



*La République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La recherche Scientifique*



Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi
*Faculté Des Sciences Exactes et des Sciences de La Nature et de la Vie
Département des Sciences de La Nature et de la Vie*

N° d'ordre :.....

N° de série :.....

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Biologie

OPTION : Microbiologie appliquée

Thème

Etude de la résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques

Présenté par :

Rezerem Samaher Et Bougadoum Rima Et Cheila Nassrine

Devant le jury :

Présidente : Mme. Malki S.	MCB	Université Oum el Boughi.
Rapporteur : M me. Kaouache S.	MAA	Université Oum el Boughi.
Examinatrice : Mme. Aberkane M.	MCB	Université Oum el Boughi.

Année universitaire : 2022-2023

Dédicaces

J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

A ma mère : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence .la source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner.

A mon père Mohamed : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être et qui m'a toujours encouragée et donné envie d'aller plus loin.

A mes très chères soeurs (Amira, Selsabile, Khadija) A mes très chers frères (Haroune, Idris) Mon cher mari Raouane Mokrani pour tes sacrifices et ton soutien moral et ta compréhension tu es.Mon épaule solide et la source de mon bonheur que dieu te garde pour moi.

A tout la famille Rezerem et Mokrani.

A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir : salwa, kanza, Roumisa, Chames, Rima, haate.

A mon Mme encadreur khaouache saliha.

A tous les collègues de ma promotion master microbiologie appliquée

Samaher



Dédicaces

Dans la lumière avec laquelle j'ai traversé la beauté de l'espoir et de la sécurité, et son cœur s'est élargi pour porter mon rêve quand le monde est devenu étroit, alors il m'a épargné les difficultés et a marché dans les ténèbres pour planter les significations de la lumière... Mon père **Zoubir**, et mon père, que Dieu prolonge sa vie.

Pour ceux qui font l'amour et plantent l'espoir dans mon cœur comme un oiseau qui vole au coin des rêves, tant que sa prière est l'adresse de mon chemin et que mes souhaits restent sur le point d'être exaucés, tant que sa main est dans ma main et le pôle de son effort et sa position me reconforte, ma mère **Salima**, que Dieu prolonge sa vie.

Au bonheur de la vie, à ceux qui sentent le confort de mon cœur avec eux, mes frères **Mouhammed, Ihab, Malak, Sadjede**.

A ma deuxième famille pour ceux qui ont participé à dessiner mon sourire, Père **Nasser**, et Mère **Abla Qurra Einhom**, qui m'ont soutenu tout au long de cette période

Mon mari est **Mouhammed Amin Aroua**

Mots de soutien et d'optimisme de mes chères moussons, mes tantes, dirigées par mes chers grands-mères et grands-pères.

Enfin ma douce jumelle, qui a accompagné tous mes universitaires du **Maine**, **Hind Boujdour**.

C'est aujourd'hui qu'il est sorti de ma vie et a adressé mes

Meilleures salutations à son professeur **Kaowache SALIHA**

Créateur des idées qu'il nous a enseignées, je prie fier de vous

Et j'apprends de vous.

Nassrine cheila



Dédicaces

Je dédie ce travail à celle qui m'a donné la vie, symbole de tendresse, à celle qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite,

À **ma mère**, à **mon père** qui m'a soutenu pour continuer mon cheminement scolaire,

À mes merveilleuses sœurs **Hadeel**, **Doaa** et **Enas**,

À mes chers frères **Faisal** et **Bassem**,

À leurs épouses **Oumaima** et **Kawthar**,

À mon mari **Fares**,

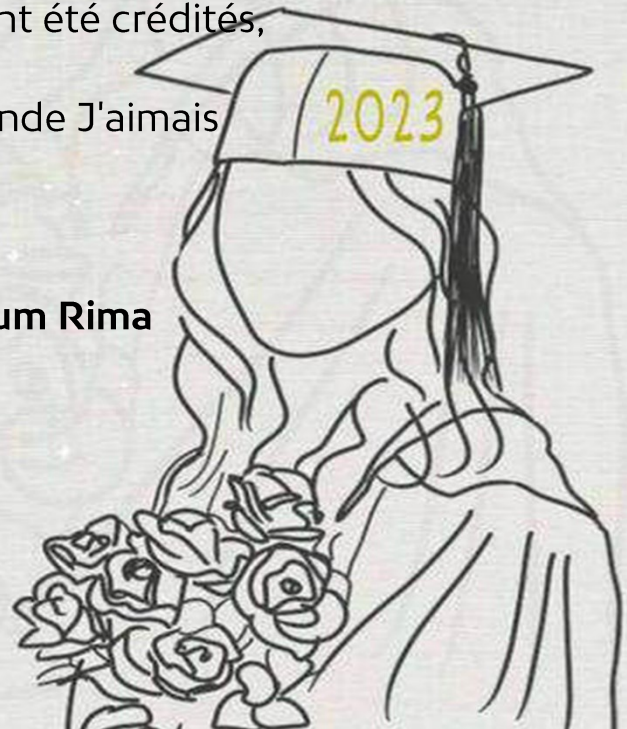
Qui m'a soutenu dans mon cheminement,

À mes professeurs qui m'ont été crédités,

À tous mes amis et proches et à tout le monde J'aimais

et qui m'aimait.

Bougadoum Rima



Remerciement

En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promotrice

Madame **khaouache S**

Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour directives et conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.

Merci aux membres de jury madame **"Malki S"** et madame **"Aberkane M"** pour leur présence nécessaire et utile d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous tenons aussi à remercier sincèrement les techniciennes de laboratoire de microbiologie. Merci pour votre service

Nous remercions aussi les personnes qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Introduction	01
Partie bibliographie	
Chapitre 1 : Les Bactéries lactiques	
1. Historique.....	05
2. Définition.	05
3. Habitat et origine des Bactérie lactique.	07
4. Caractéristique générale des bactéries lactiques.	07
5. Classification.....	08
6. Les principaux genres des bactéries lactiques.	10
6.1. Lactobacillus.	10
6.2. Le genre Streptococcus.	11
6.3. Les Entérocoques.	12
6.4. Lactococcus.....	12
6.5. Le genre Leuconostoc.	13
6.6. Le genre Bifidobacterium.	15
7. Voies métaboliques des bactéries lactiques.	15
7.1. Voie Homo- fermentaire.	15
7.2. Voie Hétérofermentaire.	16
8. Les intérêts des bactéries lactiques.	17
8.1. L'industrie alimentaire.	17
8.2. L'intérêt thérapeutique.	18
9. Effet inhibiteur des bactéries lactiques.	19
Chapitre 2 : La Résistance aux antibiotiques.	
1. Définition et classification des antibiotiques.	21
2. Mode d'action des antibiotiques.	21
2.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne.....	21
2.2. Antibiotiques actifs sur les membranes.	22

2.3. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique.	22
2.4. Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques.	22
2.5. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique.	23
3. La résistance aux antibiotiques.	23
3.1. Définition.....	23
3.2. Les Types de résistance.	24
3.2.1. Résistance Naturelle.....	24
3.2.2. La résistance acquise.....	25
3.3. Les mécanismes de Résistance aux antibiotiques.....	25
3.3.1. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques.....	26
3.3.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.	27
3.3.3. L'efflux actif (pompes d'efflux).	27
3.3.4. La perméabilité réduite.	27
3.3.5. Protection de la cible d'antibiotique.....	28
3.3.6. Piégeage d'antibiotique.....	28
3.4. Mécanisme de résistance des bactéries lactiques.....	28

Partie pratique

Matériel et méthode

1. Echantillonnage.....	32
2. Isolement des bactéries lactiques.	32
2.1. Isolement à partir du lait cru.	32
2.1.1. Evaluation de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM).	32
2.2. Récupération des bactéries lactique à partir des ferments lactiques.....	33
2.2.1. Préparation de la suspensionmère.....	34
2.2.2. Isolement et purification des souches.	35
2.2.3. La purification des souches.....	35
3. Identification des souches lactique.	35
3.1. Identification préliminaire.	36

3.1.1. Examen macroscopique.	36
3.1.2. Examen microscopique.	36
3.1.3. Test de catalase.	37
3.2. Identification biochimique.	37
4. Etude de l'antibiorésistance.	39
4.1. Préparation de l'inoculum.	39
4.2. Ensemencement par écouvillonnage (CA-SFM, 2019).	39
1. Résultats.	42
1.1. Résultat de dénombrement de FTAM.	42
1.2. Résultats de l'isolement des bactéries lactiques.	42
1.3. Identification des souches isolées.	43
1.3.1. Examen microscopique.	43
1.3.2. Identification biochimique.	45
1.4. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées.	49
2. Discussion.	51
Conclusion	57
Référence	60
Annexe	69
Résumé	74

Liste des figures

Figure 1: Arbre phylogénétique des bactéries lactiques.	9
Figure 2: Genres de bactéries lactiques importantes dans l'alimentation, montrant les changements de nomenclature de 1980 à 2000.....	9
Figure 3: Lactobacillus sp. Au microscope électronique à transmission de (GX10000)..	10
Figure 4: Streptococcus thermophilus, au microscope électronique.	11
Figure 5: Enterococcus faecalis au microscope électronique.	12
Figure 6: Lactococcus lactis au microscope électronique.	13
Figure 7: Leuconostoc mesenteroïdes au microscope	14
Figure 8: Pediococcus au microscope électronique.	14
Figure 9: Bifidobacterium sp.	15
Figure 10: Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose.	17
Figure 11: Mode d'action des antibiotiques.	23
Figure 12: Augmentation de la résistance aux antibiotiques.	24
Figure 13: Les mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	26
Figure 14: évaluation des dilutions.....	32
Figure 15: Isolement des lactobacilles à partir du lait cru et yaourt.	34
Figure 16: Récupération des bactéries lactique à partir des ferments lactiques.	36
Figure 17: Résultat de test catalase.....	45
Figure 18: Résultat de test nitrate réductase.	45
Figure 19: Résultat de test mannitol.	46
Figure 20: Résultat de test indol.	46
Figure 21: Résultat de TSI.	47
Figure 22: Résultat de citrate Simmons.....	47
Figure 23: Résultat de test VP.	48
Figure 24: Résultat de test RM.	48
Figure 25: Représentation graphique des souches isolées.	52
Figure 26: Représentation graphique de la résistance et la sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques.....	54

Liste des tableaux

Tableau 1: Les Propriétés des principales bactéries lactiques mésophiles.....	6
Tableau 2: Les Propriétés des principales bactéries lactiques thermophiles.....	6
Tableau 3: <i>Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques.</i>	8
Tableau 4: Classification des groupes du genre <i>Lactobacillus</i>	11
Tableau 5: Exemples des bactéries lactique utilisées dans la fermentation des aliments.....	18
Tableau 6: Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes.	25
Tableau 7: description la fermente lactique lyophiliser étudier.	35
Tableau 8: les différents disques d'antibiotique utilisé.	40
Tableau 9: Résultat de l'examen macroscopique des souches isolées.	43
Tableau 10: Résultat de l'examen microscopique des souches isolées.....	43
Tableau 11: Photographies de l'aspect macroscopique et microscopique des souches isolées...	44
Tableau 12: Résultats des tests biochimiques des souches.	48
Tableau 13: Identification des souches lactiques isolées.....	49
Tableau 14: Photographies des profils de résistances des souches isolées.....	50
Tableau 15: les résultats de résistance d'antibiotique des souches isolées.	51

Liste des abréviations

S : Sensible.

R : Résistante.

TSI : Triple sugar iron.

Vp1 : Vosgues—proskauer 1.

Vp2 : Vosgues—proskauer 2.

RM : Rouge de Méthyle.

P10 : pénicilline -G.

BN : Brouillon nutritif.

CT : Colistine.

CTX : Céfotaxime.

CZ : cefazoline.

GN : Gélose nutritive.

H2O2 : l'eau oxygéné.

MH : Mueller -Hintone.

MRS: Man-Rogosa et Sharp.

PH : Potentiel hydrogène.

NaOh : Hydroxyde de Sodium.

ml : millilitre.

g : gramme.

C° : Degré celsius.

CO2 : Dioxyde de carbone.

BL : Bactérie lactique.

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société française de Microbiologie.

AX: Amoxicilline.

GRAS: Generally recognised as safe.

ADN : acide désoxyribonucléique.

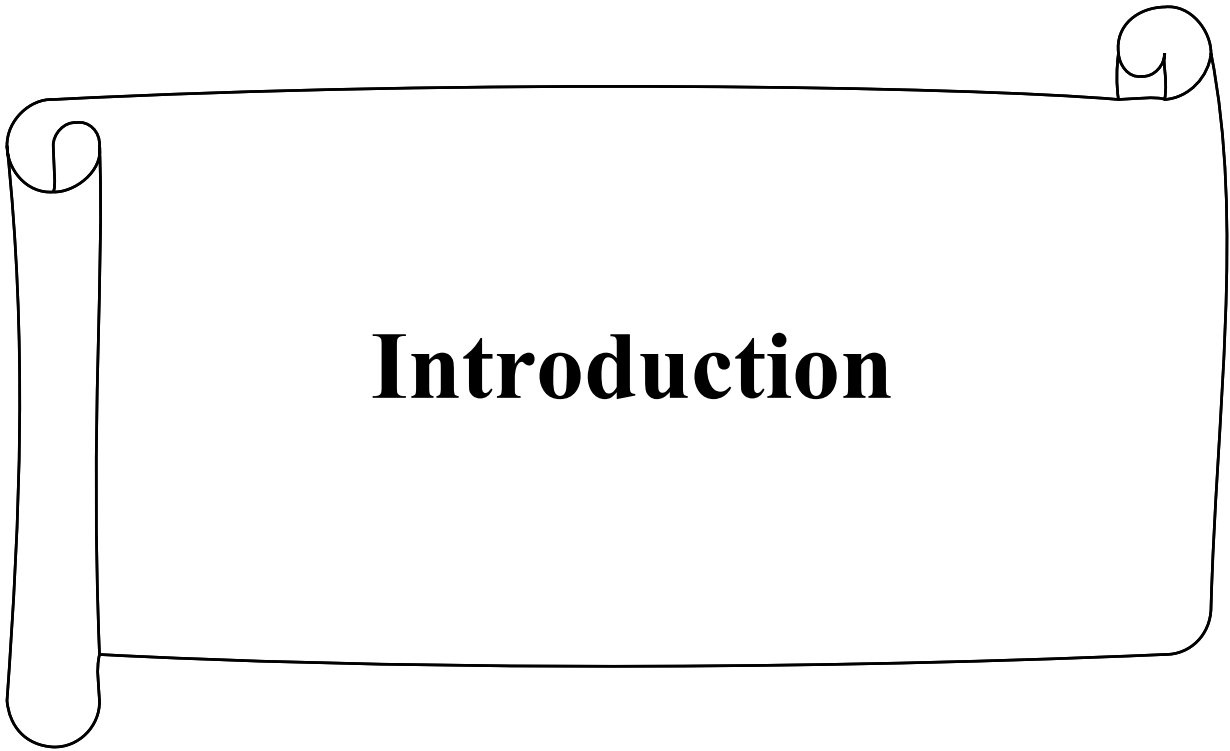
H : heure.

ARNr : Acide ribonucléique.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

ATP : Adenosine Triphosphate.

MLS : Macrolides, lincosamides, Streptogramines.



Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie, elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu.

En 1919, Orla Jensen a défini les bactéries lactiques comme des cellules procaryotes, chimioorganotrophes. Ce sont des micro-organismes Gram positifs de morphologie et de physiologie assez hétérogène qui ont en commun leurs aptitudes à produire de l'acide lactique en quantité importante à partir du lactose. Ces bactéries, très répandues dans la nature, sont donc présentes dans certains aliments comme le lait, les produits laitiers, la viande, les fruits et légumes. ..., y compris dans le tractus gastro-intestinal de l'homme et de l'animal (**Ben Abbou, 2020**).

Récemment, l'utilisation des bactéries lactique telles que : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ..., ayant des effet biochimiques et pharmaceutiques dans le monde a suscité un grand intérêt (**WunWissa et al., 2003**).

Depuis la découverte de la classe d'antibiotiques par **ALEXANDER FLEMING (1928)**, ces molécules ont été largement utilisées de manière adaptative en fonction de leurs micro-organismes spécifiques. La résistance aux antibiotiques a connu une croissance exponentielle depuis les années 1980, remettant en cause les traitements développés pour éradiquer ces infections (**Millette, 2007**). Les bactéries acquièrent une résistance aux antibiotiques si rapidement que la nouvelle industrie pharmaceutique entre en concurrence avec des souches mutantes (**Rolfe, 2000**).

Les BL sont abondants dans le tractus gastro-intestinal et sont également intentionnellement ajoutés à notre alimentation, des espèces résistantes aux antibiotiques de ces bactéries apportent des bénéfices à l'hôte (humain ou animal) en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (**viéco-saiz et al., 2019**).

De ce fait, ce travail a pour objectif de :

- ✓ Isoler et l'identifier des bactéries lactiques à partir du lait cru de vache et du yaourt.

- ✓ Récupérer des souches *Lactoccus* et *Leuconostoc* à partir du ferment lactique (CHN_11).
- ✓ Etudier la résistance des souches lactiques isolées vis-à-vis des antibiotiques.

Pour cela, Ce travail consiste en deux investigations complémentaires :

- La première partie est liée à la recherche bibliographique et se compose de deux chapitres, le premier chapitre est un aperçu sur les bactéries lactiques et le deuxième chapitre est sur la résistance aux antibiotiques.
- La deuxième partie expérimentale présente les matériels et méthodes utilisés. De plus, dans cette section, nous présentons les résultats obtenus et la discussion. Enfin, la conclusion générale résume les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.



Partie
Bibliographique



Chapitre I
Les Bactéries lactiques

1. Historique

Les gens utilisaient des aliments fermentés depuis plus de 5 000 ans (**Stiles et Holzapfel, 1997 ; Schlegel, 1999**). Les BL ont été parmi les premières bactéries à être étudiées. En 1873, Joseph Lister isole la première culture de bactéries pures, qu'il appelle *Bacterium lactis*. Ces bactéries sont utilisées pour fermenter le lait afin de produire certaines de produits laitiers différents.

Les premiers travaux sur les BL se concentraient principalement sur ceux associés aux produits laitiers, avec le temps, de nombreuses fermes commerciales de démarrage ont été développées. Cependant, BL ont été rapidement découvert dans d'autres habitats et une vision plus large du groupe a été développée (**Narvhus et Axelsson, 2003**).

2. Définition

Les bactéries lactiques sont des bactéries microaérophiles formant un vaste groupe hétérogène de bactéries ayant certains points en commun (**De Léséleuc, 2001**). Elles sont des bactéries non sporulées, Gram-positives, catalase négatives sans cytochromes, non aérobies ou aéro-tolérantes, exigeantes, tolérantes aux acides et strictement fermentatives avec de l'acide lactique comme produit final principal pendant la fermentation du sucre (**Tamang, 2014**).

Actuellement les bactéries lactiques regroupent plusieurs genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* et *Vagococcus* (**Dortu et Thonart, 2009**).

Parmi les genres de BL, *Lactobacillus* (hereto- et homo-lactique) est le genre le plus dominant dans les aliments fermentés, suivi principalement par l'espèce de *Pediococcus*. Le statut des BL dans les aliments est qualifié de généralement reconnu comme sûr. De nombreuses espèces de BL, telles que les probiotiques et les antimicrobiens, peuvent également exercer des bio-préservateurs et avoir des propriétés fonctionnelles (**Tamang, 2014**).

Le BL mésophile se développe entre 25°C et 30°C et les facteurs thermiques entre 40 et 44°C. On les trouve dans plusieurs lieux d'ordures et de fourrage, sur le pis, ainsi que dans le lait pendant la traite, car il se multiplie rapidement ; On peut donc compter jusqu'à 1 millions dans 1 ml de lait (**tableaux 01 et 02**) (**Djadouni, 2013**).

Les propriétés principales des bactéries lactiques sont représentées dans les tableaux (1et2).

Tableau 1: Les Propriétés des principales bactéries lactiques mésophiles. (Liebefeld, 2002).

Espèces	Propriétés				
	<i>Lactococcus lactis</i> ssp			<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp	
	<i>lactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>diacetylactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>mesenteroides</i>
Fermentation lactique	homofermentation			hétérofermentation	
Configuration de lactate	L+			D-	D-
Acidité produite	45°SH			25°SH	
Vitesse d'acidification.	Rapide			Lente	
T° de croissance* T° d'incubation	20-30°C (30°C)			20-30°C (25°C)	
Fermentation du citrate	Non			Oui	
Pouvoir de proteolyse	Faible				

Légendes : **D** : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration D ; **L** : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration L ; **D+L** : L'acide lactique est sous forme racémique.

Tableau 2: Les Propriétés des principales bactéries lactiques thermophiles. (Liebefeld, 2002)

Propriétés	Espèces				
	<i>Str.</i> <i>homoferment</i>	<i>Lactobacilles homofermentaires</i>			<i>Lb.</i> <i>hétérofacultatifs</i>
	<i>S. salivarius</i> <i>ssp.thermophilus</i>	<i>Lb.</i> <i>delbruecki</i> <i>ssp.lactis</i>	<i>Lb. delbrueckii</i> <i>ssp.bulgaricus</i>	<i>Lb.</i> <i>helveticus</i>	<i>Lb. Casei</i> ssp. <i>Casei Lb.</i> <i>rhamnosus</i>
Configuration de lactate	L+	D-		L+ et D-	L+
Acidité produite	35°SH	40-70° SH	55-70° SH	> 80°SH	<25°SH
T° de croissance* (T° d'incubation)	30-50°C (38°C)		20-50°C (38°C)		20-40/45°C (38°C)
Fermentation ducitrate		Non			Oui
Pouvoir de proteolyse	Faible	Moyenne		Forte	Moyenne
Utilisation	Fromage, yogourt	Fromage	Yogourt, pâtes midures	Spécialités, régionales	Culture, complémentaire pour fromage

Légendes : **D** : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration D ; **L** : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration L ; **D+L** : L'acide lactique est sous forme racémique.

3. Habitat et origine des Bactérie lactique

Les bactéries lactiques se trouvent dans plusieurs niches écologiques différentes. Elles se trouvent associées à des milieux riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait et des produits laitiers, des légumes, de la viande et du poisson. Elles colonisent le tractus gastrointestinal humain et se retrouve dans les cavités buccale et vaginale ainsi que dans les selles. Mais certaines espèces semblent être adaptées à un environnement spécifique et ne se trouvent guère que dans leurs habitats naturels (**Wenjun *et al.*, 2014**). Les bactéries lactiques avec leur présence dans la nature. Elles peuvent interagir avec le sol, l'eau, les plantes, les aliments pour animaux, les muqueuse et les intestins des animaux et des humains (**AMENSAG, 2019**).

4. Caractéristique générale des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont une grande variété d'applications dans l'industrie alimentaire. D'une part, elles sont utilisées pour améliorer la saveur des aliments fermentés ainsi que pour augmenter la valeur nutritive de ces aliments, réduire les substances nocives, augmenter la durée de conservation, etc. (**Wang *et al.*, 2021**).

Les bactéries lactiques (LAB) sont un type de bactéries Gram-positives qui utilisent les glucides comme seule ou principale source de carbone (**George *et al.*, 2018**). Ces bactéries sont généralement des coques ou des bâtonnets, et elles ont une tolérance élevée aux faibles pH.

En tant que souches fermentant, les bactéries lactiques doivent avoir plusieurs propriétés métaboliques importantes, telles que la capacité de produire de l'acide et de la saveur, la capacité d'hydrolyser les protéines, la capacité de produire des exo -polysaccharides visqueux et d'inhiber les bactéries (**Wang *et al.*, 2021**).

Les caractéristiques différentielles des bactéries lactiques sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 3: Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques. (Axelsson, 2004).

	<i>Criobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>
Formation des tétrades								
Production de gaz	+c	±	+	+	±	+	-	-
Croissance à 10°C	-	±	-				±	
Croissance à 45°C		±			-	-	±	±
Croissance dans 6.5% Na CL	ND	±	-	-	-	±	±	-
Croissance dans 18% Na CL			-		-	-	±	-
Croissance à pH 4,4	ND	±	+	+	±	±		-
Croissance à pH 9,6					-	-	-	
Acide lactique	L	DLDL	L	L	L	D	LDL	L

(+) : positif. (-) négatif.

(+/-) la réponse varie d'une espèce à l'autre, (ND) : non déterminé.

(d) : production d'acide.

L ou DL : lactique varie selon les espèces.

5. Classification

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-jensen, elle est basée sur les caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques, physiologiques et le type de la fermentation lactique : Le groupe homofermentaire, et hétérofermentaire (Khalisanni, 2011; Priyanka et prakash, 2009). (AMENSAG, 2019).

Les études d'hybridation ADN –ADN et les séquençages d'ARNr16S sont aussi devenues des éléments essentiels permettant l'identification et ainsi la classification des bactéries lactiques (figure 1) (Makhloufi, 2011).

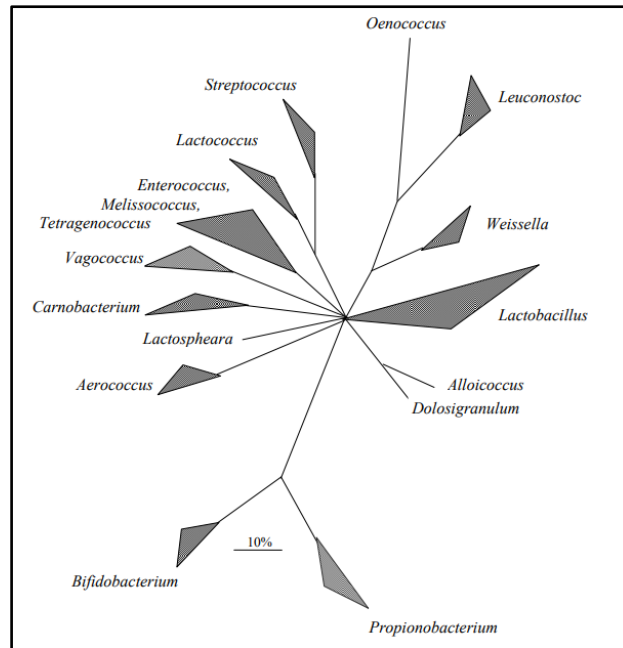


Figure 1: Arbre phylogénétique des bactéries lactiques. (Narvhus et Axelsson, 2003).

La figure suivante montre les changements de nomenclature des Genres des bactéries lactiques de 1980 à 2000.

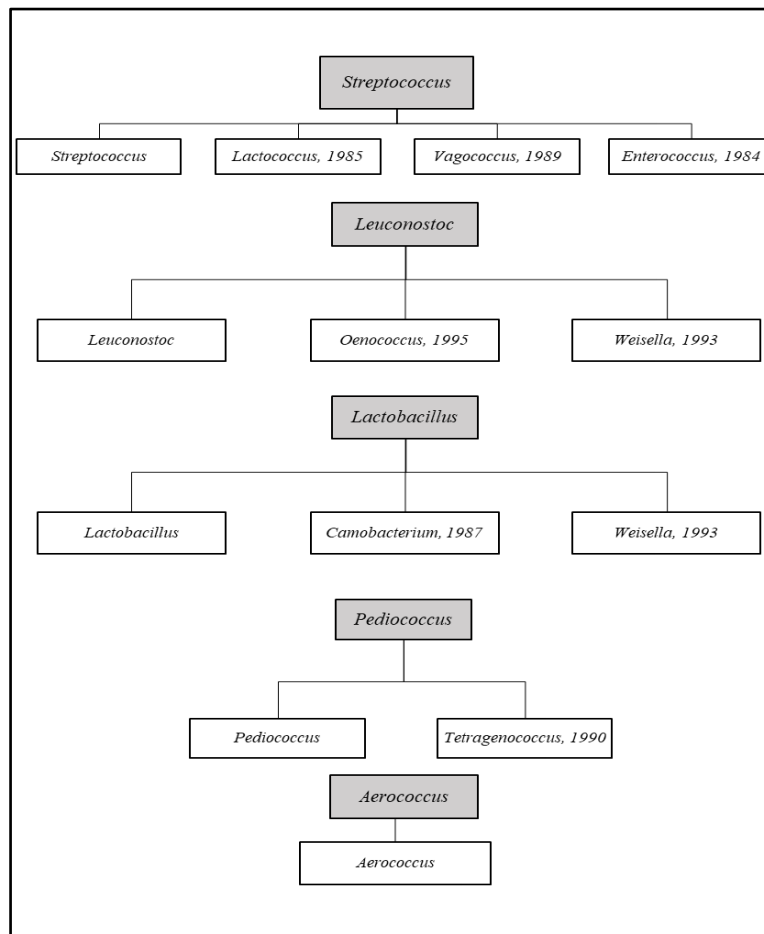


Figure 2: Genres de bactéries lactiques importantes dans l'alimentation, montrant les changements de nomenclature de 1980 à 2000. (narvhus et axelsson, 2003).

6. Les principaux genres des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques comprennent plus de 60 genres, les genres couramment utilisés dans la fermentation des aliments comprennent généralement : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Weissella*, etc. (Mocoena, 2017).

6.1. *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* présente cette forme de bacilles longs fins, groupés en chaînes, asporulés (figure 03). Ces bacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en glucides, acides aminés et acides gras, Nucléotides, vitamines et minéraux. (Khalid et Martha, 1990 ; Leclerc et al., 1994). Ils se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C et Le pH optimal de croissance se situe entre 5.5 et 6.5 (kassas, 2017).

Ce genre comprend 106 espèces valablement décrites, c'est le genre le plus étendu de l'ordre lactobacilale. Il utilise les glucides comme source d'énergie et produit de l'acide lactique comme principal produit métabolique final (Sinkiewicz, 2010).

Les lactobacilles sont largement présents dans l'appareil gastro-intestinal sain et dans les voies vaginales, ils sont impliqués dans le contrôle et le maintien du microbiote. En termes de nombre de bactéries trouvées dans les échantillons fécaux, le nombre de *Lactobacillus* est de l'ordre de 5 à 8 ufc/g. Ce nombre change en fonction de l'âge de l'hôte et des habitudes alimentaires (Sinkiewicz, 2010).

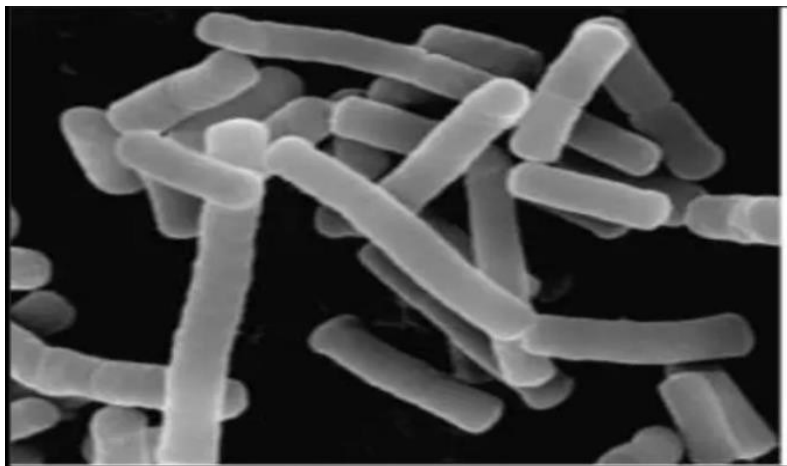


Figure 3: *Lactobacillus* sp. Au microscope électronique à transmission de (GX10000). (Boumediene, 2013).

Le tableau (4) présente la classification des groupes du genre *lactobacillus* selon leur métabolisme fermentaire : homo-fermentaire, hétéro-fermentaire facultatif, hétéro-fermentaire obligatoire.

Tableau 4: Classification des groupes du genre *Lactobacillus*. (Axellsson,1998).

Caractères	Groupe I Homofermentaires	Groupe II Hétérofermentaires facultatifs	Groupe III Hétérofermentaires obligatoires
Fermentation des pentoses	-	+	+
Glucose (production de CO ₂)	-	-	+
Gluconate (production de CO ₂)	-	+	+
FDP aldolase	+	+	-
Phosphocétolase	-	+	+
Espèces	<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. delbruekii</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. salivarius</i>	<i>Lb. Casei</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. sake</i>	<i>Lb. brevis</i> <i>Lb. buchneri</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. reuteri</i>

6.2. Le genre Streptococcus

Streptococcus est une coque à Gram positif, moins de 2 µm de diamètre, immobile, catalase négative, apparaissant en chaînes ou par paires lorsqu'il est cultivé en milieu liquide. Sa température optimale généralement autour de 37°C (De Vos *et al.*, 1980). Ce genre à l'origine des plusieurs maladies de la peau qui affectent Les humains et les animaux, et il est de trois groupes d'espèces pyogènes : *S. agalactiae*, *S. pyogenes* et *S. mitis* (*S. pneumoniae*). (Laurent, 1998)

L'espèce Streptococcus thermophilus (Figure 4), largement présente dans le lait et les produits laitiers comme agent d'acidification, possède le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) Cette espèce se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène (Tahlaiti, 2019).

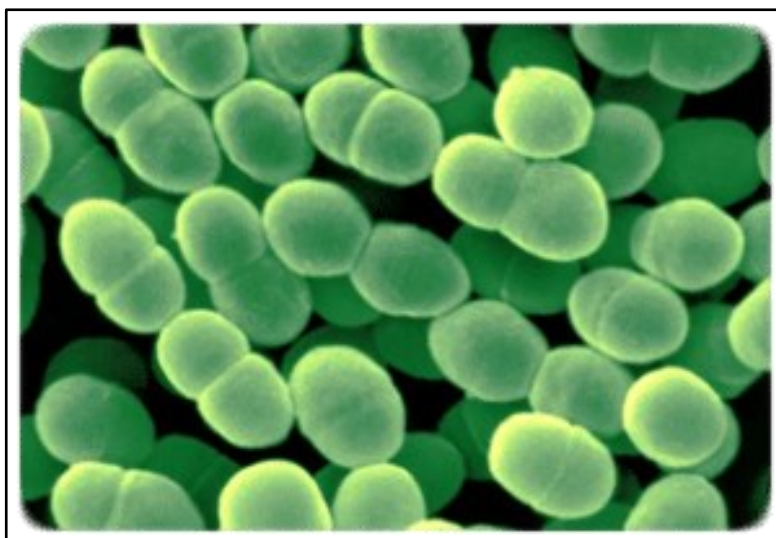


Figure 4: Streptococcus thermophilus, au microscope électronique. (Corrieu et Luquet, 2008).

6.3. Les Entérocoques

Les entérocoques sont des cocci Gram positifs, anaérobies facultatifs, à chaînes courtes et moyennes, découvert pour la première fois en 1899. Dans le tractus gastro-intestinal humain. Ils ont été reconnus (par hybridation d'AND et séquençage d'ARNr 16S) en 1984 comme un genre distinct des streptocoques (**Fior et al., 2019**). Les entérocoques se trouvent dans le sol, l'eau, les aliments, les eaux usées, les plantes, la peau humaine, la cavité buccale et le gros intestin (**Raza et al., 2018**).

Les membres du genre *Enterococcus* sont homofermentaires, produisent l'acide lactique, ils sont mésophiles, capable de se développer dans une gamme de températures allant de 10 à 45 °C, avec une température optimale de 35 °C. Certaines espèces peuvent survivre à 60 °C pendant 30 min. Ces bactéries peuvent se croître dans des conditions de : 6,5 % de NaCl, de lait renfermant 0,1 % de bleu de méthylène, de concentration en sels biliaires de 40% et dans une gamme de pH comprise entre 4,4 et 9,6 (Galvez et al., 2011). Elles sont utilisées comme probiotiques humains, pour traiter les maladies diarrhéiques causées par des pathogènes d'origine alimentaire. L'espèce *Enterococcus faecalis* (**figure 05**), se caractérise par leur grande résistance aux facteurs environnementaux (**Tahlaiti, 2019**).



Figure 5: *Enterococcus faecalis* au microscope électronique. (Wallace et al., 2003)

6.4. Lactococcus

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable, Gram positif, immobiles, anaérobies mais aérotolestants, ces bactéries mésophiles se développent dans 4 % de NaCl (**Mofredjetall, 2007; Nomura et al., 2006**).

Lactococcus lactis, anciennement connu sous le nom de *Streptococcus lactis*, généralement considérés comme non pathogènes pour l'homme. Cette espèce largement présente dans le lait, les produits laitiers et sur la surface des plantes (**Shimizu et al., 2018**).

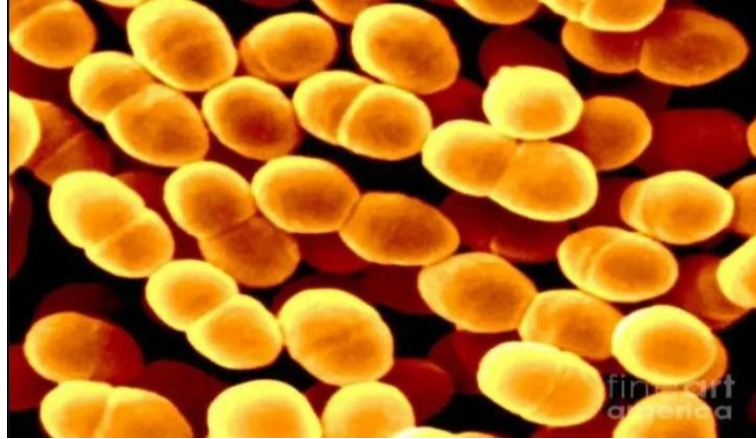


Figure 6: *Lactococcus lactis* au microscope électronique. (**Corrieu et luquet, 2008**).

6.5. Le genre *Leuconostoc*

C'est une bactérie hétéro fermentaire. L'écologie de ces micro-organismes est citée principalement en fonction de l'environnement laitier (produits laitiers, machines laitières...). Les caractéristiques biochimiques les plus importantes chez les espèces de *Leuconostoc*s sont la fermentation des sucres, la dissimilation du citrate, la formation de dextrane et la production de substances inhibitrices. Les utilisations réelles et potentielles des *Leuconostoc*s comme initiateurs d'arômes, pour améliorer la structure du fromage ou pour éliminer certains défauts de saveur (**Devoyod et Françoise, 1980**).

Leuconostoc spp. Sont des coccobacilles à Gram positif, catalase et oxydase négative, résistants à la vancomycine, avec un rôle non clairement défini dans l'infectiologie humaine. Des cas d'infection ont été rapportés précédemment mais il n'a pas été décrit d'endocardite infectieuse confirmée due à *Leuconostoc mesenteroides* (**Vàzque et al., 1998**).

Le genre *Leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides* sp.cremoris et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyl et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008**).

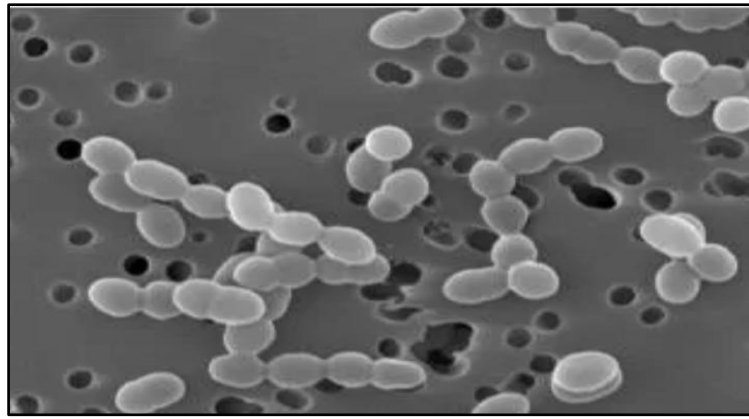


Figure 7: *Leuconostoc mesenteroides* au microscope électronique. (Wallace *et al.*, 2003)

- **Genres *Pediococcus***

Le genre *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade (**Figure 8**). Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance (**Simpson et Taguchi, 1995**). Les bactéries appartenant à ce genre productrices de bactériocines ne sont pas adaptées à la fabrication des produits laitiers fermentés de par leur manque ou leur lenteur de fermentation du lactose (**Papagianni et Anastasiadou, 2009**). En revanche, la souche *Pediococcus acidilactici* productrice de pédiocine PA—1/AcH s'est révélée être responsable de la bonne conservation de la viande en diminuant les populations de *Listeria monocytogenes* et de *Clostridium perfringens* (Rodriguez *et al.*, 2002). Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus* (**Pilet *et al.*, 2005**).

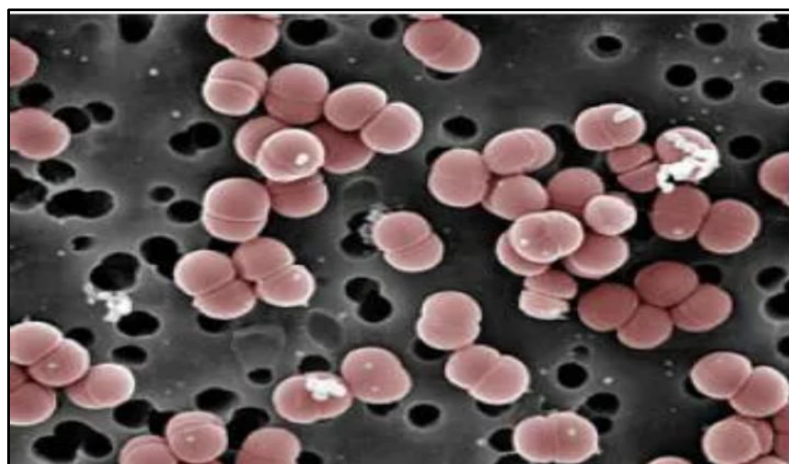


Figure 8: *Pediococcus* au microscope électronique. (Wallace *et al.*, 2003)

6.6. Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* était aussi considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal.

Ce genre est présent dans les intestins des humains et d'autres mammifères, le vagin, la cavité buccale, l'intestin postérieur des abeilles et des bourdons, les aliments fermentés et non fermentés et les eaux usées. De plus, dans ces habitats, les bifidobactéries ne constituent pas toujours une grande partie des microorganismes. A l'heure actuelle, il n'existe pas des méthodes standard pour leurs isollements (Mattarelli, 2017).

Les bifidobactéries sont des bacilles arrangés en chaînes ou en groupes, non-sporulés, immobiles, catalase (-) et non-filamenteux. La température optimale de croissance des *Bifidobacterium* d'origine humaine se situe entre 36 et 38 °C, alors que les souches d'origine animale se développent entre 41 et 43 °C. Le pH optimal pour la croissance est de 6,5 à 7 (John et Fuquay, 2011).

Le pourcentage de bases G+C % du genre *Bifidobacterium* est de 58 pour les souches de type humain, et le reste des espèces ont un pourcentage molaire de G+C compris entre 55 et 66. Le genre comprend 32 espèces décrites.

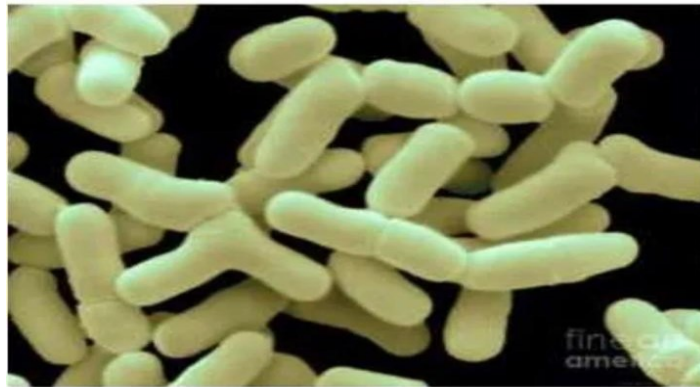


Figure 9: *Bifidobacterium* sp. (Wallace *et al.*, 2003).

7. Voies métaboliques des bactéries lactiques

7.1. Voie Homo- fermentaire

Les microorganismes présentent un métabolisme homo-fermentaire ou homolactique lorsque le lactate représente plus de 90% des produits de fermentation. La voie homo-fermentaire génère de l'ATP, ainsi que du NADH. Ce coenzyme, à l'état réduit, doit être réoxydé. En absence d'activité respiratoire, cette réoxydation passe principalement par l'activité de l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH), conduisant à la formation d'acide lactique. L'enzyme caractéristique de

cette voie est la fructose diphosphate aldolase (FDP aldolase) qui convertit le fructose 1,6-diphosphate (FDP) en glycéraldéhyde-3-phosphate et dihydroxyacétonephosphate (**Alexander et al., 2008**).

Dans les conditions défavorables (milieu appauvri, souches mutantes), Les bactérie lactiques homofermentaires montrent un métabolisme mixte, caractérisé par la production de différents acides tels que l'acide lactique, acide acétique, éthanol, acide formique et /ou dioxyde de carbone (**Mozzi et al., 2010**).

7.2. Voie Hétérofermentaire

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétéro-fermentaires (**Vandamme et al., 1996**).

La voie hétérofermentaire, communément appelée voie des pentoses phosphate se produit chez les espèces appartenant à *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. Ces bactéries dégradent les hexoses avec une cinétique de croissance lente. Les pentoses, peuvent parfois être fermentés et donnent alors une molécule d'éthanol et une molécule d'acide lactique. Outre ces produits, qui représentent plus de 80% des métabolites obtenus, on obtient également de l'acide acétique et du glycérol (**Maicas et al., 2002, Carmona, 2016**).

- **Voie bifide**

Voie bifide ou FPC (Fructose 6- phospho- cétolase).

Le métabolisme du genre *Bifidobacterium* est assez particulier, en effet il s'agirait de la voie fermentaire bifide ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase (FPC). Le fructose-6-P est scindé par la fructose-6- phosphate phospho-cétolase en érythrose-4-phosphate et en acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate afin de former de l'acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate (**Figure 10**) (**Dridier et al., 2009**).

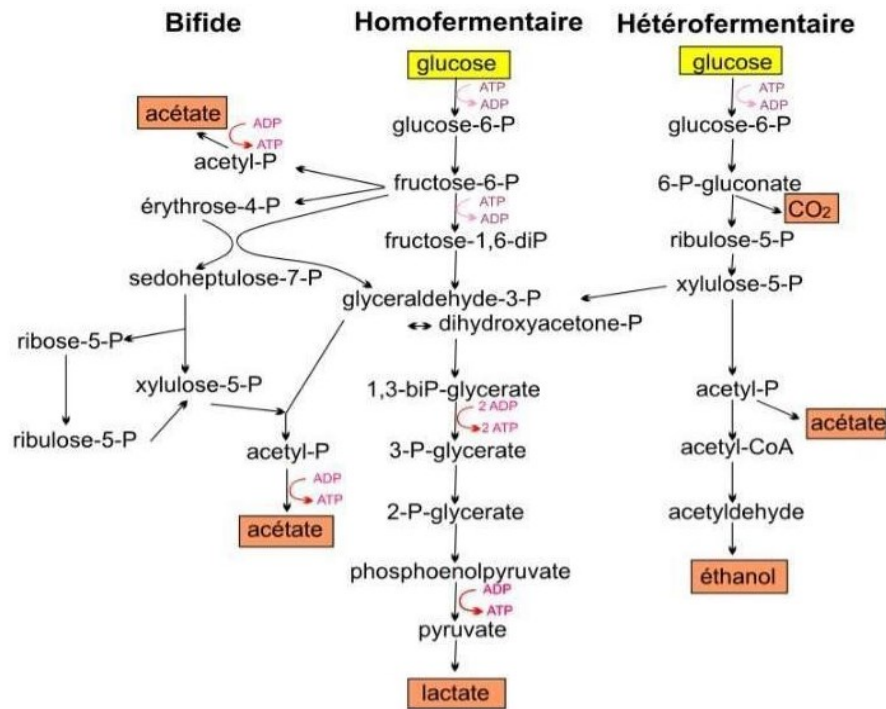


Figure 10: Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose. (Drider *et al.*, 2009).

8. Les intérêts des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans l'industrie alimentaire et dans le domaine thérapeutique.

8.1.L'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques sont intéressantes principalement en raison de leur capacité à transformer certains sucres en acide lactique, qui acidifie le milieu environnant. Il s'agit d'une propriété utilisée dans de nombreux aliments transformés, y compris la fabrication du fromage (Raynaud, 2006).

La fermentation lactique des aliments constitue l'une des plus anciennes formes de conservation de la nourriture. Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers. Ces bactéries interviennent également dans la fabrication des ensilages (Tableau 05).

L'action de la flore lactique sur la conservation d'un aliment est liée à l'abaissement de pH consécutif à la production d'acide lactique. Enfin elles ont une action déterminante sur les qualités organoleptiques des produits fermentés (texture et arôme par exemple) (Drouault et Corthier, 2001).

Tableau 5: Exemples des bactéries lactique utilisées dans la fermentation des aliments. (Drouault et Corthier, 2001).

Aliments/produit	Ingrédients	Bactérie lactique
Produits laitiers Fromages	Lait de vache, chèvre brebis	<i>Lactocoque, lactobacilles..</i>
Yaourt	Lait de vache	<i>S.salivarius sub sp. thèrmophilus. Et</i>
Lait ferme Kéfir	Lait de vache	<i>Lb.bulgaricus subsp.del</i>
Produit carné et de la pêché Saucisse sèche	Lait de vache, de jument, ou de chèvre	<i>Lb. acidophilus</i>
Saucisse semi sèche	Porc, bœuf Porc	<i>Lb. kefir</i>
Izushi	Poisson,riz,légumes	<i>Pediocoques,Lb.plantarum,</i>
Produits végétaux		<i>Lb. brevis</i>
Ogi (Nigeria)	Maïs	<i>Pediocoques</i> <i>Leu. Mesenteroides , Lb. plantarum.</i>
Olives	Olives vertes	<i>Lb. plantarum, L. lactis</i> <i>Pédiocoques, Lb. plantarum,</i> <i>Lb. brevis, Leu. Mesenteroides</i> <i>Pédiocoques, Lb. plantarum</i>
Pickles	Concombres, Chou	<i>Leu. Mesenteroides, Lb. plantarum Lb.</i>
Choucroute	Soja, Raisin, Riz	<i>bulgaricussubsp. Delbrueckii Leu. Oenos.</i>
Sauce soja		
Vin		
sake		
Pain	Farines de riz	<i>Lb. sake, Lb.homohiochi, LeuMesenteroides</i>
Idli	et De haricots	<i>Leu mesenteroides</i>
	farine de blé	<i>Lb. sanfransisco</i>

8.2.L'intérêt thérapeutique

Les propriétés de certains types de BL sont actuellement utilisées comme probiotiques. En particulier, les lactobacilles dans le traitement de l'intolérance au lactose, Prévention et réduction

de la durée des diarrhées causées par le rotavirus chez les enfants, régulant le transit intestinal, rééquilibrant la flore intestinale après une Antibiothérapie ou infection pathogène et traitement des maladies inflammatoires Digestif (Saidi, 2017).

Certains de ses rôles bénéfiques pour la santé comprennent :

- Elles développent des enzymes qui aident le métabolisme de l'hôte. Surtout pour ceux qui ont un déficit en lactase.
- Ces propriétés anti-cholestérol interfèrent en abaissant le taux de cholestérol dans le sang.
- L'interférence avec les enzymes fécales convertibles peuvent réduire les chances d'apparition du cancer du côlon en éliminant les substances pro-cancérogènes et en intervenant sur les enzymes fécales susceptibles de transformer les substances pro-carcinogènes en substances carcinogènes.
- Elles interviennent sur la suppression des tumeurs par activation des macrophages (Ammouri et Rekik, 2019).

9. Effet inhibiteur des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques peuvent empêcher l'adhésion de plusieurs bactéries pathogènes par la sécrétion d'inhibiteurs d'adhérence. Cette capacité se retrouve chez plusieurs bactéries lactiques telles que les *Lactobacillus*, *Streptococcus thermophilus* et Bifidobactéries.

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl, les bactériocines et les composés antifongiques.

Certaines souches présentent une activité antibactérienne et l'application de souches lactiques bactériocinogéniques peut être considérée comme un outil complémentaire pour prévenir le développement des bactéries pathogènes.



Chapitre 2 :

La Résistance aux antibiotiques.

1. Définition et classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances d'origine naturelle, produites par des microorganismes (champignons microscopiques et bactéries), ou de synthèse chimique, qui, à très faible concentration ont le pouvoir d'inhiber la croissance (effet bactériostatique), voire de détruire des bactéries (effet bactéricide) sans intoxiquer l'hôte (cellules eucaryotes) (**Brabbar, 2006**).

Il existe plusieurs façons de classer les antibiotiques à des fins différentes. Là Classifications les plus courantes basées sur la structure chimique, le mécanisme et le spectre d'action Exemples:

- De structures chimiques de base beta-lactamines quinolones, aminoglycosides.
- Cibles bactériennes les antibiotiques peuvent cibler les ribosomes, les parois cellulaires, etc.
- Mécanisme d'action : Inhibe la synthèse des protéines inhibe Peptidoglycane...etc.
- Spectre d'activité : groupe ou espèces bactériennes sensibles (Hnich, 2017)

2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur des mécanismes essentiels à la vie des bactéries tels que la réplication, la transcription, la synthèse des protéines, le métabolisme intracellulaire et le maintien de l'intégrité membranaire (**Dockrell et al., 2004**).

2.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne

La paroi bactérienne est une structure rigide qui entoure et protège le cytoplasme bactérien. Certains antibiotiques agissent exclusivement les surfaces sur bactériennes et n'ont donc aucun effet sur les cellules eucaryotes ou les bactéries naturellement dépourvues de parois cellulaires (**Jehl, 2003**).

Ces antibiotiques agissent interférant la synthèse du peptidoglycane pour bloquer la synthèse de paros, empêchant ainsi la formation de nouvelles bactéries et provoquant éventuellement la destruction de bactéries existantes, Os distingue to lactamines, la festomycine, la cycloserine, les glycopeptides (vancomycine et teicoplanime it bacitracime (**Dockrell et al., 2004**).

2.2. Antibiotiques actifs sur les membranes

Il peut s'agir de la membrane externe des bactéries Gram (-) ou de la membrane plasmique des bactéries Gram (+). Ce sont des antibiotiques de nature polypeptidique propriétés tensioactives permettent leur insertion entre les membranaire anormale) et permet la diffusion des substances hydrosolubles hors des destructions (**Shlaes, 2010**).

Les polymyxines agissent sur ce mode d'action. Ces antibiotiques peptidiques et cations ont une action spécifique sur les membranes bactériennes, en raison du fait que les cellules eucaryotes n'ont pratiquement pas de charges négatives exposées à la surface externe de la membrane, leurs phospholipides chargés négativement sont exposés à la surface interne de la membrane (**Zasloff, 2002**).

2.3. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique

Les antibiotiques interfèrent avec la synthèse des protéines bactériennes en agissant sur les ribosomes. Les ribosomes procaryotes sont composés de protéines différentes des ribosomes eucaryotes, et ont des coefficients de sédimentation différents, offrant ainsi la possibilité d'avoir des substances agissantes très spécifiquement sur les ribosomes procaryotes (**Nauciel et Vilde, 2005**).

Les tétracyclines et les macrolides agissent selon ce mode d'action et autres antibiotiques (lincosamides, stéptogramines, phénols et acides fusidiques) Agit au niveau de la sous-unité 50S de l'uracile et des munitions, en sous-unité 30S (**Kentarchos, 2006**).

2.4. Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques

On distingue les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse de l'ADN ou de ses précurseurs et d'autre part sur la synthèse de l'ARN : Les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones, tandis que les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines. Ces deux familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes (**Cambau et Guillard, 2012 ; Edoh et al., 2001**).

2.5. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique

Le folate est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, notamment dans la synthèse des purines et des pyrimidines qui sont incorporées dans les acides nucléiques. Les sulfamides, le triméthoprim et l'acide p- aminosalicylique peuvent inhiber la synthèse des folates. Ces antibiotiques agissent comme des antimétabolites bactériens en inhibant des étapes du métabolisme intermédiaire bactérien (Brigitte *et al*, 2007)

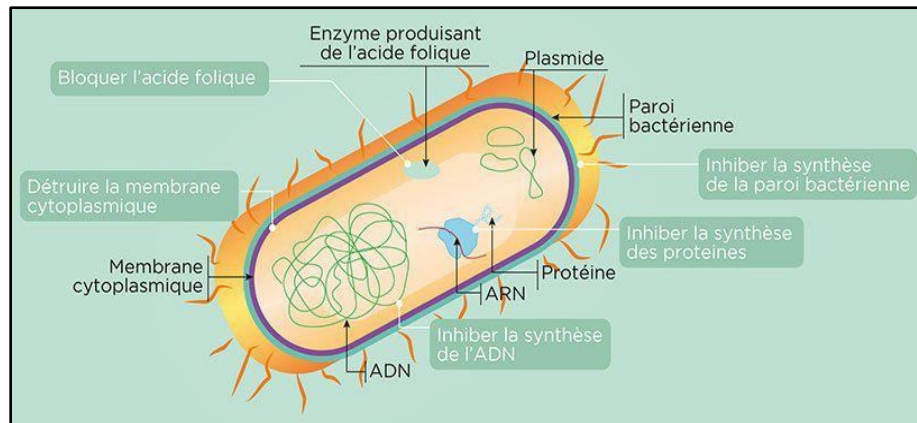


Figure 11: Mode d'action des antibiotiques. (Mainardi, 2017).

3. La résistance aux antibiotiques

3.1. Définition

Un micro-organisme est considéré résistant lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce'. Les CMI ciblées pour une sensibilité, une sensibilité intermédiaire ou une résistance microbiologique pour chaque espèce de bactéries et pour chacun des antibiotiques sont déterminées par un laboratoire indépendant, le CLSI et mises à jour régulièrement. En fait, une souche est dite résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement (Carattoli, 2001).

Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multi résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit

nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes pharmacologiques d'antibiotiques (Avorn *et al.*, 2001).

La figure suivante présente l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

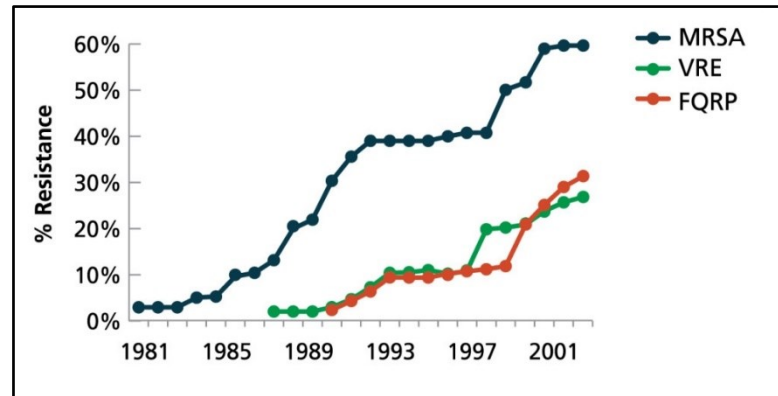


Figure 12: Augmentation de la résistance aux antibiotiques. (NNIS, 1999).

3.2. Les Types de résistance

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome, soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons. La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (Guardabassi et Courvalin, 2006).

3.2.1. Résistance Naturelle

La résistance intrinsèque (ou naturelle ou insensibilité) est un caractère qui touche toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (Konare, 2018).

Tableau 6: Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes. (d'après Reygaert, 2018).

Organismes	Résistance naturelle
Bacteroides (anaérobies)	Aminoglycosides, de nombreux β -lactames, quinolones
Tous les Gram positives Enterocoques	aztreonant aminoglycosides, céphalosporines, lincosamides
Listeria monocytogenes	cephalosporines
Tous les Gram négatives Escherichia coli <i>Klebsiella</i> spp	Glycopeptides, lipopeptides
Serratia marcescens	Macrolides
Pseudomonas aeruginosa	Ampicilline
Stenotrophomonas maltophilia	Macrolides
Acinetobacter spp	Sulfamides, ampicilline, cephalosporines del et 2 générations, chloramphenicol, tetracycline. Aminoglycosides. B-lactames, carbapenemes, quinolones
	Ampicilline, glycopeptides

3.2.2. La résistance acquise

La résistance acquise, souvent médiatisé par un support génétique faisant partie d'élément mobile (plasmides, transposons), a la faculté d'être transmissible horizontalement parfois entre espèces différentes et elle peut aussi résulter de la modification du patrimoine génétique après mutation, on dit qu'elle est extra-chromosomique, de ses causes (Konare, 2017).

3.3. Les mécanismes de Résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes (figure 03), afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la

pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la sur-production de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés, (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

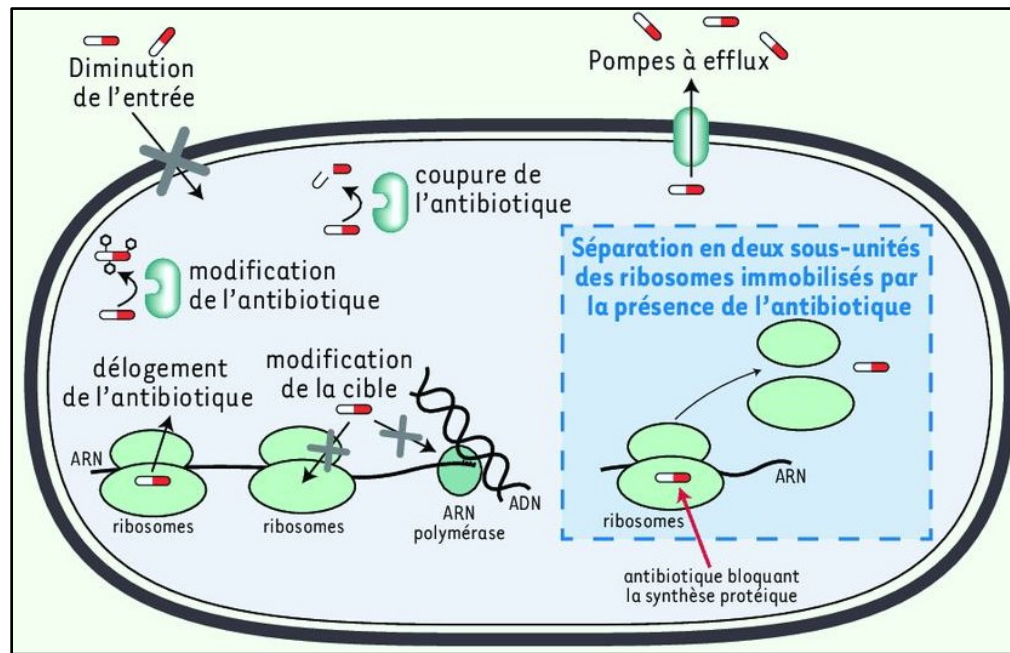


Figure 13: Les mécanismes de résistance aux antibiotiques. (**Mélie Duval, 2019**).

3.3.1. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques

C'est un mécanisme très fréquent, très important mais aussi très varié (concerne toutes les classes majeures d'antibiotiques). Des enzymes, produites par les bactéries, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant (**Pool, 2004**). L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. Il est également noté ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), les tétracyclines, la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones. Bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules (**Guardabassi et Courvalin, 2006**). L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité (**Alekshun, 2007**). Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des estimations de nucléotidylation, des réductions et des

réactions d'addition d'un glutathion Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Nikaido, 2009).

3.3.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

Il existe différents mécanismes pour modifier les cibles des antibiotiques. Premièrement, la modification structurale de la cible se traduit par une perte d'affinité pour le couple cible-antibiotique. Étant donné que l'antibiotique ne peut pas se fixer correctement à sa cible, son effet sera limité (Geslin, 1992).

La bactérie peut synthétiser une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un plasmide La bactérie peut également induire une hyperproduction de la cible il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche tetracyclines, macrolides, quinolones, lactamines. Aminosid rifampicine L'antibiotique se retrouve quotidiennement dans ses concentrations males d'utilisation puisque les cibles sont augmentées quantitativement (Courvalin *et al.*, 2006)

3.3.3. L'efflux actif (pompes d'efflux)

Les pompes d'efflux sont des transporteurs actifs. Il existe 5 familles de pompes d'efflux classées selon deux critères : d'une part la source d'énergie nécessaire à leur fonctionnement (gradient électrochimique ou hydrolyse de l'ATP), d'autre part leur structure second- tertiaire (Phan, 2008).

Les bactéries sont pourvues de systèmes leur permettant d'expulser dans le milieu extérieur des métabolites ou composés toxiques étrangers comme les antibiotiques. Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP ou d'un gradient électrochimique transmembranaire, utilisé par des pompes à efflux ou transporteurs actifs qui réduisent la concentration intracellulaire de l'antibiotique limitant l'accès à sa cible (Cattior, 2004).

3.3.4. La perméabilité réduite

Ce mode de résistance se rencontre chez les bactéries à Gram négatif du fait de leur enveloppe externe plus complexe. En effet, l'antibiotique ne peut pénétrer au niveau intracellulaire que par l'intermédiaire de canaux protéiques transmembranaires, les porines. Ce phénomène passif laisse traverser plus facilement les molécules de petites tailles, neutres et hydrophiles. Toute modification de ces porines, confère un bas niveau de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. (Fosseprez, 2013), (Jehl *et al.*, 2012).

3.3.5. Protection de la cible d'antibiotique

Ce schéma de résistance est bien connu pour les tétracyclines et a été en les quinolones et les fluoroquinolones. Il dégrade les tétracyclines produisant des protéines Tet (M) et Tet (0) qui éliminent les tétracyclines de leurs cibles ou en se liant aux topo-isomérases (cibles des fluoroquinolones) en y synthétisant des protéines (Luicie, 2016).

3.3.6. Piégeage d'antibiotique

Les bactéries peuvent être forcées de séquestrer l'antimicrobien lorsqu'il n'est pas possible d'inactiver l'antibiotique ou de réduire l'affinité pour la cible. La surproduction d'une cible ou la synthèse d'une autre cible ayant une affinité pour l'antibiotique permet de diminuer sa concentration libre sur la cible (Luicie, 2016).

3.4. Mécanisme de résistance des bactéries lactiques

Le principal mécanisme de résistance aux antibiotiques des BL a été aux pompes d'efflux de multirésistances (MDR) impliquées dans la liaison et l'expulsion de composés structurellement non apparentes (Mazurkiewicz *et al.*, 2005 ; Gueimonde *et al.*, 2013). Wachter-Rodarte *et al.* (2015) ont analysé des BL isolées du pozol (une boisson à base de maïs fermenté traditionnelle), en identifiant que les souches multirésistantes telles que *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus plantarum* présentent des pompes d'efflux actives, y compris le type ABC codé par chromosome avec le transporteur EmrA (gène ImA) D'autre part, Poelarends *et al.* (2002) ont démontré que la présence du transporteur dans *Lactococcus lactis* est associée à la résistance intrinsèque de 17 à 21 antibiotiques cliniquement pertinents, y compris des aminoglycosides (kanamycine et gentamicine), des lincosamides (clindamycine), (erythromycine), des quinolones (ciprofloxacine) et des macrolides des tétracyclines.) D'autres auteurs tels que Casado Muñoz *et al.*, (2014) ont signalé que *Lactobacillus pentosus* et *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolés d'olives fermentées sont résistants aux céphalosporines, à la streptomycine et à la kanamycine en raison de la modification de la perméabilité de la paroi cellulaire comme principal mécanisme de résistance; ils ont également souligné que les deux souches présentaient un système complexe AcrAB- Tole impliqué dans les pompes d'efflux MDR pour les β -lactamines, les fluoroquinolones le chloramphénicol la tétracycline, et d'autres gènes liés aux pompes de la superfamille portés par le

chromosome comme *ner* et MDE multi-drug efflux qui confèrent une résistance au chloramphénicol et aux fluoroquinolones.



**Partie
Pratique**



Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au « Laboratoire de Microbiologie » à l'université l'arbi ben Mhidi d'Oum El Bouaghi durant la période allant de février à mai 2023.

1. Echantillonnage

Les prélèvements de laits crus ont été effectués selon les règles des bonnes pratiques d'échantillonnage. Le travail a porté sur 3 échantillons du lait cru de vache, un échantillon de yaourt et un échantillon de ferment industriel lyophilisés pour ensemencement direct (DVS).

2. Isolement des bactéries lactiques

2.1. Isolement à partir du lait cru

2.1.1. Evaluation de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)

La Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM) appelée aussi Flore Aérobie Mésophile revivifiable (FAMR), IL s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance compris entre +20°C et +45°C.

Est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie) présentes dans un produit « le lait de vache » (Guiraud, 2003)

➤ Préparation des échantillons

Pour l'isolement et le dénombrement des souches bactériennes, il faut procéder par des dilutions décimales avec de l'eau physiologique jusqu'à la dilution 10^{-5} ; comme c'est expliqué sur la Figure

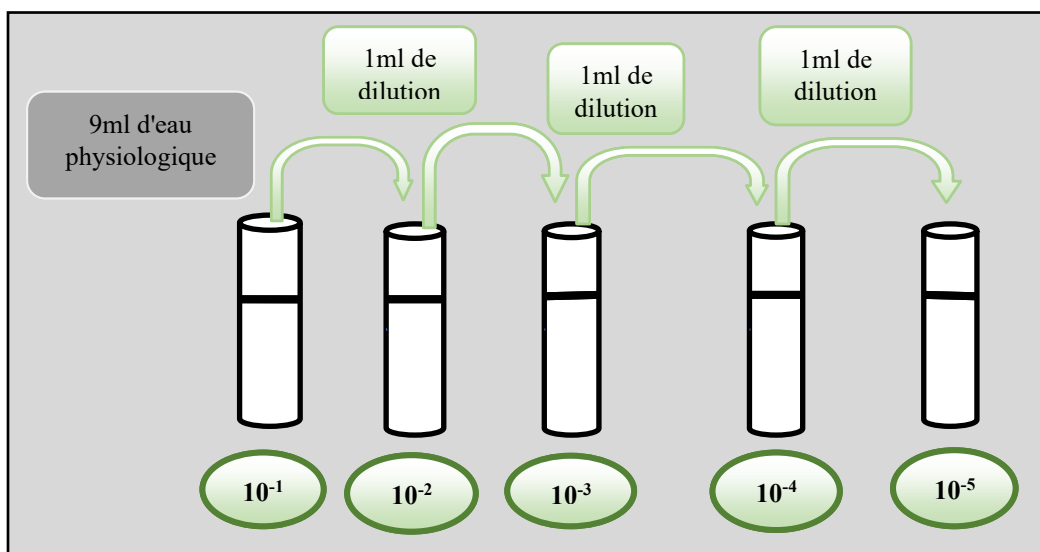


Figure 14: évaluation des dilutions.

➤ **Dénombrement**

Le dénombrement est réalisé sur gélose nutritive à partir des dilutions 10^{-2} et 10^{-3} . Le milieu estensemencé dans la masse, et les cultures sont incubées à 30°C pendant 72 heures.

2.1.2. Isolement des lactobacilles à partir du lait cru et yaourt

➤ **L'isolement**

Selon **GUIRAUD (2003)**, le milieu de culture et d'isolement de base des lactobacilles est le MRS (de Man, Rogosaet sharpe).

L'ensemencement a été effectué en surface avec 0.1 ml de la solution mère et de chaque dilution (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-5}) sur milieu gélose sélectif MRS. Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 h.

➤ **La purification**

C'est une étape très importante et très délicate, qui demande beaucoup de temps, puisqu'il s'agit d'un prélèvement qui abrite des milliers de microorganismes, et c'est de la pureté des cultures que va dépendre le reste de travail. La purification des souches se fait par des passages successifs et alternés en milieu liquide, puis en milieu solide jusqu'à l'obtention au sein d'une boîte de Pétri de colonies identiques par l'aspect et la couleur. Après plusieurs passages sur milieu gélosé, la souche est en général purifiée et nous procédons au test d'identification.

Pour la purification nous avons utilisé les milieux sélectif MRS (bouillon et gélose). Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 48 heures. Pour s'assurer de leur pureté, une coloration de Gram suivi d'une observation microscopique est effectuée à chaque étape et pour chaque souche.

➤ **Conservation des souches sélectionnées**

Après avoir sélectionné les souches bactériennes, nous passons à leur conservation en tubes sur gélose incliné et sur bouillon MRS dans des eppendorfs stériles, qui ont ensuite été incubée à 30°C , lorsque la croissance était visible, les tubes étaient placés à 4°C ou ils ont été conservés durant plusieurs semaines (**Ben ABBOU, 2020**).

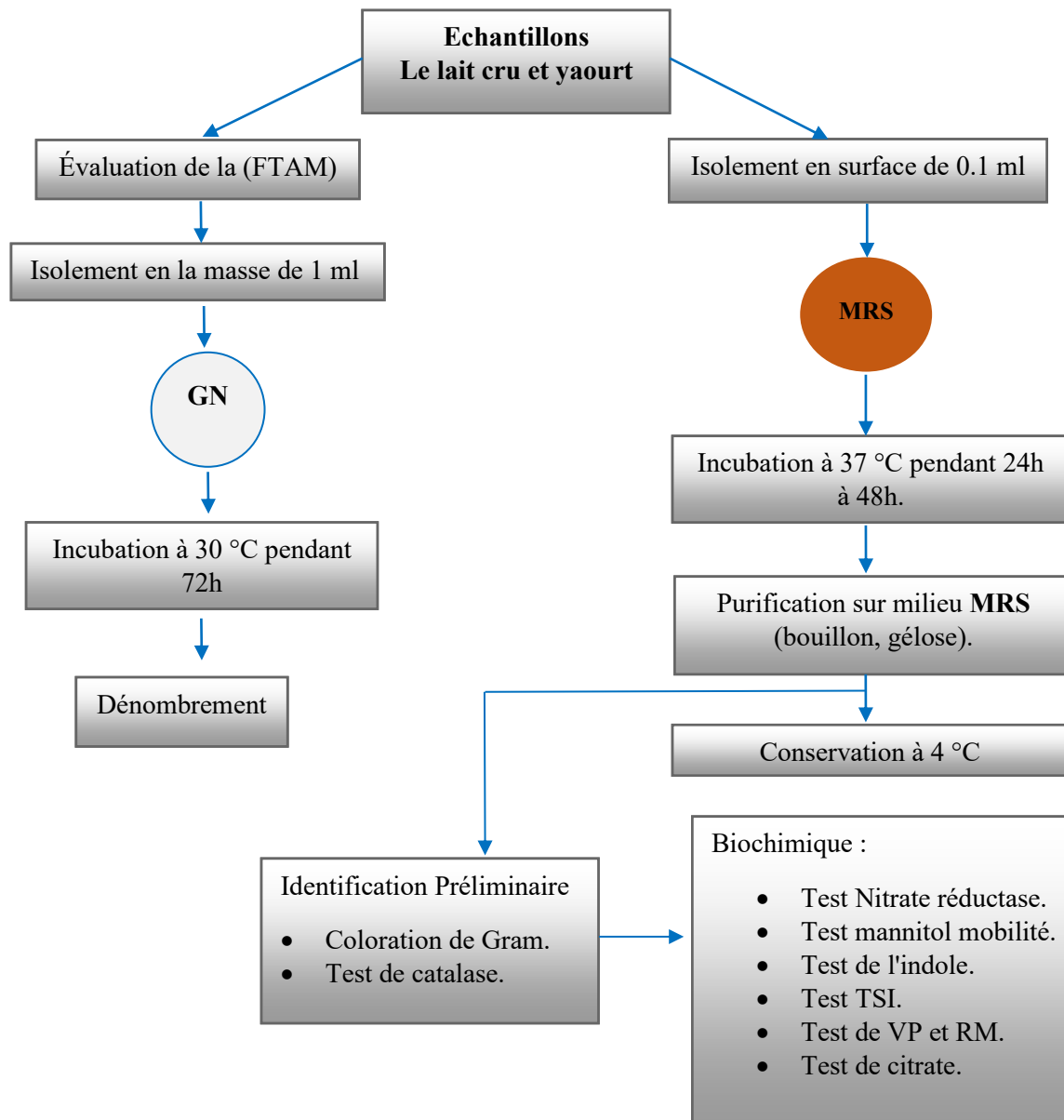


Figure 15: Isolement des lactobacilles à partir du lait cru et yaourt.

2.2. Récupération des bactéries lactique à partir des ferments lactiques

Dans cette étude nous avons utilisé l'échantillon de ferment industriel lyophilisés pour ensemencement direct (DVS).

Les ferments mésophiles sont majoritairement composés de lactocoque de sous espèces variées, dont la température optimale de croissance est d'environ 30°C. Ces ferments peuvent être

produits de façon mixte, par combinaison prédéfinie de plusieurs microorganismes, ou en culture pure (Champagne, 1998).

Tableau 7: description la fermente lactique lyophiliser étudié. (www.chr-hansen.com, s.d.) (Voir annexe 06).

Fabricant	Appellation commercial	Description
Chr.Hansen	CHN -11	Ferments pour fromage : culture de souche mésophiles aromatique et acidification rapide avec un taux d'inoculation faible.

2.2.1. Préparation de lasus pensionnière

Nous avons introduit 0.5 g de ferment aseptiquement dans un tube stérile contenant 4.5 ml d'eau peptonée tamponnée. Le mélange est ensuite agité au vortex. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) correspondant à la dilution 10^{-1} et 10^{-2} (Lebres *et al.*, 2002).

Nous avons utilisé l'eau peptonée tamponne afin d'obtenir une meilleure culture non encombrée sur milieux gélose ce qui permettra par la suite un bon isolement des différentes souches à partir des cultures mixtes.

2.2.2. Isolement et purification des souches

L'ensemencement a été réalisé en surface par 0,1 ml de chaque dilution sur différents milieux de culture spécifiques aux bactéries lactiques : le milieu MRS (Man Rogosa Sharp) et le milieu M17. Les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C pendant 24 à 48 heures.

On obtient des colonies distinctes qui vont servir par la suite à effectuer les différentes étapes d'isolement et de repiquages des souches lactiques afin de l'identifier.

2.2.3. La purification des souches

La purification des colonnies (qui présente un aspect caractéristique à celui des bactéries lactiques) a été réalisée par des repiquages successifs sur le milieu MRS (bouillon et gélose) et la gélose M17. L'incubation des bactéries est faite à 30°C pendant 24h.

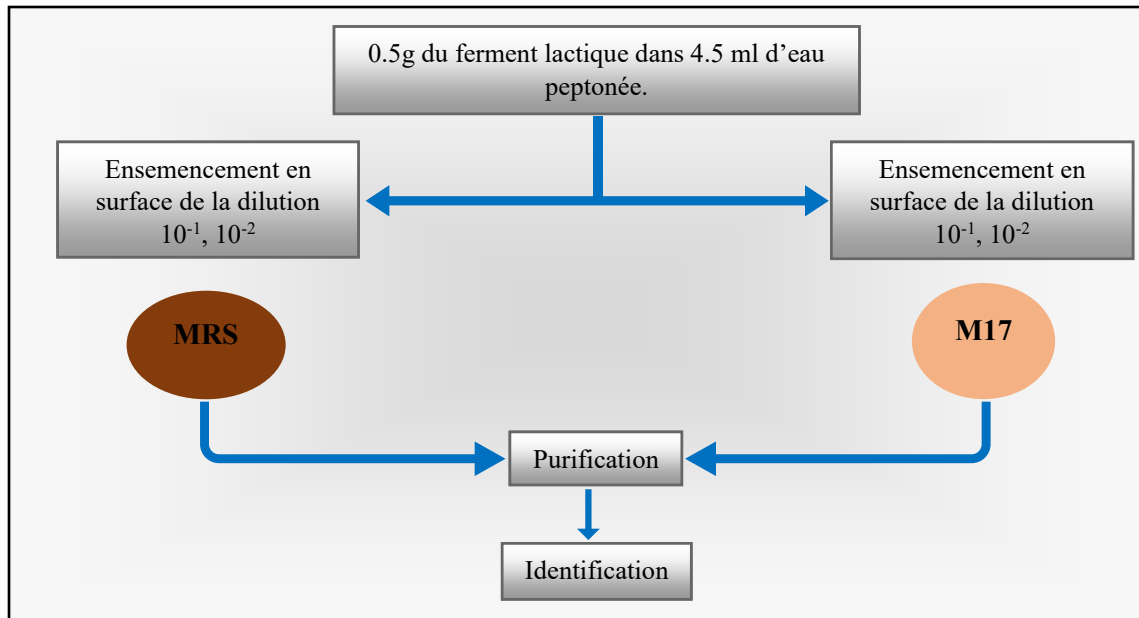


Figure 16: Récupération des bactéries lactique à partir des ferments lactiques.

3. Identification des souches lactique

3.1. Identification préliminaire

Pour s’orienter pendant l’identification des souches, il faut exploiter les caractères de différenciation des genres bactériens. Le choix de tests biochimiques à effectuer est fait en se basant sur l’examen macroscopique, la coloration de Gram et test de catalase.

3.1.1. Examen macroscopique

Il s’agit de décrire l’aspect des colonies à savoir leur forme, leur couleur et leur texture.

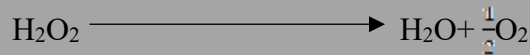
3.1.2. Examen microscopique

Il est basé sur l’observation microscopique qui permet de faire une étude morphologique des cellules d’une espèce microbienne.

- **Examen à l’état frais :** C’est une technique rapide et facile qui permet de voir la bactérie vivante et d’apprécier sa mobilité, sa morphologie et son mode de groupement (**Aouissi, 2010**)
- **La Coloration de Gram :** La coloration de Gram est la méthode la plus couramment utilisée dans l’étude et la classification des bactéries en fonction de la composition de leur paroi.

3.1.3. Test de catalase

La catalase est un enzyme présent chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs (Delarras, 2014). Elle permet la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 ; produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries) :



Mode opératoire

Placée sur une lame une goutte d'eau oxygénée et mettre une colonie en suspension. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la Catalase : test Catalase +.

3.2. Identification biochimique

➤ Test de Nitrate réductase

Ce test permet la mise en évidence de la production d'une enzyme respiratoire (Nitrate réductase), qui réduit nitrate en nitrite par la bactérie à tester.

On effectue un ensemencement sur bouillon nitraté, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, par quelque goutte de la suspension bactérienne. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation ajoute 3 à 5 gouttes du réactif nitrate 1 puis réactif Nitrate 2, puis l'agitation et l'observation suivant :

- Le milieu devient rouge ou rose, les nitrates sont réduits en nitrites : Nitrates-réductase positif.
- Le milieu reste incolore, on ajoute un peu de poudre de zinc : Le milieu reste incolore ; Nitrate-réductase positif.

➤ Test mannitol mobilité

Cette expérimentent a permis d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.

L'ensemencement des souches a été réalisé en perçant centralement le fond de la gélose avec une pipette pasteur.

La fermentation du mannitol a fait passer la couleur du milieu du rouge au jaune. Les bactéries mobiles se déplacent à partir de la ligne d'ensemencement créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de strie d'ensemencement. (Gerhardt et al., 1994).

➤ **Test de l'indole**

Ce test s'effectue en introduisant dans de l'eau peptonée exempte d'indole quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur incubé à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation ajoutée de réactif de Kovacs. La couche alcoolique se sépare de la couche aqueuse et se colore alors en rouge : le test est indole +, soit elle est de couleur jaune (couleur de réactif) : le test est indole - (Dellaras, 2014).

➤ **Test TSI**

Ensemencer à la pente de milieu TSI par une strie longitudinale, puis le culot par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur stérile, à partir de la suspension bactérienne. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

- Une coloration jaune de la pente indique un lactose +.
- Une coloration jaune du culot indique un glucose +.
- Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose +.
- S'il Yaune couleur noire, bulle de fissures dans le culot cela montre une H₂S positif et gaz positif, successivement.

➤ **Test de VP et RM**

La mise en évidence des voies fermentaires est de grande utilité pour le diagnostic des microorganismes. Ce test opéré à partir d'une culture sur milieu Clark et Lubs qui servira à la détermination des réactions de (VP) et (RM). Ensemencer un tube contenant le milieu Clark et Lubs à l'aide de quelques gouttes de la suspension bactérienne, puis incubé à 37°C pendant 24 h, le lendemain verser la moitié du tube dans un autre tube stérile :

- L'un servira à la recherche de la réaction VP, après adjonction des réactifs VP1, puis VP2, attendre environ 15 minutes puis noter la couleur, si elle vive au rouge orangé, il s'agit d'une réaction positive.

- L'autre servira à la recherche de la réaction RM, après adjonction du réactif RM, s'il ya virage de la couleur au rouge, il s'agit d'une réaction positive.

➤ **Test de citrate**

Le milieu citrate de Simmons ne contenant aucune source de carbone que le citrate. Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation de citrate comme seule source de carbone, par certaines souches bactériennes ensemencer le milieu citrate de Simmons par strie sur la pente. Incubé à 37°C pendant 24 heures. L'utilisation du citrate devrait donc se traduire par une alcalinisation du milieu, donc citrate positif (Joffin *et al.*, 2006).

4. Etude de l'antibiorésistance

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par l'antibiogramme standard : réalisé selon les recommandations de comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie CA-SFM (2010).

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitative (Sensible S, sensibilité modérée MS, Résistante R). Et d'orienter l'antibiothérapie. Il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé.

4.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune (18 heures), Les colonies ont été suspendues dans 2,5 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une culture bactérienne avec une turbidité de 0,5 McFarland. (Voir Annexe 05).

4.2. Ensemencement par écouvillonnage (CA-SFM, 2019)

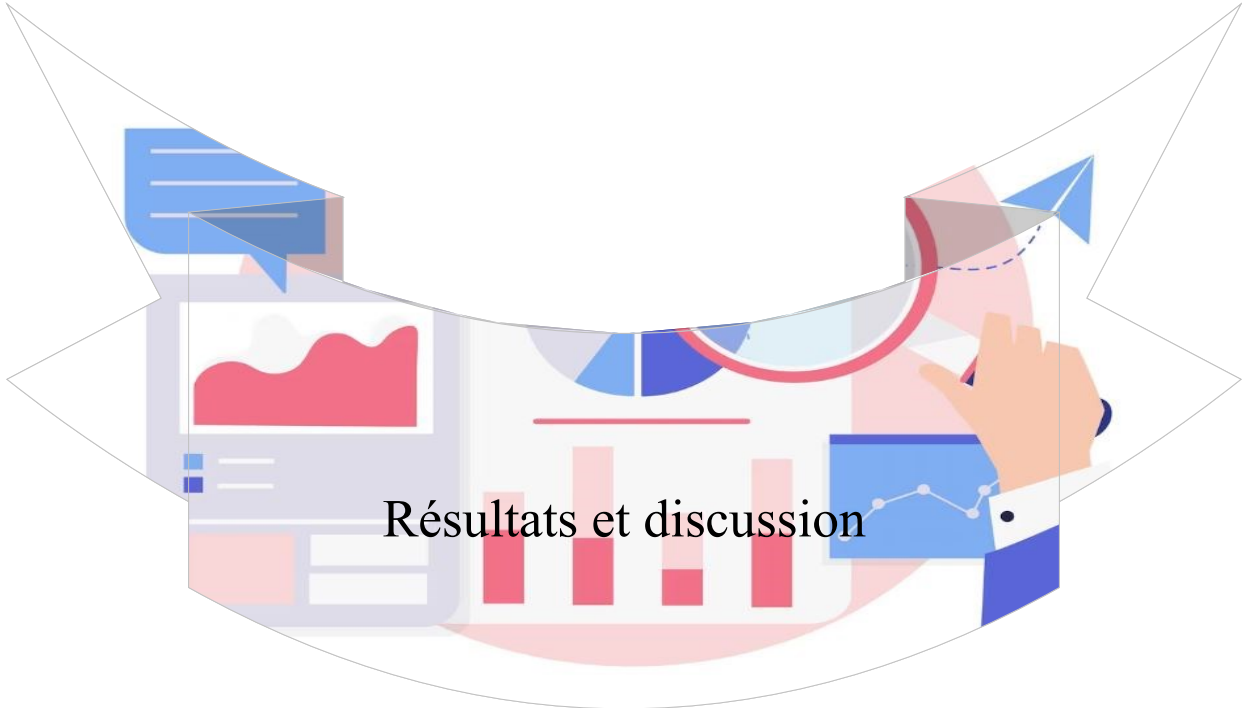
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- Essorer l'écouvillon en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;
- Sur une boîte de pétri contenant la gélose de Muller-Hinton, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas et en stries très serrées.
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
 - ✓ Déposer les disques d'antibiotiques sur la gélose à l'aide d'une pince stérile appuyant doucement afin d'assurer un contact uniforme avec le milieu.
 - ✓ Laisser les boîtes 20 minutes à température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique, puis les incuber pendant 18-24 heures à 37°C.
 - ✓ La lecture se fait en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition. Comparer ces résultats aux valeurs critiques de résistances (**Bouguerra, 2021**).
 - ✓ Classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible ($\geq 21\text{mm}$), modérément sensible (16 - 20 mm) et Résistante. ($\leq 15\text{ mm}$)
 - ✓ Interpréter les phénotypes de résistance aux antibiotiques.

Dans cette étude, nous avons utilisé 05 antibiotiques, appartiennent à différentes familles représentées dans le tableau suivant.

Tableau 8: les différents disques d'antibiotique utilisé.

Antibiotique	Charge/disques	Famille	Mécanisme d'action
Pénicilline (P)	10 μg	Bétalactamine	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane.
Amoxicilline (Ax)	25 μg		
Céfotaxime(CTX)	30 μg		
Céfazoline (CZ)	30 μg		
Colistine (CT)	10 μg	Polymyxine	Inhibition de la synthèse de paroi.



Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Résultat de dénombrement de FTAM

Le résultat de La numération de la flore aérobie mésophile totale a révélé des valeurs de 97×10^3 , 162×10^3 et 154×10^3 UFC/ml, avec une moyenne de 137×10^3 UFC/ml.

1.2. Résultats de l'isolement des bactéries lactiques

➤ Sur le milieu MRS

Les colonies apparentes sur ce milieu sont de taille variable, de couleur blanc brillant, de forme circulaire, lenticulaire. Nous avons isolées 5 souches et après la coloration du Gram et le test de catalase effectués sur ces souches, nous avons obtenus seulement 2 souches lactiques S1 et S2 (tableau).

➤ Sur le milieu M17

Les colonies obtenues sur ce milieu sont de taille variable, de couleur blanche et blanche crème, de forme circulaire ou punctiforme, plate ou bombé a pourtour régulier. Nous avons sélectionné 5 souches lactiques : Gram positif, catalase négatif (F1, F2, F3, F4, F5) (tableau).

Une contamination bactérienne s'est produite pendant le processus d'isolement à partir du yaourt dans le milieu MRS.

Tableau 9: Résultat de l'examen macroscopique des souches isolées.

Echantillon	Milieu d'isolement	Souches	Caractères cultureux
Lait cru	MRS	S1	Colonies blanches forme <i>cocccbacilles</i> à contour régulier.
		S2	Colonies blanchâtres, petite taille. À contour régulier.
Ferment lactique	M17	F1	Colonies circulaires, de petite taille (1 mm de diamètre), La couleur blanche de surface, lisse légèrement bombées et de contour régulier.
		F2	Colonie blanche crème, circulaires. Lisses de petite taille.
		F3	Colonies lenticulaires, lisse. Blanches, petite à contour régulier
		F4	Colonies banches /trop petit.
		F5	Colonies blanches circulaires, bombée. À contour régulier

1.3. Identification des souches isolées

1.3.1. Examen microscopique

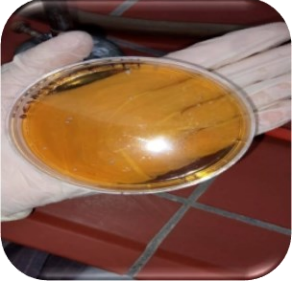

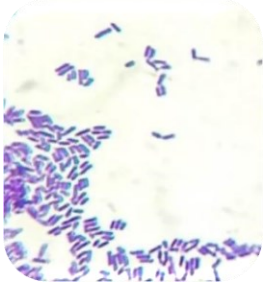


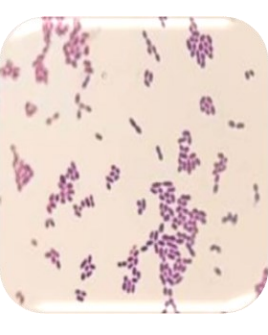

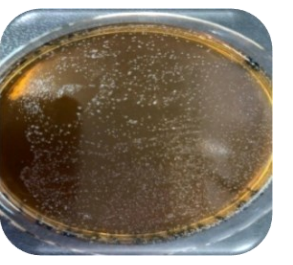
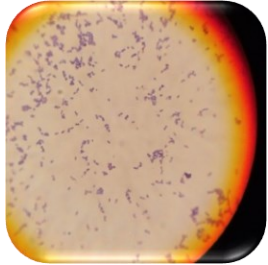

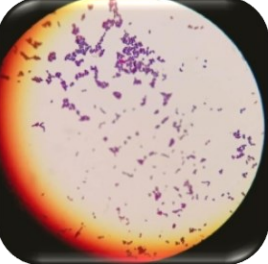
L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis d'observer différents aspects de coques et bacilles Gram positif. Les résultats de l'examen microscopique des souches est représenté dans la figure n et le tableau n

Tableau 10: Résultat de l'examen microscopique des souches isolées.

Souches	Aspect microscopique		
	Gram	Forme	Association des cellules
S1	+	bacille	Courte chaîne
S2	+	bacille	Petit chaîne
F1	+	Ronde	Association en paire.
F2	+	Ronde	Court chaîne
F3	+	Ronde	Court chaîne
F4	+	Coque	Petit chaînette
F5	+	Ronde	Court chaîne

L'ensemble de résultats macroscopique et microscopiques sont présenté dans le tableau.

Tableau 11: Photographies de l'aspect macroscopique et microscopique des souches isolées.

Milieu d'isolement	Souches		
MRS	 <p data-bbox="570 716 607 747">S1</p>	 <p data-bbox="904 716 941 747">S2</p>	
M17	 <p data-bbox="570 1104 607 1136">F1</p>	 <p data-bbox="904 1104 941 1136">F2</p>	
	 <p data-bbox="570 1430 607 1461">F3</p>	 <p data-bbox="904 1430 941 1461">F4</p>	
	 <p data-bbox="737 1749 774 1780">F5</p>		

1.3.2. Identification biochimique

➤ Test catalase

Nous avons remarqué une absence de dégagement de bulles d'air, ce qui confirme que toutes les souches testées sont catalase négatif (**figure 17**).

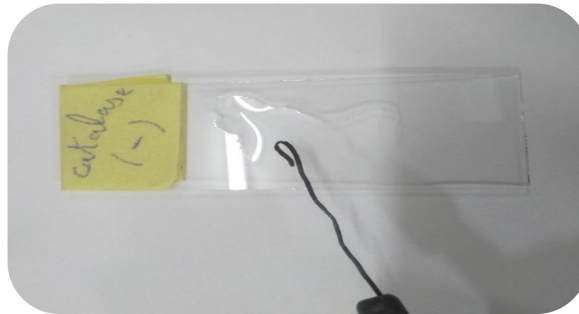


Figure 17: Résultat de test catalase.

➤ Test nitrate réductase

Après l'ajout des réactifs Nit1 et Nit2, le milieu devient incolore, mais après l'ajout de la poudre de zinc, nous avons pu observer une coloration rouge du milieu. Donc les souches sont nitrate réductase négatif (**figure18**).

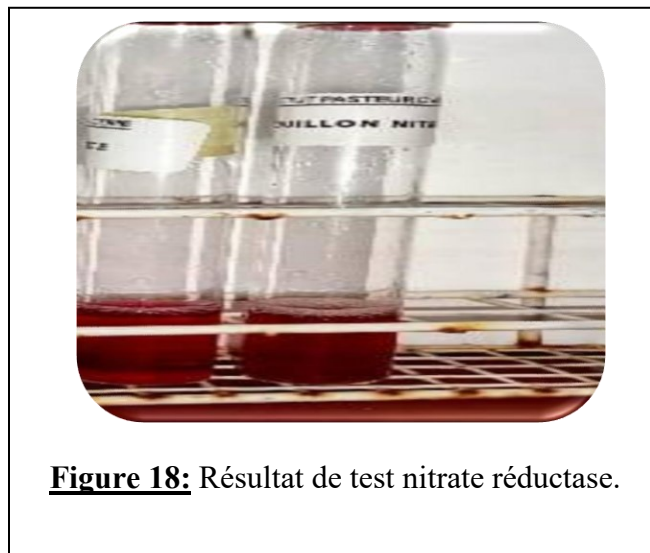


Figure 18: Résultat de test nitrate réductase.

➤ Test mannitol

Le virage de l'indicateur coloré rouge de phénol du rouge au jaune témoigne l'utilisation du mannitol. De plus, la mobilité des souches est avérée par la formation de voiles autour de la piqûre

centrale avec un trouble du milieu. Les souches testées présentaient divers aspects. Certaines sont immobiles et mannitol⁺ ; S1 et S2 et d'autres sont immobiles et mannitol⁻ (**figure19**).

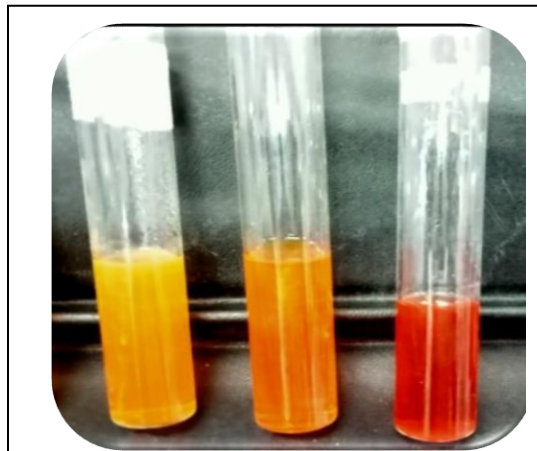


Figure 19: Résultat de test mannitol.

➤ 3.2.4. Test indol

Après l'ajout du réactif de Kovacs, nous n'avons pas observé l'anneau rouge donc, toutes les souches ne produisent pas l'indol à partir de tryptophane (**Figure 20**).

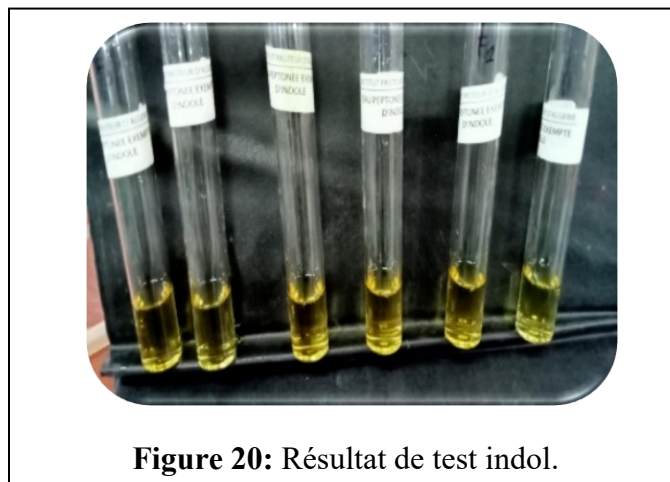
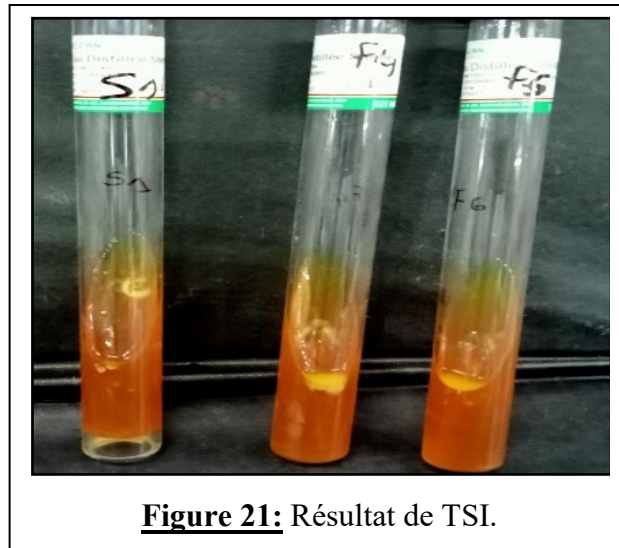


Figure 20: Résultat de test indol.

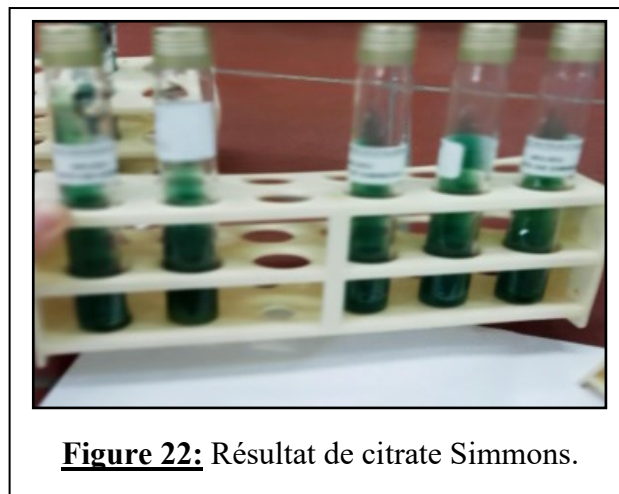
➤ Métabolisme glucidique : TSI

Le test a donné des résultats positifs pour toutes les souches isolées, ce qui indique la dégradation du lactose, du saccharose et du glucose avec la production de gaz (S1, S2 et F3) et sans production de H₂S (**figure 21**).



➤ **Test de citrate Simmons**

L'utilisation du citrate se traduit par un virage au bleu du milieu. Certaines souches sont citrate⁺ (S1, S2, F1, F2 et F4), d'autres par contre sont citrate⁻ (F3 et F5) Donc pas d'utilisation du citrate (coloration verte).

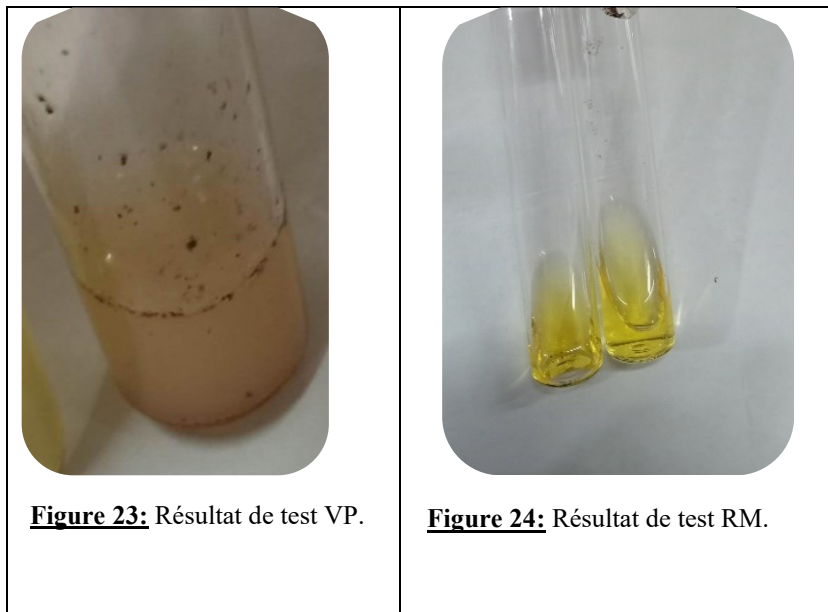


➤ **Test de RM et VP**

La voie des acides mixtes est mise en évidence après ajout du réactif de RM dans le milieu. Une coloration rouge désigne un RM⁺ c'est-à-dire une fermentation des acides mixte. Une coloration jaune est un résultat négatif. Toutes les souches isolées sont RM⁺ (Figure).

La voie du butylène glycolique est mise en évidence après ajout des réactifs VP I et VP II. Une coloration rouge témoinne d'un VP⁺ (S1, S2, F3 et F5) et la réaction négative est révélée par l'absence de la coloration rouge F1, F2 et F4(Figure).

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arôme (tels que le diacétyle et CO₂) des divers produits laitiers.



Les résultats des tests biochimiques sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 12: Résultats des tests biochimiques des souches.

Souche	S1	S2	F1	F2	F3	F4	F5
Cultures	MRS	MRS	M17	M17	M17	MRS	MRS
Lactose/saccharose	+	+	+	+	+	+	+
Culot Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Gaz (CO ₂)	+	+	-	-	+	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	+	+	-	-	-	-	-
Mobilité	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-
Citrate Simmons	+	+	+	+	-	+	-

RM	-	-	-	-	-	-	-
VP	+	+	-	-	+	-	+

Positif + /negatif -

L'identification présomptive des souches (tableau) a été effectuée après avoir comparé les caractères étudiés de nos souches avec ceux des bactéries de référence relevés sur **Joffin et al. (2001)**.

Tableau 13: Identification des souches lactiques isolées.

Code des souches	Genre
S1	<i>Lactobacillus</i>
S2	<i>Lactobacillus</i>
F1	<i>Lactococcus</i>
F2	<i>Lactococcus</i>
F3	<i>Leuconostoc</i>
F4	<i>Lactococcus</i>
F5	<i>Leuconostoc</i>

1.4. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées

Nous Avon testé la résistance des BL isolées (à l'exception du genre *Lactobacillus* gâtés lors de leur conservation) vis à vis 5 antibiotiques et la mesure de diamètre de la zone d'inhibition de chaque souche pour chaque antibiotique testé permet de caractériser les souches comme étant Sensible (≥ 21 mm), modérément sensible (16 - 20 mm) et Résistante. (≤ 15 mm).

Les tableaux suivants montrent les résultats de l'antibiorésistance des souches lactiques isolées.

Tableau 14: Photographies des profils de résistances des souches isolées.


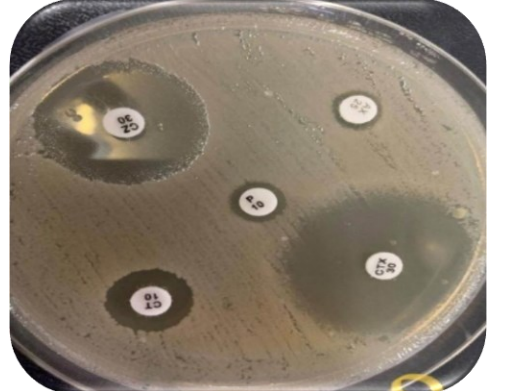

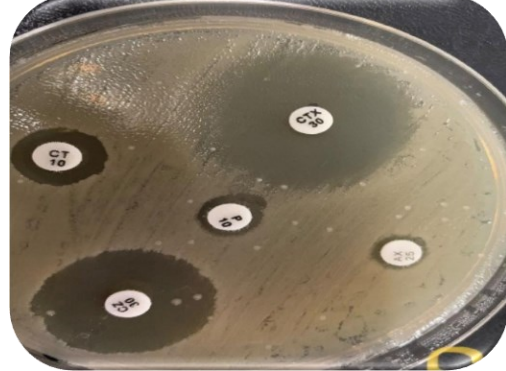
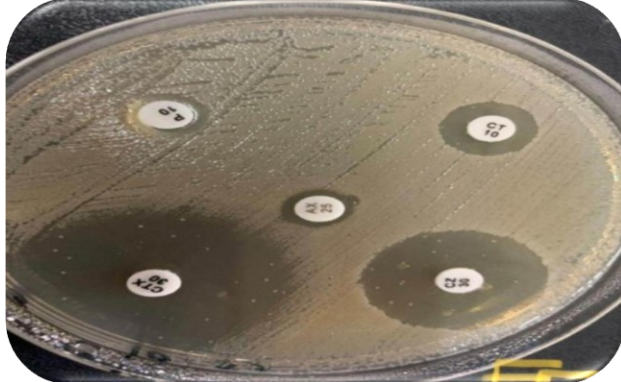
 <p>F1 : <i>Lactococcus</i></p>	 <p>F2 : <i>Lactococcus</i></p>
 <p>F3 : <i>Leuconostoc</i></p>	 <p>F4 : <i>Lactococcus</i></p>
 <p>F5: <i>Leuconostoc</i></p>	

Tableau 15: les résultats de résistance d'antibiotique des souches isolées.

Famille des antibiotique	Atb	Symbole	F1	F2	F3	F4	F5
B-lactame	Amoxiciline	AX	R	R	R	R	R
	Peniciline	P	R	R	R	R	R
	Céfotaxim	CTX	S	S	S	S	S
	Céfazoline	CZ	S	S	S	S	S
polymyxines	Colistine	CT	S	S	MS	R	Ms

R= Resistance S= Sensible MS= Modérément sensible

Le tableau montre que certaines souches présentent une résistance partielle (sensitive intermédiaire) à certains antibiotiques comme la Amoxiciline, alors que la plupart des BL isolées sont sensibles à la plupart des antibiotiques, à l'exception de l'antibiotique pénicilline aux quels toutes les souches sont résistantes, et de l'antibiotique Céphotaxime qui affecte toutes les souches. Il convient de noter que cette résistance et cette sensibilité trouvées dans notre étude peuvent être liées à la concentration de chaque antibiotique.

2. Discussion

Dans cette étude, 3 échantillons du lait cru de vache, et un échantillon de ferment industriel lyophilisés pour l'ensemencement direct (DVS), ont été utilisés comme sources d'échantillonnage afin d'isoler des bactéries lactiques, En effet, les produits laitiers et les produits fermentés en général, représentent des sources incontournables pour l'isolement des bactéries lactiques (Coeuret et al., 2003; Badis et al., 2004).

La FTAM nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru. C'est la flore la plus dénombrée dans les analyses microbiologiques. Le dénombrement de la FTAM révèle une moyenne de 5×10^4 UFC / ml.

Les charges maximales tolérées par les deux réglementations (Normes Française ou américaines d'évaluation de la qualité du lait cru) sont respectivement 5.10^5 et 5.10^4 UFC / ml, mes normes algériennes tolèrent jusqu'à 10^5 UFC / ml. JORADP n° 35/98.

Donc par rapport à nos résultats, nous pouvons déduire que le lait prélevé a une bonne qualité hygiénique selon les normes mentionnées ci-dessus.

Dans notre étude, la croissance sur milieux sélectifs MRS et M17 confirme que nos souches appartenant aux bactéries lactiques. Selon Hoggs en 2005, les bactéries lactiques ont des besoins nutritionnels complexes en acides aminés, peptides, vitamines, sels et glucides fermentescibles.

L'identification des souches lactiques isolées a été effectuée par la méthode d'identification classique vu l'absence de galerie API système. Au cours de cette étude nous nous sommes intéressés à déterminer les principales caractéristiques morphologiques et biochimiques des souches isolés.

La détermination macroscopique des isolats bactériens présente des colonies de taille variable, de couleur blanche et blanche crème, de forme circulaire ou punctiforme, plate ou bombé à pourtour régulier. Et après coloration de Gram des isolats, *Cocobacille* et *Cocci* apparaissent Gram positif, immobile. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par **Badis et al. en 2005**.

Au cours de notre étude, L'identification des isolats a fait ressortir 7 souches de bactéries lactiques dont deux souches *Lactobacille* ; S1 et S2 (28,57%), trois souches *Lactococcus* ; F1, F2 et F4 (42,85%) et deux souches *Leuconostoc* ; F3 et F5 à (28,57%) (**figure 25**).

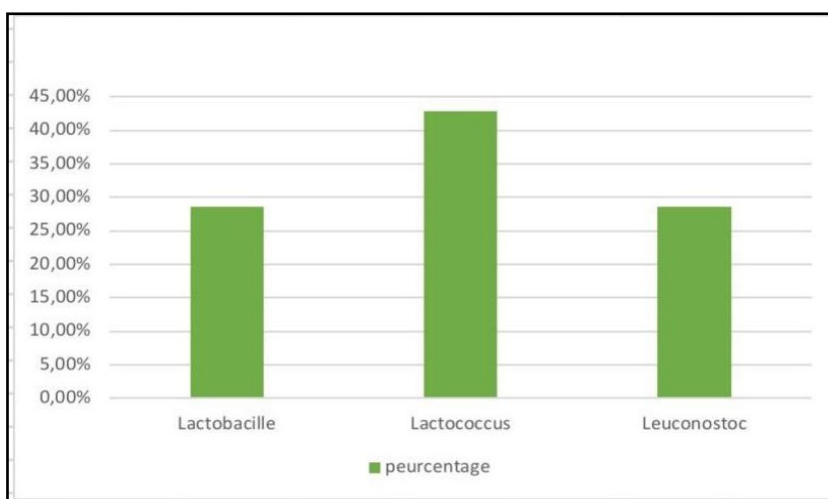


Figure 25: Représentation graphique des souches isolées.

Le profil biochimique a démontré que toutes les souches isolées sont catalase négatif, nitrate réductase négatif, et indole-négatifs. Ces résultats sont accord avec ceux de SAIDI, 2017.

Concernant Le test TSI, nous avons trouvé que les souches S1 et S2 fermentent le lactose, le saccharose, le glucose avec production de gaz, et sans production de l'H₂S. Tandis que le reste des isolats ne produisent pas de gaz. Ces résultats indique que S1 et S2 appartenant au genre *Lactobacillus*.

Les résultats obtenus ont révélé que les souches S1, S2, F3et F5 fermentent le glucose par la fermentation butanediolique en produisant l'acétoïne qui est mis en évidence par le test VP. Par contre les souches F1, F2 et F4 (*Lactococcus*) ont présenté un résultat négatif.

Selon Caplice et Fitzgerald en1999, La capacité des BL à utiliser le citrate est une caractéristique technique recherché, son métabolisme et causé par un excès de pyruvate intracellulaire grâce à la conversion de l'alpha -acétolactate en diacétyl acétoïne ou 2-3butan diol ces composés agent aromatisante importante dans certain produit laitier. Nous avons obtenu dans notre étude une réaction positive au test citrate de simmons pour les souches *Lactobacillus* (S1et S2) et *Lactococcus* (F1, F2 et F4), par contre les souches *Leuconostoc* (F3 et F5) sont citrate négatif. Ces résultats sont conformes à celui obtenu par Drici et al., 2010.

Les discordances liées à la recherche de certains caractères peuvent être expliqués par une mauvaise manipulation dont la contamination qui est un phénomène courant lors d'isolement des bactéries au niveau du laboratoire qui est à l'origine de difficulté d'avoir une souche pure, ou bien ces discordances sont dues à la mutation qui nécessite une grande attention.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les souches identifiées ont été soumise à un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité et la résistance aux différents antibiotiques, les résultats de la résistance des souches lactiques sont exprimés graphiquement dans l'histogramme suivant (figure 26).

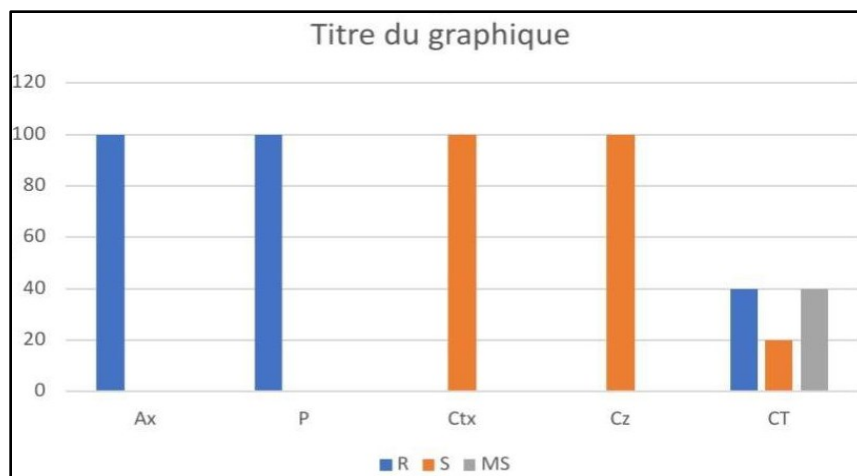


Figure 26: Représentation graphique de la résistance et la sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques.

La représentation graphique a révélé des résistances des souches à certains antibiotiques appartenant à la classe des β -lactamines (Amoxicilline, pénicilline 100%). Par contre elles présentent le phénotype sensible aux Céfazoline et Céfoxitine. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par Rahmah et *al* en 2019 et Ben abbou en 2020, les auteurs ont montré que les genres *Leuconostoc*, *Lactococcus* sont généralement sensibles.

Selon la littérature et les études de Rahmeh et *al*. En 2019, *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont généralement faiblement résistant aux β -lactamines.

Dans une étude menée par **Morandi et al. (2013)**, les auteurs ont montré que les bactéries lactiques d'origine alimentaire sont sensibles à la pénicilline et aux céphalosporines (céfazoline et céfotaxime).

En ce qui concerne l'antibiotique colistine de la famille polymyxines, nous observons qu'il y a des souches qui présentent le phénotype sensible (*Lactococcus*, F4) et modérément sensible (*Lactococcus*, F1 et F2) et d'autres présentent le phénotype résistant (*Leuconostoc* F3 et F5) qui ont enregistré des pourcentages de 20%, 40%, 40% respectivement.

Des résultats similaires ont été obtenus par **Zdolec et al. en 2011** et **Zarour et al. En 2013** concernant la résistance des *Leuconostoc* à la colistine.

Il a été décrit dans la littérature et selon les travaux d'**Ammor et al. en 2007**, que la sensibilité des bactéries lactiques donc l'efficacité de l'antibiotique est due à l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.

Les discordances liées à la recherche de résistance ou de sensibilité des bactéries aux différents antibiotiques peuvent être expliquées par les erreurs au cours de la manipulation qui sont liées aux : inoculum non standardisé qui traduit de fausses résistances, présence d'un contaminant, mauvaise application des disques à la surface de la gélose.

D'après les résultats obtenus, La résistance des souches lactiques (isolée à partir d'un ferment lactique) aux antibiotiques confirme l'intérêt thérapeutiques des aliments fermentés. Selon **Gevérs et al. en 2003**, Ces aliments peuvent servir de véhicule pour introduire un grand nombre de bactéries non pathogènes résistantes aux antibiotiques dans le tractus gastro-intestinal (TGI) humain. Ces bactéries peuvent interagir avec la microflore intestinale et disséminer des gènes résistants aux antibiotiques.



Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

Considérant que les bactéries lactiques sont parmi les bactéries les plus courantes, elles sont très importantes dans le processus de fermentation, et de stockage des aliments. Elles ont été utilisées dans la fabrication de divers aliments tels que le fromage, le yaourt, le pain... Bien que certains d'entre eux soient utiles, ils représentent un enjeu majeur de santé publique et de médecine, c'est pourquoi de nombreuses études existent sur les bactéries lactiques isolées du lait et de ses dérivés et étudient leur résistance aux antibiotiques.

Dans cet aperçu, notre étude parallèle a été conçue pour identifier les bactéries lactiques isolées du lait cru et récupérée des ferments lactiques par culture en milieu MRS et gélose M17. L'étude a subi différents tests morphologiques et biochimiques pour l'identification, Choisis en fonction de la possibilité de les réaliser tous au laboratoire, il ne nous était pas possible d'élargir les caractères, car les conditions du laboratoire étaient quand même limitées en termes de milieux et de réactifs. Puis nous avons testé la résistance des BL vis-à-vis des antibiotiques : céfotaxime, pénicilline, céfazoline, colistine, amoxicilline...

La comparaison des résultats obtenus avec les caractères morphologiques, et biochimiques des bactéries a permis d'obtenir les genres suivants : *Lactobacille* (28,57%), *Lactococcus* (42,85%) et *Leuconstoc* (28,57%).

L'étude de résistances des antibiotiques a été réalisée sur 5 souches des BL vis-à-vis 5 antibiotiques en utilisant l'antibiogramme standard. Cette étude présentent une forte résistance aux B-lactamines ; pénicilline et Amoxiciline ; 100%. En revanche, nous avons obtenu une forte sensibilité au céfotaxime et céfazoline ; 100 % de toutes les souches, et une grande variation dans les régions lacunaires où le diamètre le plus élevé a été observé 39 mm pour les céfotaxime. En ce qui concerne l'antibiotiques colistine de la famille polymyxines, nous avons observé qu'il y a des souches qui présentent le phénotype sensible (*Lactococcus*, F4) et modérément sensible ((*Lactococcus*, F1 et F2) et d'autres présentent le phénotype résistant (*Leuconstoc* F3 et F5) qui ont enregistré des pourcentages de 20% ,40%,40% respectivement.

En fin, les résultats de nos travaux permettent d'entrevoir de nouvelles perspectives

- ✓ Un travail sur des échantillons plus importants que les nôtres.
- ✓ Isoler les bactéries lactiques et tester l'effet antagoniste vis-à-vis de germes pathogènes.

- ✓ Identifier la nature de l'agent inhibiteur.
- ✓ Tester les bactéries pathogènes vis-à-vis d'une large gamme d'antibiotiques utilisés en thérapeutique.



Référence

- Alander, M.(1999) , Satokari, R., Korpela, R, Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T Mattila-Sandholm, T. and von Wright, A. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus thannus* GG, after oral consumption *Appl Environ Microbiol* 65, 351-354p.
- Alekshun. M. N., et Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050 Associates Inc, 278-282p.
- Alexander H, Grandvalet C, Guilloux-Bénatier, Remize-Barnavon F, Tourdot-Maréchal R,(2008).les bactérie lactique en œnologie.Edition Tec&Doc.Paris.13-169p.
- AMENSAG k, (2019). Les bactéries lactiques isolées d'aliments traditionnels marocains : Production de bactériocines et applications potentielles contre des pathogènes multirésistants aux antibiotiques.THÈSE.UNIVERSITÉ DE STRASBOURG.
- Ammor M.S,Florez A.B,et Mayo B ,(2007).Antibiotic resistance in non -enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria .*Food Microbiol*,24(6):559-570p.
- Ammor, M.S. (2008) Florez, A.B. van Hock, A.H. de Los Reyes-Gavilan, C.G. Aarts, H.J. Margolles, A. and Mayo. B Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria, *Mol Microbiol Biotechnol* 14, 6-15p.
- AMMOURI K,REKIK S,(2019).Isolement et purification de bactéries lactiques Productrices de bactériocines à partir de produits Laitiers.Mémoire de fin d'étude.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.10p.
- Anonym (2004) Antibiotic Resistance GAO-04-490 Antibiotic Use in Animals
- Anonym (2017) Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Approved Standard CLSI document MI-A7.
- Anonym. (1969) Report of the Joint Committee on the use of Antibiotics in Animal Husbandry and Veterinary Medicine Cand 4190.
- Aouissi A .(2010).Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord -Est de L'Algérie).Mémoire de Magister .Université 08 Mai 1945.Guelma .59p.
- Aquilanti, L. Silvestri, G.Zannini, L. Osimani, A. Santarelli, S and Clements,E (2007) Picnotypic genotypic and technological characterization of predominant lactic acid bacteria in Pecoring cheese from contral haly.J.
- Avorn et al. (2001)- Organisation mondiale de la santé (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups alliance for the prudent use of antibiotics.
- Axelsson L ,(1998) .Lactic acid bacteria: classification and physiology.Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional Aspects, 2nd edn. New York.
- Axelsson, L. (2004) .Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, 1-67p.

- Azmoun S. (2016). Epidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques au CHU de Marrakech. Thèse de doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad de Marrakech. 117p.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).
- Ben Abbou T. A. (2020). Mécanismes d'antibiorésistance de bactéries lactiques. Thèse de doctorat. Faculté des sciences de la nature et de vie. Université Orani Ahmed ben Bella. 211p.
- Bosgiraud C, (2003). Microbiologie générale et santé. Association des enseignants de microbiologie des facultés de pharmacie française. Edition ESKA, Paris. 520p.
- Bouguerra A, (2021). Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. thèse de doctorat. Université Ferhat, Sétif 1. 49_141p.
- Boumediene K. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines Et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Mémoire de Magister en Biologie. Faculté des SNV/STU. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen. 04p.
- Brigitte et al., (2007): pharmacologie.
- Caplice, E. & Fitzgerald, G. F. 1999. Fermentations alimentaires : rôle des micro-organismes dans la production alimentaire
- Caractérisation phénotypique du lait de chèvre cru isolé de deux populations caprines locales Bactéries lactiques "Arabie et Kabyle". Sci. Technol. C n° 23, juin (2005). P. 30-37.
- CARMONA B, (2016). LES PROBIOTIQUES (BACTERIES ET LEVURES) : OU EN EST-ON AUJOURD'HUI ?. Thèse. d'Etat de Docteur en Pharmacie. UNIVERSITE DE MONTPELLIER. 47p.
- Casado M, M.d.c, et al (2014), Antibiotic resistance of *Lactobacillus pentosus* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolated from naturally fermented Alorena table olives throughout fermentation process. International Journal of food Microbiology, 172;18-110p.
- Cattoir V. (2004). Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria Pathologie- biologie, 52(10), 607-616p.
- Champagne c.p. (1998) Caractéristiques des bactéries lactiques. IN : production de ferments lactiques. chapitre 1 p. 1_10. la fondation des Gouverneurs. Agriculteur et Agroalimentaire Canada, CRDA. Edisem. ST. Hyacinthe, Québec.
- Chardain H. (2006). Barsotti O et Martine. Microbiologie en odontostomatologie. Edition: Maloine. 329p.
- Colulescu B. (2008), Antimicrobiol resistance induced by genetic changer, Med life.
- Corrieu, G. & Luquet, F. M. (2008) Bactéries lactiques : De la génétique au ferment. Paris: Édition Tec et Doc. 849p.
- Courvalin P., Leclercq R. & Bingen E., (2006). Antibiogramme. ESKA, Zieme edition, Paris, 500p.

- Danielsen et al., (2002); Gevers et al., (2003); Rizzotti et al., 2009- Characterization of the tetracycline resistance plasmid pMD5057 from *Lactobacillus plantarum* 5057 reveals a composite Structure. *Plasmid*. 48,98-103.
- De l'INRS-Institut Armand-Frappier comme exigence partielle du programme de maîtrise en virologie et immunologie.
- De Léséleuc, (2001). Étude comparative de la modulation de l'immunité par des bactéries lactiques. Mémoire présenté au centre de recherche en santé humaine
- De Vos, George M. Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer and William B. Whitman, (1980). *BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology*, Second Edition: USA, 655-656p.
- Delaras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Delarras, Camille. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire recherche de bactéries et de levures -moisissures*. EDitions Lavoisier .65p.
- DEVOYOD. J, Françoise, (1988). *Les Leuconostocs. Propriétés : leur rôle en technologie laitière*. INRA, Laboratoire de Microbiologie laitière, 78350 Jouy-en-Josas, France. Vol 68(3).249-279p.
- DJADOUNI F, (2013), Evolution de l'activité antimicrobienne des isolats de bactéries lactiques et détermination du spectre d'action de leurs biopeptides vis-à-vis des germes d'altération. Thèse Doctorale. Faculté des Sciences. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université d'Oran, Es-Sénia. 4-235p.
- Dortu C, Thonart Ph, (2009). *Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Vol. 13(1), 143-154p.
- Drici, H., Gilbert, C., Kihal, M. & Atlan, D. 2010. *Lactococcus lactis* atypique fermentant le citrate souches isolées du lait de dromadaire. *Tourillon de microbiologie appliquée*, 108, 647-657.
- Drider DJ, Prevost H, (2009). *Bactéries lactiques, physiologies, métabolismes, génomiques et Applications industrielles*. 593 p.
- Drouault S, Corthier G, (2001). Effets des bactéries lactique ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Unité d'écologie et de physiologie du système digestif*, Institut National de la Recherche Agronomique .32,101-117p.
- Et conservation. *Revue internationale de microbiologie alimentaire*, 50, 131-149.
- Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. *Microbiol Spectr.* 2019 Jul;7(4) [PMC free article] [PubMed].
- Fosseppez P. (2013). *Antibiothérapie en pratique de ville constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

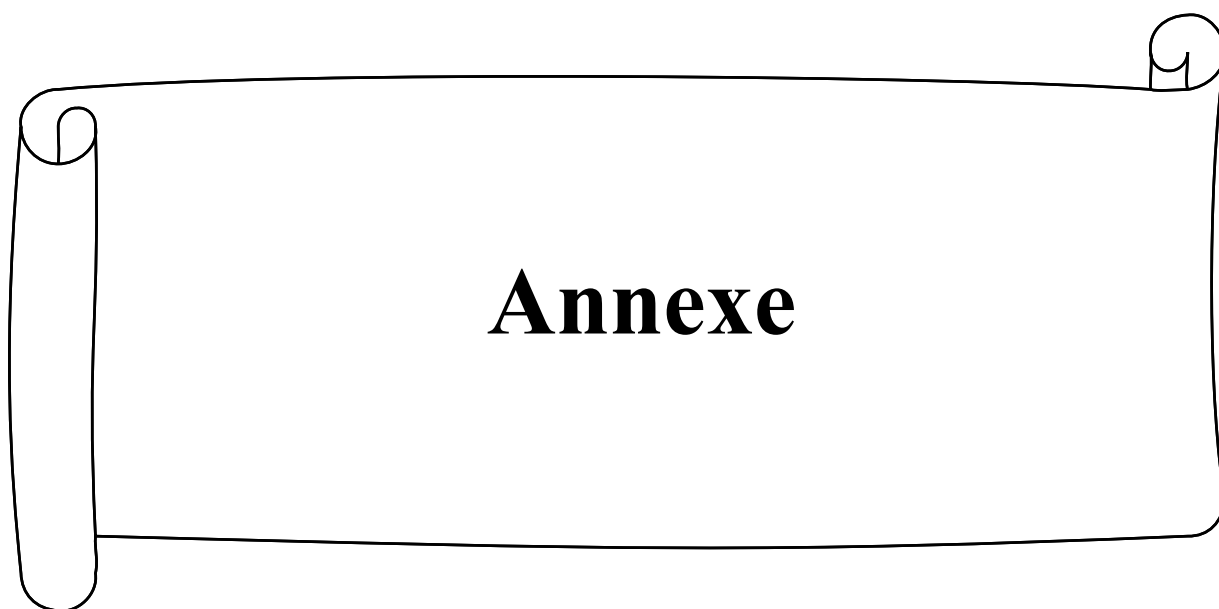
- Fosseppez, P. (2013). Antibiothérapie en pratique de ville: constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- G.S MV. (2013).eu Kashyap Greasing prevalence of extended spectrum beta-lactamases (ESBLS) producing E colt .
- Galvez A ,Dubois-Dauphin R, Destain J, Campos D, Thonart Ph,(2011). Les entérocoques : avantages et inconvénients enBiotechnologie . Biotechnol. Agron. Soc. Environ.Vol.16(1).67-7p.
- George F, Daniel C, Thomas M, Singer E, Guilbaud A, Tessier F, et al. (2018). Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. Front. Microbiol.
- Gerhardt ,P .Murray .R .G .E .wood .W.A .krieg .N.R .(1994).Méthod for general and molecular bacteriology .American Society for Microbiology .518p.
- Geslin, P., Buu-Hoi, A., Fremaux, A., & Acar. J. F. (1992). Antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae: an epidemiological survey in France, 1970-1990. Clinical Infectious Diseases, 15(1), 95-98p.
- Gevers D ,Danielsen M,Huys G,Swings J .(2003).Molecular characterization of tet (M) genes in Lactobacillus isolates from different types of fermented dry sausage .Applied and environmental microbiology ,69(2):1270-1275p.
- Goldstein FW. Pan Y,(1998), Genner 1 Vigil Roe Study Group Resistance to ceftriaxone and other lactams in bacteria isulated in the Community Antimicrob Agents Chemother , 39 2516p.
- Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2005). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin, 1-18p.
- Gueimonde M,Sánchez B ,de los Reyes-Gavilán CG ,et Margolles A ,(2013).Antibiotic resistance in probiotic bacteria Frontiers in Microbiology ,4;202p.
- Guiraud, (2003). Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. IN : Microbiologie alimentaire. Paris.
- Hajer M H,(2017). «Résistance bacterienne: Mécanisme et methodes de detection au laboratoire,» Faculté de medecine et de pharmacie, Rauyom de Maroc.
- Heterolactic fermentation of hexoses in Oenococcus oeni.Microbiology , V148. 325–332p.
- Hnich H. (2017). La résistance bactérienne mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de Doctorat en Médecine. Universite Sidi Mohamed Ben Abdellah .272.149p.
- Hogg T., (2005). Microbiologie essentielle. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190.
- Jehl F. (2003). Pharmacocinétique et pharmacodynamie des glycopeptides. Antibiotiques, (2).89-98p.
- Joffin N J ,Leyral G.(2001). Microbiologie Technique .documentation technique (2).2éd .304p.
- John W,Fuquay,(2011).Encyclopedia of Dairy Siences,second edition.pp .381-387 p.

- KASSAS Zohra,(2017).Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié.THESE .Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat En MICROBIOLOGIE.UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA.
- Kentarchos N-E.(2006). Pharmacocinétique et pharmacodynamie des antibiotiques dans le poumon. *Antibiotiques*, 8 (4): 232-241p.
- Khalisanni Kh,(2011).Antimicrobial compound, fermentation, lactic acid bacteria (LAB).International Journal of Biosciences (IJB).Department of Applied Chemistry, Faculty of Applied Sciences, Universiti Teknologi MARA (UiTM), 40450 Shah Alam, Selangor, Malaysia.Vol. (1) 3,1-13p.
- Knothe GP, Shah P. Kremery V. Antai M. Mitsuhashi S.(1983), Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11:315-7.
- KONARE S .(2016) SENSIBILITÉ aux antibiotiques des souches d'Enterobacteries isolés eau laboratoires de Biologie Médicale et Hygiene Hospitalaire du CHU du point G. Faculte de pharmacie, Mali.
- *Lactococcus lactis*: an opportunistic bacterium ?.Revue générale.Médecine et Maladies Infectieuses.V37(4).200-207p.
- Laurent, S. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris. 307 pages. Weissella for the Leuconostocparamesenteroides group of species ».J. Appl .Bacteriol. 75 : 595-603p.
- Lebres A.D et Hamza A.(2002).cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments "Microbiologie des laits et produits laitiers".Institut pasteur d'algerie.
- Liebefeld, (2002). Microbiologie des cultures. Unité de recherche sur le lait et le fromage .186p.
- Lozniewski A,(2010),«Resistance bacterienne aux antibiotiques, CCLIN Sud-Est.
- Maicas S, ferrer S, pardo I,(2002).NAD(P)H regeneration is the key for
- MAKHLOUFI K M,(2011).Caractérisation d'une bactériocine produite par Une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* Isolée du boza.DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE.
- Manson A ,JM.(2012), Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other ztraits, USA: Proc Natl Acad Sci.
- Mattarelli P, Biavati B, Holzapfel H., Wood Brian JB. (2017) . The Bifidobacteria and Related Organisms .Biology, Taxonomy, Applications . 1st Edition.67-98 p.
- Mazurkiewicz P, Sakamoto k, Poelarends GJ. Et Konings WN, (2005). Multidrug transporters in lactic acid bacteria. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* ,5(2),173-81p.
- Mehdi, S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat THESE. [en ligne] Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE 48-51p.

- Millette M.(2007).Étude de bactéries lactiques à potentiel probiotique et de leurs métabolites .Thèse de doctorat .l'INRS-Institut Armand -Frappier.
- Mofredj A,Bahloul H,Chanut C,(2007).Lactococcus lactis : un pathogène opportuniste?
- Mokoena M. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules*.
- Morandi S,Cremonesi P,Silvetti T,Brasca M.(2013).Technological characterisation ,antibiotic susceptibility and antimicrobial activity of Wild -type Leuconostoc strains isolated from north Italian traditional cheese .*Journal of Dairy Research* ,80(4):457-466p.
- Mozzi F,Raya.R.R,Vignolo G.M,(2010).Biotechnology of lactic acid bacteria.1st Edition.Novel applications.Singapore :blackwell publishing.
- Muylaert A et Mainil J.G., (2013). Resistances aux fluoroquinolones: la situation actuelle. *Annales De Medecine Veterinaire*. 157, 15-26p.
- Narvhus J. A., Axelsson L., (2003). Lactic acid bacteria.*Enyclopedia of food sciences and nutrition* .3465_3472p.
- Nauciel C. & Vildé J-L.(2005). Bactériologie médicale. Edition: 1, Chapter: 2, Publisher: Elsevier Masson. 257p.
- Nauciel C. et Vildé J.L. (2005). Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action Edition: Masson, Paris 49-56p.
- NIKAIDO H. (2009) Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 78, 119-146p.
- Nomura.M, Kobayashi.M ,Kimoto-Nira .H,Okamoto T,(2006), Phenotypic and molecular characterization of Lactococcus lactis from milk and plants. *Journal of Applied Microbiology*, Vol 101(2),1 August 2006, 396–405p.
- P K. (2004)Resistance to beta-lactamine antibiotics, *Cell mol hfe sci*, n "12200- 2223, 61 p.
- Papagianni, M., and Anastasiadou, S. (2009) Pediocins: The bacteriocins of Pediococci. Sources, production, properties and applications. *Microb Cell Fact*.8: 3p.
- Phan, G. (2008). Etude structurale du système d'efflux membranaire MexXY-OprM impliqué dans la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, Université René Descartes-Paris V).
- Pilet M.F, Magras C, Federigh M.(2005). Bactéries lactiques. In : bactériologiealimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240p.
- Ploy MC., Lambert T., Gassama A., Denis F. (Juillet-Août 2000). Place des intégrons dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. *ANNALES DE BIOLOGIE CLINIQUE* 58(4), 439-444 p.
- Poelarends G.J ,Mazurkiewicz P ,konings W.N ,(2002).Multidrug transporters and antibiotic resistance in lactococcus lactis .*Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* ,1555(1-3);1-7p.
- Poole K. (2004). Resistance to B-lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 61,2200-2223p.

- Prakash A, Priyanka S. (2009), Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk Products at Agra Region. *Internet Journal of Food Safety*, 11:81-87.p.
- Rahmeh R ,et al.,(2019).Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk .*New microbes and new infections* ,30 :100560p.
- RAYNAUD S,(2006).REGULATION METABOLIQUE ET TRANSCRIPTIONNELLE DE LLIAUTOACIDIFICATIO CHEZ LACTOCOCCUS LACTIS.THESE DOCTORAT, MaÓtre Ès sciences, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Raza T, Ullah SR, Mehmood K, Andleeb S,(2018). Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. *J Pak Med Assoc*. 2018 May;68(5):768-772p.
- Rodríguez, J. M., Martínez, M., and Ikkok, J. (2002) Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr*.42: 91-121p.
- Rolfe R .D .(2000).The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health.*Journal of Nutrition* .130:396-402p.
- SAIDI Y, (2017). Biodiversité de la microflore lactique du lait cru de dromadaire et évaluation de ses caractères technologiques.THESE DE DOCTORAT.University Oran.30p.
- Schlegel HG (1999) *Geschichte der Mikrobiologie*. Acta Historica Leopoldina, Halle
- Schleifer KH, Kandler O (1972) Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic Implications. *Bacteriol Rev* 36:407–477p.
- Shimizu A, Hase R, Suzuki D, Toguchi A, Otsuka Y, Hirata N.,et al ,(2018).Lactococcus lactis cholangitis and bacteremia identified by MALDI-TOF Mass spectrometry: A case report and review of the literature on Lactococcus lactis infection.*Journal of Infection and Chemotherapy*.Science Direct.
- Shlaes D.M.(2010).Antibiotics: The Perfect Storm. Edition: 1, Chapter: 3, Publisher: Springer Netherlands, . VIII, 106p.
- Simpson , W.J et Taguchi, H.(1995). The genus *Pediococcus* with notes on the genera *Tetragenococcus* and *Aerococcus*. In the *Genera of lactic acid bacteria*, Wood BJB., Holzappel WH, Eds; Chapman & Hall, London, 125-172p.
- SINKIEWICZ ,G.(2010).LACTOBACILLUS REUTERI IN HEALTH AND DISEASE.Malmo University, P 16.SINKIEWICZ ,G.(2010). LACTOBACILLUS REUTERI IN HEALTH AND DISEASE.Malmo University, 16p.
- Stile M; E, Holzappel W.H, (1997), Lactic acid bacteria of food and their current taxonomy,*International Journal of Food Microbiology*,36 , 1-29. *Streptococcus diacetylactis* metabolism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 399-401p.
- TAHLAITI H.(2019).Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté.Faculté des Sciences.UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM.18p.
- Tamang.j.p., (2014). Biochemical and modern identification techniques, microflora of fermented food. *encyclopedia of food microbiology (Second Edition)*,250-258p.

- Vandamme, P. B. Pot, M. Gillis, P. de Vos, K. Kersters, and J. Swings. (1996), Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60:407-438p.
- Vázquez E, Carazo I, Martín A, Lozano C, Cuesta I, Pagola C,(1998). Endocarditis infecciosa por *Leuconostoc mesenteroides* [Infectious endocarditis caused by *Leuconostoc mesenteroides*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* May;16(5):237-8p.
- Vieco-Saiz N ,Belguesmia Y ,Raspoet R ,Auclair E,Gancel F,kempf I ,et al (2019).Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food -animal production .*Frontiers in microbiology* .10:57p.
- Wachter-Rodarte M.d.c.et al., (2015). Antibiotic resistance and multidrug-resistant efflux pumps expression in lactic acid bacteria isolated from pozol, a nonalcoholic Mayan maize fermented beverage. *Food Science Nutrition* ,4(3):423-30p.
- Wallace, T. D, Bradley, S, Buckley, N. D. & Green-Johnson, J. H.(2003). Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: Effects on cytokine production. *Journal of Food Protection* 2003. Vol. 66 (3) : 466-472p.
- Walsh C ,(2003).«Antibiotics: Action, origins, Resistane,» ASM.
- Wang Y, Wu J , Lv M , Shao Z , Hungwe M ,Wang J et., al ,(2021).Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry.*Front Bioeng Bbiotechnol.*
- Wenjun L, Huili P, Heping Z, Yimin C, (2014) Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In *Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Practice*, Heping Z, Yimin C (eds), 103-203p.
- Wunwisa k,Bhesh B,et Hilton D.(2003).évaluation of encapsulation techniques of probiotics for yaghurt .*Inter Dairy J* .13:3—13p.
- Yamashita SK, Louie M, Simor AE, Rachlis A.(2001), Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis*,;11:107-11.
- Zarour K ,Benchernene Z ,Hadadji M,Moussa -boudjemaa B,Henni J .E,kihal M,(2013).Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroïdes* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie .*Nature &Technologie* ,5(1):39-47p.
- Zasloff M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415. 389-395p.
- Zdolec N,Filipović I,Fleck Z.C ,Marić A ,Jankuloski D Kozačinski L ,Njari B,(2011).Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from fermented sausages and raw cheese .*Veterinarski Arhiv* .81(1):247-258p.



Annexe

Annexe 1 :**Milieu MRS :**

Composition en g/l

Peptone.....	10
Extrait de viande	8
Extrait de levure	4
Glucose.....	20
Acétate de sodium	5
Citrate d'ammonium	2
Hydrogénophosphate de potassium	2
Sulfate de magnésium heptahydraté.....	0,2
Sulfate de manganèse tétrahydraté.....	0.05
Tween.....	1ml
Agare	10

Ph= 6.5

Autoclavage 120°C, 20min

Annexe 2 :**Milieu M17**

Tryptone.....	2.5
Peptone de soja.....	5
Extrait de viande.....	5
Lactose.....	5
Peptone de viande.....	2.5

Acide ascorbique.....	0.5
Extrait de levure.....	2.5
Sulfate de magnésium.....	0.25
Bêta-glycérophosphate de sodiume	19
Agar	15

Ph= 7.2

Autoclavage 120°C, 20min

Annexe 03 :

Technique de Coloration de gram

- Réaliser un frottis sur une lame en verre propre et Préalablement dégraissée.
- Colorer le frottis avec du violet de gentaine durant 1 min.
- Rejeter le colorant et ajouter le lugol 1 min.
- Rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 96 durant 10 secondes.
- Rincer abondamment à l'eau.
- Faire une contre coloration avec la fuchsine diluée a 1/10 Durant 1 min.
- Rincer à l'eau.
- Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100.

Annex 04 :

L'eau physiologie

L'eau distillée	1000ml
Chlorure de sodium.....	9g

Annexe 05 :

Préparation Mac Farland Turbidity Standard (0.5)



Standard de turbidité préparé BBL
McFarland Turbidity Standard No. 0.5

Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice.



8808421JAA
2005/02

Français

APPLICATION

Les McFarland Standards (standards McFarland) servent de standards de turbidité pour préparer les suspensions de microorganismes. Le standard McFarland 0.5 est notamment utilisé lors de la préparation des inoculums bactériens pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'une des premières applications des standards de turbidité fut d'estimer la densité des populations bactériennes lors de la préparation des vaccins.¹ En 1907, McFarland a mis au point une série de solutions de sulfate de baryum permettant d'estimer le nombre de bactéries présentes dans des solutions de turbidité équivalente (déterminé par énumération sur boîte de Pétri).^{2,3}

La réalisation d'un test de sensibilité nécessite l'utilisation d'un inoculum standardisé. Le standard McFarland 0.5 sert à la préparation des inoculums en dilution en gélose standardisée, à la macro et microdilution en bouillon, à la procédure par diffusion sur disque et aux tests de sensibilité des microorganismes anaérobies.^{4,5}

PRINCIPES DE LA METHODE

Les standards de turbidité se préparent en mélangeant des produits chimiques qui précipitent pour former une solution de turbidité reproductible.⁶ Les standards McFarland sont préparés par ajout d'acide sulfurique à une solution aqueuse de chlorure de baryum, ce qui entraîne la formation d'un précipité de sulfate de baryum en suspension.

Le standard McFarland 0.5 correspond approximativement à une suspension homogène d'*Escherichia coli* de $1,5 \times 10^8$ cellules par mL.³

REACTIFS

McFarland Turbidity Standard No. 0.5

Formule approximative par 100 mL d'eau purifiée

Acide sulfurique, 0,18 M 99,5 mL

Chlorure de baryum, 0,048 M 0,5 mL

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 25 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Laisser s'équilibrer jusqu'à température ambiante avant utilisation.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou évaporation, ou d'autres signes de détérioration.

METHODE

Matériaux fournis : McFarland Turbidity Standard No. 0.5

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis pour cette méthode.

Mode opératoire du test : *Agiter vigoureusement le standard de turbidité sur un mélangeur à vortex immédiatement avant l'emploi.*

Sous un éclairage adapté, comparer la turbidité d'une suspension bactérienne à celle du standard en examinant les tubes sur un fond blanc barré de lignes de contraste horizontales noires.

Le standard de turbidité peut également servir à étalonner un turbidimètre électronique.

Contrôle de qualité par l'utilisateur :

1. S'assurer que les tubes ne présentent aucun signe de détérioration, comme indiqué à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Après agitation vigoureuse sur un mélangeur à vortex, contrôler la densité du standard de turbidité en mesurant l'absorbance au spectrophotomètre avec un chemin optique de 1 cm et une cuvette adaptée. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,10.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Le standard McFarland 0.5 est notamment utilisé lors de la préparation des inoculums bactériens standardisés pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.^{4,5}

LIMITE DE LA PROCEDURE

L'exposition du standard à la lumière lors du stockage risque d'affecter les valeurs de turbidité.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de tous les lots de McFarland Turbidity Standard No. 0.5 sont testées en usine pour vérifier que l'absorbance se situe au sein de l'éventail de valeurs admissibles.

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
297298	BBL McFarland Turbidity Standard No. 0.5, coffret de 10 tubes de taille K

REFERENCES

1. Lorian, V. (ed.). 1986. Antibiotics in laboratory medicine, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J. Am. Med. Assoc.* 49:1176-1178.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahn, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard: M7-A6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard: M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 8th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved standard: M11-A5. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
© 2005 BD

Anexe 6 :

Description la fermente lactique lyophiliser étudier www.chr-hansen.com**CHN-11****Information Produit**

Version: 6 PI EU FR 11-11-2019

Description

Culture aromatique mésophile, type LD. La culture est productrice d'arôme et de CO₂. Cette gamme propose des cultures à acidification rapide avec un taux d'inoculation faible.

Description culture:

Lactococcus lactis subsp. cremoris
Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis
Lactococcus lactis subsp. lactis
Lactococcus

Num. Article: 713400

713400 U

Couleur:

Blanc cassé à légèrement rouge ou brun

Format:

FD-DVS

Conditionnement Sachets dans une boîte**Forme:**

Granulat

Stockage & manutention

+18 °C / +0 °F

Durée de vie

Au moins 24 mois à compter de la date de production si stocké suivant les recommandations.

Utilisation**Utilisation**

La culture est essentiellement utilisée pour la fabrication de fromage à pâtes à pressées non cuites avec ouverture de type Gouda, Edam, Leerdam et Hovart.

Dosage suggéré

Comme règle générale, 1000U de cultures DVS lyophilisées correspond à 100L de levains. Cependant, le taux d'utilisation doit être testé expérimentalement avant toute nouvelle application.

Dosage recommandé lors de l'ensemencement

Quantité de lait à ensemencer	500 l / 130 gal	2,000 l / 530 gal	5,000 l / 1,330 gal	10,000 l / 2,640 gal
Quantité de culture DVS	50 U	200 U	500 U	1,000 U

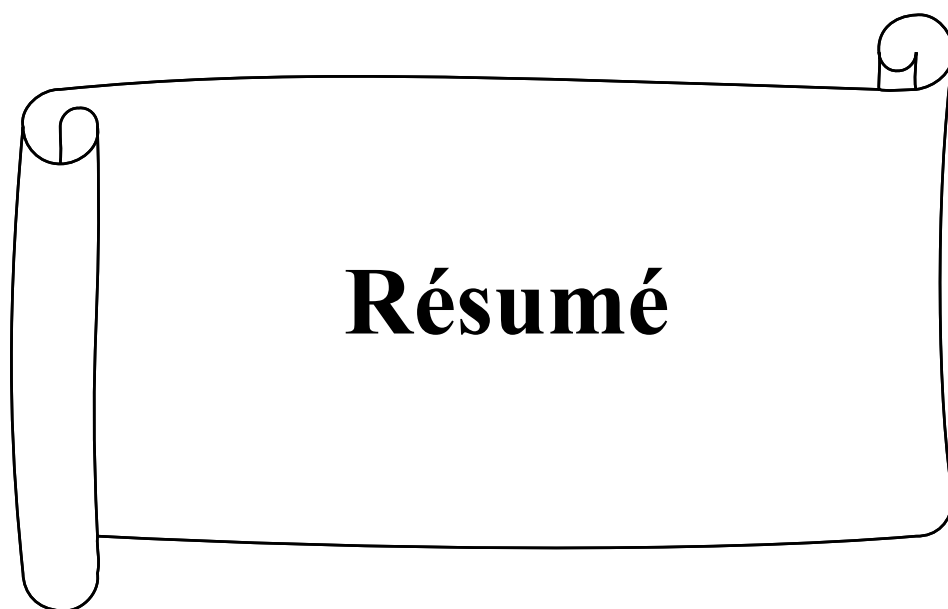
Défini pour une performance optimale, la composition et le dosage recommandé pour cette culture ont été soigneusement développés grâce à l'utilisation de souches microbiennes uniques, de principes biotechnologiques avancés et plus de 140 ans d'expérience dans l'industrie laitière.

Avertissement : appliquer un taux d'ensemencement plus faible que celui recommandé peut causer des variations non souhaitées sur la qualité de produit, une efficacité de production diminuée, des pertes de rendement, des potentiels échecs de fermentation et un risque accru d'attaques de bactériophages.

www.chr-hansen.com

Les informations contenues dans les présentes sont à notre connaissance exactes et exactes et les produits mentionnés ici ne portent atteinte aux droits de propriété intellectuelle d'aucun tiers. Les produits peuvent être fabriqués dans des installations de production situées dans divers pays ou en attendant, les marques déposées ou non ou autres droits de propriété intellectuelle. Tous droits réservés.

Page: 1 (4)



Résumé

Résumé

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie, elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques.

Le but de cette étude était de tester la résistance de certaines souches de bactéries lactiques aux antibiotiques.

En recherchant des bactéries lactiques issues de produits laitiers (lait cru) et en récupérant des ferments lactiques, nous avons obtenu 7 souches Gram positif et catalase négatif, que nous avons purifiées et conservées, puis procédé à l'identification. Les tests ont été conduits sur 3 genres : *Lactobacillus* (28,57%), *Lactococcus* (42,85%) et *Leuconostoc* (28,57%).

Le profil de résistances des souches isolées aux antibiotiques a montré que les bactéries lactiques avaient une résistance élevée à la pénicilline et amoxiciline ; avec un pourcentage 100% et une faible résistance au céfotaxime et cefazoline 0% et autre antibiotique colistine 20%.

Ces bactéries pourraient être utilisées pour fabriquer des produits de santé spécialement conçus pour prévenir les infections gastro-intestinales causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Mots clés : bactéries lactiques, intérêt des bactéries lactiques, antibiotiques, résistance aux antibiotiques.

Summary

Lactic acid bacteria are of great interest in industry, they are widely used in the production of food products by lactic fermentation processes.

The aim of this study was to test the resistance of certain strains of lactic acid bacteria to antibiotics.

By looking for lactic acid bacteria from dairy products (raw milk) and recovering lactic ferments, we obtained 7 Gram positive and catalase negative strains, which we purified and preserved, then proceeded to the identification. The tests were conducted on 3 kinds:

Lactobacillus (28.57%), *Lactococcus* (42.85%) and *Leuconostoc* (28.57%). The resistance profile of the isolated strains to antibiotics showed that the bacteria lactic acid had high resistance to penicillin and amoxicillin; with a percentage of 100% and low resistance to cefotaxime and cefazolin 0% and other antibiotic colistin 20%.

These bacteria could be used to make health products specifically designed to prevent gastrointestinal infections caused by bacteria resistant to antibiotics.

Keywords: lactic acid bacteria, interest of lactic acid bacteria, antibiotics, antibiotic resistance.

Préparé par:

Rezerem Samaher Et Bougadoum Rima Et
Cheila Nessrine

Date de soutenance : 24 /06/2023

Titre : Etude de la résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques**Résumé**

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie, elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques.

Le but de cette étude était de tester la résistance de certaines souches de bactéries lactiques aux antibiotiques.

En recherchant des bactéries lactiques issues de produits laitiers (lait cru) et en récupérant des ferments lactiques, nous avons obtenu 7 souches Gram positif et catalase négatif, que nous avons purifiées et conservées, puis procédé à l'identification. Les tests ont été conduits sur 3 genres : *Lactobacillus* (28,57%), *Lactococcus* (42,85%) et *Leuconostoc* (28,57%).

Le profil de résistances des souches isolées aux antibiotiques a montré que les bactéries lactiques avaient une résistance élevée à la pénicilline et amoxiciline ; avec un pourcentage 100% et une faible résistance au céfotaxime et cefazoline 0% et autre antibiotique colistine 20%.

Ces bactéries pourraient être utilisées pour fabriquer des produits de santé spécialement conçus pour prévenir les infections gastro-intestinales causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Mots clés : bactéries lactiques, intérêt des bactéries lactiques, antibiotiques, résistance aux antibiotiques.

Membre de jury

Présidente : Mme. Malki S. MCA. Université Oum el Boughi

Rapporteur : M me. Kaouache S. MAA. Université Oum el Boughi

Examinatrice : Mme. Aberkane M MCB. Université Oum el Boughi