., Carroll, L. M., Kent, D. J., Jian, J., Beno, S. M., & Wiedmann, M. (2016). Production of hemolysin BL by *Bacillus cereus* group isolates of dairy origin is associated with whole-genome phylogenetic clade. *BMC Genomics*, 17(1), 581. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2883-z>
65. Kralik, P., Babak, V., & Dziedzinska, R. (2018). The Impact of the Antimicrobial Compounds Produced by Lactic Acid Bacteria on the Growth Performance of *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 638. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00638>
66. Lee, C. S., Lee, S. H., & Kim, S. H. (2020). Bone-protective effects of *Lactobacillus plantarum* B719-fermented milk product. *International Journal of Dairy Technology*, 73(4), 706-717. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12701>

Références bibliographiques

67. Lee, M.-E., Jang, J.-Y., Lee, J.-H., Park, H.-W., Choi, H.-J., & Kim, T.-W. (2015). Starter Cultures for Kimchi Fermentation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(5), 559-568. <https://doi.org/10.4014/jmb.1501.01019>
68. Łepecka, A., Szymański, P., Rutkowska, S., Iwanowska, K., & Kołożyn-Krajewska, D. (2021). The Influence of Environmental Conditions on the Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Meat Products. *Foods*, 10(10), 2267. <https://doi.org/10.3390/foods10102267>
69. Lim, K. L., Khor, W. C., Ong, K. H., Timothy, L., & Aung, K. T. (2023). Occurrence and Patterns of Enterotoxin Genes, spa Types and Antimicrobial Resistance Patterns in *Staphylococcus aureus* in Food and Food Contact Surfaces in Singapore. *Microorganisms*, 11(7), 1785. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071785>
70. Liu, R., Meng, X., Yu, X., Wang, G., Dong, Z., Zhou, Z., Qi, M., Yu, X., Ji, T., & Wang, F. (2022). From 2D to 3D Co-Culture Systems : A Review of Co-Culture Models to Study the Neural Cells Interaction. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13116. <https://doi.org/10.3390/ijms232113116>
71. López-Cuellar, Ma. D. R., Rodríguez-Hernández, A.-I., & Chavarría-Hernández, N. (2016). LAB bacteriocin applications in the last decade. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(6), 1039-1050. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1232605>
72. López-García, E., Benítez-Cabello, A., Vilches, N., Garrido-Fernández, A., Martín-Arranz, V., & Arroyo-López, F. N. (2023). Delving into the study of lactic acid bacteria and yeasts distribution in table olive biofilms using a non-destructive procedure. *Food Microbiology*, 113, 104250. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104250>
73. Madi, N., & Boushaba, R. (2017). Identification of Potential Biopreservative Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Algerian Cow's Milk and Demonstration of Antagonism Against *S. aureus* in Cheese. *Food Science and Technology Research*, 23(5), 679-688. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.679>
74. Wei, Y., Wang, J., Liu, Z., Pei, J., Brennan, C., & Abd El-Aty, A. M. (2022). Isolation and Characterization of Bacteriocin-Producing *Lactocaseibacillus rhamnosus* XN2 from Yak Yoghurt and Its Bacteriocin. *Molecules*, 27(7), 2066. <https://doi.org/10.3390/molecules27072066>

Références bibliographiques

75. Maky, M. A., Ishibashi, N., Gong, X., Sonomoto, K., & Zendo, T. (2025). Distribution of Bacteriocin-like Substance-Producing Lactic Acid Bacteria in Egyptian Sources. *Applied Microbiology*, 5(1), 20. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5010020>
76. Malheiros, P. S., Sant'Anna, V., Todorov, S. D., & Franco, B. D. G. M. (2015). Optimization of growth and bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* subsp. Sakei 2a. *Brazilian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246320140279>
77. Marcelli, V., Osimani, A., & Aquilanti, L. (2024). Research progress in the use of lactic acid bacteria as natural biopreservatives against *Pseudomonas* spp. in meat and meat products : A review. *Food Research International*, 196, 115129. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115129>
78. Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Bacteriocin-Antimicrobial Synergy : A Medical and Food Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1205. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01205>
79. Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
80. Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A., & López-Gómez, J. P. (2020). Multi-Product Lactic Acid Bacteria Fermentations : A Review. *Fermentation*, 6(1), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>
81. Mountcastle, S. E., Cox, S. C., Sammons, R. L., Jabbari, S., Shelton, R. M., & Kuehne, S. A. (2020). A review of co-culture models to study the oral microenvironment and disease. *Journal of Oral Microbiology*, 12(1), 1773122. <https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1773122>
82. Mousavi Khaneghah, A., Abedi, F., Sant'Ana, A. S., Oliveira, C. A. F., & Amiri, S. (2020). Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in food and the human gut: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 95, 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.003>
83. Muhialdin, B. J., Saari, N., & Meor Hussin, A. S. (2020). Review on the Biological Detoxification of Mycotoxins Using Lactic Acid Bacteria to Enhance the Sustainability of Foods Supply. *Molecules*, 25(11), 2655. <https://doi.org/10.3390/molecules25112655>

Références bibliographiques

84. Munekata, P. E. S., Pateiro, M., Tomasevic, I., Domínguez, R., Da Silva Barretto, A. C., Santos, E. M., & Lorenzo, J. M. (2022). Functional fermented meat products with probiotics—A review. *Journal of Applied Microbiology*, 133(1), 91-103. <https://doi.org/10.1111/jam.15337>
85. Nguyen, P.-T., Nguyen, T.-T., Bui, D.-C., Hong, P.-T., Hoang, Q.-K., Nguyen, H.-T., 1 Graduate University of Sciences and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria : The manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(4), 451-469. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020027>
86. Özel, B., Şimşek, Ö., Akçelik, M., & Saris, P. E. J. (2018). Innovative approaches to nisin production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(15), 6299-6307. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9098-y>
87. Özogul, F., & Hamed, I. (2018). The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation : A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(10), 1660 1670. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1277972>
88. Parada Fabián, J. C., Álvarez Contreras, A. K., Natividad Bonifacio, I., Hernández Robles, M. F., Vázquez Quiñones, C. R., Quiñones Ramírez, E. I., & Vázquez Salinas, C. (2025). Toward safer and sustainable food preservation : A comprehensive review of bacteriocins in the food industry. *Bioscience Reports*, 45(04), 277 302. <https://doi.org/10.1042/BSR20241594>
89. Peters, S. (2021). Co-culture methods to study neuronal function and disease. *Neural Regeneration Research*, 16(5), 972. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.297066>
90. Petrova, P., Arsov, A., Tsvetanova, F., Parvanova-Mancheva, T., Vasileva, E., Tsigoriyna, L., & Petrov, K. (2022). The Complex Role of Lactic Acid Bacteria in Food Detoxification. production. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 6299-6307.
91. Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. (2021). Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers : A Sustainable Tool for Functional Foods. *Foods*, 10(7), 1653. <https://doi.org/10.3390/foods10071653>
92. Pujato, S. A., Mercanti, D. J., Briggiler Marcó, M., Capra, M. L., Quiberoni, A., & Guglielmotti, D. M. (2024). Bacteriocins from lactic acid bacteria : Strategies for the bioprotection of dairy foods. *Frontiers in Food Science and Technology*, 4, 1439891. <https://doi.org/10.3389/frfst.2024.1439891>

Références bibliographiques

93. Radkowski, M., Zdrodowska, B., & Gomółka-Pawlicka, M. (2018). Effect of Succinic Acid on Elimination of *Salmonella* in Chicken Meat. *Journal of Food Protection*, 81(9), 1491-1495. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-446>
94. Raman, J., Kim, J.-S., Choi, K. R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y.-J., & Kim, S.-J. (2022). Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Sustainable Agriculture : Advantages and Limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7784. <https://doi.org/10.3390/ijms23147784>
95. Rashid, M. I., Yousaf, M. Z., & Saeed, A. (2020). Synergistic effects of probiotics and antibiotics: A novel strategy to combat antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1948. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01948>
96. Ren, Y., Wang, X., Li, Y., Li, Y.-Y., & Wang, Q. (2022). Lactic Acid Production by Fermentation of Biomass : Recent Achievements and Perspectives. *Sustainability*, 14(21), 14434. <https://doi.org/10.3390/su142114434>
97. Riaz, M., Nabi, F., & Ullah, R. (2021). Antimicrobial potential of lactic acid bacteria isolated from fermented foods against multidrug-resistant pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 158, 105014. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105014>
98. Ricke, S. C., Dittoe, D. K., & Richardson, K. E. (2020). Formic Acid as an Antimicrobial for Poultry Production : A Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 563. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00563>
99. Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E. M., & Mozzi, F. (2019). Diversity and Functional Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Wild Fruits and Flowers Present in Northern Argentina. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1091. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01091>
100. Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., Guerra, N. P., & Pascual, L. M. (2019). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products against multidrug-resistant pathogens. *Biomed Research International*, 2019, 4041241. <https://doi.org/10.1155/2019/4041241>
101. Salomskiene, J., Jonkuvienė, D., Macionienė, I., Abraitienė, A., Zeime, J., Repeckienė, J., & Vaiciulytė-Funk, L. (2019). Differences in the occurrence and efficiency of antimicrobial compounds produced by lactic acid bacteria. *European Food Research and Technology*, 245(3), 569-579. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-03227-3>

Références bibliographiques

102. Sameh, A. G., Rehab, M. A. E. B., Abo, B. F. A., & Gamal, F. M. G. (2016). In vitro evaluation of probiotic potential of five lactic acid bacteria and their antimicrobial activity against some enteric and food-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 10(12), 400-409. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7781>
103. Sanam, M., Detha, A., & Rohi, N. (2022). Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria, isolated from Sumba mare milk, against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 9(1), 53. <https://doi.org/10.5455/javar.2022.i568>
104. Şanlıbaba, P., & Güçer, Y. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *J. Int. Sci. Publ*, 3, 451-457. www.scientific-publications.net
105. Secilmis, M., Altun, H. Y., Pilic, J., Erdogan, Y. C., Cokluk, Z., Ata, B. N., Sevimli, G., Zaki, A. G., Yigit, E. N., Öztürk, G., Malli, R., & Eroglu, E. (2021). A Co-Culture-Based Multiparametric Imaging Technique to Dissect Local H₂O₂ Signals with Targeted HyPer7. *Biosensors*, 11(9), 338. <https://doi.org/10.3390/bios11090338>
106. Serna-Cock, L., Rojas-Dorado, M., Ordoñez-Artunduaga, D., García-Salazar, A., García-González, E., & Aguilar, C. N. (2019). Crude extracts of metabolites from co-cultures of lactic acid bacteria are highly antagonists of *Listeria monocytogenes*. *Heliyon*, 5(9), e02448. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02448>
107. Sharma, H., Fidan, H., Özogul, F., & Rocha, J. M. (2022). Recent development in the preservation effect of lactic acid bacteria and essential oils on chicken and seafood products. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1092248. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1092248>
108. Shehata, M. G., Badr, A. N., Abd El-Aziz, N. M., Abd-Rabou, H. S., & El-Sohaimy, S. A. (2022). Optimization, Partial Purification, and Characterization of Bioactive Peptides of *Lactobacillus paracasei* Isolated from Traditional Egyptian Cheese. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. <https://doi.org/10.18502/jfqhc.9.4.11375>
109. Shi, C., & Maktabdar, M. (2022). Lactic Acid Bacteria as Biopreservation Against Spoilage Molds in Dairy Products – A Review. *Frontiers in Microbiology*, 12, 819684. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.819684>
110. Shin, J. M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of Applied Microbiology*, 120(6), 1449-1465. <https://doi.org/10.1111/jam.13033>

Références bibliographiques

111. Siddeeg, A., Afzaal, M., Saeed, F., Ali, R., Shah, Y. A., Shehzadi, U., Ateeq, H., Waris, N., Hussain, M., Raza, M. A., & Al-Farga, A. (2022). Recent updates and perspectives of fermented healthy super food sauerkraut : A review. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 2320–2331. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2135531>
112. Sidhu, P. K., & Nehra, K. (2020). Bacteriocin-capped silver nanoparticles for enhanced antimicrobial efficacy against food pathogens. *IET Nanobiotechnology*, 14(3), 245-252. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0323>
113. Soltani, S., Hammami, R., Cotter, P. D., Rebuffat, S., Said, L. B., Gaudreau, H., Bédard, F., Biron, E., Drider, D., & Fliss, I. (2021). Bacteriocins as a new generation of antimicrobials : Toxicity aspects and regulations. *FEMS Microbiology Reviews*, 45(1), fuaa039. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039>
114. Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B. V., & Sreenivasa, M. Y. (2019). Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Neera : A Naturally Fermenting Coconut Palm Nectar. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01382>
115. Sugrue, I., Ross, R. P., & Hill, C. (2024). Bacteriocin diversity, function, discovery and application as antimicrobials. *Nature Reviews Microbiology*, 22(9), 556–571. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01045-x>
116. Szatraj, K., Szczepankowska, A. K., & Chmielewska-Jeznach, M. (2017). Lactic acid bacteria - promising vaccine vectors : Possibilities, limitations, doubts. *Journal of Applied Microbiology*, 123(2), 325–339. <https://doi.org/10.1111/jam.13446>
117. Taher, E. M., Abdullah, B. A., & Taie, A. A. A. (2024). Phenotypic and genotypic detection of biofilm genes for *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (PMP) bacterial group isolated from clinical samples of some hospitals in Mosul/Iraq. *Journal of Applied and Natural Science*, 16(4), 1719-1730. <https://doi.org/10.31018/jans.v16i4.5935>
118. Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., & Mathewos, M. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. *The Scientific World Journal*, 2021(1), 4697445. <https://doi.org/10.1155/2021/4697445>
119. Bintsis, T. & Department of Agricultural Technology, TEI of West Macedonia, 53100 Florina, Greece. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures : An update in

Références bibliographiques

- their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665-684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
120. Tlemsani, C., Larousserie, F., De Percin, S., Audard, V., Hadjadj, D., Chen, J., Biau, D., Anract, P., Terris, B., Goldwasser, F., Pasmant, E., & Boudou-Rouquette, P. (2023). Biology and Management of High-Grade Chondrosarcoma : An Update on Targets and Treatment Options. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1361. <https://doi.org/10.3390/ijms24021361>
121. Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T. (2015). *Lactobacillus plantarum*: Characterization of the species and application in food production. *Food Microbiology*, 47, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
122. Vajid Nettoor Veetil & Vijaya Chitra A. (2022). Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* using Response Surface Methodology. *Cellular and Molecular Biology*, 68(6), 105–110. <https://doi.org/10.14715/cmb/2022.68.6.17>
123. Vanegas, D., Abril-Novillo, A., Khachatryan, A., Jerves-Andrade, L., Peñaherrera, E., Cuzco, N., Wilches, I., Calle, J., & León-Tamariz, F. (2021). Validation of a method of broth microdilution for the determination of antibacterial activity of essential oils. *BMC Research Notes*, 14(1), 439. <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05838-8>
124. Wang, B., Li, L., Lin, Y., Shen, D., Shao, X., Zhong, C., & Qian, G. (2022). Targeted isolation of biocontrol agents from plants through phytopathogen co-culture and pathogen enrichment. *Phytopathology Research*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00124-2>
125. Wang, W., Dong, H., Chen, Q., Chang, X., Wang, L., Miao, C., Chen, S., Chen, L., Wang, R., Ge, S., & Xiong, W. (2024). Antibacterial Efficacy of Feline-Derived Lactic Acid Bacteria against Enteropathogenic *Escherichia coli* : A Comprehensive *In Vitro* Analysis. *Fermentation*, 10(10), 514. <https://doi.org/10.3390/fermentation10100514>
126. Wang, Y., Jiang, L., Zhang, Y., Ran, R., Meng, X., & Liu, S. (2023). Research advances in the degradation of aflatoxin by lactic acid bacteria. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 29, e20230029. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2023-0029>
127. Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and

Références bibliographiques

- the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- 128.** Whelan, S. O., Kyne, S., Dore, A., Glynn, M., Higgins, F., Hanahoe, B., Moriarty, F., Moylett, E., & Cormican, M. (2024). Paediatric *Escherichia coli* urinary tract infection : Susceptibility trends and clinical management—a retrospective analysis of a 10-year period. *Irish Journal of Medical Science (1971 -)*, 193(4), 1891-1900. <https://doi.org/10.1007/s11845-024-03670->
- 129.** Wu, S., Duan, N., Gu, H., Hao, L., Ye, H., & Wang, Z. (2016). A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*, 8(7), 176. <https://doi.org/10.3390/toxins8070176>
- 130.** Yadav, M. K., & Tiwari, S. K. (2023). Methods for Determination of Antimicrobial Activity of Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology*, 92(6), 745 765. <https://doi.org/10.1134/S0026261723600520>
- 131.** Yaghoubi Khanghahi, M., Strafella, S., Filannino, P., Minervini, F., & Crecchio, C. (2024). Importance of Lactic Acid Bacteria as an Emerging Group of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Sustainable Agroecosystems. *Applied Sciences*, 14(5), 1798. <https://doi.org/10.3390/app14051798>
- 132.** Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., & Walker, B. (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*, 8(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0>
- 133.** Yang, S., Bai, M., Kwok, L.-Y., Zhong, Z., & Sun, Z. (2025). The intricate symbiotic relationship between lactic acid bacterial starters in the milk fermentation ecosystem. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(4), 728 745. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2280706>
- 134.** Yildirim, Z., Öncül, N., Yildirim, M., & Karabiyikli, Ş. (2016). Application of lactococcin BZ and enterocin KP against *Listeria monocytogenes* in milk as biopreservation agents. *Acta Alimentaria*, 45(4), 486 492. <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.4.4>
- 135.** Yilmaz, B., Bangar, S. P., Echegaray, N., Suri, S., Tomasevic, I., Manuel Lorenzo, J., Melekoglu, E., Rocha, J. M., & Ozogul, F. (2022). The Impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the Functional Properties of Fermented Foods : A

Références bibliographiques

- Review of Current Knowledge. *Microorganisms*, 10(4), 826. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040826>
136. Yoon, J.-H., Kim, J.-Y., Yoo, J.-H., & Lee, S.-Y. (2023). Development of a selective medium for the enumeration of lactic acid bacteria and bifidobacteria in food products. *Food Science and Biotechnology*, 32(5), 713–721. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01202-z>
137. Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1121–1135. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7172-2>
138. Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods*, 11(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
139. Zhang, X., Wang, Y., & Li, H. (2023). Immunomodulatory effects of *Lactobacillus species* on host inflammatory responses and cytokine profiles. *Frontiers in Immunology*, 14, 1120320. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1120320>
140. Zhao, J., Zhao, J., Zang, J., Peng, C., Li, Z., & Zhang, P. (2024). Isolation, identification, and evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from traditional fermented sour meat. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1421285. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1421285>
141. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
142. Zielińska, D., & Kolożyn-Krajewska, D. (2018). Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties : Review. *BioMed Research International*, 2018, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2018/5063185>

Annexes

Annexe 1 : Matériel et produits

Produits et réactifs

Glucose ;

Lactose ;

Saccharose ;

Extrait de levure ;

Peptone ;

Tween 80 ;

Acétate de sodium ;

Acide ascorbique ;

NaCl ;

Kovacs.

Antibiotiques

Triméthoprim (TMN) ;

Céfotaxime (CT) ;

Céfépime (FEP) ;

Ampicilline (AMP) ;

Ciprofloxacine (CIP).

Appareils

Etuve (*Memoret*) ;

Vortex (*Top Mix*) ;

Balance (*Adventurer*) ;

pH mètre (*HANNA instruments*).

Annexe 2: Composition des milieux

Composition du lait UHT partiellement écrémé (g/L)

Lipides.....	1,5
Glucides.....	4,5
Protéines.....	3
Sel.....	0,1
Calcium.....	0,12

pH = 6,2

Composition de Petit lait (leben) enrichi avec *Bifidobacterium* (g/L)

Lipides.....	1,65
Lactose.....	3,62
Protéines	2,7
Calcium.....	0,098
Sel.....	0,07

pH = 4,04

Composition de yaourt enrichi avec *Bifidobacterium* (g)

Glucides.....	11,34
Lipides.....	3,15
Protéines.....	3,25
Calcium.....	121,14 mg
Sel.....	0,11

pH = 4,24

Composition de Yaourt sucré (g/L)

Lipides.....	1,55
Glucides.....	12
Protéines.....	3,57
Sel.....	0,11
Calcium.....	152 mg

pH = 4,31

Gélose nutritive (GN) (g/L)

Extrait de viande.....	3
Peptone.....	5
NaCl.....	5
Agar-Agar.....	15

pH = 7

Composition du milieu M17 (g/L) (Hayek *et al.*, 2019)

Peptone.....	5
Extrait de viande.....	5
Extrait de levure.....	2,5
Acétate de sodium.....	5
Phosphate di-potassique.....	19
Sulfate de magnésium.....	0,25
Acide ascorbique.....	0,5
Tween.....	80 ml

Glucose..... 5

pH = 7

Composition de Milieu *Man, Rogosa et Sharpe* (MRS) (g/L) (Yoon *et al.*, 2023)

Peptone..... 10

Extrait de viande..... 8

Extrait de levure.....4

Glucose..... 20

Acétate de sodium..... 5

Citrate de sodium..... 2

Phosphate mono-potassique..... 2

Sulfate de magnésium heptahydraté..... 0,2

Sulfate de manganèse mono-hydraté..... 0,05

Tween 80..... 1,0 ml

Agar..... 15

pH = 6,2

Milieu Mannitol mobilité (g/L) (Emeanuru *et al.*, 2024)

Extrait de viande..... 3

Peptone10

Mannitol..... 2

Rouge de phénol..... 0,025

Chlorure de sodium..... 5

Agar..... 3

pH = 7,4

Milieu Citrate de Simmons (g/L) (Ndlovu *et al.*, 2023)

Citrate de sodium.....	2
Phosphate di-hydrogéné d'ammonium	1
Chlorure de sodium.....	5
Sulfate de magnésium.....	0,2
Bleu de bromothymol	0,08
Agar.....	15

pH = 6,8

Composition de Milieu *Triple Sugar Iron* (TSI) (g/L) (Hezil *et al.*, 2021)

Peptone.....	15
Extrait de levure.....	3
Extrait de viande.....	3
Glucose.....	1
Lactose.....	10
Saccharose.....	10
Chlorure de sodium.....	5,0
Thiosulfate de sodium.....	0,3
Citrate ferrique.....	0,2
Rouge de phénol.....	0,024
Agar.....	12

pH = 7,4

Composition de milieu *Sulfide Indole Motility* (SIM) (g/L) (Hardy, 2020)

Peptone.....	30
Extrait de viande.....	3
Fer ammoniacal.....	0,2
Thiosulfate de sodium.....	0,025
Agar.....	3,0
pH = 7,3	

Composition de Milieu *Muller Hinton* (g/L) (Whelan *et al.*, 2024)

Extrait de viande.....	17,5
Amidon.....	1,5
Agar.....	17
pH = 7,3	

Composition de milieu Chapman (g/L) (Jakubczyk *et al.*, 2023)

Peptone.....	10
Extrait de viande.....	1
Mannitol.....	10
Chlorure de sodium.....	75
Rouge de phénol.....	0,025
Agar.....	15
pH = 7,4	

Composition de Milieu Mac-conkey (g/L) (Aziz *et al.*, 2025)

Peptone.....	17
--------------	----

Extrait de bile.....	1,5
Lactose.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Rouge neutre.....	0,03
Cristal violet.....	0,001
Agar.....	13,5
pH = 7,1	

Optimisation de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaires des microorganismes

Résumé

Dans le cadre de la recherche d'alternatives naturelles aux antibiotiques face à la montée de la résistance microbienne, cette étude s'est focalisée sur l'évaluation et l'optimisation de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques. La démarche expérimentale a débuté par l'isolement de souches de bactéries lactiques à partir de produits fermentés du commerce, cultivées sur milieu MRS et M17. Les isolats ont ensuite été soumis à un criblage contre un panel de bactéries pathogènes fournies par le laboratoire d'hygiène régionale de Constantine, parmi lesquelles *Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Bacillus* ont été retenues sur la base de leur implication fréquente dans les toxi-infections. L'évaluation préliminaire par la méthode des puits en gélose a permis de détecter une inhibition variable, avec une sensibilité marquée d'*E. coli*. Un criblage secondaire en milieu liquide a ensuite été réalisé, en exposant ces pathogènes à du petit-lait fermenté pendant un mois, révélant une intensification de l'effet antimicrobien au fil du temps. Suite à un test de confrontation en co-culture, *E. coli* a été identifiée comme la souche la plus sensible, ce qui a justifié son choix pour les essais ciblés. L'optimisation de l'activité anti-*E. coli* a été entreprise par l'enrichissement du milieu avec des probiotiques commerciaux. Un plan Plackett-Burman a ensuite permis d'identifier les facteurs expérimentaux les plus déterminants dans l'augmentation de l'activité antibactérienne, tels que la source de carbone, la durée de fermentation et l'origine des souches. Enfin, une série d'expériences a été menée pour analyser l'effet d'une double exposition des bactéries lactiques à une bactérie pathogène, montrant une réponse adaptative significative. Les résultats ont démontré une nette amélioration des zones d'inhibition après optimisation, atteignant des diamètres plus larges comparés aux conditions initiales, et confirmant une augmentation de la production de substances bioactives, probablement des bactériocines. Ces observations confirment non seulement le potentiel des bactéries lactiques comme agents antimicrobiens naturels, mais suggèrent aussi leur capacité d'adaptation face à une pression microbienne prolongée, ce qui renforce leur intérêt comme alternative crédible aux traitements antibiotiques classiques.

Mots-clés : Bactéries lactiques, Activité antibactérienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, alternatives d'antibiotiques.

Président du jury : Dr. ARABET Dallel (MCA – UFM Constantine 1).

Encadrante : Dr. DERABLI Bisma (MCB - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Dr. BOUFERCHA Oumeima (MCB - UFM Constantine 1).

