



Activité Anti-Bactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis à vis de *Staphylococcus aureus*

Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*

¹MAMI ANAS, ¹HAMED AMINE RIZK, ¹HENNI JAMAL EDDINE ²KERFOUF AHMED & ¹KIHAL MEBROUK;

¹Laboratoire De Microbiologie Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Oran, BP 16, Es-Senia 31100, Oran, Algérie.

² Laboratoire d'écologie et développement des espèces, Faculté des sciences, Université Djilali Liabès, BP 89, Sidi Bel Abbés, 22000, Algérie

Email : anas.mami@yahoo.fr

RESUME

La contamination des aliments est un problème majeur pour le consommateur surtout durant la période estivale dans les pays méditerranéens. L'exploitation des interactions bactériennes est un nouveau moyen pour lutter contre les germes indésirables. L'objectif de ce travail est la recherche des bactéries lactiques productrices de substances antimicrobiennes vis-à-vis des germes nuisibles. Les méthodes microbiologiques et biochimiques ont été utilisées pour identifier les bactéries présentant une activité antimicrobienne. Neuf isolats de bactéries lactiques ont été identifiés à partir du lait cru de chèvre dans les régions de l'Ouest algérien. Les espèces dominantes appartenant au genre *Lactobacillus* sont : *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. fermentum*, *Lb. paraplantarum* et *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei*. L'étude des interactions a révélé la capacité de trois espèces *Lb. plantarum* (58), *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (55) et *Lb. rhamnosus* (68) à inhiber *Staphylococcus aureus*. En culture mixte, *Lb. plantarum* réduit considérablement la croissance de *Staphylococcus aureus* de 1,6 log après 12 h d'incubation et aucune croissance n'a été observée après 72h. Les différents tests utilisés révèlent la nature protéique de cette substance impliquée dans l'inhibition de *Staphylococcus aureus*.

MOTS CLES : lait cru de chèvre, bactéries lactiques, interaction, bactériocine, *Staphylococcus aureus*, culture mixte

ABSTRACT

The food contamination is a major problem for the consumer especially during the summer period in the hot countries. The bacterial interactions exploitation is a new strategy to fight against these pathogenic microorganisms. The objective of this study was to characterize *Lactobacillus* sp isolated from raw goat's milk which can produce an antimicrobial substance toward the growth of *Staphylococcus aureus*. The microbiological and biochemical methods were used to identify the isolates of lactic acid bacteria which have an antimicrobial activity. Nine isolates of lactic acid bacteria were identified and belonging to *Lactobacillus* species. The dominant species are: *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. fermentum*, *Lb. paraplantarum* and *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei*. The study of the interactions revealed the capacity of three strains *Lb. plantarum* (58), *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (55) and *Lb. rhamnosus* (68) which can inhibit *Staphylococcus aureus*. In mixed culture with *Lb. plantarum* the growth of *Staphylococcus aureus* was 1.6 log cfu/ml after 12 h and no growth was observed after 72 h of incubation. The chemical characterization of inhibiting substance of *Staphylococcus aureus* revealed the protein nature.

KEYS WORDS: goat's milk, lactic acid bacteria, interaction, bacteriocin, *Lactobacillus*, *Staphylococcus aureus*, mixed culture.



INTRODUCTION :

Actuellement, les scientifiques exploitent les interactions microbiennes pour assurer la salubrité des aliments et pour lutter contre les microorganismes indésirables. La pasteurisation, la fermentation et la réfrigération ne constituent pas une garantie suffisante pour lutter contre la contamination microbienne. L'emploi excessif et non contrôlé des additifs chimiques peut engendrer des risques sanitaires pour le consommateur. Actuellement les travaux scientifiques de Desmazeaud et Cogan, (1996) [1] et Cocolin *et al.*, (2007) [2] ont été consacrés à l'exploitation des métabolites antimicrobiens des certaines bactéries pour améliorer la qualité sanitaire des aliments. Récemment, la découverte des bactériocines par Wilson *et al.*, 2005 [5] ont donné une impulsion pour le développement des aliments de meilleure qualité sanitaire. La recherche de nouvelles souches de bactéries lactiques productrices de substances antimicrobiennes est un objectif universel pour la création d'un levain lactique destiné à une meilleure bio-préservation des aliments. Haikkila et Saris (2003) [6] ont signalé l'inhibition des germes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* par la microflore lactique isolée du lait de femme.

La caractérisation technologique des bactéries lactiques conduit au développement de souches bactériennes bien définies et avec des caractères spécifiques. Ces derniers remplacent progressivement les mélanges non définis traditionnellement employés en industrie laitière [7]. Afin d'éviter l'effet secondaire des conservateurs chimiques, l'intérêt de l'utilisation des bactériocines ou des souches de bactéries lactiques productrices de bactériocines pour des applications comme bio-préservatrices a suscité beaucoup d'intérêt [8-9].

Le but de cette étude est l'isolement de nouvelles souches de bactéries lactiques productrices de substances antimicrobiennes type bactériocine capables d'inhiber les

bactéries impliquées dans les intoxications alimentaires en période estivale.

PARTIE EXPERIMENTALE :

Les espèces de *Lactobacillus* proviennent de la collection du laboratoire de microbiologie appliquée du département de biologie de la faculté des sciences, de l'université d'Oran, Algérie. Les trois bactéries pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25921 et *Bacillus sp.* ATCC 27380) proviennent de la collection du laboratoire d'analyse médicale du centre hospitalo-universitaire (CHU) d'Oran.

Les espèces de lactobacilles sont ensemencées sur milieu MRS liquide et solide à (pH 5,4) ensuite, elles sont incubées à 30°C entre 24 à 72h [13]. Le dénombrement sélectif de *Staphylococcus aureus* est réalisé sur milieu Chapman à 37°C [14]. Les autres bactéries, *Escherichia coli* et *Bacillus sp* ont été ensemencées sur milieu Mueller-Hinton et incubé à 37°C. Les milieux utilisés au cours de ce travail étaient soit des milieux liquides, soit des milieux solides (1,5% agar p/v) et semi solide (0,7% agar p/v). La stérilisation des milieux est réalisée par autoclave à 121°C pendant 20 min. Le milieu lait écrémé (11% p/v) est stérilisé à 110°C pendant 10 min. Les isolats retenus sont tous Gram positifs et catalase négative. L'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une culture dont la pureté est estimée par observation microscopique après coloration de Gram [4].

1- Mise en évidence des inhibitions inter bactériennes :

La recherche d'éventuelle production de substances inhibitrices par les bactéries isolées est réalisée selon la méthode de la double couche. Pour la recherche de l'activité inhibitrice en milieu liquide, surnageant, la méthode de diffusion en puits a été utilisée par Tagg et Mac Given, (1971) [15]. Dans les deux cas *Staphylococcus aureus* a été utilisée comme souche indicatrice. L'exclusion de toute inhibition de l'organisme indicateur qui pourrait être due à l'acidité a été assuré par l'emploi de milieu de culture tamponné



avec le tampon phosphate 0.2M à pH 7. L'inhibition de la bactérie indicatrice par la production de H_2O_2 est exclue car *Staphylococcus aureus* possède une catalase. La confrontation entre les mêmes espèces lactiques permet de détecter la présence d'une interaction antagonisme par la présence d'une zone d'inhibition autour des colonies productrices, ce qui nous oriente vers la présence d'une substance proche de bactériocine.

La révélation du spectre d'activité antimicrobienne a été réalisée sur plusieurs bactéries pathogènes gram positif et gram négatif, en inoculant 0,1ml de cultures jeunes (18 h) (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp. et *Escherichia coli*) dans 7,5 ml du milieu MH semi solide qui est coulé sur les colonies des bactéries lactiques déjà développées sur milieu MRS solide. Après solidification de la surcouche, les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C pendant 48h. La présence d'une zone claire autour des colonies, indiquant l'absence de croissance de la souche test, et la zone d'inhibition est mesurée [14-17].

La méthode indirecte [16-17] permet de mettre en contact le surnageant de la souche lactique productrice de substances antimicrobiennes avec la souche test. Les souches productrices de substances inhibitrices sont cultivées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 18 heures. Après incubation, le milieu est centrifugé (8000 tr/min, 10 min) et le surnageant est conservé à 4°C.

Dans une boîte de Pétri contenant du MRS solide et ensemencé par la souche test, des puits sont réalisés avec un emporte pièce. Ces puits recevront 100 µl du surnageant brut de la culture lactique à tester et les boîtes sont incubées pendant 24 h à 30°C. Les puits entourés d'une zone claire d'inhibition de la souche test et ayant un diamètre supérieur à 2 mm sont considérées comme positive [18].

2- Détermination du spectre d'activité :

Les méthodes de confrontation directe de Schillinger et Luke (1989) [8] et de Sookkhee

et al., (2001) [19] ont été utilisées pour la détermination du spectre d'activité des souches productrices de substances antimicrobiennes. Les espèces retenues appartiennent aux genres *Lactobacillus* (58, 68 et 55) tandis que les espèces tests appartiennent aux bactéries à Gram négatives *Escherichia coli*, et aux bactéries à Gram positives non sporulées *Staphylococcus aureus* et aux bactéries sporulées *Bacillus* sp.

3- Caractérisation de la nature de l'agent inhibiteur :

Comme les inhibitions peuvent être causées par plusieurs agents tels que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, les phages et les bactériocines, la recherche de la nature de l'agent inhibiteur est devenue indispensable. Les filtrats de culture ayant montrés une forte activité inhibitrice ont été sélectionnés puis testés par la méthode de Tagg et McGiven [15]. L'utilisation des enzymes protéolytiques, la trypsine et l' α -chymotrypsine, permet de déterminer la nature de la substance inhibitrice. La sensibilité thermique de la substance a été testée par un chauffage à 100°C pendant 30 min. La présence de la zone d'inhibition après traitement indique la stabilité de la substance inhibitrice. Dans tous les cas l'activité inhibitrice résiduelle est évaluée par la technique de diffusion en puits [15].

4- Cinétique de croissance et d'acidification :

L'évaluation de l'acidité, produite par les souches pures, est réalisée par titrimétrie et par pH mètre. Chaque souche est ensemencée dans 10 ml de lait écrémé (10% p/v) stérile. Les pré-cultures sont préparées par incubation à 30°C jusqu'à coagulation. 3% de la pré-culture est transvasée stérilement dans 100 ml de lait écrémé homogénéisée. Le mélange est réparti dans des tubes stériles à raison de 10 ml/tube. Les cinétiques de croissance et d'acidification sont réalisées simultanément aux intervalles en temps réguliers, 0h, 3h, 6h, 9h, 14h, 18h, 20h, 24h, 48h et 72h. *Staphylococcus aureus* ATCC.25923 est utilisée comme test qui est



inoculée à raison (2 ml dans 100 ml de lait) environ 10^3 ufc/ml. Des prélèvements à temps réguliers suivit de dilution décimale dans l'eau physiologique ont permis d'évaluer la cinétique de croissance et d'acidification en milieu lait.

5- Dosage de l'acidité dornic :

Un prélèvement de 10 ml de la culture est transféré dans une fiole conique de 100 ml et 5 gouttes d'une solution de phénophtaléine (2 mg/ml dans l'éthanol 60°) sont ajoutées. La neutralisation de l'acidité par NaOH 1/9N jusqu'à apparition d'une couleur rose persistante et on note le volume de la solution titrante indiquant ainsi l'acidité produite estimée en degré Dornic [20].

6- Cinétique croissance en culture pure et mixte dans le lait :

Après préparation des cultures mixtes, des prélèvements à temps réguliers subissent des suspensions de dilutions décimales dans l'eau physiologique. 0,1 ml de la dilution convenable estensemencée sur milieu MRS acidifié pour le dénombrement des lactobacilles. Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* est réalisé sur milieu chapman. Seulement les boites contenant entre 30 à 300 colonies sont prises en compte [14; 20; 22]. Le dénombrement en culture mixte se fait par inoculation de 0,1 ml de la dilution convenable dans les deux milieux sélectifs MRS acidifié pour les lactobacilles et Chapman pour *Staphylococcus aureus*. 7- Effet de l'extrait brut de *Lactobacillus plantarum*: L'effet de l'extrait brut de *Lactobacillus plantarum* 58 a été testé vis-à-vis de la croissance de *Staphylococcus aureus*. L'extrait brut de cette souche est obtenu par une centrifugation à 8000 tours/min pendant 10 minutes d'une culture de 18h en milieu MRS pH 6,8. Le surnageant est chauffé à 100°C pendant 5 min afin d'éliminer les cellules viables. L'activité résiduelle de l'extrait brute est immédiatement testée après refroidissement et neutralisation du pH par NaOH. Le test consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice de *Staphylococcus*

aureus. Après incubation des différentes dilutions, la lecture de la croissance est estimée par la lecture de la densité optique au spectroscope [23].

RESULTATS ET DISCUSSION

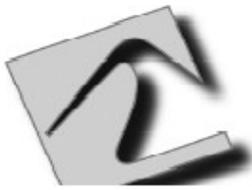
Un nombre de 64 souches de *Lactobacillus* a été isolé. La détection des souches productrices de substances antimicrobiennes a été réalisée par confrontation sur milieu solide et 11 sur les 64 retenues ont montré une activité inhibitrice. Trois isolats sur les 11 ont donné une activité plus élevée par rapport aux autres. Ces dernières ont été identifiées par les tests microbiologiques, physiologiques et biochimiques [24].

1- Caractérisation des isolats :

Les souches retenues produisent sur milieu solide de petites colonies d'environ 1mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtre ou laiteuse, avec une surface lisse et un pourtour circulaire régulier. L'examen microscopique révèle que les souches testées étaient Gram positif, de forme bâtonnets isolées, en paires ou en chaînes. Ces observations permettent de classer les bactéries selon le Gram, la forme cellulaire et le mode d'association [25]. L'identification des isolats retenues est réalisée par l'établissement du pourcentage de fiabilité des caractères similaires de chaque souche avec les souches de références [24, 26, 27]. Suite à ces critères nos souches productrices de substances antimicrobiennes appartiennent aux espèces suivantes *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*.

2- Inhibition entre les bactéries lactiques :

Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus acidophilus* possèdent un spectre d'activité inhibitrice très large et la souche la plus inhibitrice appartient à *Lactobacillus plantarum* (58). Le criblage pour la production de substances antagonistes a été réalisé dans des conditions excluant toute inhibition éventuelle qui pourrait être due à l'acidité ou à la production du peroxyde d'hydrogène en utilisant respectivement des milieux de cultures tamponnés. Les espèces de lactobacilles sont



connues pour leur grande résistance aux pH acides [5, 28, 29].

En outre, les lactobacilles peuvent sécréter dans le milieu des inhibiteurs spécifiques plus intéressant de point de vue technologique, de nature protéique appelées bactériocines [2, 30, 31, 32, 50].

3- Production de peroxyde d'hydrogène :

Le peroxyde d'hydrogène est, depuis longtemps, reconnu comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques en particulier celle des lactobacilles. Ces dernières sont généralement catalases négatives mais certaines souches peuvent accumuler du peroxyde d'hydrogène lorsqu'elles sont cultivées en aérobiose ou en micro aérobiose [33]. Le niveau d'accumulation varie selon la souche bactérienne, il peut être auto-inhibiteur révélant une activité plus intense des réactions génératrices de peroxyde d'hydrogène [34, 35]. *Lactobacillus plantarum* (58) produit des inhibitions vis-à-vis des souches taxonomiquement proches, ce qui a conduit à une orientation vers une identification de cet agent inhibiteur étant une substance appartenant probablement aux bactériocines. Ce résultat est en accord avec les travaux réalisés sur les espèces de *Lactobacillus* [36, 37, 38].

4- L'effet des enzymes protéolytiques:

Comme les bactériocines sont de nature protéique, les réponses obtenues après l'action des enzymes protéolytiques (trypsine et α -chymotrypsine) nous permettront d'identifier la nature des substances antibactériennes [39]. Pour les souches performantes testées, on a remarqué que

l'activité antibactérienne a disparue après l'action des enzymes protéolytiques chez les six souches (58, 68, 55, 54, 52 et 13) ce qui permet de suggérer que l'activité antagoniste est due à une substance de nature protéique ou peptidique.

Le siège d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire, raison pour laquelle les bactériocines n'ont pas d'activité contre les bactéries Gram-. L'incapacité des bactériocines à traverser cette barrière est due à leur poids moléculaire ou à leurs propriétés hydrophobes. Dans le cas où la membrane externe est rendue perméable, par un traitement physique [40], ou par un traitement chimique [41, 42], les bactéries Gram négatives deviennent sensibles aux bactériocines. Cependant, les mécanismes d'action des bactériocines sur la membrane sont variés. Les substances antimicrobiennes produites par les lactobacilles isolées du lait cru de chèvre répondent aux critères signalés dans la bibliographie [40, 43] et peuvent donc être considérées comme des bactériocines. C'est le cas des substances inhibitrices produites par *Lb. plantarum* (58).

5- L'action des lactobacilles sur la croissance de *Staphylococcus aureus* sur milieu solide :

Les résultats obtenus dans la confrontation entre les lactobacilles les plus performantes donnent des inhibitions entre eux et vis-à-vis des bactéries tests (Fig.1). La détermination du spectre d'activité vis-à-vis des souches pathogène à Gram⁽⁺⁾ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp*, et à Gram⁽⁻⁾ *Escherichia coli* a été réalisé par confrontation sur milieu solide

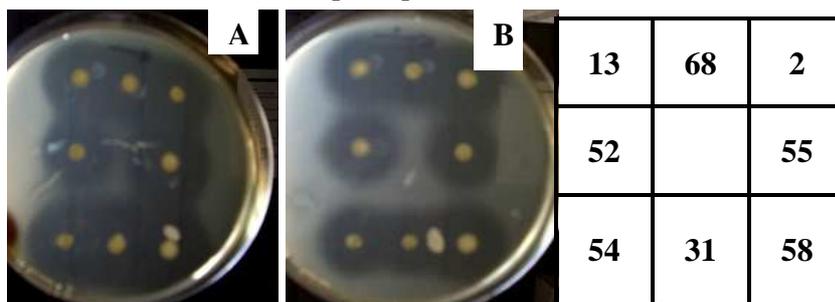


Figure 1: Activité inhibitrice des lactobacilles vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* par l'apparition des zones d'inhibitions claires autour des colonies en milieu non tamponné A et en milieu tamponné B



Lb. plantarum (58) a donné une zone d'inhibition remarquable vis à vis de *Staphylococcus aureus*, cette inhibition est due à une substance inhibitrice, sachant que le test a été réalisé sur milieu tamponné afin d'écartier l'effet de l'acide lactique. Les tests supplémentaires à savoir peroxyde d'hydrogène, les phages et l'effet des enzymes protéolytiques, confirment la nature protéique de cette substance [44]. Les souches 58, 55 et 68 ont produit des inhibitions vis à vis de *Bacillus* sp. et *E. coli*. La cinétique de croissance et d'évolution du pH en culture mixte de *Lactobacillus* et de *St. aureus* en milieu lait a été suivie durant 24 h. *Lactobacillus* produit une quantité d'acide lactique, en culture mixte avec *St. aureus*, supérieure de 12 % par rapport à la culture pures de *Lb. plantarum* (59.4°D en 24 h). La diminution du pH (Fig.2) chez *Lb. plantarum* a atteint 4.32 en 24h. En culture pure le pH de la culture de *St. aureus* est de 5.13. En cultures mixtes en milieu lait le pH a atteint 4.6. Les travaux de Kask *et al.* [45]; Katina *et al.* [46]; Mami *et al.* [32]; ont rapporté des valeurs similaires de production d'acidité dornic chez d'autres espèces de lactobacilles

La plus grande quantité d'acide lactique produite est constaté chez *Lb. plantarum* elle est de 59°D, puis vient la souche *Lb. rhamnosus* et *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* avec 58°D et 48°D respectivement en culture pure après 72h. Alors qu'en culture mixte avec *Staphylococcus aureus* les espèces de *Lactobacillus* produisent une quantité d'acide supérieure, qui est de 71°D pour *Lb. plantarum*, puis vient *Lb. rhamnosus* et *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* avec 64°D et 62°D respectivement en 72h (figures non montrés).

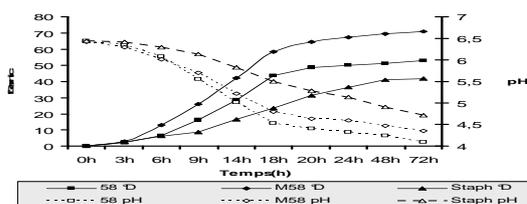


Figure 2 : Evolution de l'acidité dornic (symbole plein) et du pH (symbole vide) en fonction du temps en culture pure et en culture mixte de *Lactobacillus plantarum* (58) et de *Staphylococcus aureus*.

6- Dénombrement de *Staphylococcus aureus* en culture pure et mixte :

Le dénombrement initial de *Lb. plantarum*, était de 3.19 log, après 24 h le nombre a atteint 8,19 log ufc/ml.

Le nombre initial de cellules vivantes de *St. aureus* était de 5,07 log ufc/ml et il a enregistré en 24 h une augmentation de 1,85 log ufc/ml (Fig. 3). Par contre, en culture mixte après 24h d'incubation, on note une diminution dans le nombre de cellules de *St. aureus* de l'ordre de 1,6 log ufc/ml. Cette diminution témoigne de l'effet inhibiteur de *Lb. plantarum* (Fig.3)

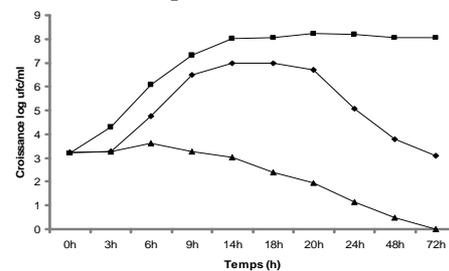


Figure 3 : Cinétique de croissance de *Lb. plantarum* (■) et *Staphylococcus aureus* (◆) en culture pure et *Staphylococcus aureus* (▲) en culture mixte dans le lait.

Aucune croissance n'a pu être détectée pour *St. aureus* après 72h d'incubation en présence de *Lb. plantarum*. L'activité inhibitrice est légèrement faible chez les deux autres espèces *Lb. rhamnosus* et *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Cette variation de l'effet inhibiteur des espèces de *Lactobacillus* sur *Staphylococcus aureus* a été remarquée par les travaux de Rodriguez *et al.* [47]. Les études de Arqués *et al.* [48] ont montré qu'après 72 h d'incubation le nombre de *Staphylococcus aureus* diminue jusqu'à 0,46 log ufc/ml, comparé au témoin ou le nombre était de 6.46 log ufc/ml. La production de plusieurs classes de bactériocines par *Lb. plantarum* provoque une action synergique dans inhibition de *St. aureus* [49].

7- Effet de l'extrait brut de *Lb. plantarum* sur la croissance de *St. aureus*:

L'extrait brute du surnageant de *Lb. plantarum* inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* Après 6 h d'incubation de dans les dilutions 1/2 et 1/4



avec un taux de mortalité supérieur à 90 % (Fig. 4). Alors que pour la dilution 1/254 et 1/1016 le taux de mortalité est proche de 50%. Le taux de mortalité après 24h d'incubation dans les trois premières dilutions 1/2, 1/4 et 1/8 est de 93,4, 92,5 et 95,1 respectivement. Ce taux de mortalité est de 10,4% et 4,9% pour les dilutions 1/254 et 1/1016 respectivement.

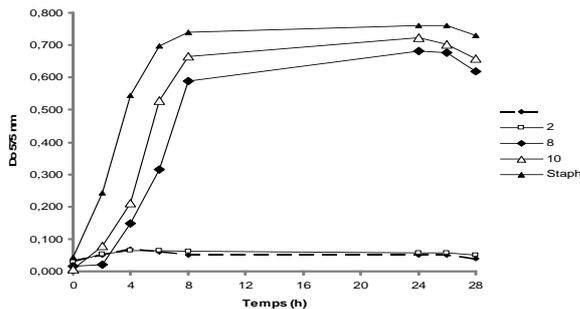


Figure 4: Effet de différentes dilutions de l'extrait brut de *Lactobacillus plantarum* (58) chauffé à 100°C pendant 10 min sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

On constate que la dilution 1/2 (1,125 mg/ml de protéine), 1/4 et 1/8 de l'extrait brute de la substance de *Lb. plantarum* a inhibé la

croissance de *Staphylococcus aureus*. En revanche, le taux de mortalité observé est inversement proportionnel aux dilutions effectuées.

L'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des protéines de l'extrait brut de la culture de *Lb. plantarum*. Dans les premières dilutions ou la concentration des protéines est supérieure à 2.5 mg/ml. Les concentrations de protéines de 0,31 mg/ml produit un effet inhibiteur intermédiaire proche de 40% de mortalité. La dernière dilution 1/1016 qui représente une concentration de protéines de 19 µg/ml le taux de mortalité enregistré en 24 h est de 4.9%. Cette activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* par *Lactobacillus plantarum* 58, observée in vitro nous montre la possibilité d'exploiter cette activité pour l'utiliser comme moyen de biopréservation des aliments pour lutter contre les espèces de *Staphylococcus aureus* impliquées dans les intoxications alimentaires observées pendant les saisons estivales en Algérie.

REFERENCES

- [1] Desmazeaud M et Cogan T.M. (1996). Role of cultures in cheese ripening. In: Cogan, T.M., Accolas, J.P. (Eds.), Dairy Starter Cultures. VCH Publishers, Inc., New York, pp. 207-231.
- [2] Cocolin L., Foschino R., Comi G. et Fortina M.G. (2007). Description of the bacteriocins produced by two strains of *Enterococcus faecium* isolated from Italian goat milk. *Food Microbiol.* 31: 753-758
- [3] Fitzsimmons N.A., Cogan T.M., Condon S. et Beresford T. (1999). Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3418-3426.
- [4] Badis A., Guetarni D., Moussa Boudjema B., Henni D.E. et Kihal M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goats milk of four Algerian races. *Food. Microbiol.* 21. 5: 579-588
- [5] Wilson A.R., Sigee D. et Epton H.A.S. (2005). Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strain SK1 against *Listeria monocytogenes* is due to lactic acid production. *J. Appl. Microbiol.* 99: 1516-1522.
- [6] Heikkila M.P. et. Saris P.E.J. 2003. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J. Appl. Microbiol.* 95: 471-478
- [7] Crow V.L., Coolbear T., Holland R., Pritchard G.G. et Martley F.G. (1993). Starters as finishers: starter properties relevant to cheese ripening. *Inter. Dairy J.* 3: 423-460.
- [8] Schillinger U. et Lücke K. (1989). Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1901-1906.
- [9] Budde B.B., Hornbaek T., Jacobsen T., Barkholt V. et Koch A.G. (2003). *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *Inter. J. Food Microbiol.* 83: 171-184.
- [10] Jacobsen, T., Budde, B.B. et Koch, A.G. (2003). Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *J. Appl. Microbiol.* 95: 242-249.
- [11] Vermeiren L., Devlieghere F. et Debevere J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid Bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 96:149-164.
- [12] Alvarez Martin P., Florez AB., Hernandez Barranco et. Mayo B. (2008). Interaction Between dairy yeasts and lactic acid Bacteria strains during milk fermentation. *Food Control.* 19: 62-70
- [13] De Man J.C., Rogosa M et Sharpe M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135.
- [14] Kaban, G. et Kaya M. (2006). Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Food control* 17,797-801.
- [15] Tagg J.R. et McGiven A.R. (1971). Assay system for bacteriocins. *J. Appl. Microbiol.* 21: 943.
- [16] Tahara T. et Kanatani K. (1996). Isolation, partial characterization and mode of action of acidocin J 1229, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* JCM 1229. *J. Appl. Bacteriol.* 81: 669-677



- [17] Barefoot S.F. et Klaenhammer T.R. (1983). Detection and activity of lactacin B, a Bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45(6), 1808-1815.
- [18] Miteva V., Ivanova I., Budakov I., Pantev A., Stefanova T., Danova S., Monchev P., Mitev V., Dousset X. et. Boyaval P. (1998). Detection and characterization of a novel Antibacterial substance produced by a *Lactobacillus delbrueckii* strain 1043. *J. Appl. Microbiol.* 8 : 603-614.
- [19] Sookkhee S., Chulasiri M. et Prachyabrued W. (2001). Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J. Appl. Microbiol.* 90: 172-179.
- [20] Kihal M., Prevost H., Lhotte M.E., Huang DQ et Divies C. (1996). Instability of plasmid encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.* 22: 219-223.
- [21] Guessas B., Hadadji M., Saidi N et Kihal M. (2005). Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth in milk by lactic acid bacteria. *Dirassat*, 32. 3: 53-60
- [22] Otero C.M. et Macias N.M.E. (2006). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂ Producing *Lactococcus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle. *Animal Reprod Sci.* 96: 35-46.
- [23] Le Blay G., Lacroix C., Zihler A. et Fliss I. (2007). In vitro Inhibition activity of nisin A, nisin Z, pediocin PA-1 and antibiotics common intestinal bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 45: 252-257.
- [24] Carr F.J., Chill D. et Maida N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature Survey. *Cur. Rev. Microbiol.* 28.4: 281-370
- [25] Joffin J N et Leyral G. (1996). Microbiologie technique. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux, France, pp. 219-223.
- [26] Klein G., Pack A., Bonaparte C et Reuter G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Inter. J. Food. Microbiol.* 41: 103-125
- [27] Stiles M.E., Wilhelm H. et Holzapfel W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their Current taxonomy. *Int. J. Food. Microbiol.* 36: 1-29.
- [28] Wong H.C et Chen Y.L. (1988). Effects of lactic acid bacteria and organic acids on growth And germination of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2179-2184.
- [29] Podolak P K., Zayas J F., Kastner C L et Fung D.Y.C. (1996). Inhibition of *Listeria monocytogenes*
- [30] Oyetayo V O., Adetuyi F C et. Akinyosoye F A. (2003). Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent *in-vivo*. *Afr. J. Biotech.* 2: 448-452.
- [31] Avila M., Garde S., Medina M et Nunez M. (2005). Effects of milk inoculation with bacteriocin-producing lactic acid bacteria on a *Lactobacillus helveticus* adjunct cheese culture. *J. Food Prot.* 68: 1026-1033.
- [32] Mami A., Henni J.D. et Kihal M. (2008). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species Isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *Word. J. Dairy. Food Sci.* 3 : 39-49
- [33] Juillard, V., Spinnler, M., Desmazeaud, M.J. et Bouquien C.Y. (1987). Phénomène de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. *Lait.* 67: 149-172.
- [34] Lewis CB., Kaiser A et Montville T.J. (1991). Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1683-1688.
- [35] McGrath S., van Sinderen D. et Fitzgerald G.F. (2002). Bacteriophage-derived genetic tools For use in lactic acid bacteria. *Inter. Dairy J.* 12 : 3-15
- [36] Alexandre D.P., Silva M.R., Souza M.R. et Santos V.L.M. (2002). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from artisanal minas cheese against indicator microorganisms. *Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec.* 54: 424-428.
- [37] Deegan L.H., Cotter P.D., Hill C. et Ross P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio preservation and shelf-life extension. *Inter. Dairy J.* 16: 1058-1071.
- [38] Piard J.C. et Desmazeand M. (1991). Inhibiting factors produced by lactic and bacteria part L. oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait.* 71: 525-541.
- [39] Aslim B., Yuksekdog Z.N., Sarikaya E. et Beyatli Y. (2005). Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *LWT.* 38: 691-694.
- [40] Kalchayanand N., Hanilin M.B. et Ray B. (1992). Sublethal injury makes Gram-negative resistant Gram-positive bacteria sensitive to the bacteriocins pediocin AcH and nisin. *Lett. Appl. Microbiol.* 15: 239-243.
- [41] Stevens K.A., Sheldon BW., Klapes N.A. et Klaenhammer T R. (1991). Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 57:3612-5.
- [42] Nettles C.G. et Barefoot S F. (1993). bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *J. Food Prot.* 56: 338-356.
- [43] Klaenhammer T.R. (1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie.* 70:337-49. [44] Tagg JR., Dajani AS et. Wannamaker LW. (1976). Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol Rev.* 40: 722 756
- [45] Kask S., Laht M T., Pall P. et Paalme T. (1999). A study on growth characteristics and Nutrient consumption of *Lactobacillus plantarum* in A-stat culture. *Antonie van Leeuwenhoek.* 75:309-320.
- [46] Katina K., Sauri M., Alakomi H L. et Mattila-Sandholm T. (2002). Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.* 35, 1: 38-45.
- [47] Rodriguez E., Calzada J., Arquès JL, Rodrigues JM, Nunez M. et Medina M. (2005). Antimicrobial activity of Pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 in cheese. *Inter. Dairy J.* 15: 51
- [48] Arquès JL., Rodriguez E., Gaya P., Medina M., Guamis B et Nunez M. (2005). Inactivation *Staphylococcus aureus* in raw milk cheese by combination of high-pressure treatments And bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Inter. Dairy. J.* 24: 227-38-57.
- [49] Hernandez D., Cardell E. et Zarate V. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheeses: Initial characterization of plantaricin TF 711, bacteriocin like substance produced by *Lactobacillus plantarum*. TF 711. *J. Appl. Microbiol.* 99: 77-84
- [50] Achemchem F., Abrini J., Martinez-Bueno M., Valdivia E. et Maqueda M. (2004). Purification et caractérisation d'une bactériocine anti-*Listeria* produite par *Enterococcus faecium* F-420 isolée à partir de lait cru de chèvre. *Biotechnologies. Congrè Internationale de Biochimie. Marrakech, Maroc 3-6- mai 2004*