



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

Bactéries lactiques associées aux olives de table: isolement, identification, étude des effets bactériocinogènes, croissance sur divers milieux de culture modifiés

Présenté Par:

Melle **Houria Ilhem**
Melle **Mezazigh Assia**

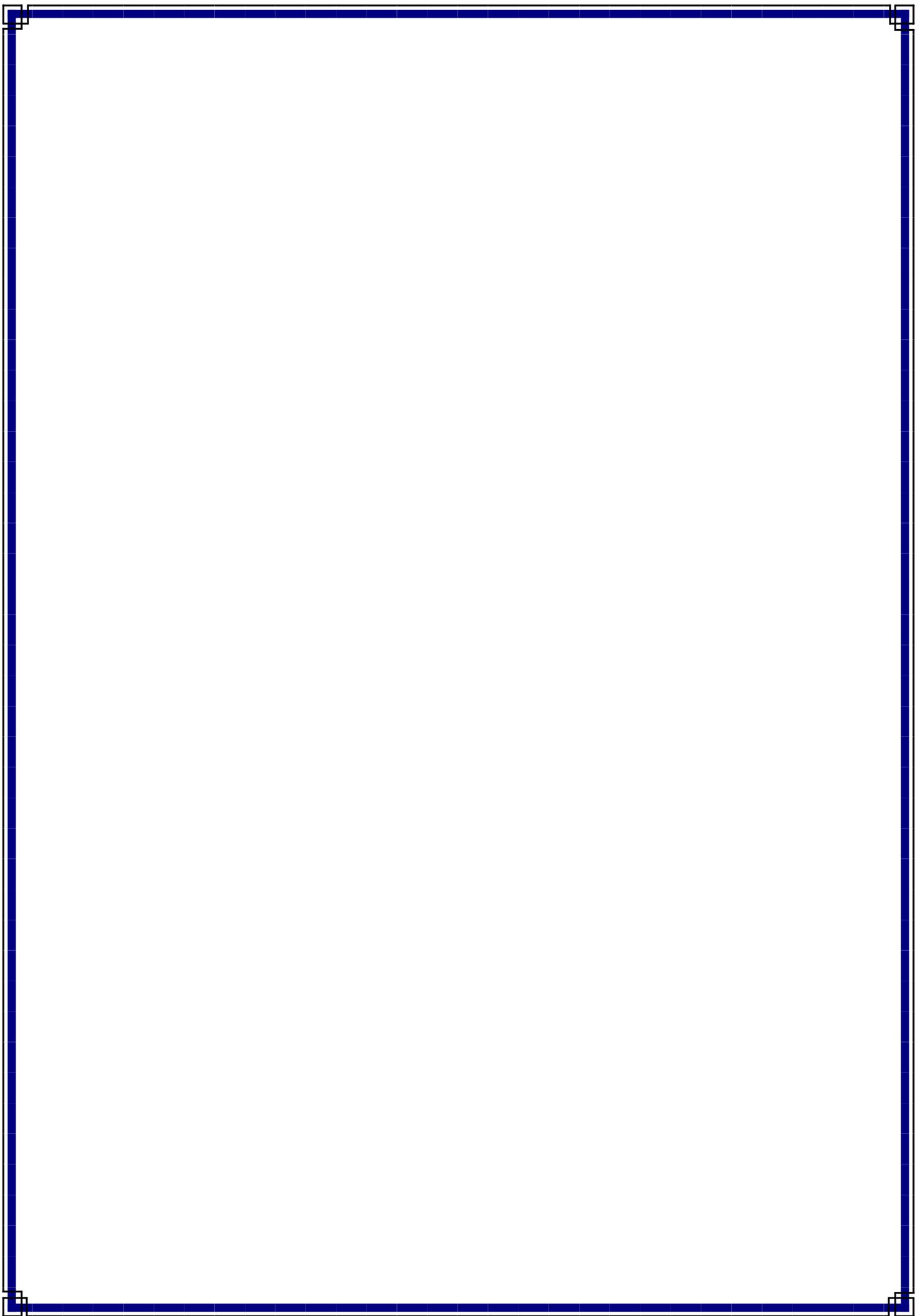
Soutenu le .07/ 07 /2022 Devant le Jury:

Président : Mme BOUGUERRA Asma MC B (Université de B.B.A)

Encadrant : M^r MERIBAI Abdelmalek MC B (Université de B.B.A)

Examineur : M^r SADRATI Tahar MC B (Université de B.B.A)

Année Universitaire : 2021-202



Dédicaces

J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :

À mes très chers parents

A messœurs Amina, Lydia et mon petit frère Haroun

A Mes cousines Sabrina Lynda et Amina.

Mes grandes familles Houria et Benyahya.

Ma chères copines Assia.

Ilhem Houria

Je Dédie ce travail à ma chère maman(yama), mon cher papa qui m'ont toujours soutenu.

A mes frères: Hamza, Mohamed, Abdelhak et Nassime.

A mes soeurs: Amel, Yamina, Kanza et Nassima de m'avoir encouragé aux moments difficiles.

A mes petits oiseaux Youssaf, Lina, Ayoub et Nour Elhouda.

A ma chère amie et partenaire Ilhem

Un grand Merci à mes grandes familles: Mezazighe et Benlarbie

Assia Mezazigh

Liste des tableaux

N/Tableau	Titre	Page
Tableau I	Résultats de dénombrement des <i>UFC</i> des eucaryotes dans 16 échantillons d'olive.	11
Tableau II	Dénombrement des bactéries lactiques (<i>UFC</i>) dans 16 échantillons d'olive de table.	12
Tableau III	Caractérisation des souches Lactobacilles, et Lactococques.	15
Tableau IV	Caractérisation des souches Leuconostocs: 2 isolats d'olive, 2 souches de référence.	17
Tableau V	Résultats d'antibiogramme des isolats – lactobacilles.	18
Tableau VI	Résultats d'antibiogramme des isolats Lactococques.	18
Tableau VII	Résultats de l'antibiogramme des isolats Leuconostocs.	19
Tableau VIII	Résultats de l'antibiogramme des isolats de référence (souches probiotiques).	19
Tableau IX	Ø (en mm) des Z.I des souches LAB contre eucaryotes.	20
Tableau X	Ø (en mm) des Z.I des Lactobacilles contre procaryotes.	22
Tableau XI	Ø (en mm) des Z.I des Lactococques contre procaryotes	23
Tableau XII	Résultats des DO des milieux MRS, M17 additionné de GA.	24
Tableau XIII	Résultats des DO de milieu Elliker additionné la GA.	24
Tableau XIV	Résultats des DO des milieux MRS, M17 additionné la FOS.	26
Tableau XV	Résultats des DO de milieu Elliker additionné la FOS.	26
Tableau XVI	Résultats des DO des milieux MRS M17 additionné du Psy.	28
Tableau XVII	Résultats des DO de milieu Elliker additionné la Psy.	28
Tableau XVIII	Résultats des DO des milieux MRS, M17 additionné la CA.	29
Tableau XIX	Résultats des DO de milieu Elliker additionné de la CA.	29
Tableau XX	Résultats des DO des milieux MRS M17 additionné la CA +blé.	31
Tableau XXI	Résultats des DO de milieu Elliker additionné la CA+ blé.	31

Liste des figures

Figure	Titre	Page:
Figure 1	Schéma illustrant les différentes étapes d'analyses suivies dans la partie expérimentale.....	05
Figure 2	Les étapes de macération des échantillons d'olive N8.....	06
Figure 3	Représentation en (%) de dénombrement des flores eucaryotes.....	11
Figure 4	Histogrammes illustrants le dénombrement des LAB.....	13
Figure 5	Aspects des Lactobacilles sur milieu MRS.....	13
Figure 6	Aspects des Lactocoques de l'échantillon (N10) sur milieu M17.	13
Figure 7	Aspects des Lactocoques de l'échantillon (N10) sur milieu M17.....	14
Figure 8	Aspects des souches purifiées par séries successives de purification sur MRS.....	14
Figure 9	Aspects des souches purifiées par séries successives de purification sur M17.....	14
Figure 10	Aspects des souches purifiées par séries successives de stries sur Elliker	14
Figure 11	Coloration au bleu de méthylène des isolats LAB	15
Figure 12	Coloration de Gram des isolats LAB.....	15
Figure 13	Résultat d'antibiogramme des Lactobacilles	18
Figure 14	Résultats d'antibiogramme de Lactocoques	18
Figure 15	Résultats d'antibiogramme de Leuconostocs	19
Figure 16	Résultats d'antibiogramme des isolats de références	19
Figure 17	Représentation en (%) des profils antibiogramme des isolats.....	20
Figure 18	Antagonisme des souches LAB dirigé contre <i>Fusarium sp.</i>	21
Figure 19	Antagonisme des souches LAB dirigé contre <i>Trichoderma sp.</i>	21
Figure 20	Antagonisme des souches LAB dirigé contre <i>Micrococcus sp.</i>	22
Figure 21	Antagonisme des souches LAB dirigé contre <i>Bacillus Sp</i>	23
Figure 22	Effet de GA sur la croissance des Lactobacilles.....	24
Figure 23	Effet de G.A sur la croissance des Lactocoques	25
Figure 24	Effet de G.A sur la croissance des Leuconostocs	25
Figure 25	Effet de FOS sur la croissance des Lactobacilles	26
Figure 26	Effet de FOS sur la croissance des Lactocoques.....	27
Figure 27	Effet de FOS sur la croissance des Leuconostocs.....	27
Figure 28	Effet de Psyllium sur la croissance des Lactobacilles.....	28
Figure 29	Effet de Psyllium sur la croissance des Lactocoques.....	28
Figure 30	Effet de Psyllium sur la croissance des Leuconostocs	29
Figure 31	Effet de C.A sur la croissance des Lactobacilles.....	30
Figure 32	Effet de C.A sur la croissance des Lactocoques.....	30
Figure 33	Effet de CA sur la croissance des Leuconostocs	30
Figure 34	Effet de CA+ blé sur la croissance des Lactobacilles	31
Figure 35	Effet de CA+ blé sur la croissance des Lactocoques	32
Figure 36	Effet de CA+ blé sur la croissance des Leuconostocs.....	32

Liste des abréviations

µl: micro litre
Ae: Aérobie.
Amx: Amoxiciline
An: Anaérobie
ATB: antibiogramme
B: Bacillus
BL: Bactéries lactiques
Bt: bâtonnet
CA: caroube (Extrait)
Cc bl: coccobacille
Cc: Cocci
CEP : cephalothine
DO : densité optique
E: Érythromycine
FOS: Fosfo-Oligo-Saccharide
GA: Gomme arabique
h: heure
G: Gentamicine
HMF: Homofermentaire
HTF: Hétérofermentaire
I: intermédiaire
LAB: LacticAcidBacteria
Lb: Lactobacilles
Lc: Lactocoques
Ln: Leuconostocs
M 17: Gélose de Terzaghi et Sandine.
M. G: Matière Grasse.
M. H: Mueller Hinton.
min: minutes
mm: millimètre
MRS: Gélose de Man, Rogosa and Sharpe
N.D: Non Déterminé
NaOH: Hydroxyde de Sodium
Na: Acide nalidixic
nm: nanomètre
NO: Nitroxoline
Ø : Diamètre
OGA: Oxytétracycline Glucose Agar
PCA: Plate Count Agar

Liste des abréviations

pH: potentiel d'Hydrogène.

Ps: psyllium

R: Résistante

RP : Pristinomycine

S: Sensible

S.B.A: Surnageant Brut Actif.

SAB: Sabouraud

TSE: Tryptone Sel Eau

UFC: Unité formant Colonie

Xce: Croissance

Z.I: Zone d'inhibition.

Résumé

L'objectif de l'étude est l'isolement, sélection des Bactéries lactiques, des variétés d'olives de table en fermentation. Seize échantillons, collectés durant la période printanière 2022, commercialisés dans la willaya de Bordj Bou Arriredj Nord-Est d'Algérie. Dénombrements des eucaryotes sur milieux sélectifs a donné des flores adventices indénombrables, Sabouraud à donner meilleur taux de récupération suivi par PCA puis OGA. Dénombrement des flores lactiques sur: Elliker a donné charges indénombrables, sur MRS maximum en UFC pour l'échantillon N6 suivi de V6. Le milieu M17, un maximum des UFC pour l'échantillon N10 suivi de N9. L'identification (classiques) des souches, arrêtée au rang du genre, a permis de sélectionner dix isolats (4 *Lactobacilles*, 4 *Lactococques*, 2 *Leuconostoc*). Les antibiogrammes, ont montré la résistance de 75% des isolats *Leuconostoc sp.*, 45% *Lactobacilles sp* et 39% des *Lactococques sp* vis-à-vis de dix antibiotiques. L'antagonisme des isolats conduit, *In vitro*, contre des procaryotes, eucaryotes, était plus bactéricide contre Gram (+) avec des zones d'inhibition de 39mm entre:(LcN6 et *Bacillus sp.*), de 30mm entre:(LcN9 et *Micrococcus sp.*) et 26mm (LcN3 et *Bacillus sp.*). Effet fongicide des LAB (contre *Trichoderma sp*) et fongistatique entre LcN6 et *Fusarium sp* avec Zone d'inhibition: 17mm. La survie, croissances des souches lactiques sur différents milieux synthétiques, additionné(à des taux de 0,5%, et 1%) de substrats prébiotiques: Gomme arabique(*Acacia sp*), FOS, extrait de psyllium (*Plantago ovata*), extrait du Caroub (*Ceratonia siliqua*), a révélé l'amélioration de la croissance exponentielle, ce qui reflète des effets symbiotiques lors d'usage des isolats comme probiotiques. En perspective, l'étude mérite d'être approfondie par d'explorations d'ordre physicochimique (pH, acidité, taux de cendre, taux des sels, des polyphénols...) bactériologique (flores/espèces de contamination, toxines, identification génétiques des flores lactiques,...) sensorielles: par des tests hédoniques, de dégustation, enquête sur terrain pour sélectionner meilleur variété) sur un effectif élevé des variétés étalées sur le territoire national.

Mots clés

Olive de table, Bactéries lactiques, Antibiogramme, Antagonisme, Probiotiques, Sélection

Abstract

Study aimed to isolate and select probiotic lactic acid strains from sixteen fermented black table olive fruits samples collected in spring 2022 and marketed in Borj Bou Arreredj province, North east of Algeria. Yeast enumeration on Sabouraud medium gave a better *CFU* recovery rate, followed by Plant Count Agar (PCA) and then Oxytetracyclin Glucose Agar (OGA). Lactic flora enumeration on Elliker medium yielded non-countable CFUs. On MRS, maximum in *CFU* was given by sample N6 followed by V6. On M17 medium, the sample N10 gave a maximum number of *CFU* followed by N9. Strains identification by classical (physiological and biochemical) methods allowed to the selection of ten isolates: (4 *Lactobacillus* sp. strains, 4 *Lactococcus* sp. strains and two strains: *Leuconostoc* sp.). Results of antibiograms showed a high strains resistance: 75% of *Leuconostoc* sp., 45% of *Lactobacillus* sp. and 39% of *Lactococcus* sp. The antagonism of the isolate performed *In vitro* against prokaryotes and eukaryotes was directed more against Gram (+) with diameter of inhibition zones of: 39 mm: (LcN6 and *Bacillus* sp.) 30 mm: (Lc N9 and *Micrococcus* sp.), 26 mm: (LcN3 and *Bacillus* sp.). Lactic strains antagonism direct against the fungal indicator strains was fungistatic between LcN6 and *Fusarium* sp. with a diameter of inhibition area: 17mm and a fungicidal effect against *Trichoderma* sp. Growth and viability of bacterial isolates on different media supplemented (at rates: 0.5% and 1%) with 4 prebiotics: Gum arabic (*Acacia* sp.), FOS, Psyllium (*Plantago ovata*), carob extract (*Ceratonia siliqua*) revealed an exponential increase in growth, reflecting the symbiotic effects when isolates are used as probiotics. In perspective, the study deserves to be deepened by explorations of physico-chemical order: (pH, acidity, rate of ash, rate of polyphenol salts...etc); bacteriological: flora of contamination, toxins, genetic identification of the lactic flora...); sensory: hedonic tests, tasting, viability, to select the best variety, on a high number of varieties distributed on the national territory.

Keyword

Fermented black Olive, Lactic Acid Bacteria, Antibiogram, Antagonism, Probiotic, Sélection

الملخص:

تهدف الدراسة لعزل وتشخيص البكتيريا اللبنية من 16 عينة من زيتون المائدة. تم جمع العينات من مناطق عدة بمقاطعة برج بوعريبيج شمال شرق الجزائر. تعداد مستعمرات الخمائر (UFC/ml) على ثلاث اوساط زرع. اعطى وسط الزرع Sabouraud اعلى النسب متبوعا بوسط Plant Count Agar ثم وسط الزرع Oxytetracyclin Glucose Agar. تعداد مستعمرات بكتيريا اللبن على ثلاث اوساط زرع خاصة, اظهرت الاعداد العالية لمستعمرات نوع *Leuconostocs sp* على وسط Elliker. سجلت اعلى النسب لأجناس *Lactobacillus sp* على وسط MRS للعينة N_6 , اما اعداد المكورات اللبنية *Lactococcus sp* فسجلت بنسب عالية للعينة N_{10} متبوعة N_9 على الوسط M17. تم تشخيص اجناس بكتيريا اللبن, عن طريق الفحص العيني, المجهرى و الاختبارات الفيزيولوجية, الكيميوحيوية ودراسة نمط التخميز وتم انتخاب عشر سلالات (10 اجناس) (*Lactobacilles sp.4*, *Lactocoques sp. 4*, (*Leuconostoc sp.2*). اظهرت السلالات مقاومة للمضادات الحيوية بنسب متفاوتة *Leuconostoc sp.2* 75% *Lactobacilles*, 39% *Lactocoques* 45%. اعطت نتائج التضاد البكتيري في المختبر على وسط الزرع (*In vitro*): ضد سلالات حقيقيات النواة (*Fusarium sp.*, *Trychoderma sp.*) وبدائيات النواة G(-)/G(+) مناطق تثبيط ذات قطر عالي متفاوتة, وموجهة خاصة ضد بكتيريا الموجبة للجرام, وسجلت النسب العالية بين N_6 Lc و *Bacillus sp* ب 39mm و بين N_6 Lc و *Micrococcus sp* ب 30mm. دراسة نمو وتكاثر البكتيريا اللبنية عن طريق قياس نسب الكثافة البصرية (امتصاص) ومتابعتها لفترات: 24h, 48h, 72h على اوساط الزرع السائلة Elliker, MRS, M17 مضاف اليها نسب (0.5%, 1%) من مستخلصات البريبوتيك : الصمغ العربي, مستخلص FOS مستخلص Psyllium, مستخلص الخروب, مستخلص فرينة القمح ومستخلص الخروب وفرينة القمح. اظهرت النتائج تحسن ملموس لمرحلة النمو الاسي والافقي, مع تباين كبير بين السلالات. نتائج الدراسة مكنت من عزل, تشخيص بكتيريا لبنية و ابراز خصائصها : كالبروبيوتيك , مقاومة المضادات الحيوية وانتاج مواد البكتيريوسين المثبطة.

الكلمات المفتاحية : زيتون المائدة, البكتيريا اللبنية, مقاومة المضادات, البروبيوتيك, عزل وتشخيص, التضاد.

Introduction

L'olivier (*Olea europea L*) est destiné principalement à obtenir de l'huile d'olive. Cependant, une partie considérable d'entre ces plantes sont cultivés pour différents variétés d'olives de table. D'après le conseil oléicole international 2006, 79 % de la superficie oléicole est destinée aux oliviers pour production d'huile et uniquement 21 % restants aux oliviers à fruits de table. Selon les données du C.O.I, la production mondiale d'olives de table pour la seule saison 2014 représente environ 2,7 millions de tonnes (COI 2010; 2015). En fonction de degré de maturité des fruits frais, les olives de table sont classées en olives vertes, tournantes et noires (Rokni *et al.*, 2015).

Par le passé, la culture de l'olivier en Algérie, s'est pratiquée surtout au Nord de la ligne séparant les hauts plateaux de la zone tellienne, occupant une superficie d'environ 348196,00 hectares, constituée d'environ 25 millions d'arbres, avec une production annuelle d'environ 514040 tonnes d'olives de tables et huile d'olive d'environ 64700 tonnes en 2013 (FAO, 2015). La culture de l'olivier en Algérie est passée de 165 000 hectares en 1999 à 471 657 hectares en 2017 Grace à la politique des différents plans agricoles dont le PNDA et PNDAR. L'oléiculture a dépassé sa zone traditionnelle pour se pratiquer dans plusieurs régions dont le Sud du pays. En Algérie, la production des olives de table, s'est concentrée, par le passé, à l'ouest du pays, ces dernières années elle s'est étalée au centre, l'est et même au sud, avec une diversification des variétés. La *sigoise* est la variété la plus dominante, ayant enregistré des productions record (plus de 820 000 Quintaux en 2017), elle occupa plus de 25% du verger oléicole Algérien. Les olives de table sont obtenues naturellement à partir des fruits d'*Olea europea L*, par immersion directe de ces derniers dans une saumure, subissant une hétérofermentation, due aux activités métaboliques des différentes flores microbiennes (procaryotes et eucaryotes) (Duriez, 2004). Le produit final, peut être conservé ou non, par l'addition d'agents de conservation (Chammemet *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2008). De point de vue nutritionnel, les olives de tables sont considérées comme des prébiotiques; puisque sont des substrats a des fermentations microbiennes (Kacem *et al.*, 2003; 2005; 2006; Idouiet *et al.*, 2009). Pour certains auteurs, les olives de table sont des aliments fonctionnels important; en raison de leur haute valeur nutritionnelle, teneur en fibres alimentaires et en composés antioxydants (Stamatoula *et al.*, 2017). Il existe plusieurs procès (méthodes) pour l'élaboration des olives de table, ce qui engendre des changements qualitatifs et quantitatifs dans les compositions du produit final. Les teneurs en composés phénoliques, doivent être pris en considération durant les traitements, car ils participent à l'aspect organoleptique (couleur et gout) des olives ainsi qu'à leur capacité antioxydants (Ramirez *et al.*, 2015).

En outre, Les bactéries lactiques; sont impliquées dans les fermentations des nombreux denrée d'origine végétale, à l'exemple des olives de tables (Kacem et al., 2006 Guitarniet al., 2017). Par production lactate, ces dernières contribuent, à l'acidification des aliments, ce qui améliore leurs caractères organoleptiques, prolonge leur durée de conservation et les rendent plus digestibles et plus assimilables et appréciés par le consommateur (Tamime, 2002; Axelsson, 2004). Ces flores lactiques, doivent être mieux connues, leurs caractères, leurs voies métaboliques, leurs équilibres doivent être bien maîtrisés. L'utilisation de nouvelles souches lactiques, pour des applications technologiques, est tributaire à leurs propriétés fonctionnelles et technologiques telles que: l'activité acidifiante, production d'arômes, des exopolysaccharides, activités lipolytiques et protéolytiques (Atlan et al., 2008). La sélection de nouveaux isolats lactiques probiotiques, à partir des variétés d'olives de tables est un enjeu scientifique/industriel important. L'évolution des connaissances, en ce domaine, a conduit à la sélection de nouvelles souches, aux propriétés spécifiques et aux potentialités probiotiques prometteuses (Ruiz-Barba et al., 1991; 1994).

De nombreux paramètres affectant la fermentation des olives, dont les principaux sont surtout intrinsèques, telle que la variété d'olive, les caractéristiques technologiques; principalement la nature et la concentration en sels des saumures, la température de traitement et surtout les pratiques d'hygiène (Campus et al., 2015).

La diversification des marchés pour olives, vers l'intérieur et l'extérieur du pays, la recherche des opportunités de coopération et d'exportation, restent subordonnées à la résolution des difficultés soulevées en matière de plantations, de la récolte, de production et/ou conservation des olives de table, en quantités suffisantes et de qualité requise. Cependant, le bon choix et la maîtrise des procès fermentaire, la maîtrise des équilibres entre les microorganismes (flores eucaryotes et procaryotes) acteurs de la fermentation, les bonnes pratiques d'élaboration et d'hygiène, demeure des contraintes à relever par les producteurs (Moumene et al., 2013).

C'est dans ce contexte précis, se focalise l'objectif de la présente étude, qui se veut une contribution primordiale aux dénombrement/caractérisation des flores lactiques contenues dans seize échantillons des olives de tables (différentes variétés), commercialisés en Algérie, collectés du marché local, durant la période: février-mars 2022 dans la willaya de Bordj Bou Arreridj –Nord-Est d'Algérie et cela par réalisation des étapes suivantes:

- 1-Dénombrement des flores eucaryotes et procaryotes en (UFC/ml) sur milieux classiques;
- 2-D'isoler, caractériseret sélectionner des souches lactiques d'intérêt probiotiques;
- 4-D'établir leurs profils antibiogrammes;

5-D'explorer leurs antagonismes, *In vitro*, diriger contre des isolats cibles Eucaryotes (*Fusarium* sp et *Rhizopus* sp) et procaryotes à paroi (G+) et (G-);

6-De tester, *In Vitro*, leur croissance (par absorbance) sur milieux modifiées, renferment (à des taux de 0,5% et 1%) des substrats prébiotiques: Gomme arabique, FOS, Extrait de caroube, Psylim.

Le présent mémoire est organisé successivement en parties suivantes: Matériel et Méthodes, Résultats, Discussion, Conclusion, perspectives et des références bibliographiques.

I. Matériels et méthodes

Lieu de réalisation de l'étude

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté SNV STU relevant de l'université de Bordj Bou Arreridj, durant la période Février-Mai de l'année 2022.

I.1. Matériels

Le matériel, l'appareillage, et réactifs, les produits chimiques utilisés dans notre étude et dans la présente étude sont cités dans l'*Annexe I*.

Les milieux de cultures ainsi que leur composition sont décrits dans l'*Annexe II*.

Le matériel biologique: les souches de référence sont isolées à partir de médicament, et souches cibles sont fournies par la collection de laboratoire de microbiologie. Elles sont citées dans l'*Annexe III*. Les Moisissures sont fournies par la collection la collection mycologique de laboratoire de phytopathologie.

Méthodologie de travail

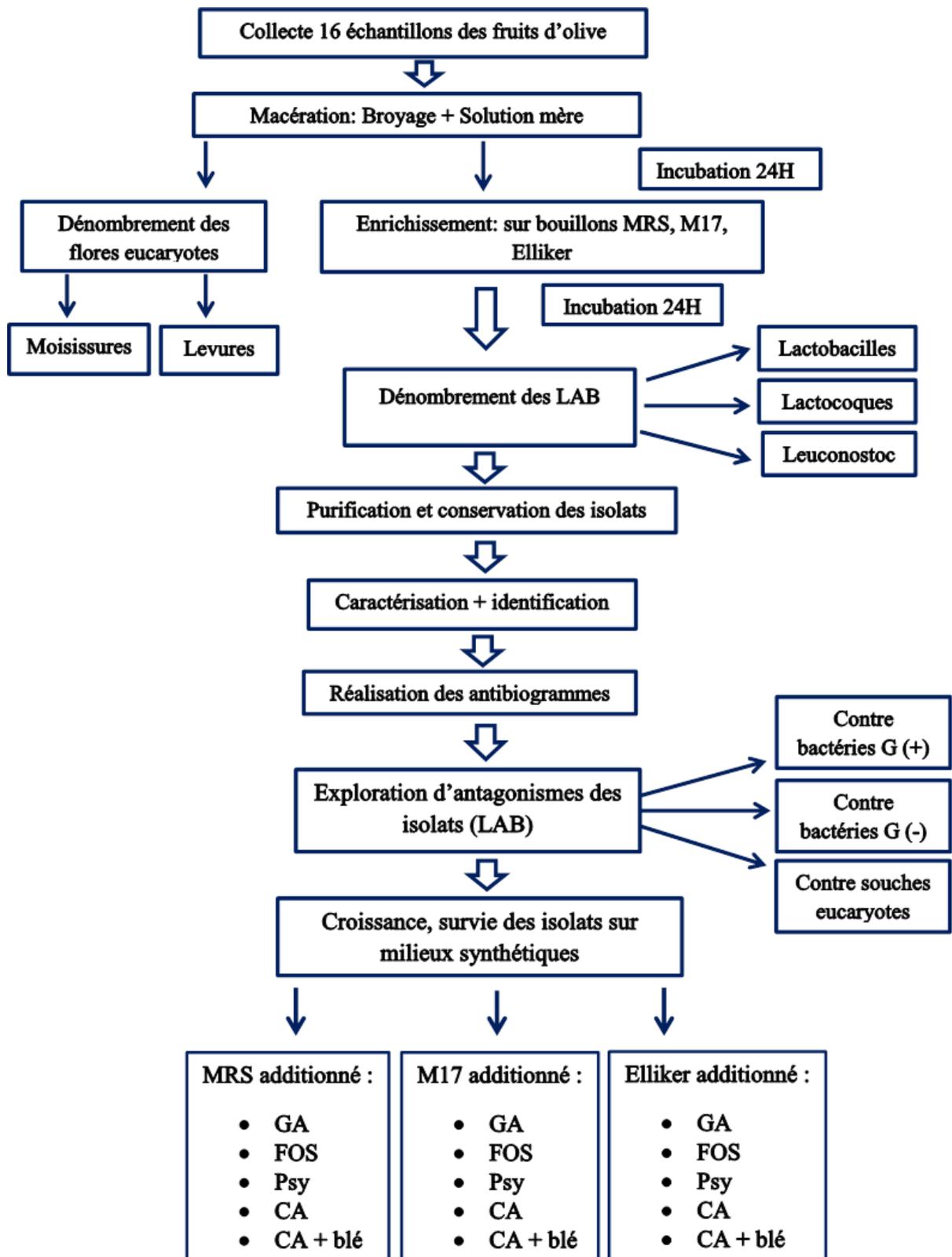


Figure 1: Schéma illustrant les différentes étapes d'analyses suivies dans la partie expérimentale.

I.2. Méthodes expérimentales

I.2.1 Échantillonnage :

I.2.1.1. Collectes des échantillons (fruits d'olive)

16 échantillons d'olives noires (codées : N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8, N9, N10, V1, V2, V3, V4, V5, V6,) ont été obtenus de différents régions de la wilaya de Bordj Bouarreridj à l'Est Algérie.

4échantillons fermentée traditionnelle

12échantillons ont été obtenus auprès différents marchés

I 2.1.1.a Transport des échantillons

les échantillons ont été transporté au laboratoire dans une thermofiole contenant de la glace.

I 2.1.1.b Macération des fruits d'olive

Le nettoyage autour de la zone d'où sera prélevé l'échantillon effectué avec de l'eau de javel afin d'éviter toute contamination supplémentaire.

environ 5 g de chaque variété d'olive ont été réncés puis écrasés dans une solution saline (TSE) suivie d'une homogénéisation dans un mortier, Le mélange introduit aseptiquement dans des flacons stériles (Guitarni *et al.*, 2017).



Figure 2: Les étapes de macération de l'échantillon d'olive N8

I.2.2 Dénombrement des Flore eucaryotes :

I.2.2.1 Préparation des dilutions décimales

Nous prélevons 1ml du flacon contenant macéra d'olive à analyser que nous déposons dans un des tubes contenant les 9 ml de l'eau physiologie afin d'avoir les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} .

I.2.2.2 Ensemencement :

A partir de dilution décimale 10^{-2} , On introduit 1ml dans une boîte de Pétri sur milieu gélosés Sabourod. OGA et PCA (Idoui Tayeb *et al* 2009), trois boîtes de Pétri sontensemencées par inondation pour chaque échantillon d'olive. Puis, ont été incubées pendant 3jours à 25°C.

I.2.3 Dénombrement des bactéries lactiques :

I.2.3.1 Enrichissement :

Afin d'augmenter les chances d'isolement le maximum de BL, les incubations ont été réalisé au débute sur bouillons Elliker, MRS et M17, à 37°C, et à différentes conditions d'incubation (aérobiose, anaérobiose).

1ml de macéra de chaque échantillon d'olive déposé dans tube de 9ml des bouillons M17, MRS, Elliker.

I.2.3.2 Préparation de séries de dilutions :

Après 24h d'incubation d'olive dans les trois bouillons, des dilutions ont été effectués en cascades de la 10^{-1} à la 10^{-2} .

I.2.3.3 Ensemencement :

L'isolement des bactéries lactiques a été effectuée sur trois milieux gélosés MRS, M17, Elliker.

On introduit 0.1ml de chaque dilution sur leur milieu géloséensemencées par étalement. Trois boîtes Pétri sontensemencées par dilution.

Les boîtes sont parfilées puis incubées à 37°C pendant 24 h à 72h

I.2.3.4 Dénombrement des LAB

I.2.3.4.a Dénombrement des Lactobacilles:

. Les lactobacilles ont été comptés dans de la gélose MRS (De.Man *et al* 1960)

I.2.3.4.b Dénombrement des Lactocoques:

Les lactocoques étaient compté sur gélose M17(Terzaghi et Sandine 1975)

I.2.3.4.c Dénombrement des Leuconostocs:

Les Leuconostocs étaient compté sur gélose Elliker. (Mayeux *et al*,1962)

I.2.4 Isolement et purrification et caractérisation des isolats LAB:

I.2.4.1 purrification des isolats LAB

A partir des isolats de différents échantillons, l'isolement et la purification ont été effectués Par des repiquages successifs sur les bouillons : MRS, M17, Elliker , et isolement en stries sur géloses : M17 (*Lactococcus*) MRS (*Lactobacille*), et Elliker (*Leuconostoc*)

I.2.4.2 identification et caractérisation:

I.2.4.2.a Identification microscopique :

L'observation microscopique été réalisée sous l'objectif 100 (coloration au bleu de méthylène, coloration de Gram)

I.2.4.2.b caractérisation :

Ont été réalisés des tests biochimiques par des méthodes classiques.

I.2.5 conservation des isolats lactiques:

I.2.5 a conservation à court duré

La conservation à court duré a été effectuée sur milieux solides MRS, M17, Elliker , après croissance à la T° optimale des isolats été conservés à 4°C (Badis *et al* , 2005)

I.2.5.b Conservation à long duré

Conservation de longue durée, sur un milieu approprié (MRS liquide pour les Lactobacilles, tandis que le M17 liquide pour les Streptocoques), additionnée de glycérol à 30%, conservation à -20°C (Gyocheva *et al.*, 1995; El Sharoud *et al.*, 2013).

I.2.6 Antibiogramme:

On a sélectionné les bactéries lactiques de 4 échantillons d'olives (N6, N10, V2, V4)

Le comportement des souches vis-à-vis de 10 antibiotiques différents a été testé sur gélose MUELLER-HINTON (MH), utilisant des disques commerciaux imprégnés d'antibiotiques ((AMC) Amoxyclave,(AMX) Amoxicilin , (NA) Acide Nalidixic,(CEP) Cephalothin (NO) Nitroxoline, (HLG) Gentamiicin,(CIP) Ciprofloxacine, (FC) Acid Fusidic, Chloromphenicol, (RP) Pristinomycin, (E) Erytromycin).

Pour préparation d'inoculum bactérien, ont été choisies et prélevées des colonies bien isolées après une nuit de culture que nous déposons dans tube contenant 9 ml d'eau physiologie, puis homogénéisées à l'aide d'un vortex. Puis ont été ensemencé cette préparation par étalement sur milieu MH à l'aide d'écouvillon en coton, au maximum après 15 min d'inoculation, nous déposons cinq disques d'antibiotiques stérilement par boîte de MH. (EUCAST.2014)

Deux boîtes sont ensemencées pour chaque isolat lactique par déférant ATB.

Après 24 h d'incubation à 37 °C, des halos clairs apparaissent autour des antibiotiques inhibiteurs de croissance.

Le résultat a été exprimé en: sensible (S) , intermédiaire (I), ou résistant (R) grâce à la norme méthode de diffusion par disque.

I.2.7 Exploration d'antagonismes des isolats (LAB)

Avant de réalisation d'antagonisme nous avons préparé

On a été repiqué les souches lactiques par des pré cultures dans des tubes à essais contenant 5 ml du bouillon M17 et MRS puis incubé à 37 °C pendant 24 h, puis sont centrifugé et neutralisés par l'addition de NaOH.

Les souches cibles ont été repiquées *E. coli*, *Salmonella sp* dans l'eau peptone soif que *Vibrio sp* dans l'eau peptone alcaline à 37°C pendant 24 h (Alloche F N, 2010) et les souches fongiques dans l'eau physiologie à 25 °C

L'activité antagoniste contre les organismes pathogènes ont été réalisée par la méthode de diffusion par disques (Tabak, 2011).

I.2.7.1 Antagonisme dirigé contre les espèces eucaryotes :

Après avoir réalisé le tapis fongique (*Trichoderma* ; *Fusarium*) ont imbibés aseptiquement des disques stériles par un volume de 20µl de surnageant brut actif (SBA) sur ce tapis, puis ont laissés à diffuser pendant 30min à 4°C.

Incubation de 3 jours à 25°C.

Chaque une des souches fongiques ont été ensemencés sans disques pour comparées comme témoins.

I.2.7.2 Antagonisme dirigé contre des souches pathogènes Gram (+) et Gram (-):

Après avoir réalisé le tapis bactérien (les souches pathogènes (G-) : *E. coli* ; *Salmonella sp*; *Vibrio sp* et souches (G+) : *Micrococcus sp*, *Bacillus sp*) sur milieu gélosé MH, nous déposons les disques imbibés de SBA sur ce tapis, puis sont laissés à diffuser pendant 30min à 4°C, puis passe à l'incubation à 37°C pendant 24 h.

Chaque une des souches pathogènes ont été ensemencés sans disques pour comparées comme témoins.

- la persistance des zones claires autour des disques témoigne sur la présence d'un effet éventuel de bactériocines sur les souches cibles.

I.2.8 Croissance, survie des isolats sur milieux synthétiques :

Pour étudier la cinétique de croissance des isolats lactiques dans leurs milieux sélectifs modifiés par l'addition de différents prébiotiques (Gomme Arabique (GA), Fosfo-Oligo-

Saccharides (FOS), Psyllium (Psy), extrait de carobie (CA), extrait de carobie+ blé (CA +blé))

On a choisies les isolats lactiques(LbN6, LbV2, LcN6,LcV2, LnN6, LnV1), qu'on était repique les dans le bouillon MRS et M17, Elliker à 37°C pendant 24 h

I.2.8.1 Préparation des milieux modifiés

Ont été modifiés trois milieux M17 (sélectif pour Lc) ; MRS (sélectif pour Lb) et Elliker (sélectif pour Ln) par l'addition de différents prébiotiques en deux proportions (1%) et (0.5%) (GA; PSY ; CA ;FOS et l'extrait de caroubier +le blé)

I.2.8.2 Addition des prébiotiques:

Addition d'extrait de caroubie (Benguiar *et al.*, (2015).

Pour chaque milieu ont été préparés deux tubes de différente proportion (0.5%), (1%)

0.5% : addition de 0.5 g de caroube pour 100ml de bouillon

Trois tubes ont été préparés : (MRS + 0.5 g CA), (M17 + 0.5 g CA), (Elliker + 0.5 g CA).

1% : addition de 1 g de l'extrait de caroube pour 100 ml de bouillon

Trois tubes ont été préparés : (MRS + 1g CA), (M17 + 1 g CA), (Elliker + 1 g CA).

Nous avons répété les même action pour addition des pré biotiques (GA; PSY;FOS et CA +le blé) pour voire les différents milieux modifiés

I.2.8.3 Ensemencement:

On était prélevées 0.1 ml à l'aide de micropipette de l'inoculum de chaque bouillon qu'on dispose aseptiquement dans leur nouveaux bouillons qu'on était modifiés par l'addition des prébiotiques. Puis incubation à 37°C, pendant 72h

I.2.8.4 Lecture :

la cinétique de croissance à était déterminé par spectrophotomètre on mesurant l'absorbance à 600 nm (Hanoune *et al.*, 2015) après dilution à (10^{-1}) appropriée pour garder les valeurs d'absorbance des échantillons préalablement après l'incubation à 24h, 48h, 72h

II.1. Résultats

II.1.1. Dénombrement des Flores eucaryotes :

Après 72h d'incubation Les échantillons analysés présentent des eucaryotes sur les milieux SAB, OGA, PCA sont représentés dans le Tableau I, Figure 3.

Tableau I: Résultats de dénombrement des UFC des eucaryotes dans 16 échantillons d'olive.

Echantillon d'olive	SAB	OGA	PCA
N1	692 UFC	ND	492 UFC
N2	ND	PC	PC
N3	ND	ND	ND
N4	ND	ND	ND
N5	279 UFC	ND	464 UFC
N6	654 UFC	ND	ND
N7	357 UFC	652 UFC	222 UFC
N8	ND	ND	776 UFC
N9	ND	457 UFC	348 UFC
N10	ND	ND	ND
V1	ND	532 UFC	ND
V2	712 UFC	ND	ND
V3	568 UFC	PC	628 UFC
V4	ND	ND	392 UFC
V5	ND	ND	ND
V6	ND	ND	ND

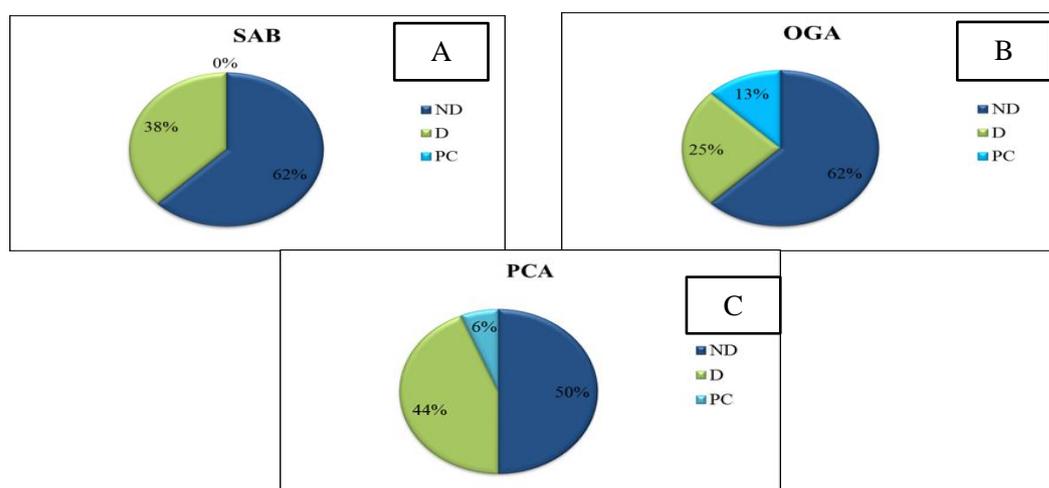


Figure 3: Représentation en (%) de dénombrement des flores eucaryotes
A: SAB, B: OGA, C: PCA. ND: non dénombrable, D: dénombrable, PC: pas de croissance

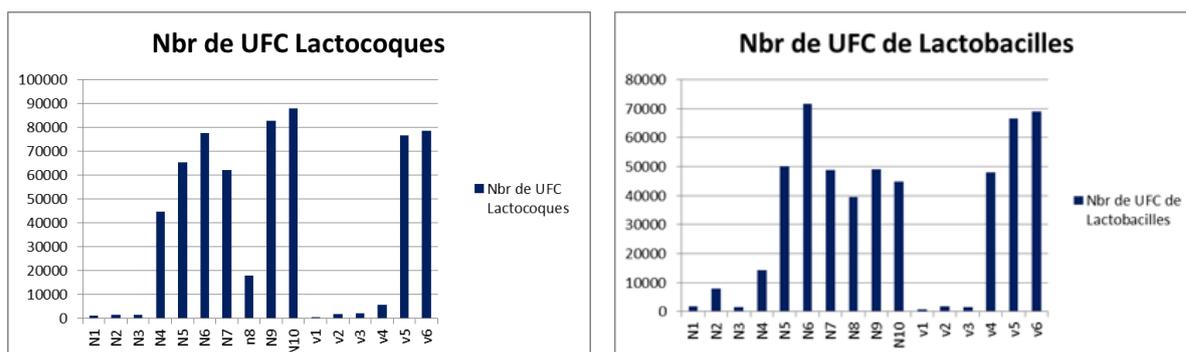


Figure 4: Histogrammes illustrant dénombrement des LAB

A: Lactocoques, B: Lactobacilles, C: Leuconostocs.

Sur le tableau I, montre que la plus part d'échantillons chargés de flores eucaryotes

Les échantillons les moins chargés: N2

Les milieux ayant permettre la récupération la plus élevé des flores est: SAB > PCA > OGA.

Les milieux ayant donnée 0UFC des flores eucaryotes: OGA, PCA

II.1.2. Dénombrement des bactéries lactiques :

Après 24h à 48h d'incubation

Les résultats du dénombrement de lactobacilles sur milieu gélosée MRS et Lactocoques sur milieu gélosée M17 sont représentés dans le tableau et les cercles graphiques suivant:

Tableau II: Dénombrement des LAB (UFC) dans 16 échantillons d'olive de table.

Echantillon d'olive	Lactocoques	Lactobacilles	Leuconostocs
N1	1144 UFC	1896 UFC	ND
N2	1428 UFC	8000 UFC	ND
N3	1424 UFC	1576 UFC	1900 UFC
N4	44860 UFC	14380 UFC	ND
N5	65480 UFC	50180 UFC	ND
N6	77640 UFC	71640** UFC	78650 UFC
N7	62220 UFC	48940 UFC	ND
N8	18140 UFC	39580 UFC	44680 UFC
N9	82660 UFC	49120 UFC	ND
N10	87940** UFC	44880 UFC	5600 UFC

V1	672* UFC	586* UFC	ND
V2	1932 UFC	1686 UFC	2000 UFC
V3	2300 UFC	1584 UFC	ND
V4	5622 UFC	48020 UFC	56200 UFC
V5	76740 UFC	66520 UFC	ND
V6	78600 UFC	69100 UFC	ND
moyen	38050,13	32354,38	ND
Ecartype	36554,05	27176,29	ND

ND : non dénombrable

Dénombrement de Lactocoques sur M17 sélectif, à monter la valeur maximale pour l'échantillon N10, et valeur minimale pour l'échantillon V1

Les lactobacilles sur MRS sélectif montrés une valeur maximale pour l'échantillon N6, et valeur pour l'échantillon V1

II.1.3. Isolement, purification, caractérisation des LAB :

3.3.1 Aspect macroscopique des colonies :

II.1.3.1.a. Lactobacilles :



Figure 5: Aspect des Lactobacilles sur milieu MRS. A : V3, B : N2, C : N6.

II.1.3.1.b. Lactocoques :



Figure 6: Aspect des Lactocoques sur milieu M17. A : V3, B : N3, C : N6.

II.1.3.1.c. Leuconostocs :

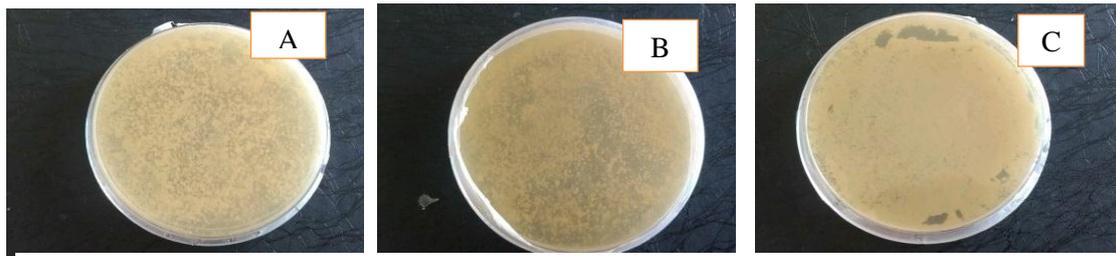


Figure 7: Aspect des Lactocoques sur milieu M17. A : V4, B : N6 , C :N3.

II.1.3.2. Purification des isolats lactiques:



Figure 8: Aspects des souches purifiées par séries successives de purification sur MRS



Figure 9: Aspects des souches purifiées par séries successives de purification sur M17



Figure 10: Aspects des souches purifiées par séries successives de purification sur Elliker

II.1.3.3. Aspect microscopique:

10 isolats : 4 lactobacilles (LbN6, LbN10, LbV4, LbV2) et 4 Lactocoques (LcN6, LcN10, LcV4, LcV2) et 2 Leuconostocs ont été sélectionnées pour cette partie.

II.1.3.3.a. Coloration de bleu de méthylène:

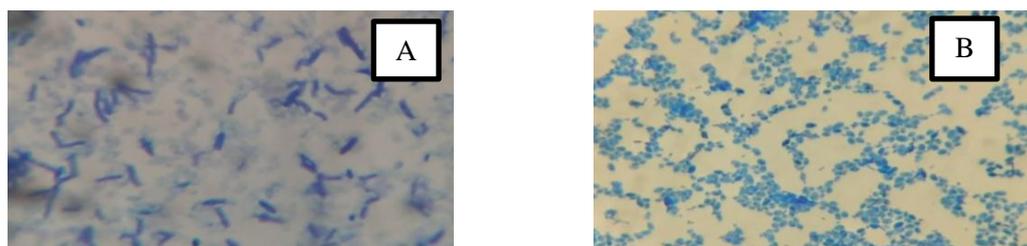


Figure 11: Coloration au bleu de méthylène des isolats LAB. A: Lactobacilles, B: Lactococques.

II.1.3.3.b. Coloration de Gram:

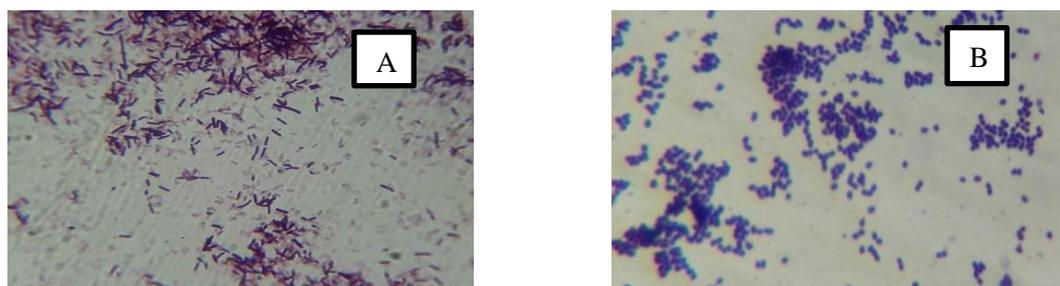


Figure 12: Coloration de Gram des isolats LAB A. Lactobacilles, B :Lactocoques.

Après coloration de Gram des isolats, L'observation sous microscope montrer des formes de cellules coques et bâtonnes de couleur violet

II.1.3.4. Caractérisation biochimique des souches LAB :

Tableau III: Caractérisation des souches Lactobacilles, et Lactocoques.

Isolats LAB		Souches Lb. MRS				Souches Lc. sur M17			
		LbN6	LbN10	LbV4	LbV2	LcN6	LcN10	LcV2	LcV4
Tests									
La forme		Bt	Bt	Bt	Bt	Cc	Cc	Cc	Cc
Mobilité		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
TR*		An	An	An	Ae	An	An	An	An
Gram		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Catalase		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Oxydase		(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Nitrate réductase		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Type fermentaire		HMF	HTF	HTF	HTF	HMF	HMF	HMF	HMF
TSI	H ₂ S	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Gaz	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

Fermentation de Lac, Glu Gal, Man Mal, sacch	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Mannitol/ mobilité	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(-/-)	(+/-)	(+/-)	(-/-)	(+/-)	(+/-)
Citrate de Simmons	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Production d'indol	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Uréase et du tryptophane désaminase	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
Lysine décarboxylase: (LDC)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Ornithine décarboxylase: (ODC)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Arginine déshydrogénase:(ADH)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Croissance à différentes temp °C(30, 37,44)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
du pH optimum:	5.8	5.8	5.8	5.8	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2
Croissance à différentes concentrations de Na Cl 6.5 %	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Bt : bâtonné, Cc : Cocci, Ae : aérobie, An : anaérobie,

HMF : homofermontaire, HTF : hétérofermontaire, (+) positif, (-) négatif.

.

Tableau IV: Caractérisation de 2 isolats Leuconostocs et 2 souches de référence.

Souches lactiques		Souches Ln Elliker			
		LnN1	LnV4	Ln rf1	Ln rf2
Tests					
Forme		Cc bl	Cc bl	Cc bl	Cc bl
Mobilité		(-)	(-)	(-)	(-)
TR*		At	At	At	At
Gram		(+)	(+)	(+)	(+)
Catalase		(-)	(+)	(-)	(-)
Oxydase		(+)	(+)	(+)	(+)
Nitrate réductase		(-)	(-)	(-)	(-)
Type fermentaire		HTF	HTF	HTF	HTF
TSI	H₂S	(-)	(-)	(-)	(-)
	Gaz	(+)	(+)	(+)	(+)
	Fermentation des sucres	(+)	(+)	(+)	(+)
Mannitol mobilité		(+/+)	(+/+)	(+)	(+)
Citrate de Simmons		(+)	(+)	(+)	(+)
Production d'indole		(-)	(-)	(-)	(-)
Uréase et du tryptophane désaminase		(-)	(+)	(+)	(+)
Lysine décarboxylase: (LDC)		(-)	(-)	(-)	(-)
Ornithine décarboxylase: (ODC)		(-)	(-)	(-)	(-)
Arginine déshydrogénase:(ADH)		(-)	(-)	(-)	(-)
Croissance à différentes temp °C(30, 37,44)		(+)	(+)	(+)	(+)
Détermination du pH optimum:		6.9	6.9	6.9	6.9
Croissance sur concentrations de Na Cl 6.5 %		(+++)	(+)	(+)	(+)

At: Aéro tolèrent, Bt : bâtonné, Cc : Cocci, Ae : aérobie, An : anaérobie, HMF : homofermontaire, HTF : hétérofermontaire, '(+): positif, (-) : négatif.

II.1.3.4. Résultats d'antibiogramme:

Après 24h d'incubation

Le résultat a été exprimé en Sensible (S) , Intermidier (I),ou, Résistant (R)

II.1.4.a. Antibiogramme des Lactobacilles :

Tableau V: Résultats d'antibiogramme des isolats – lactobacilles.

Echantillon	Na	FC	HLG	E	AMX	CEP	AMC	C	RP	No
LbN6	S	R	R	R	S	S	R	R	I	R
LbN10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
LbV2	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R
LbV4	I	I	R	S	I	S	S	R	I	R

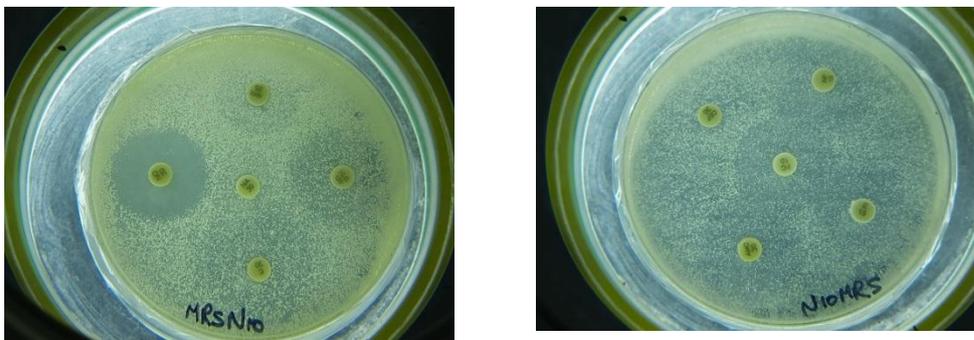


Figure 13: Résultat d'antibiogramme des Lactobacilles.

II.1.4.b. Antibiogramme des Lactocoques:

Tableau VI: Résultats d'antibiogramme des isolats Lactocoques.

Echantillon	Na	FC	HLG	E	AMX	CEP	AMC	C	RP	No
LcN6	I	R	R	R	S	S	I	I	I	R
LcN10	I	R	R	R	I	S	I	I	R	I
LcV2	I	R	R	R	S	S	R	I	S	I
LcV4	R	S	R	S	S	S	I	R	S	I

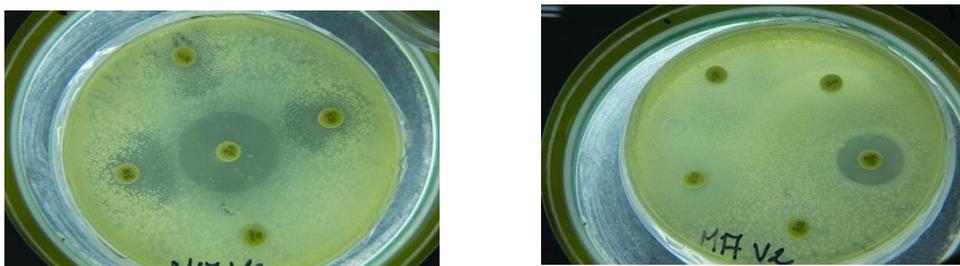


Figure 14: Résultat d'antibiogramme de Lactocoque.

II.1.4.c. Antibiogramme des Leuconostocs:

Tableau VII: Résultats de l'antibiogramme des isolats Leuconostocs.

Echantillon	Na	FC	HLG	E	AMX	CEP	AMC	C	RP	No
Ln N4	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R
LnV1	R	R	R	R	R	I	I	I	R	R

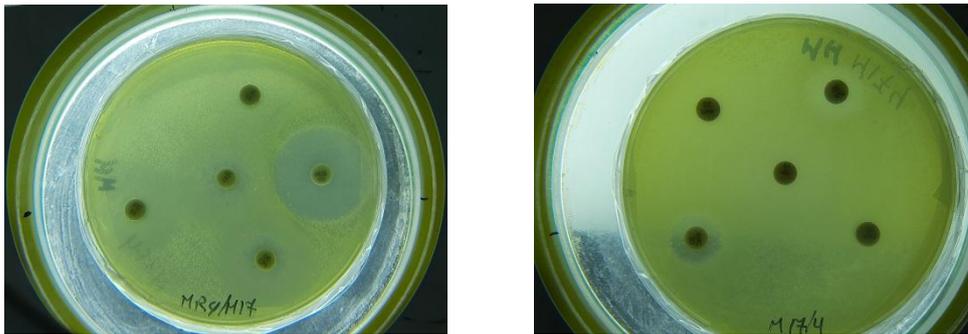


Figure 15: Résultat d'antibiogramme de Leuconostoc.

II.1.4.d. Antibiogramme des souches lactiques de références:

Tableau VIII: Résultats de l'antibiogramme des isolats de références (souches probiotiques).

Echantillon	Na	FC	HLG	E	AMX	CEP	AMC	C	RP	No
Lactobacilles	R	R	R	S	S	R	I	S	S	S
Lactocoques	R	R	s	I	S	S	S	S	I	S

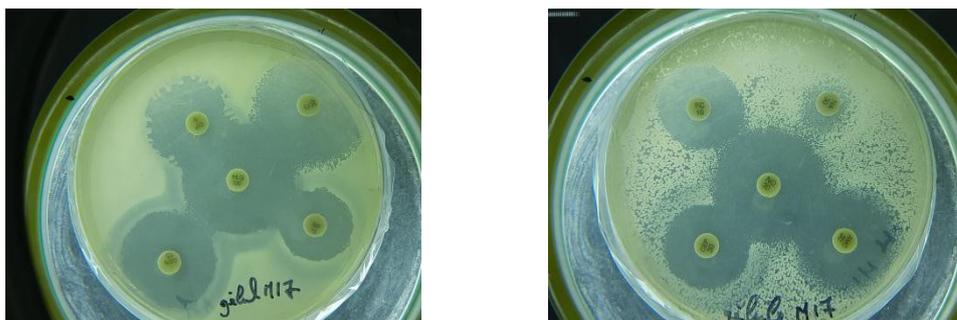


Figure 16: Résultat d'antibiogramme des isolats de références.

S sensible

I intermédiaire

R résistante

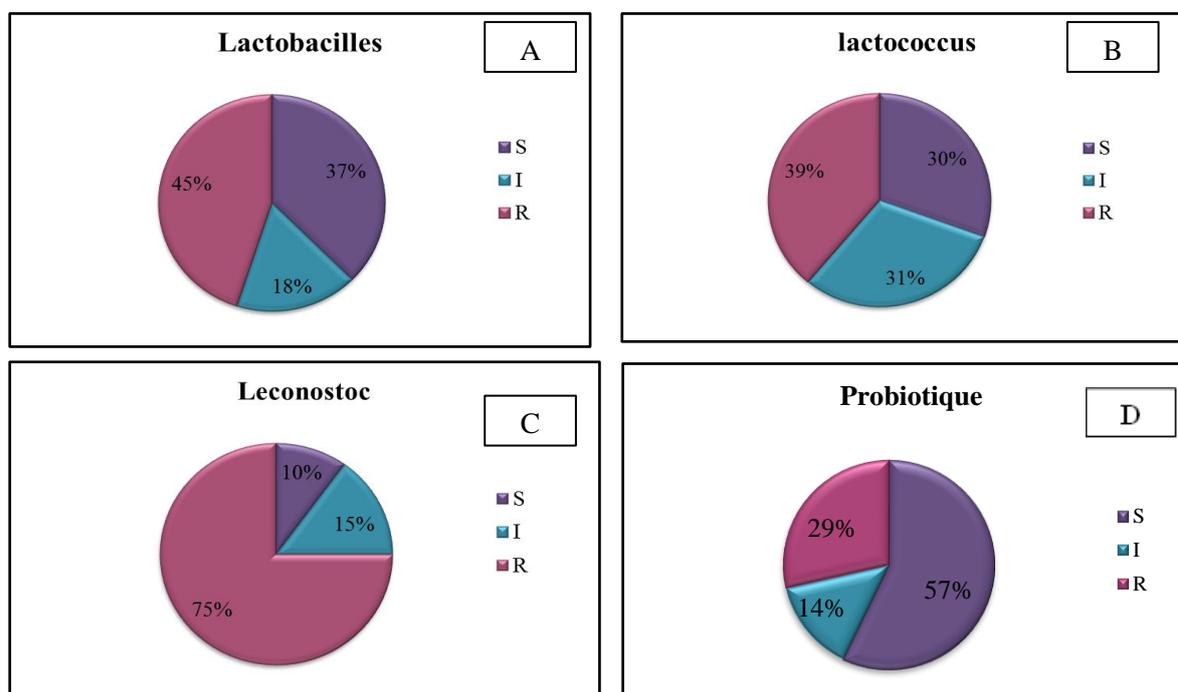


Figure 17: Représentation en (%) des profils antibiogramme des isolats
 A: *Lactobacilles*, B: *Lactocoques*, C: *Leuconostocs*, D: souches de référence
 S : sensible, I : intermédiaire, R : résistante

Pour les 10 antibiotiques testés globalement on note que les *Leuconostoc* étant les plus résistantes (75%), suivie par les *Lactobacilles* (45%) puis les *Lactococcus*. En outre, les souches les plus sensibles étaient les *Lactobacilles* (37%) suivi par *Lactococcus* (30%).

II.1.5. Exploration d'antagonismes des isolats (LAB):

Les résultats obtenus de l'étude des interactions entre les souches lactiques et les souches cibles, sont présentés dans les tableaux suivants

II.1.5.1. Antagonisme des LAB dirigé contre des espèces eucaryotes:

Tableau IX: Ø (en mm) des Z.I des souches LAB contre eucaryotes.

Lactobacilles			Lactocoques		
Souche Lb	<i>Trichoderma</i>	<i>Fusarium</i>	Souche Lc	<i>Trichoderma</i>	<i>Fusarium</i>
LbN1	/	Pas d'inhibition	LcN1	/	15mm
LbN2	/	Pas d'inhibition	LcN2	/	10mm
LbN3	/	Pas d'inhibition	LcN3	/	14mm
LbN4	/	Pas d'inhibition	LcN4	/	9mm

LbN5	/	Pas d'inhibition	LcN5	/	12mm
LbN6	/	Pas d'inhibition	LcN6	/	17mm
LbN7	/	Pas d'inhibition	LcN7	/	Pas d'inhibition
LbN8	/	Pas d'inhibition	LcN8	/	Pas d'inhibition
LbN9	/	Pas d'inhibition	LcN9	/	Pas d'inhibition
LbN10	/	Pas d'inhibition	LcN10	/	Pas d'inhibition
LbV1	/	11mm	LcV1	/	12mm
LbV2	/	Pas d'inhibition	LcV2		Pas d'inhibition
LbV3	/	Pas d'inhibition	LcV3	/	7mm
LbV4	/	Pas d'inhibition	LcV4	/	7mm
LbV5	/	Pas d'inhibition/	LcV5	/	Pas d'inhibition
LbV6	/	Pas d'inhibition	LcV6	/	Pas d'inhibition

/ : Inhibition totale

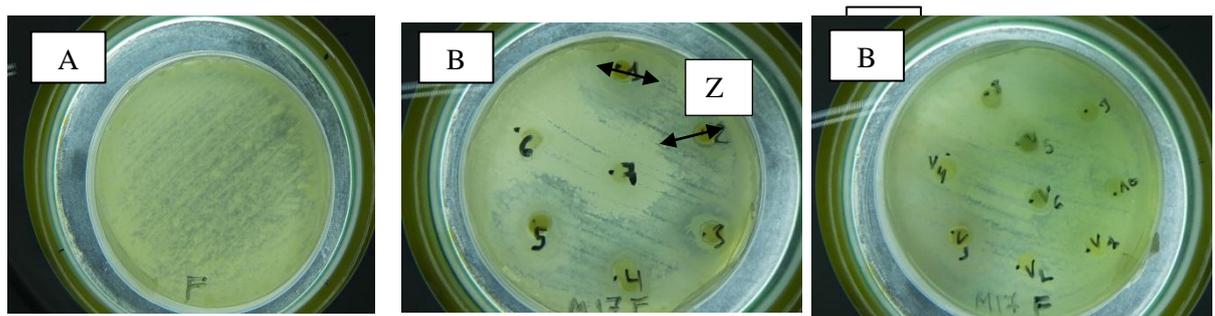


Figure 18: Antagonisme des souches LAB dirigé contre *Fusarium*

A : Témoin, B : activité antagonisme.

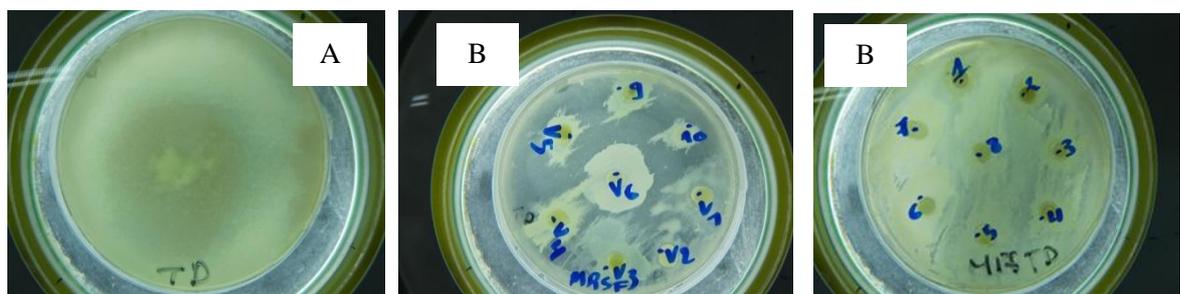


Figure 19: Antagonisme des souches LAB dirigé contre *Trichoderma*

A : Témoin, B : activité antagonisme.

L'antagonisme dirigé contre les souches eucaryotes a montres un effet bactériostatique contre l'espèce *Fusarium*, et Bactéricide contre *Trichodirma*: aucun croissance n'a était enregistré

II.1.5.2. Antagonisme des Lactobacilles dirigé contre des souches procaryotes

Gram (+) et (-):

Tableau X: Ø (en mm) des Z.I des lactobacilles contre procaryotes.

Souches Lb	<i>E.Coli</i>	<i>Salmonella. sp</i>	<i>Vibrio sp</i>	<i>Micro-coccus sp</i>	<i>Bacillus sp</i>
LbN1	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	15mm	Pas d'inhibition
LbN2	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	17mm	Pas d'inhibition
LbN3	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	14mm	Pas d'inhibition
LbN4	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	20mm	Pas d'inhibition
LbN5	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	10mm	Pas d'inhibition
LbN6	5mm	Pas d'inhibition	20mm	3 mm	Pas d'inhibition
LbN7	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	3mm	Pas d'inhibition
LbN8	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	Pas d'inhibition
LbN9	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	Pas d'inhibition
LbN10	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	18mm	/	8mm
LbV1	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	Pas d'inhibition
LbV2	5mm	Pas d'inhibition	16mm	3mm	7mm
LbV3	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	7mm
LbV4	5mm	Pas d'inhibition	15mm	/	7mm
LbV5	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	Pas d'inhibition
LbV6	Pas d'inhibition	Pas d'inhibition	/	/	Pas d'inhibition

/: inhibition totale

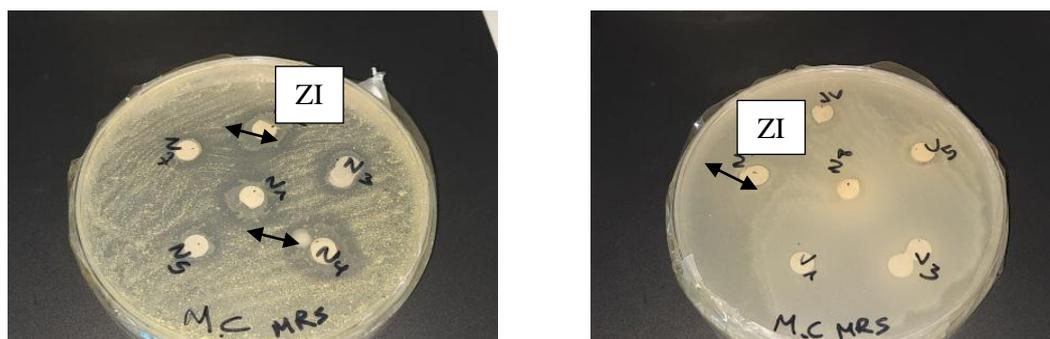


Figure 20: Antagonisme des souches Lactobacilles dirigé contre *Micrococcus sp.*

**II.1.5.3. Antagonisme des Lactocoques dirigé contre des souches procaryotes
Gram (+) et (-):**

Tableau XI: Ø (en mm) des Z.I des Lactocoques contre procaryotes.

Souche Lc	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>Vibrio sp</i>	<i>Micrococcus sp</i>	<i>Bacillus sp</i>
LcN1	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	19mm
LcN2	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	17mm
LcN3	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	26mm
LcN4	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	22mm
LcN5	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	25mm
LcN6	3mm	Pas d'inhibition	/	17mm	39mm
LcN7	/	Pas d'inhibition	/	Pas d'inhibition	25mm
LcN8	/	Pas d'inhibition	/	24mm	20mm
LcN9	/	Pas d'inhibition	/	30mm	20mm
LcN10	/	Pas d'inhibition	/	15mm	24mm
LcV1	/	Pas d'inhibition	/	22mm	6mm
LcV2	8mm	Pas d'inhibition	/	8mm	10mm
LcV3	/	Pas d'inhibition	/	22mm	15mm
LcV4	/	Pas d'inhibition	/	13mm	19mm
LcV5	/	Pas d'inhibition	/	23mm	18mm
LcV6	/	Pas d'inhibition	/	21mm	17mm

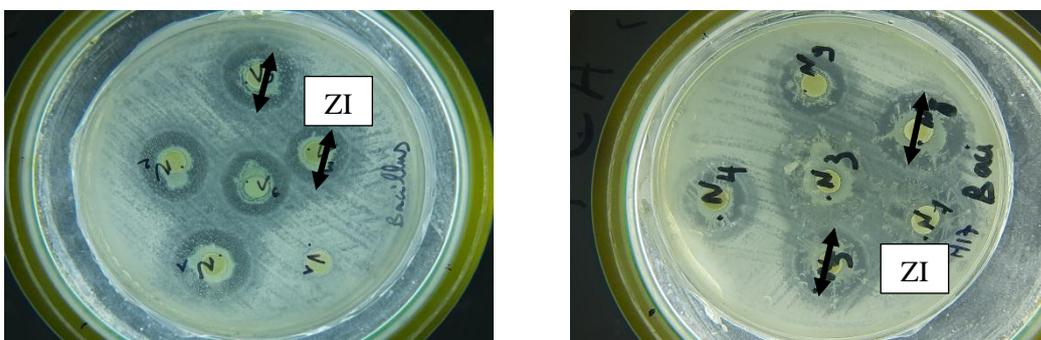


Figure 21: Antagonisme des souches Lactocoques dirigé contre *Bacillus Sp* .

L' antagonisme des souches LAB est globalement orienté vers les souches cibles G(+) , 39mm entre LC N6 et *Bacillus* ; 30 mm entre IC N3 et *Micrococcus*; 26 mm entre LC N3 et *Bacillus*.

Ces les souches lactiques sont peut antagonique contre les G(-), un effet bactéricide, *In Vitro*, enregistré contre *Vibrio Sp.*

II.1.6. Croissance, survie des isolats sur milieux synthétiques:

Les résultats des valeurs d'absorbance ont été multiplié par la valeur correspondant facteur de dilution pour attendre la valeur DO₆₀₀

II.1.6.1. Milieux additionnés GA:

Tableau XII: Résultats de DO des milieux MRS M17 additionné la GA.

MRS							M17						
	(1 %) GA			(0.5%) GA				(1%) GA			(0.5 %) GA		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h	TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.067	0.068	0.034	0.060	0.060	0.060	T	0.097	0.085	0.185	0.083	0.083	0.083
LbN6	0.935	0.987	1.001	0.814	0.869	0.887	LbN6	0.311	0.491	0.628	0.391	0.417	0.499
LbV2	0.577	0.690	1.093	0.913	0.914	0.919	LbV2	0.215	0.230	0.259	0.273	0.293	0.300

Tableau XIII: Résultats de DO de milieu Elliker additionné la GA.

Elliker						
	(1%) GA			(0.5 %)GA		
Tps	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.103	0.103	0.103	0.075	0.075	0.075
LnN6	0.194	0.383	0.462	0.145	0.304	0.68
LnV1	0.285	0.462	0.465	0.33	0.399	0.792

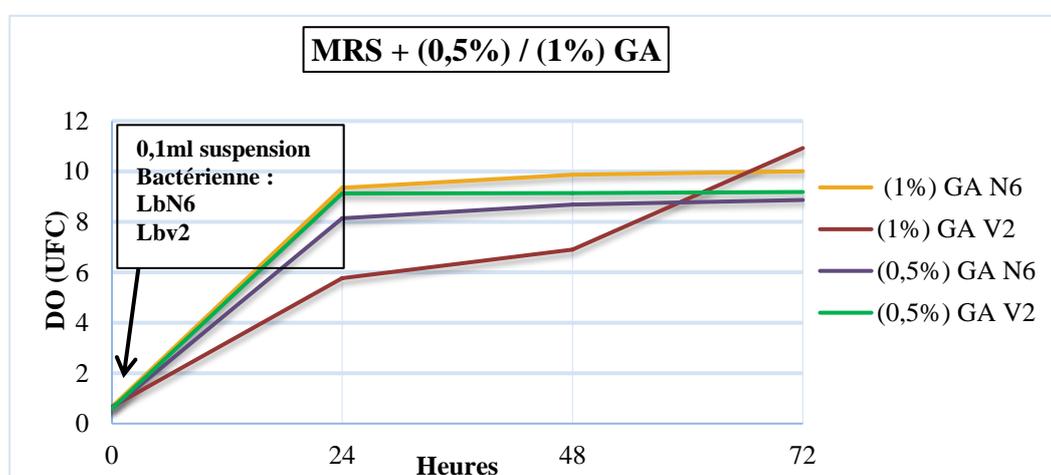


Figure 22: Effet de GA sur la croissance des Lactobacilles.

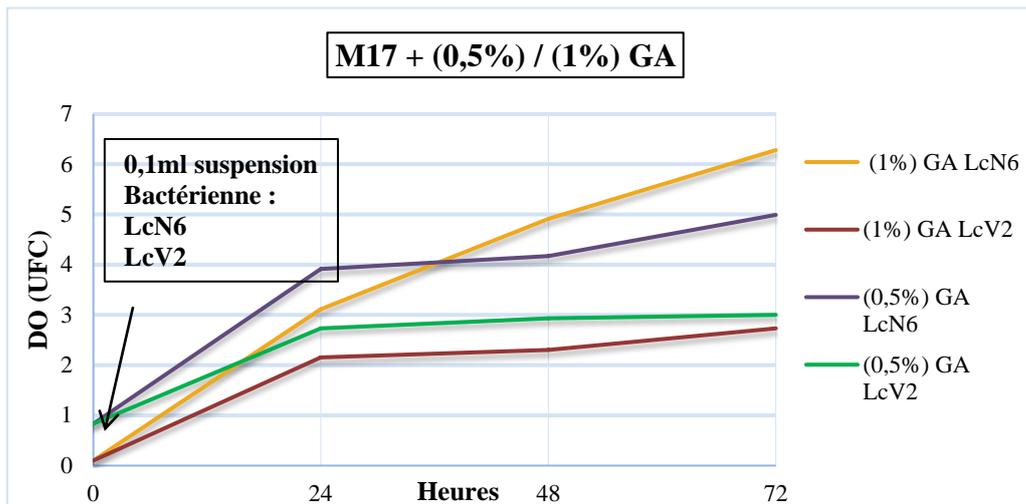


Figure 23: Effet de GA sur la croissance des Lactocoques.

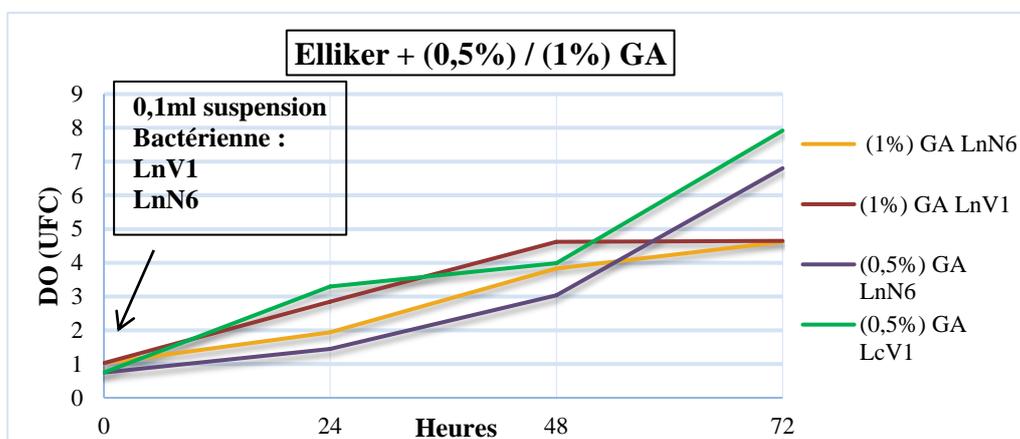


Figure 24: Effet de GA sur la croissance des Leuconostocs.

En présence de 0.5% de GA La croissance bactérienne de deux souches a été convergent, maximale à (9.13 pour LbV2, 8.14 pour LbN6) après 24h suivie d'une phase stationnaire. En présence de 1% GA on note la meilleur croissance des lactobacilles avec maximal (10.93 pour LbV2) après 72, on notes pour LbN6 (9.35) max de croissance après 24h.

Bonne rendement de croissance des souches LcN6 avec meilleur résultats de max (6.28) et après 72h d'incubation e présence de 1% GA et max (4.99) à 0.5% GA. Faible croissance des LcV2 max (2.59) à 1% GA et (3.00) à 0.5% GA après 24h d'incubation suivie d'une phase stationnaire.

Les résultats de croissance des leuconostocs sont lent en présence de 1% GA ou ont not max (4.62 pour LnN6, 4.65 pour LnV1) après 72h, et meilleur croissance max (7.92) pour LnV2 et (6.80) pour LnV1.

II.1.6.2. Milieux additionnés FOS:

Tableau XIV: Résultats de DO des milieux MRS M17 additionnés le FO.

MRS							M17						
	1 % FOS			0.5%FOS				1% FOS			0.5 %FOS		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h	TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.032	0.032	0.028	0.029	0.029	0.029	T	0.118	0.118	0.118	0.075	0.075	0.075
LbN6	0.537	0.671	0.873	0.743	0.880	1.041	LcN6	0.289	0.305	0.516	0.231	0.249	0.516
LbV2	0.609	0.715	1.187	0.906	0.931	1.264	LcV2	0.295	0.342	0.624	0.262	0.371	0.624

Tableau XV: Résultats de DO de milieu Elliker additionné le FOS.

Elliker						
	1% FOS			0.5% FOS		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.059	0.059	0.059	0.049	0.049	0.049
LnN6	0.144	0.265	0.266	0.221	0.272	0.367
LnV2	0.402	0.491	0.507	0.181	0.406	0.772

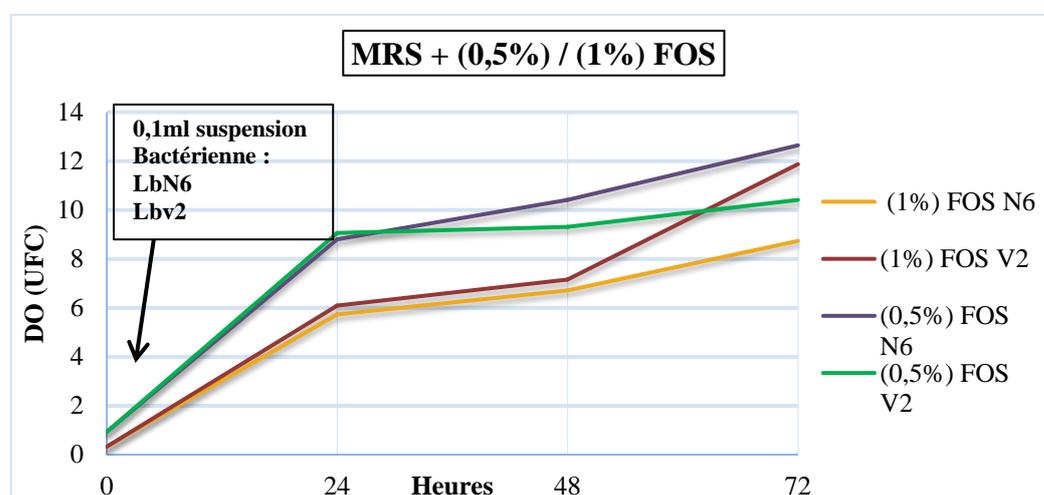


Figure 25: Effet de FOS sur la croissance des Lactobacilles.

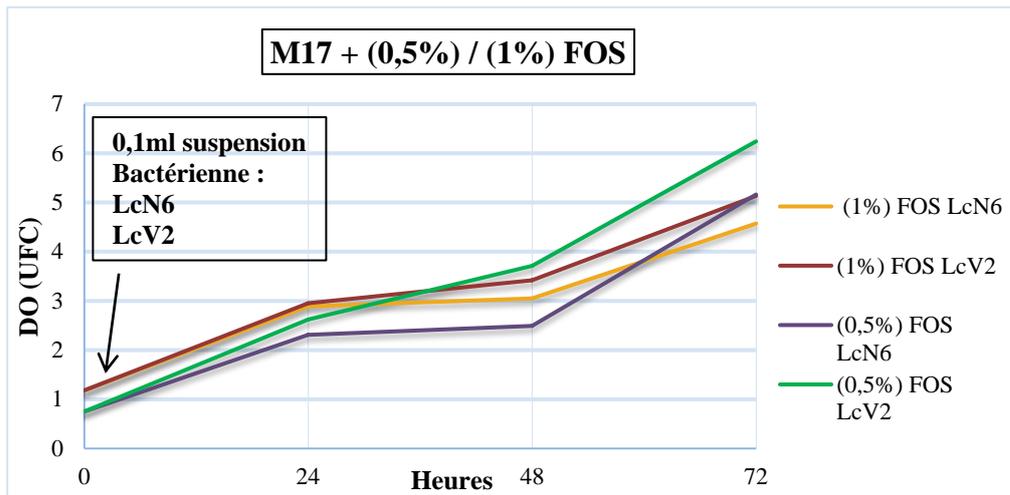


Figure26: Effet de FOS sur la croissance des Lactocoques

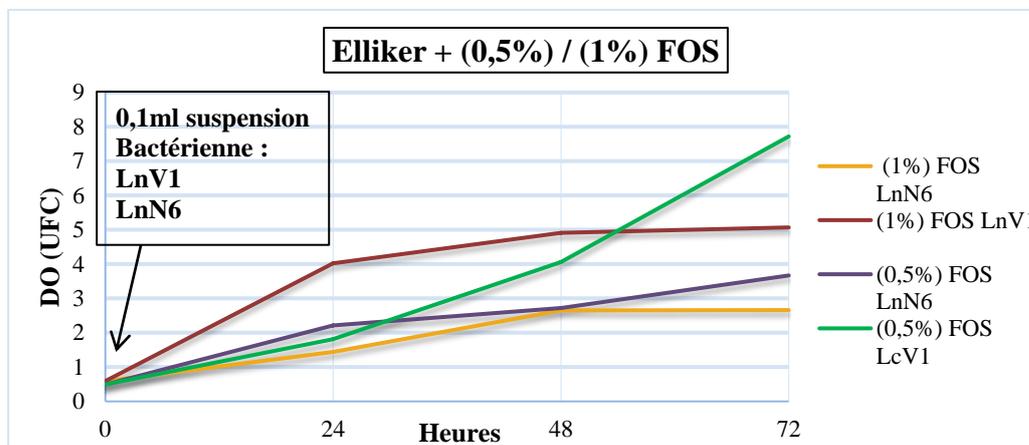


Figure 27: Effet de FOS sur la croissance des Leuconostocs

En présence de 0.5 % FOS on note la meilleur croissance des deux souches Lb à maximale (12.64 pour LbV2, 10.41 pour LbN6) après 72h d'incubation, et plus lent pour LbN6 max (8.7) et (11.8 pour LbV2) en présence de 1% FOS.

On marquer la croissance idéale pour les deux souches Lc à max (6.24 chez LcV2, 5.16 pour LcN6) en présence de 0.5% FOS après 72h d'incubation, et lent à 1% FOS avec max de (5.13 pour LcV2, 4.57 pour LcN6).

Aussi pour les Ln le rendorment de croissance à 0.5% FOS est supérieur a celle de 1%.avec les valeurs maximale de 0.5% (7.72 de LnV1, 3.67 de LnN6) après 72h d'incubation, et pour 1% le max(5.70 de LnV1) après 72h , (2.66 de LnN6) après 48h suite par phase de stationnaire.

II.1.6.3. Milieux additionnés Psyllium:

Tableau XVI: Résultats de DO des milieux MRS M17 additionnés le Psy.

MRS				M17						
	0.5%Psy				1% Psy			0.5 %Psy		
TPS	24h	48h	72h	TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.087	0.087	0.087	T	0.217	0.217	0.217	0.087	0.087	0.087
LbN6	0.340	0.513	0.700	LcN6	0.278	0.324	0.460	0.321	0.418	0.526
LbV2	0.533	0.826	0.959	LcV2	0.232	0.253	0.268	0.366	0.406	0.478

Tableau XVII: Résultats de DO de milieu Elliker additionné le Psy.

Elliker						
	1% Psy			0.5 % Psy		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.18	0.18	0.18	0.139	0.139	0.139
LnN6	0.269	0.487	0.591	0.197	0.551	0.83
LnV1	0.205	0.530	0.661	0.392	0.61	0.792

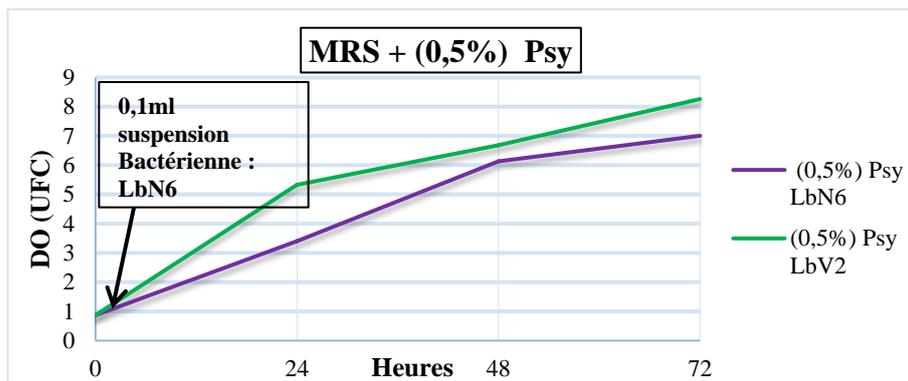


Figure 28: Effet de Psy sur la croissance des Lactobacilles.

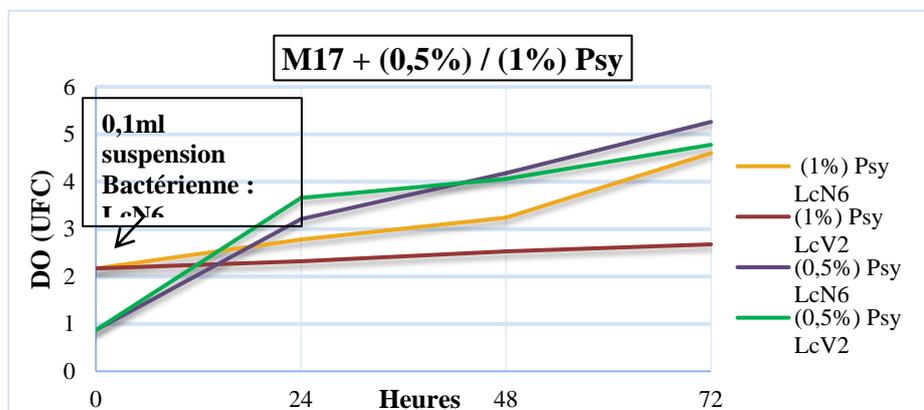


Figure 29: Effet de Psy sur la croissance des Lactocoques.

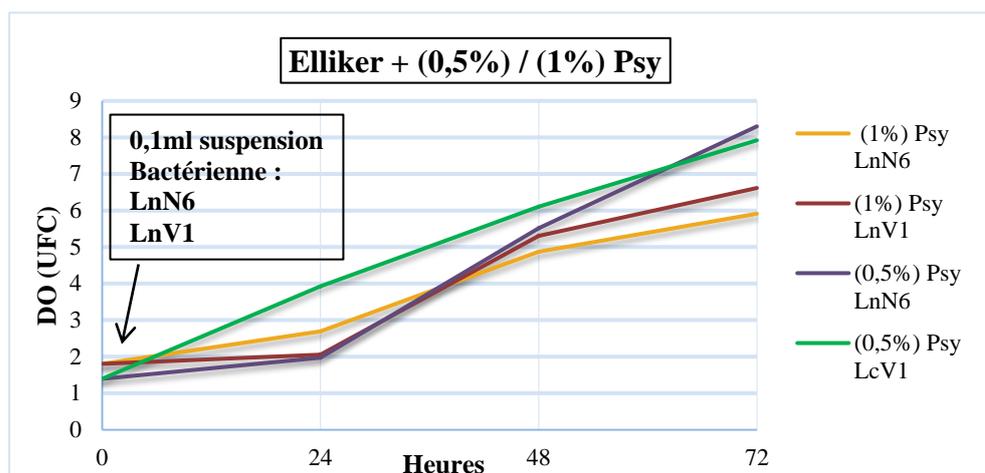


Figure 30: Effet de Psy sur la croissance des Leuconostocs

Pour la croissance des souches Lb en présence de 0.5 % Psy le maximal à (7.0 pour LbN6, 9.59 pour LbV2) après 72h d'incubation.

Rendement meilleur pour la croissance des souches Lc à 0.5 % Psy ou on note un maximale (5.26 pour Lc N6 et 4.78 pour LcV2) après 72H d'incubation. En revanche ; les valeurs Max (4.60 pour LcN6) et très faibles croissance (embarrassante) pour LcV2 à (2.86) valeur très proche au témoin sans ensemencement.

Chez les Ln les résultats spectre à 0.5 % Max (Ln N6 8.30 et ln V1 7.92) Psy sont les meilleurs par à pour à celle de 1 % de Psy (6.61 pour LnV1 et 5.91 pour LnN6).

II.1.6.4. Milieux additionnés extrait de caroube (CA):

Tableau XVIII: Résultats de DO des milieux MRS M17 additionné la CA.

MRS							M17						
	(1 %) CA			(0.5%) CA				(1%) CA			(0.5 %) CA		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h	TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.062	0.062	0.062	0.054	0.054	0.054	T	0.077	0.077	0.077	0.047	0.047	0.047
LbN6	0.357	0.367	0.489	0.324	0.345	0.373	LbN6	0.241	0.259	0.272	0.234	0.387	0.538
LbV2	0.071	0.248	0.3.6	0.255	0.260	0.325	LbV2	0.457	0.547	0.577	0.554	0.680	0.724

Tableau XIX: Résultats de DO de milieu Elliker additionné la CA.

Elliker						
	(1%) CA			(0.5%) CA		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.13	0.13	0.13	0.071	0.071	0.071
LnN6	0.287	0.487	0.526	0.327	0.449	0.714
LnV1	0.169	0.759	1.03	0.071	0.548	0.758

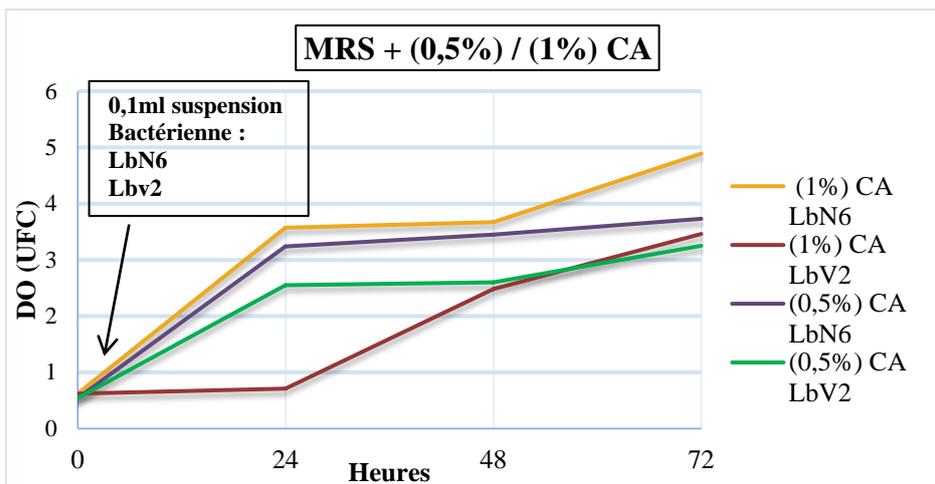


Figure 31: Effet de CA sur la croissance des Lactobacilles.

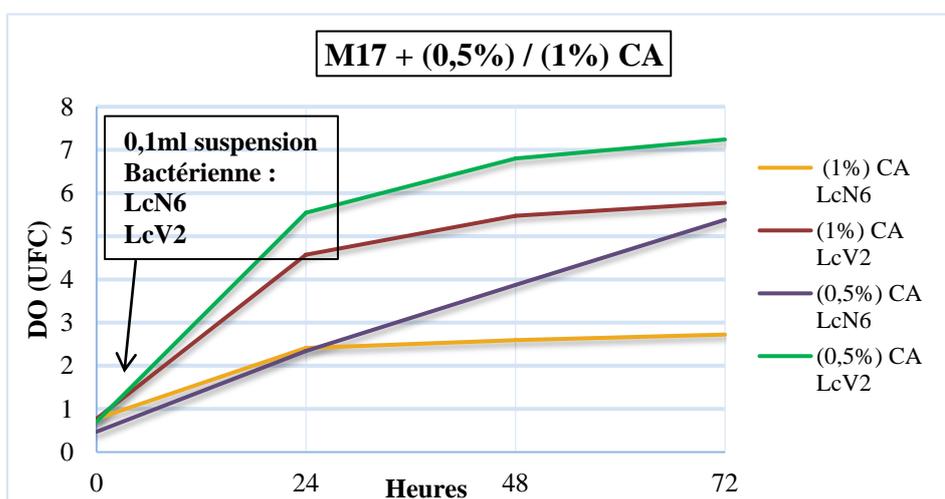


Figure 32: Effet de CA sur la croissance des Lactocoques.

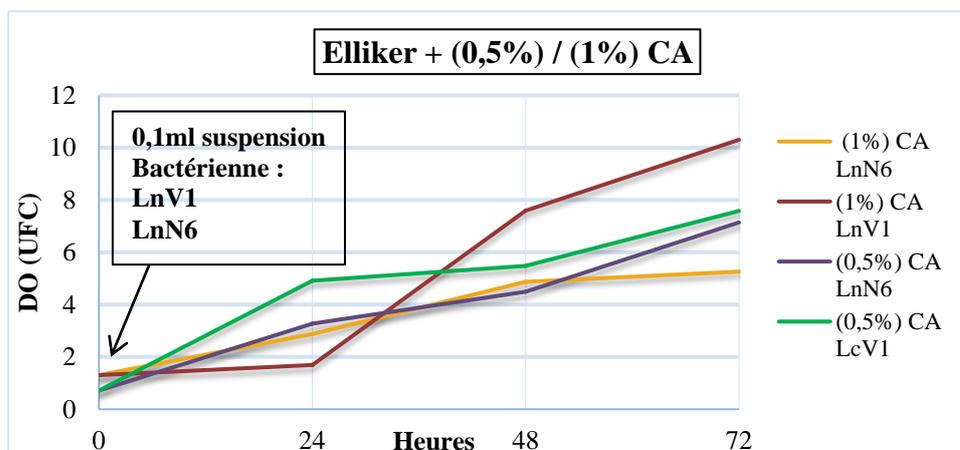


Figure 33: Effet de CA sur la croissance des Leuconostocs.

La meilleure croissance est notée avec la souche LbN6 en présence de 1% CA à max (4.89) après 72h, et en présence de 0.5% CA à max (3.73). Par contre la souche LbV2 donne une croissance à max (3.60) en présence de 1%CA et (3.25) en présence de 0.5%.

La meilleur croissance ont été enregistré en présence de 0.5%CA pour les deux souches à maximale (7.24 de LcV2, 5.28 de LcN6) après 72h, en présence de 1%CA on note maximal de croissance à (5.77 pour LcV2, 2.72 pour LcN6) après 72h.

La souche LnV1 est noté meilleur croissance en présence de 1%CA à max de (10.3) et (7.58) en présence de 0.5%CA après 72h. La croissance LnN6 marqué un max (7.14) en présence de 0.5%CA et (5.26) en présence de 1%CA.

II.1.6.5. Milieux additionnés extrait de caroube+ blé

Tableau XX: Résultats de DO des milieux MRS M17 additionné la CA +blé.

MRS							M17						
	(1 %) CA+ blé			(0.5%) CA+ blé				(1%) CA+ blé			(0.5 %) CA+ blé		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h	TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.081	0.081	0.081	0.121	0.121	0.121	T	0.164	0.164	0.164	0.120	0.120	0.120
LbN6	0.374	0.406	0.473	0.217	0.269	0.27	LcN6	0.327	0.369	0.491	0.168	0.207	0.494
LbV2	0.262	0.281	0.383	0.260	0.340	0.377	LcV2	0.541	0.551	0.657	0.506	0.576	0.593

Tableau XXI: Résultats de DO de milieu Elliker additionné la CA+ blé.

Elliker						
	(1%) CA +blé			(0.5%) CA +blé		
TPS	24h	48h	72h	24h	48h	72h
T	0.252	0.252	0.252	0.084	0.084	0.084
LnN6	0.302	0.788	0.934	0.146	0.802	1.042
LnV1	0.52	0.712	0.840	0.117	0.610	0.638

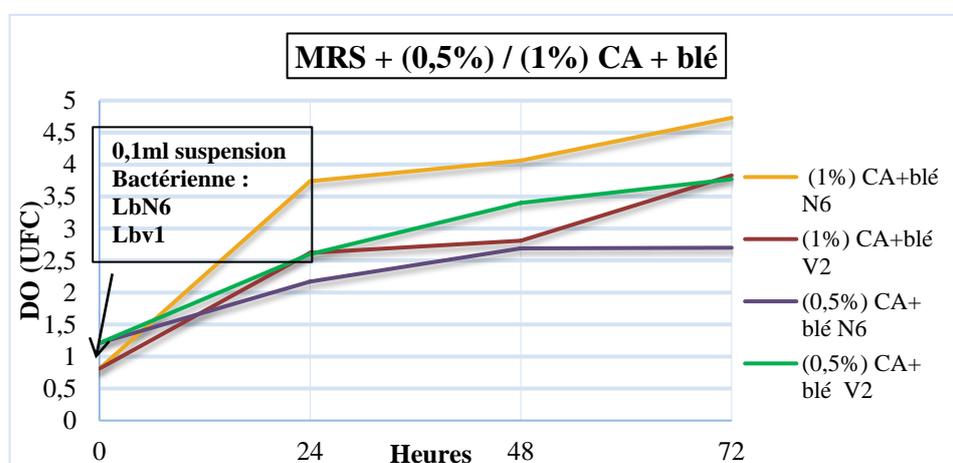


Figure 34: Effet de CA+ blé sur la croissance des Lactobacilles.

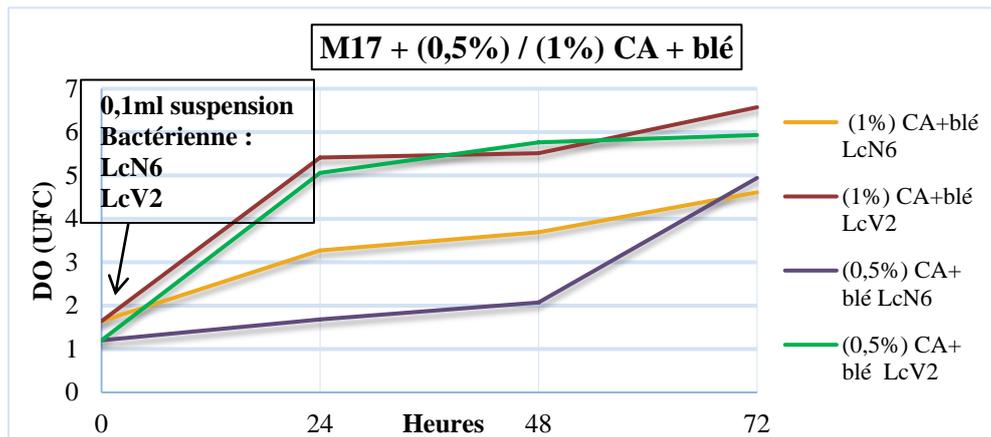


Figure 35: Effet de CA+ blé sur la croissance des Lactococques.

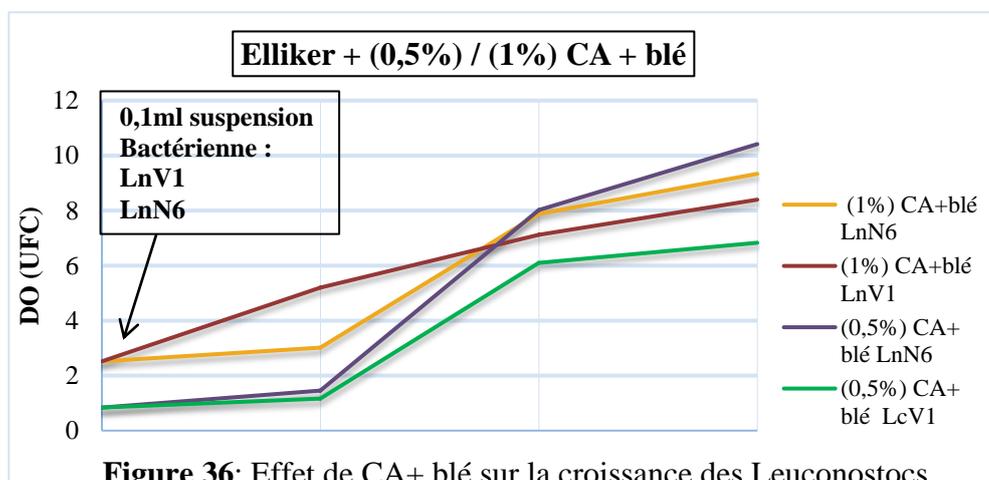


Figure 36: Effet de CA+ blé sur la croissance des Leuconostocs.

La meilleure croissance notée en présence de 1%CA+blé à maximale (4.73 pour LbN6, 3.83 pour LbV2) après 72h. en présence de 0.5%CA+blé max de (3.17) pour LbV2 après 72h et max (2.96) pour LbN6 après 48h.

La souche LcV2 marquée meilleure croissance en présence 1%CA+blé a max (6.57) et en présence 0.5% ont noté max de (4.90). la souche LcN6 donne en présence de 0.5% max de (4.94) et à 1% max se (4.91) après 72h.

Meilleure croissance des leuconostocs en présence de CA +blé ont été marqués à 0.5% de prébiotique pour la souche LnN6 max à (10.42) et (6.38) pour LnV1, en présence de 1% de CA +blé ont noté max de croissance à (9.34 pour LnN6, et 8.40 pour la souche LnV1) après 72h.

Discussion

Dénombrement des flores eucaryotes

Le dénombrement des flores eucaryotes, levures et moisissures est justifié par leur pouvoir hétérofermentaire, notamment sur le substrat d'origine végétale.

L'ensemble de nos échantillons riche en flore eucaryotes (niche écologique de choix).

Le milieu SAB sélectif, à permet de la récupération des taux les plus élevées des flores eucaryotes.

A cet égard, Boudallaa *et al.*, (2018) dans une étude conduite sur deux variétés d'olive, au Marocont pu isolées genres eucaryotes suivantes: *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* et *Pichia*.

D'autres part, grands nombres en moisissures (entre 0 et 22.10^5 UFC) et des levures entre (22.10^4 à 676.10^5) ufc, ont été isolés, à partir de 25 échantillons d'olives commercialisés au Maroc (Hasib *et al.*, 2013). De l'avis de cet auteur, les flores eucaryotes dominent les échantillons d'olive de table.

D'après, Roussos, (2006), dans une l'études sur un effectif de 171 échantillon d'olive, a permet l'identification des souches eucaryotes, mésophiles, isolées au cours de deux campagnes oléicoles (de 2003-2004 et 2004-2005) et a montré une dominance des genres *Penicillium* (28%), *Aspergillus* (26%) et *Geotrichm* (17%), le reste concerne les genres suivants: (*Mucor* (7%), *Rhizopus* (7%), *Trichoderma* (2%), *Alternaria* (1%) et *Hunicoma* (1%).

Dénombrement des flores lactiques

Nous avons utilisées trois milieux sélectifs pour le dénombrement des LAB: Elliker, (pour Leuconostocs), MRS (Lactobacilles) et M17 (Lactococques).

Nous avons enregistré, et ce quel-que soit, la dilution utilisée, des nombres élevées (en nappes) notamment sur Elliker.

De même; des contaminations levuriennes, du fait de la nature probable de substrat (olives) et du procès fermentaire (hétéfermentation).

Globalement nos échantillons étaient tops riche en flores lactiques hétérofermentaires (tableaux des résultats).

En ce qui concerne les milieux de culture:

Le milieu MRS: utilisé pour dénombrrer les lactobacilles. Milieu rend sélectif par tween 80 (1.08ml/ L), pH: acide 5,8 (De Man *et al.*, 1960).

Le milieu M17: rend sélectif pour *Lactocoque* par l'aget selectif le β glycérophosphate de Na (19 g/l) et un pH neutre (Tarzaghi et Sandine, 1975).

Usage de milieu Elliker pour le dénombrement des *Leuconostocs sp* est justifiée par la nature sélectif du milieu (lactose 5g/l, acide ascorbique 0.5 g/l) pH: 16.8 (Guiraud, 2003).

D'après la littérature scientifique consulté, les espèces lactiques, les plus isolées, des variétés des olives table, notamment les variétés disponibles dans les pays des deux rives méditerranéennes étaient: *Lactobacillus plantarum* et *Lb. pentosus*.(Randazzo *et al.*, 2004; Bellis *et al.*, 2010; Bonatsou *et al.*, 2017;Perpetuini *et al.*, 2020).

Globalement, les olives de table, aliments fermentés, pour le futur, ayant des allégationscomme prebiotiques/probiotiques, sources des souches LAB aux potentialitésparticulières:

Des travaux, en nombre perpétuellement en augmentation, focalise l'isolement, dénombrement des LAB, à partir des différentes variétés d'olives de table et qui se concordent avec nos résultats:

En Algérie:(kacem *et al.*, 2005, 2006, 2008, Idoui *et al.*,2009, Sifour *et al.*, 2012, Guittarni *et al.*, 2017).

Au Maroc:(Bousmaha *et al.*, 2009;Abouelouafaa *et al.*, Bodelaa *et al.*,2018,Hasib *et al.*,2013).

En Tunisie:(Chammam *et al.*, 2005;Chamkha *et al.*,2008; Issaoui *et al.*, 2011;Dabbou *et al.*, 2012).

Isolement et dénombrement des isolats LAB

Les valeurs des isolats Leuconostocs sont extrêmement élevées (indénombrables), on ne peut pas dénombrer, car elles forment un tapie bactérien, donc leur dénombrement necessite la réalisation de longue série de dilutions décimales.

D'après, Kacemet *al.*, (2004), ayant pu isolé, à partir de 10 échantillons d'olives de table verte fermentées, dans l'ouest algérien, vingt-trois isolats de bactéries lactiques, dont onze souches *Lactobacillus plantarum*, 7 souches *Enterococcus faecium* et 5 souches *Lactococcus lactis* sp. *Lactis*.(Les espècesLb. plantarum dominant ces échantillons).

En outre, Kacem *et al.*,(2005), dans une étude, sur 11 échantillon d'olive, on a sélectionnés au total 22 bactéries lactiques sur les milieux gélosés MRS ou M17.

D'autres part, Guettarni *et al.*, (2017), ont isolés 8 souches de bactéries lactiques, à partir de différentes variétés d'olives, collectés des localités différentes dans la willaya de Ain

Defla -Algeire. D'autre part, Rokni *et al.*,(2015), dans une étude sur deux lots d'olives fermentés, un lot est désamérisé à la soude tandis que le deuxième lot non désamérisé.

Le développement des bactéries lactiques a été de 5,7 (Log UFC/ml) pour le premier lot et de 2,9 (Log UFC/ml) pour le deuxième.

A cet égard, déjà Ruiz-Barba *et al.*, (1994), ont isolé 35 souches *Lactobacillus plantarum* de différents fermenteurs d'olives vertes.

Antibiogramme:

La réalisation des antibiogrammes a été validée en respectant les règles péronnaises par le standard d'antibiogramme (OMS, 2005)

L'utilisation de 10 familles d'antibiotiques (disques chargés) se justifie par leur disponibilité. Globalement le groupe des *Leuconostocs sp* s'est montré le plus résistant (75%) suivi par les Lactobacilles (45%) en fin les *Lactococques* (39%).

Selon Kacem *et al.*,(2005), ayant testé la sensibilité aux antibiotiques des 11 souches dans une étude évaluer quelques caractéristiques probiotiques des souches de *Lactobacillus plantarum* isolé à partir d'olives fermentées. L'étude a montré que tous les isolats étaient sensibles à la Pénicilline G, à l'ampiciline, à la Vancomycine, à la Rifampicine, et à la Ciprofloxacine, et trois souches (OL16, OL23, et OL53) étaient totalement sensibles à tous les ATB testés, et la plus part des souches résistantes aux 4 ATB Cifoxitine, l'oxacycline, Tétracycline et Kanamicine

Tests d'antagonisme

La réalisation des antagonismes entre souches lactiques isolées de fruits d'olives de table, dirigés contre des souches cibles d'origine alimentaire (appartenant à la collection de laboratoire de microbiologie (Faculté- SNV), isolats impliquées dans l'altération des denrées alimentaires, à Gram (-): et à Gram (+): , a été dirigée, *in vitro*, évaluée, sur un milieu bactériologique complexe, le Muller Hinton, comme support des interactions, afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste.

Plusieurs auteurs ont préconisé l'usage de cette méthode: (Tagg et Mc Given 1971; Tagg *et al.*, 1973; Nunez *et al.*, 1996; Kacem *et al.*, 2006; Tabak *et al.*, 2012).

A cet égard, nous avons utilisé la même méthode que les méthodes susmentionnées, pour la réalisation des interactions (vis-à-vis de 2 souches cibles eucaryotes: *Trichoderma sp* et *Fusarium sp*. et des souches procaryotes).

Toutes les souches cibles (Eucaryotes+ procaryotes), sont impliquées dans les alterations des aliments et faisant partie de la collection du laboratoire de Microbiologie Faculté SNV.

La méthode utilisée a été de celle auteurs susmentionnés, avec quelques légères modifications, ayant consisté à déposer stérilement un volume de 20µl d'un SBA de la souche lactiques (après son centrifugation et neutralisation ce dernier à l'aide de NaOH (1M).

Cette méthode, simple, claire, basée sur la lecture visuelle des diamètres des Z.I (en mm), nous a permet d'éviter les contaminations. Bien que la méthode soit arbitraire, elle manque de précision, elle permet une meilleure reproductibilité des résultats.

A notre connaissance, il n'existe pas de méthodes standardisées, concernant la réalisation d'antagonismes microbiens ou des interactions ou la détermination du pouvoir antimicrobien des souches bactériennes, telles qu'il en existe pour les antibiotigrammes, selon les recommandations de l'OMS, de CLSI par National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA (NCCLS).

A cet égard, nous avons remarqué que, dans la littérature scientifique, y'a de très grande divergences entre les études. Ces différences sont relatives surtout au protocole, au matériel utilisé; à l'exemple du milieu de culture, de la température/durée d'incubation utilisée, à la densité optique (absorbance) d'inoculum de la souche cible et la souche antagonique, a ensemencé, aux étapes de réactivation des deux souches.

Certains auteurs utilisent la méthode de diffusion en milieu solide, sur gélose, sur des disques stériles, pour d'autres usage des puits stérilement creusés stérilement sur la gélose, d'autres rapportent la méthode de diffusion en milieu liquide, en macrodilution pour certains et en micro dilution pour d'autres.

L'antagonisme dirigé contre les souches cibles eucaryotes, a montré un effet bactériostatique contre l'espèce *Fusarium sp.* et bactéricide contre *Trichoderma sp.*

En revanche, l'antagonisme de nos souches LAB a été globalement orienté vers les souches cibles à paroi G (+), avec des diamètres Z.I: 39mm entre la souche Lc N6 et *Bacillus sp.*; et de 30 mm entre Lc N3 et *Micrococcus sp.* et de 26 mm entre la souche Lc N3 et *Bacillus sp.*

Si nos souches lactiques étaient moins antagoniques contre les souches cibles G(-), un effet bactéricide, *In Vitro*, a été enregistré contre la souche cible *Vibrio sp.* Ceci est peut-être expliqué par les caractéristiques physiologiques de la souche *Vibrio sp.*, ayant un pH optimum de croissance très alcalin (situé au voisinage de 9.5). Le SBA des LAB, avait un probable effet bactéricide et/ou inhibiteur défavorable à la croissance/ survie des souches *Vibrio sp.*

Globalement nos résultats d'antagonisme, concordent ceux enregistrés par plusieurs auteurs, ayant travaillé sur des LAB isolées des olives de table:

Kacem *et al.*, (2005; 2006) ayant, pu isolé, à partir des fruits d'olive de table, de variétés d'Algérie, des LAB, dont l'isolat *Lb. plantarum* OL9 d'un surnagent brut actif (SBA) contre Lactobacilles, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Erwinia* d'origine alimentaire.

De même, nos résultats d'antagonisme, concordent ceux enregistrés par: Montoro *et al.*, (2016; 2018), pour les souches *Lactobacillus pentosus*, isolées d'une variété d'olive Aloreña (Espagne) et ayant un antagonisme pour des souches d'altération des aliments.

D'autre part, Ruiz-Barba *et al.*, (1991; 1994), ont pu utiliser, avec succès, la souche *Lb. plantarum* LPCO10 isolée des olives (variété Espagnole) comme starter bacteriocinogène, pour la fermentation des olives de table verts. Par contre la souche *Lb. farcimuinis* MD, isolée des champignons en fermentation, à montrer, une forte sensibilité simultanée au antibiotiques et bactériocines produites par *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*: forte candidate comme souche lactique cible (Halami *et al.*, 2000).

Nos résultats, concordent ceux obtenus par Delgado *et al.*, (2001), ayant obtenu une molécule bactériocine, thermostable à pH 6.5 ayant activité dirigée contre *Enterococcus faecalis* et compétiteurs de *Lb. plantarum* contre *weissella* sp.

De l'avis de certains auteurs, des souches LAB, à l'exemple des *Leuconostocs*, et des lactobacilles thermophiles, ont de larges spectres d'inhibition, dirigé contre des souches à Gram (+) à l'exemple des *Staphylococcus* et des *Bacillus*, l'effet semble lié à l'activité acidifiante des souches LAB et à la production des acides organiques (Charlier *et al.*, 2009).

En revanche, des autres auteurs ont montré que l'activité antibactérienne est exercée essentiellement par les effets probables des acides organiques, les bactériocines, des arômes, le diacétyle, l'acétaldéhyde et le peroxyde d'hydrogène (Titiek *et al.*, 1996; Aslam et Qazi, 2010).

A cet egard, dans notre étude, nous avons neutralisé le SBA par du NaoH stérile cela après centrifugation/ filtration et vérification du pH.

De l'avis d'autres auteurs, Ammor *et al.*,(2006); Mokoena,(2017); Bonatsou *et al.*,(2017); le pouvoir inhibiteur des souches LAB originaires des olives de table, en cours de fermentation, dirigé, *in vitro*, contre des souches procaryotes, impliquées dans les altérations des aliments, semble une propriété probiotique, très recherché, lors de la sélection des souches lactiques (Perpetuini *et al.*, 2020).

Plusieurs auteurs ont utilisées, après isolement, sélection, à partir des olives, des souches lactiques probiotiques, pour la préservation et la fermentation des olives de table (Ruiz-Barba *et al.*,1994; Leal *et al.*, 1998; Delgado *et al.*, 2001; Bevilacqua *et al.*, 2010; Abouloifa *et al.*, 2020).

D'autres auteurs ont isolées/sélectionnées des souches LAB, bacteriocinogène, pour usage en Microbiologie médicale, comme antagoniques, contre des souches impliquées dans des pathologies humaines (Halami *et al.*, 2000; Ogawa *et al.*, 2001; Mokoena, 2017; Abouloifa *et al.*, 2020; Perpetuini *et al.*, 2020).

L'activité antagoniste et l'obtention des zones d'inhibition, semble souche lactique dépendante, et variée d'une souche à l'autre. (Fortement productrice, productrice et souche non bacteriocinogène).

De l'avis de certains auteurs (Yang *et al.*, 1992), la production de bactériocines, relève du métabolisme bactérien, est fortement dépendante de certains facteurs exogènes, à l'exemple de la nature, consistance, composition du milieu de culture, du pH final du milieu, de la durée et de la température d'incubation, de la température optimale de croissance de la souche productrice, et surtout, elle nécessite l'utilisation des milieux de culture riches (Yang *et al.*, 1992). De plus, Gomes *et al.*, (1998; 1998); Vinod-Kumar *et al.*, (2006), ont démontré que le pH optimal de production des bactériocines, par les bactéries lactiques, se situe au environ 06,5 et ils ont confirmé que l'action de ces bactériocines, est maximale au voisinage de ce point du pH (06,5).

Globalement, les LAB, donnent un meilleur rendement de la production des bactériocines, lorsqu'elles se trouvent sur le milieu en culture pure. En culture mixte un rendement plus élevée est pronostiqué. Dans notre étude, la souche LcN6 semble une bonne probable candidate probiotique.

Croissance et survie sur différents milieux modifiés:

Après lecture (des D.O) sur spectrophotomètre et après balayage, et fixation de la longueur d'onde, pour l'absorbance optimale des souches, qui s'est située à 600nm, même longueur d'onde utilisé par: Hanoune *et al.*, 2015 pour l'absorbance des souches *Lactobacillus sp.*

Selon les graphes obtenus (Tableaux et figures), l'effet des prébiotiques (sur la croissance des isolats LAB (LbN6, LbV2, LcN6, LcV2, LnN6, LnV1) suivi après chaque 24h pendant 3 jours, avait un effet accélérateur de la croissance exponentielle sur tout a lorsque il est ajoutés a un taux de 0.5%.

En présence de la GA:(exsudat d'arbre d'acacia Sénégal)

L'ajout de la GA à 0.5% aux milieux de cultures avait un effet accélérateur de Xce exponentielle soft le milieu MRS cet effet est obtenu à 1%.

D'après l'étude de Eldawo *et al.*, (2021), sur l'effet de la GA 0%, 0.7%, 0.9% ou 1% comme prébiotique sur la qualité de yaourt et des probiotiques, il montre l'efficacité de GA

ajouté au ce produit alimentaire pendant le conservation au froid et amélioration de qualité propréitique microbienne et augment le % solide totaux.

D'autre parte, Calam *et al.*, (2008), au cours des recherches sur l'efficacité de prébiotique de la GA lors consommation pendant 4 semaines par l'homme, il montre que les LAB (*Bifidobactéries*, *Lactobacilles*) étaient significativement plus élevés pour la GA que pour l'inuline.

En présence de Psy:(*Plantago Ovata*)

L'addition de Psylum à un taux de 0.5% aux milieux de cultures (MRS, M17, Elliker), avait un effet meilleur accélérateur de croissance exponentielle sur les différentes souches LAB.

Selon Elliot *et al.*,(2008), ont montré que le psylum métabolisé par les bactéries lactiques (*Bifidobactéries*) après l'hydrolyse partielles avait un effet stimulateur de leur croissance.

Shree *et al.*, (2017), ayant étudié les effets symbiotiques entre le *Psylum* et les LAB, ont remarqué la corrélation entre les différentes concentrations de cet prébiotique et la croissance des souches *Lb. acidophilus* et *Lb bulgaricus*.

D'après Lotfipouret *et al.*,(2012), ayant montré que dans une étude de préparation et caractérisation de bille d'alginate et de Psylum, contenant des LAB, que l'effet stimulant de Psylum sur les probiotiques état observé pendant 20h d'incubation dans des solutions pH colique.

En présence de FOS

L'ajout de FOS à 0.5% aux milieux de cultures avait un effet accélérateur de croissance exponentielle pour les trois milieux:

Kaplan et Hutkins, (2000), dans une étude sur la capacité de croissance et de la fermentation des FOS additionné au milieu MRS: 75% des souches *Lb. fermentent* le FOS, et 87.5 % des bifidobactéries, croitrait et fermentent le FOS, ce qui est en concordance avec nos résultats.

En outre, nos résultats sont appuie, par ceux de Rodrigues *et al.*, (2011), qui ont montré les effets positifs des probiotiques (inuline + FOS) sur les potentialités technologiques des souches lactiques.

Gustaw *et al.*, (2011), ont montré l'effet des prébiotiques (inuline +FOS) ajouté à des taux de: 1%, 2%, 3%, au bio- yogourt: ces prébiotiques ont augmenté le nombre des LAB viables

avec modification (augmentation) de certains paramètres comme la viscosité et la dureté de ces bio-yogourt. D'autre part, Rajkumar *et al.*, (2015), sur l'effet des combinaisons entre prébiotiques (FOS), probiotiques et effets symbiotiques, sur un effectif de 45 sujets, par une étude menée en double aveugle: L'association (Lb et FOS) a donné meilleurs effets symbiotiques. De même, M'hir *et al.*,(2021), ont élaboré un boisson kéfir (Boisson fermenté fonctionnel), additionnée de prébiotiques: ou les ingrédients idéals après différentes recombinaison étaient: KLB optimisé, Lactosérums: 11.5, farine d'avoine: 47%. (Oliveira-Alcântara *et al.*,2020). D'autres part, Bomba *et al.*, (2002), dans une étude pour l'amélioration des effets probiotiques par l'addition des prébiotiques (acide gras, Psyllium, FOS et Amidon): les Fos renforcent les effets intestinaux des probiotiques. De l'avis de Rodrigues *et al.*,(2011), les composés prébiotiques (Fos + inuline), prébiotiques et la durée de maturation à 60 jours, influencent significativement la composition de fromage en acides gras libres. Tandon *et al.*, (2019), ont montré que l'administration des FOS, a des effets bénéfiques sur le microbiote intestinale et la diminution des flores pathogènes.

En présence de l'extrait de caroube CA (*Ceratonia siliqua.L*) et de CA +blé:

L'ajout de CA à 1% aux milieux de cultures avait un effet accélérateur de croissance exponentielle pour les deux milieux MRS, Elliker, sauf pour le milieu MRS ou cet effet est obtenu à 1%.

L'addition de CA+ blé à 1% aux milieux de cultures avait un effet accélérateur de croissance exponentielle pour les deux milieux: MRS, M17, sauf pour le milieu Elliker ou cet effet est obtenu à 1%.

Nos résultats sont en harmonie avec ceux de Benguiar *et al.*,(2015), ayant étudié l'effet de l'extrait de caroube en deux concentrations (1% et 8%) la croissance de deux bactéries lactiques *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus rhamnosus*, en mesurant l'absorbance à 625nm. Le résultat a montré que la souche *Lactobacillus fermentum*, possède une bonne adaptation au milieu à base de caroube à 8%. En revanche, la croissance de *Lactobacillus Rhamnosus* est réduite en présence de 1% de caroube donc, l'extrait de caroube a une capacité de ralentir la multiplication de *Lactobacillus Rhamnosus*, a accéléré la prolifération de *Lactobacillus fermentum*. Ceci semble dû, surtout, aux capacités fermentaires, des souches d'origine végétales, des souches étudiées

Guler Akin Mutlu *et al.*,(2016), dans une étude de l'effet de l'extrait de caroube et la poudre de lactosérum sur des probiotiques de yaourt, le résultat indique que l'extrait de caroube et le lactosérum exerce un effet positif sur les propriétés physiques, sensorielles et microbiologiques.

Ait chaitaet *al.*,(2021),ont étudié le développement de lait fermenté symbiotique avec 4% de l'extrait de caroube en utilisant *Lactobacillus brevis*.

L'ajoute de l'extrait de caroube au lait fermenté, a améliorée la croissance de *Lactobacillus brevis*. Le résultat indique que le lait fermenté à base de caroube avait un gout sucré, de très importantstaux de probiotiques et de polyphénols.

Conclusion

En Algérie, la filière des huiles d'olives, des olives de table particulièrement, est en pleine évolution, d'une part grâce à la politique menée dans le domaine agricole, depuis les années 2000 par l'état, notamment les plans PNDA et PNDAR.

A cet égard, la maîtrise des process fermentaire, des équilibres entre les microorganismes acteurs des fermentations, des différents points critiques de la qualité, demeure des contraintes à relever. L'étude a fixé comme objectifs, le dénombrement, caractérisation, des souches lactiques probiotiques impliquées dans la fermentation de 16 échantillons d'olive de table noirs, collectés (durant Février- Mars 2022) du marché local de la province B.B.A- Nord Est d'Algérie: De l'analyse des résultats il ressort que

Les dénombrements des flores eucaryotes (levures et moisissures) sur trois milieux Saboureaud, OGA et PCA et des procaryotes lactiques sur différents milieux sélectifs (Elliker, MRS et M17) a montré la grande diversité des flores adventices eucaryotes que procaryotes, les charges élevées des flores eucaryotes sur le milieu SAB et la dominance des LAB hétérofermentaires sur le milieu Elliker. D'autre part, l'identification des isolats par méthodes classiques (phénotypiques, physiologiques et biochimiques) s'est abolie, pour des causes techniques, au rang du genre. La réalisation des antibiogrammes (par usage de dix types d'antibiotiques, selon les instructions du standard d'antibiogramme d'OMS) a montré des taux de résistance très élevés (75% pour *Leuconostocs*, 45% les lactobacilles et 39% des lactocoques). En outre, l'exploration d'antagonisme des souches lactiques sélectionnées, dirigé, *in vitro*, contre des souches cibles eucaryotes (*Trichoderma sp. et Fusarium sp.*) et contre procaryotes (à Gram+ et Gram-) a montré les profils potentiellement bacteriocinogène, des isolats, avec effets inhibiteurs, dirigés plus contre des souches cibles a paroi Gram (+) du fait des rapprochements phylogéniques et de la nature et mode d'action des bactériocines des LAB.

Enfin, le suivi, par prises des densité optiques (absorbance) sur spectrophotomètre, des croissances et de la survie des différentes souches lactiques sélectionnées, sur des différents milieux de culture synthétiques, additionné, a différents taux (0,5% et 1%), de substrats prébiotiques: Gomme arabique (exsudat d'arbre d'acacia senigal), FOS (Fosf-ooligo-saccharid), psyllium (*Plantago ovata*), Extrait du caroub (*Ceratonia siliqua*), a révélé, l'effet souche-dépendant pour chaque ingrédients prébiotiques. l'amélioration des croissances exponentielles des souches, des effets souches dépendants, ce qui reflète le profil potentiellement probiotiques de souches, leurs effets symbiotiques prometteurs lors d'usage des isolats comme souches starter dans des fermentations.

Perspectives

Les résultats de la présente l'étude, bien que partiel, primordial, sont intéressants, il serait souhaitables en perspective, d'approfondir ce travail par d'autres explorations notamment:

- D'élargir l'effectif d'échantillonnage (nombre des échantillons) avec échantillonnage étalé sur le territoire national et sur plus de variétés d'olive de table (Olives de table noirs et verts) issue de différents méthode (Styles) de fermentations;
- Etude des impacts des nature/concentrations des sels, des stabilisateurs, conservateurs, correcteurs de gout, de process de fermentation, sur la qualité des olives de table.
- De réaliser des analyses physico-chimiques (pH, acidité, taux de cendres, taux des sels, polyphénols, activité antioxydant.....
- Des analyses sensorielles, test de dégustation, Tests hédonique, Analyses organoleptiques...
- De réaliser des enquêtes sur terrain pour la sélection de la meilleure variété et du meilleur process fermentaire.....
- Identification génétique (par PCR+ SDS PAGE) des flores eucaryotes (levures) et flores lactiques associées aux olives de table.
- Sélection des souches eucaryotes et lactiques probiotiques et bacteriocinogène.

Références bibliographiques

- Abouloifa H, Rokni Y, Bellaouchi R, Hasnaoui I, Gaamouche S, Ghabbour N, Chaoui J, Brasca M, Karboune S, Ben Salah R, Saalaoui E, Asehrou A.(2020). Technological properties of potential probiotic Lactobacillus strains isolated from traditional fermenting green olive. *J. Microbiol. Biotech. Food. Sci.* 9(5) 884- 889.
- Ait Chaita Y, Gunencb A, Bendalia F & Hosseinianb. F.(2021). Functional fermented carob milk: probiotic viability and polyphenolic profile. *J. Food Bioact.*14:114-125.
- Allouche F N, Hellal A., Laraba. A (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière, *Nature et Technologie.* 03/Pages 13- 20.
- Ammor S., Tauveron G., Dufor E. and Chevalier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small scale facility 1-Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control.* 17. Pp : 454- 461.
- Aslam S and Qazi, J.I. (2010). Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan. Jo. Zool.* 42(5), Pp: 567- 573.
- Atlan D, Béal C, Champonier-Vergès M.C, Chapot-Chartier M.P, Chouayekh H, Coccagn-Bousquet M, Deghorain M, Gadu P, Gilbert C, Goffin P, Guédon E, Guillouard I, Guzzo J, Juillard V, Ladero V, Lindley N, Lortal S, Loubière P, Maguin E, Monnet C, Monnet V, Rul F, Tourdot-Maréchal R.& Yvon M., (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. In: Bactéries lactiques de la génétique aux Ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 271- 447.
- Axelsson L. (2004). Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A). 3^eEd., Marcel Dekker, Inc. New York. 1- 66.
- Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M & Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales, *Arabia et Kabyle.* Sciences & Technologie N23. Pp: 30- 37.
- Balatsouras G, (1997). Encyclopédie mondiale de l'olivier. Conceil Oléicole International: 300, 330, 309.
- Benguiar R, Benaraba R, Riazi. A, (2015). Effet de l'extrait de caroube sur la croissance de deux candidats Probiotiques: Lactobacillus fermentum et Lactobacillus rhamnosus, *Nature & Technology*, n° 13/Pages 22- 27.
- Bevilacqua A, Altieri C, Rosaria Corbo M, Sinigaglia M, and Ivette Ouoba L. (2010). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Italian Bella di Cerignola Table Olives: Selection of Potential Multifunctional Starter Cultures. *Journal of Food Science* Vol. 75, Nr.8, 2010.
- Bomba A, Nemcova R, Gancarc ikova S, Herich R, Guba P. & Mudron'ova D. (2002). Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. *British Journal of Nutrition.* 88, Suppl. 1, 95- 99.
- Bonatsou S, Tassou C. C., Panagou E. Z and Nychas G-J. E (2017). Review- Table olive fermentation using starter cultures with multifunctional potential. *Microorganisms* 2017, 5, 30.

- Boudallaa Y, El Antari A., Ababou B & Boukachabine Kh .(2018). Characterization of yeast diversity colonizing various olive habitats associated to Moroccan Picholine olive variety (orchards and crushing units). *J. Mater. Environ. Sci.* Volume 9, Issue 2, Page 497- 502.
- Bousmaha L, El Yachioui M & Ouhssine.M (2009). Amélioration du procédé de fermentation traditionnelle des olives vertes. *Afrique Science.* 05(1) (2009) 114- 125.
- Calame W, Antje R, Weseler Viebke Ch, Flynn C & André D. (2008). Gum arabice stabilishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner.*Siemensma British Journal of Nutrition.* 100, 1269-1275.
- Campus M., Sedda P., Cauli E., Piras F., Comunian R., Paba A., Daga E., Schirru S., Angioni A., Zurru R et Bandino G. (2015). Evaluation of a single strain starter culture, a selected inoculum enrichment, and natural microflora in the processing of *Tonda di Cagliari* natural table olives: Impact on chemical, microbiological, sensory and texture quality. *LWT- Food Science and Technology*, 64: 671- 677.
- Chamkha M, Sayadi S, Bru V & Godon J-J (2008). Microbial diversity in Tunisian olive fermentation brine as evaluated by smallsubunit rRNA- Single strand conformation polymorphism analysis. *International Journal of Food Microbiology* .122 (2008) 211- 215.
- Chammem N, Kachouri M, Mejri M, PeresC, Boudabous A & Hamdi M. (2005). Combined effect of alkali pretreatment and sodium chloride addition on the olive fermentation process. *Bioresource Technology.*96 (2005) 1311- 1316.
- Charlier C., Cretenet M., Even S. & Le Loir Y., (2009). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *Int. Jo. Food Microbiol.* 131 :30-39.
- COI. (2010). Fiche de renseignement sur l'oléiculture en Algérie.
- COI. (2015). Conseil Oleicol International (<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/76-the-olive-tree>).
- Dabbou S, Issaoui M, Brahmi F, Nakbi A, Chehab H, Mechri B, & Hammami. M (2012). Changes in volatile compounds during processing of Tunisian-style table olives. *J Am Oil Chem Soc.* (2012) 89: 347- 354.
- De Man J. C, Rogosa M, Sharpe M. E. (1960). A medium for the cultivation of Lactobacilli. *J. appl. Bacteriol*, 23, 130- 135.
- Delgado A, Brito D, Fevereiro P, Peres C & Marques J (2001). Antimicrobial activity of *Lb. Plantarum*, isolated From a traditional lactic acid fermentation of table olives. *Le Lait, INRA Editions.* 81 (1-2), Pp. 203- 215.
- Duriez J. M., (2004). Code de bonnes pratiques loyales pour les olives de table Fédération des industries condimentaire de France. Association Française Interprofessionnelle de l'olive: 7- 24.
- El Sharoud WM, Delorme C, Darwish MS, Renault P (2013). Genotyping of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional Egyptian dairy products by sequence analysis of the phosphoserine phosphatase (serB) gene with phenotypic characterizations of the strains. *Journal of Applied Microbiology* 112: 329- 337.
- Eldawo Elawad F A, Sulieman M A, & Elhadi A I, Elkhalil E A I.(2021) Effect of gum arabic as prebiotic on probiotics and quality of yoghurt during cold storage. *Bacterial Empire.* Vol. 4, NO. 2, 236 1
- Elli M, Cattivelli D, Soldi S, Bonatti M, Morelli L (2008). Evaluation of prebiotic potential of refined psyllium (*Plantago ovata*) fiber in healthy women. *J*

- Clin Gastroenterol.* 42 Suppl 3 Pt 2:S174-6. doi: 10.1097/MCG.0b013e31817f183a.
- EUCAST. (2014).détermination de la sensibilité aux antibiotiques méthode de diffusion de l'EUCAST en gélose *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Version 4.0.
- FAO. (2015). Food and Agriculture Organization (<http://www.fao.org/home/fr/>).
- Gomes A.M.P, Malcata, Y.F. and Claver F.A. (1998). Growth enhancement of *Bifidobacterium*. *Journal of Dairy Science*, 81, 1817- 2825.
- Gomes A.M.P, Vieira M.M, Malcata F.X (1998). Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering* 36, 281- 301.
- Guetarni H, Taibouni N.E, Tahi S. (2017). Isolation of the lactic acid bacteria from Sigoise and Chemlale olive varieties in Ain Defla (Algeria). *Electronic Journal of Biology*, 2017, Vol.13(4): 408- 415.
- Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292, 140-141.
- Guler-Akin Mutlu B, Goncu B & Serdar A M (2016). Some properties of probiotic yoghurt ice cream supplemented with carob extract and whey powder. *Advances In Microbiology*. 6, 1010-1020.
- Gustaw W, Kordowska-Wiater M & Kozioł J.(2011) The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 10(4), 455- 466.
- Halami P. M, Chandrashekar A & Nand K (2000). *Lactobacillus farciminis* MD, a newer strain with potential for bacteriocin and antibiotic assay. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 197- 202.
- Hanoune S, Djeghri-Hocine B, Kassas Z, Derradji Z, Boudour A & Boukhemis M (2015). Optimization of *Lactobacillus fermentum* DSM 20049 growth on whey and lupin based medium using response surface methodology. *Advance Journal of Food Science and Technology*.(9): 679- 685.
- Hasib A, Moumene H, Amir S & Jaouad A. (2013). Qualité hygiénique des olives de table vendus en vrac dans la région Marrakech-Tensift El Hawz. *Les Technologies de laboratoire*. Volume 8, N°32 Pp: 82- 89.
- Idoui T, Boudjerda J, Leghouchia E & Karam N (2009). Naturally fermented Jijelian black olives: microbiological characteristics and isolation of lactic acid bacteria. *Grasas Y Aceites*, 60, 514- 518.
- Issaoui M, Dabbou S, Mechri B, Nakbi A, Chehab H & Hammami M. (2011). Fatty acid profile, sugar composition, and antioxidant compounds of table olives as affected by different treatments. *Eur Food Res Technol.* (2011) 232: 867-876.
- Kacem M and Karam N.E. (2006). *In Vitro* preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin, *International Journal of Probiotics and Prebiotics* Vol. 1, No. 1, p. 27- 32.
- Kacem M, Zadi-Karam H & Karam N-E. (2005). Isolation of lactic acid bacteria from naturally fermented Algerian olives. *J. King Saud Univ.*, Vol. 18, *Science* (2), pp. 89- 98.
- Kacem M, Zadi-Karam H & Karam N-E. (2004). Lactic acid bacteria isolated from fermented green olives produced in Western Algeria. *Actes Inst Agron Vet (Maroc)*, V24 (1&2): 59- 66.

- Kacem M, Zadi-Karam H & Karam N-E. (2003). Identification de souches de bactéries lactiques isolées à partir de lait cru et d'huile d'olive dans l'ouest algérien. *Actes Inst Agron Vet (Maroc)*, VI23(2- 4): 135- 141.
- Kacem M. (2007). Plasmid DNA studies in *Lactobacillus plantarum* strains isolated from olive fermentations: production of and immunity to plantaricin OL15 is associated to a 9.6 Kb plasmid (pOL15). *Grasas Aceites*. 136- 141.
- Kaplan H & Hutkins R W (2000). Fermentation of Fructo-oligosaccharides by *Lactic acidbacteria* and Bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. Pp. 2682- 2684.
- Kurniati T H , Rahayu S, Basa N, Ivana Rouli & Sukmawati D. (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from oncom, a traditional indonesian fermented food. *The 2nd Science and Mathematics International Conference (SMIC 2020) Indonesia*.
- Lairini S, Beqqali N, Bouslamti R, Belkhou R, Zerrouq F, (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science* 10(4) 267- 277.
- Leal, M.V., Baras, M., Ruiz-Barba, J.L., Floriano, B., Jime´nez-Diaz, R., (1998). Bacteriocin production and competitiveness of *Lactobacillus plantarum* LPCO10 in olive juice broth, a culture medium obtained from olives. *International Journal of Food Microbiology* 43, 129- 134.
- Lotfipour F, Mirzaeei S & Maghsoodi M (2012). Preparation and characterization of alginate and psyllium beads containing *Lactobacillus acidophilus*. *The Scientific World Journal*. doi:10.1100/2012/680108.
- M'hir S, Filannino P, Mejri A , Tlais. A. Z. A, Di Cagno. R & Ayed L.(2021). Functional Exploitation of Carob, Oat Flour, and wheypermeate as Substrates for a Novel Kefir-Like fermentedbeverage: an optimized formulation. *Foods*. 10, 294. <https://doi.org/10.3390/foods10020294>.
- Mayeux J.V., Sandine W.E. and Elliker P.R.(1962). A selective medium for deting Leuconostoc in mixed-strain starter cultures. *J. Dairy Science* 45 p:655-656.
- Mokoena, A.M., (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255.
- Montano, A., Bobillo, M., Marshall, V.M., (1993). Effect of sodium chloride on metabolism of two strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermenting olives. *Letters of Applied Microbiology* 16, 315-318.
- Montoro P. B, Benomar N, Gómez, N, Ennahar S, Horvatovich P, Knapp C.W, Alonso E, Gálvez A, Abriouel H. (2018). Proteomic analysis of *Lactobacillus pentosus* for the identification of potential markers of adhesion and other probiotic features. *Food Res. Int.* 2018, 111, 58- 66.
- Montoro P. B, Benomar N, Lerma L, Castillo Gutiérrez S, Gálvez A, Abriouel H. (2016). Fermented Aloreña table olives as a source of potential probiotic *Lactobacillus pentosus* strains. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1583.
- Moumene H, Hasib A, AmirS, Jaouad A, (2013). Qualité Hygiénique des olives de table vendus en vrac dans la région Marrakech Tensift El Hawz, *Les Technologies de Laboratoire*- 2013, Volume 8, N32.
- Nunez M, Tomillo J, Gaya P. and Medina M (1996). Bacteriocin quantification by the critical dilution method: a Comparison of arbitrary units with diameter and area of the zone of growth inhibition. *Milchwissenschaft*, 51: 07- 10.

- Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Tanaka R, Hamabata T, Yamasaki S, Takeda T, Takeda Y. (2001). Inhibition of *in vitro* growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O 157: H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to the production of lactic acid. *Int J Food Microbiol* 68: 135- 140.
- Oliveira-Alcântara A. V, Abreu Ana A S, Gonçalves C, Fuciños P, Cerqueira Miguel A, Gamad Francisco M.P, Pastranac Lorenzo M, Rodrigues Sueli, & Azeredoe Henriette M.C. (2020). Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. *LWT - Food Science and Technology*. 130, 109- 699.
- Pereira A. P., Pereira J. A., Bento A., & Estevinho M. L. (2008). Microbiological characterization of table olives commercialized in Portugal in respect to safety aspects. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2895- 2902.
- Perpetuini G, Prete R, Garcia-Gonzalez N , Khairul Alam M and Corsetti A (2020). Review. Table Olives More than a Fermented. *Food Foods* 2020, 9, 178 MDPI.
- Rajkumar H, Kumar M, Das N. Kumar N, Challa H R &, Nagpal R (2015). Effect of Probiotic *Lactobacillus salivarius ubl* S22 and Prebiotic Fructo-oligosaccharide on Serum Lipids, Inflammatory Markers, Insulin Sensitivity and Gut Bacteria in Healthy young volunteers: A Randomized controlled single-Blind Pilot Study. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. Vol. 20(3) 289- 298.
- Ramírez E., Gandul-Roja B., Romero C., Brenes M., Gallardo-Guerrero L. (2015). Composition of pigments and colour changes in green table olives related to processing type. *Food Chemistry*, 166 : 115- 124.
- Rodrigues D, Rocha-Santos Teresa A. P., Pereira Cláudia I., Gomes A M., F. Malcata Xavier Freitas A. C. (2011). The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT - Food Science and Technology*. *LWT - Food Science and Technology* 44 (2011) 100- 108.
- Rokni Y, Ghabbour N., Chihib N E, Thonart P et Asehrou A. (2015). Caractérisation Physico-Chimique et Microbiologique du processus de fermentation naturelle des olives vertes de la variété picholine Marocaine. *Jo. Mater. Environ. Sci* : 1740- 1751.
- Ruiz-Barba J. L, Cathcart D. P., Warner P. J, Jimenez-Diaz R., (1994), Use of *Lactobacillus plantarum LPCO10*, a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish style green olive fermentations, *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 60, No.6, p. 2059- 2064.
- Ruiz-Barba, J.M. Piard, J.C. and Jiménez-Díaz, R. (1991) Plasmid Profiles and Curing of Plasmids in *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Green Olive Fermentation. *J. Appl. Bacteriol.*, 71 (1991), 417- 421.
- Shree K D , Deshpande H W & Bhate M A (2017). Studies on exploration of psyllium husk as prebiotic for the preparation of traditional fermented food Buttermilk. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 6(7): 3850-3863.
- Sifour M, Idoui T, Ouled Haddar H, Namous H, Aissaoui S (2012). Production and characterization of bacteriocin of *Lactobacillus plantarum* f12 with inhibitory activity against *tojsat* : *The Online Journal of Science and Technology*- January 2012, Volume 2, Issue 1.
- Stamatoula B C., Tassou C C., Panagou E Z e t Nychas G J E. (2017). Fermentation oléicole de table à l'aide de cultures initiales avec potentiel multifonctionnel.
- Tabak, S., Maghnia, D., Bensoltane, A. (2012). The Antagonistic activity of the Lactic Acid Bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and

- Lactobacillus bulgaricus*) against *Helicobacter pylori* Responsible for the Gastroduodenals Diseases. *Journal of Agricultural Science and Technology* . 2: 709- 715.
- Tagg J. R. et Mc Given A. R. (1971). Bacteriocin activity can be detected and assayed by a modification of the punch hole *Method. Appl. Micro.* 21 (5), Pp: 943.
- Tagg J. R., Dajani A. S., Wanamaker L.W et Gray E.D. (1973). Group (A) *Streptococci* bacteriocins. *The Journal.of. Experimental. Medecine*, 11, 138, Pp: 68- 1183.
- Tamime A.Y (2002). Microbiology of starter cultures. *In: Dairy Microbiology Handbook*(Robinson R. K.). 3^e Ed., John Wiley and Sons, Inc, New York. 261- 366.
- Tandon D, Monzoorul Haque M, Gote M, Jain M, Bhaduri A, Kumar Dubey A, & Mande S. (2019). A prospective randomized, doubleblind, placebo-controlled, doseresponse relationship study to investigate efficacy of fructooligosaccharides (FOS) on human gut microfora. *Scientific Reports* 9: 54.
- Tassou Chrysoula C. Panagou Efstathios Z., Garrido- Fernandez A, Cidalia P, Luca C & Chammem N. (2008). Probiolives: Table olive fermentation with selected strains of probiotic lactic acid bacteria. *Towards a new functional food.* (FP7-SME-2008- 2 project).
- Terzaghi B. E and Sandine W. E., (1975)., “Improved Medium for Lactic Streptococci and Their bacteriophages,” *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 29, No. 6. P :. 807- 813.
- Titiek F.D., Endang S.R., Djoko W & Slamet S., (1996). Antimicrobial substance produced by *lactobacillus* sp. *TGR-2* isolated from *Growol. Indonesian. Food Nutr. Prog.* 3(2) : 29- 34.
- Van Den Berg Dick J.C., Smits Annelies, Pot Bruno, Ledebouer Aat M, Kersters Karel, Verbake John M.A, Verrips C. Theo. (1993). Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture *collections. Food Biotechnology.* 7(3), 189- 205.
- Vinod-Kumar, J., Somesh, S. and Neerja, S. (2006). Production, purification, stability and efficacy of bacteriocin from isolated of natural lactic acid fermentation of vegetables. *Food technology and Biotechnology*, 44(3), Pp 435- 439.
- Yang, R., Johnson, M.C. and Ray, B. (1992). Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 3355- 3359.

Annexe I

Materiels

Matériel lourd

Matériel	Référence
Hotte microbiologique	STERIL-GEMINI (Italy)
Autoclave	SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J- Turkish
Etuves	Memmert (Germany)
Microscope optique	OPTIKA B-350 (Italy)
Compteur de colonies	J.P.SELECTA,s.a (Spain)
Bain marie	Memmert (Germany)
Réfrigérateur / Congélateur	Samsung®, Algérie
Vortex	Fisher Scientific FB 15024
Agitateur magnétique plaque chauffante	AGIMATIC-E
Bec Bunsen électrique	INTEGRA Biosciences®, model FIREBOY eco, becBunsens
Spectrophotomètre	JENWAY 7315
Autoclave	SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J
Balance de précision	KERN ALS 220-4N (Germany)
Four Pasteur	Memmert type UNB400 Germany
Distillateur	BuchI Distillation Unit K-350 (Switzer land)

2-Matériel léger et accessoires

Accessoires	Verrerie	Solvants	Colorants et réactifs	Sels et tampons
Anses de platine, Barreau magnétique, Boîtes de Pétri, Cuillère, Distributeur, Micropipette, Papier Josef, Papier aluminium, , Ciseau, Pince, Pissette, Poires. Portoir, Rubans de parafilm, Scotch, Spatules.	Béchers, Burette Entonnoirs, Eprouvette graduées, Erlenmeyers, Fioles Jaugé, Flacons, Lames/lamelles, Pipettes graduées, Pipettes Pasteur, Tubes à essai, Mortie	Alcools (éthanol à 95°), Glycérol, Tween 80	Violet de Gentiane, Lugol,Fushine, Huile à émersion, Phénolphtaléine,,	NaCl, NaOH, KOH, Hcl.



Annexe II

Milieux de culture

Milieu de culture	Composition
Gélose MRS	Polypeptone.....10g Extrait de viande.....10g Extrait de levure.....05g Glucose.....20g Tween 801,08ml Phosphate bipotassique.....02g Acétate de sodium trihydraté.....05g Citrate d'ammonium.....02g Sulfate de magnésium.....0,05g Agar.....15,00g
Gélose M17	Tryptone.....02,5g Peptone pepsique de viande.....02,5 g Peptone papaïnique de soja.....5,0 g Extrait autolytique de levure.....2,5 g Extrait de viande.....5,0g Lactose.....5,0 g Glycérophosphate de sodium.....19,0 g Sulfate de magnésium.....0,25 g Acide ascorbique.....0,50g Agar.....15,0g
Mueller Hinton(MH)	Hydrolysate acide de caséine.....17,5g Extrait de viande.....03g Amidon.....1.5g Agar.....16g
Gélose PCA	Tryptone.....5g Extraitdelevures2.5g Glucose.....1g Agar.....15g
Gélose Sabouraud	Peptone.....10g Glucose.....20g Gélose.....20g
Elliker	Trypton.....20g Extrait de levure.....5g Gélatine2.5g Glucose.....5g Saccharose.....5g Lactose5g Chlorure de sodium.....4g Acétat de sodium.....1.5g Acide ascorbique0.5g
Bouillon MRS	Dextrose.....20g Peptone bactériologies.....10g Extrait de bœuf.....8g Acétate de sodium.....5g Extrait de levure.....4g Phosphate di potassique.....2g Citrate d'ammonium.....2g

	Tween 80.....1ml Sulfate de magnésium.....0.2g Sulfate de manganèse.....0.05g Saccharose.....5g
Bouillon M17	Tryptone.....2.5g Peptone pepsique de viande.....2.5g Peptone papainique de soja.....5.0g Extrait de viande.....5.0g Extrait autolytique de levure.....2.5g Acide ascorbique.....0.5g Glycérophosphate de sodium.....19g Sulfate de magnésium.....0.25g
Eau physiologique	Chlorure de sodium.....9g Eau distillée.....1000ml
Eau peptonnée	Sodium Glycérophosphate.....19.0g Peptone de soja.....5.0g Extrait de viande.....5.0g Lactose.....5.0g Peptone de viande.....2.5g Peptone de caséine.....2.5g Extrait de levure.....2.5g Acide ascorbique.....0.5g Sulfate de magnésium.....0.25g Agar bactériologique.....12.75g
Bouillon nutritif	Extrait de levure.....04g Tryptone.....05g Glucose.....50.0g Dihydrogénophosphate de potassium.....0.55g Chlorure de potassium.....0.425g Chlorure de calcium.....0.125g Sulfate de magnésium.....0.125g Chlorure ferrique.....0.0025g Sulfate de manganèse.....0.0025g Vert de bromocrésol.....0.022g
Sabourod	Pepton de viande.....5g Oépton de caséine.....5g Glucose.....20g Le milieu gélose de sabourod-glucose est constitué du bouillon gélosé à 2 %.
OGA	Extrait de levure.....5g Glucose.....20g Gélose.....16g

Annexe III:

Le matériel biologique :

Les échantillons d'olive :



N1 N2 N3 N4



V1 V2 V3 V4

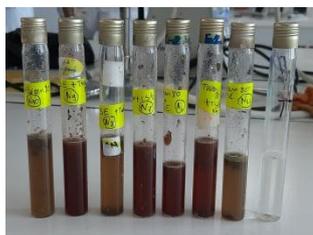


V5 V6 N5 N6



N7 N8 N9 N10

ENRECHISSEMENT :



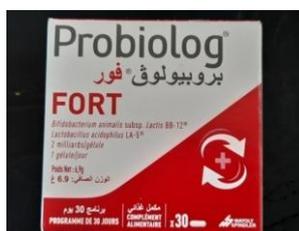
Les antibiotiques:

Antibiotique	Abréviation
Amoxyclave	AMC 30
Amoxicilin	AMX 25
Acide Nalidixic	NA 30
Cephalothin	CEP 30
Nitroxoline,	NO 30
Gentamiin,(HLG 120
Ciprofloxacine	CIP 30
Acid Fusidic	FC 10
Pristinomycin	RP 15
Erytromycin	E 15



Les souches de références :

Lactobacilles et Lactocoques ont été isolés à partir d'un médicament.



Les souches de cibles pathogènes



E.coli , *Vibrio sp* et Salmonella
sp Gram négatif

Bacillus sp, micrococcus sp
Gram positif

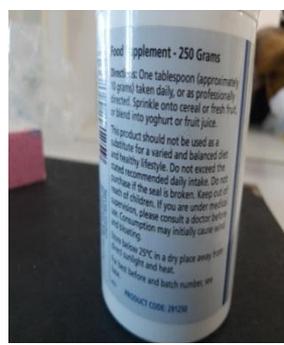
Les prébiotiques utilisés : Caroube, psyllium, Fos; gomme arabique, caroube + blé



psyllium



Fos



Caroubier



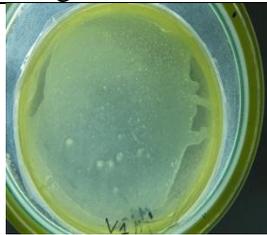
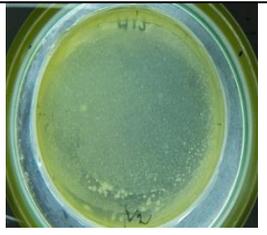
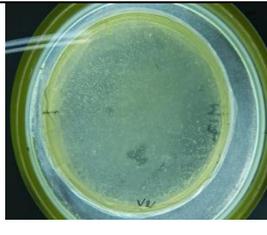
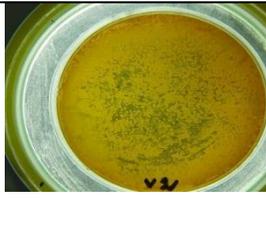
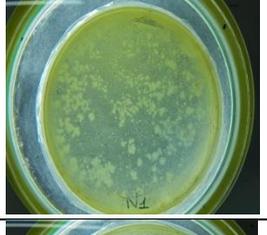
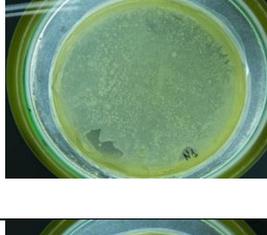
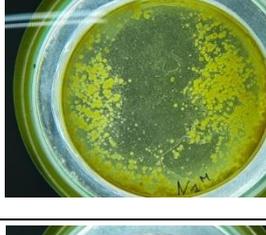
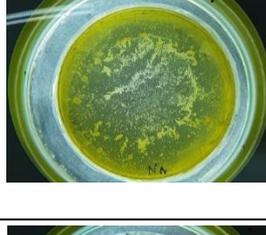
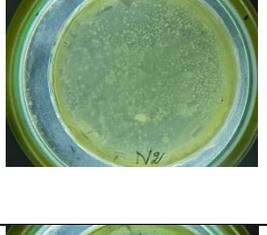
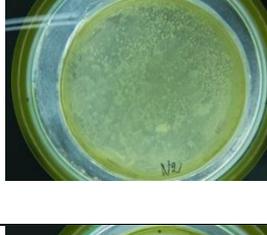
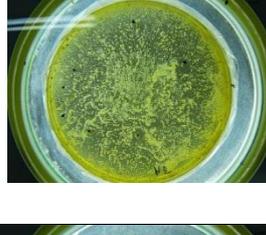
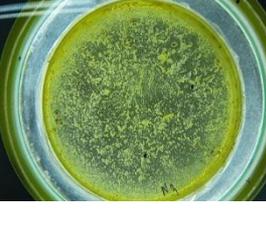
Caroubier + blé



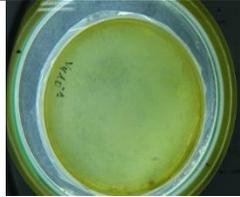
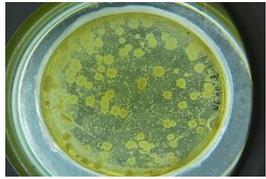
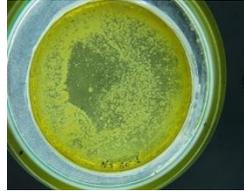
La Gomme Arabique

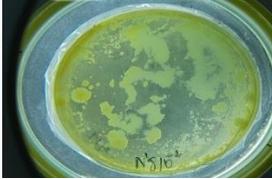
Annexe IV

Résultats de l'isolement Sur M17 et MRS:

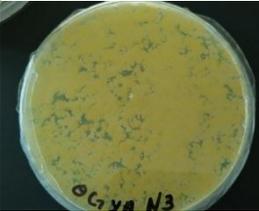
Boite	Image M17 10 ⁻¹	Image M17 10 ⁻²	Images MRS10 ⁻¹	Images MRS 10 ⁻²
V1				
V2				
V3				
N1				
N2				
N3				

Annexe IV.

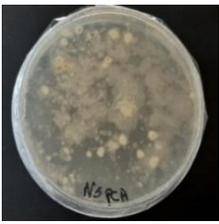
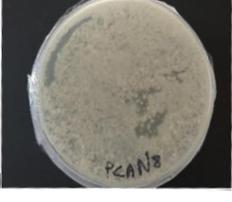
V4				
V5				
V6				
N4				
N5				
N6				
N7				

N8				
N9				
N10				

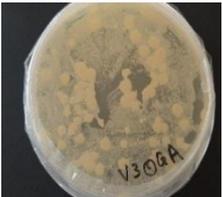
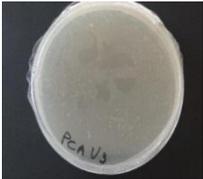
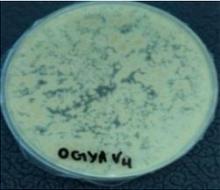
Isolement des levures et champignons à partir des échantillons d'olive

	OGA	PCA	SAB
N1			
N2			
N3			

Annexe IV.

N4	 <p>OGAN4</p>	 <p>PCAN4</p>	 <p>SABN4</p>
N5	 <p>OGAN5</p>	 <p>NSRA</p>	 <p>NSAB</p>
N6	 <p>OGAN6</p>	 <p>PCAN6</p>	 <p>SABN6</p>
N7	 <p>OGAN7</p>	 <p>PCAN7</p>	 <p>SABN7</p>
N8	 <p>OGAN8</p>	 <p>PCAN8</p>	 <p>SABN8</p>
N9	 <p>OGAN9</p>	 <p>PCAN9</p>	 <p>SABN9 LZ</p>

Annexe IV.

N10	 <p>OGA N10</p>	 <p>PCA N10</p>	 <p>SAB N10</p>
V1	 <p>OGA V1</p>	 <p>PCA V1</p>	 <p>SAB V1</p>
V2	 <p>OGA V2</p>	 <p>PCA V2</p>	 <p>SAB V2</p>
V3	 <p>V3 OGA</p>	 <p>PCA V3</p>	 <p>SAB V3</p>
V4	 <p>OGA V4</p>	 <p>PCA V4</p>	 <p>SAB V4</p>
V5	 <p>OGA V5</p>	 <p>PCA V5</p>	 <p>SAB V5</p>
V6	 <p>OGA V6</p>	 <p>V6 PCA</p>	 <p>V6 SAB</p>

L'objectif de l'étude est l'isolement, sélection des Bactéries lactiques, des variétés d'olives de table en fermentation. Seize échantillons, collectés durant la période printanière 2022, commercialisés dans la willaya de Bordj Bou Arreredj Nord-Est d'Algérie. Dénombrements des eucaryotes sur milieux sélectifs a donné des flores adventices indénombrables, Sabouraud à donner meilleur taux de récupération suivi par PCA puis OGA. Dénombrement des flores lactiques sur: Elliker a donné charges indénombrables, sur MRS maximum en UFC pour l'échantillon N6 suivi de V6. Le milieu M17, un maximum des UFC pour l'échantillon N10 suivi de N9. L'identification (classiques) des souches, arrêtée au rang du genre, a permis de sélectionner dix isolats (4 *Lactobacilles*, 4 *Lactococques*, 2 *Leuconostoc*). Les antibiogrammes, ont montré la résistance de 75% des isolats *Leuconostoc sp.*, 45% *Lactobacilles sp* et 39% des *Lactococques sp* vis-à-vis de dix antibiotiques. L'antagonisme des isolats conduit, *In vitro*, contre des procaryotes, eucaryotes, était plus bactéricide contre Gram (+) avec des zones d'inhibition de 39mm entre: (LcN6 et *Bacillus sp.*), de 30mm entre: (LcN9 et *Micrococcus sp.*) et 26mm (LcN3 et *Bacillus sp.*). Effet fongicide des LAB (contre *Trichoderma sp*) et fongistatique entre LcN6 et *Fusarium sp* avec Zone d'inhibition: 17mm. La survie, croissances des souches lactiques sur différents milieux synthétiques, additionnés (à des taux de 0,5%, et 1%) de substrats prébiotiques: Gomme arabique (*Acacia sp*), FOS, extrait de psyllium (*Plantago ovata*), extrait du Caroub (*Ceratonia siliqua*), a révélé l'amélioration de la croissance exponentielle, ce qui reflète des effets symbiotiques lors d'usage des isolats comme probiotiques. En perspective, l'étude mérite d'être approfondie par d'explorations d'ordre physicochimique (pH, acidité, taux de cendre, taux des sels, des polyphénols...) bactériologique (flores/espèces de contamination, toxines, identification génétiques des flores lactiques...) sensorielles: par des tests hédoniques, de dégustation, enquête sur terrain pour sélectionner meilleur variété sur un effectif élevé des variétés étalées sur le territoire national.

Study aimed to isolate and select probiotic lactic acid strains from sixteen fermented black table olive fruits samples collected in spring 2022 and marketed in Borj Bou Arreredj province, Northeast of Algeria. Yeast enumeration on Sabouraud medium gave a better CFU recovery rate, followed by Plant Count Agar (PCA) and then Oxytetracyclin Glucose Agar (OGA). Lactic flora enumeration on Elliker medium yielded non-countable CFUs. On MRS, maximum in CFU was given by sample N6 followed by V6. On M17 medium, the sample N10 gave a maximum number of CFU followed by N9. Strains identification by classical (physiological and biochemical) methods allowed to the selection of ten isolates: (4 *Lactobacillus sp.* strains, 4 *Lactococcus sp.* strains and two strains: *Leuconostoc sp.*). Results of antibiogram showed a high strains resistance: 75% of *Leuconostoc sp.*, 45% of *Lactobacillus sp.* and 39% of *Lactococcus sp.* The antagonism of the isolates performed *In vitro* against prokaryotes and eukaryotes was directed more against Gram (+) with diameter of inhibition zones of: 39 mm: (LcN6 and *Bacillus sp.*) 30 mm: (Lc N9 and *Micrococcus sp.*), 26 mm: (LcN3 and *Bacillus sp.*). Lactic strains antagonism directed against the fungal indicator strains was fungistatic between LcN6 and *Fusarium sp.* with a diameter of inhibition area: 17mm and a fungicidal effect against *Trichoderma sp.* Growth and viability of bacterial isolates on different media supplemented (at rates: 0.5% and 1%) with 4 prebiotics: Gum arabic (*Acacia sp.*), FOS, Psyllium (*Plantago ovata*), carob extract (*Ceratonia siliqua*) revealed an exponential increase in growth, reflecting the symbiotic effects when isolates are used as probiotics. In perspective, the study deserves to be deepened by explorations of physico-chemical order: (pH, acidity, rate of ash, rate of polyphenol salts... etc); bacteriological: flora of contamination, toxins, genetic identification of the lactic flora...); sensory: hedonic tests, tasting, viability, to select the best variety, on a high number of varieties distributed on the national territory.

تهدف الدراسة لعزل وتشخيص البكتيريا اللبنية من 16 عينة من زيتون المائدة، تم جمع العينات من مناطق عدة بمقاطعة برج بوعريش شمال شرق الجزائر. تعداد مستعمرات الخمائر (UFC/ml) على ثلاث اوساط زرع. اعطى وسط الزرع Sabouraud اعلى النسب متبوعا بوسط Plant Count Agar ثم وسط الزرع Oxytetracyclin Glucose Agar. تعداد مستعمرات بكتيريا اللبن على ثلاث اوساط زرع خاصة، اظهرت الاعداد العالية لمستعمرات نوع *Leuconostoc sp* على وسط Elliker. سجلت اعلى النسب لأجناس *Lactobacillus sp* على وسط MRS للعينة N6، أما اعداد المكورات اللبنية *Lactococcus sp* فسجلت بنسب عالية للعينة N10 متبوعا بـ N9 على الوسط M17. تم تشخيص اجناس بكتيريا اللبن، عن طريق الفحص العيني، المجهرى و الاختبارات الفيزيولوجية، الكيميوحيوية ودراسة نمط التخمر وتم انتخاب عشر سلالات (10 اجناس) (*Lactobacillus sp.* 4, *Leuconostoc sp.* 2, *Lactococcus sp.* 4). اظهرت السلالات مقاومة للمضادات الحيوية بنسب متفاوتة. (*Lactococcus sp.* 4, *Leuconostoc sp.* 2). نتائج التضاد البكتيري في المختبر على وسط الزرع (*In vitro*): ضد سلالات حقيقيات النواة (*Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*) وبدائيات النواة (+)/G(-) مناطق تثبيط ذات قطر عالي متفاوتة، وموجهة خاصة ضد بكتيريا الموجبة للجرام، وسجلت النسب العالية بين (*Lc N6* و *Bacillus sp*) بـ 39mm و بين (*Lc N6* و *Micrococcus sp*) بـ 30mm. دراسة نمو وتكاثر البكتيريا اللبنية عن طريق قياس نسب الكثافة البصرية (امتصاص) ومتابعتها لفترات 24h, 48h, 72h: على اوساط الزرع السائلة MRS, M17, Elliker مضاف اليها نسب (0.5%, 1%) من مستخلصات البريببوتيك: الصمغ العربي، مستخلص FOS، مستخلص Psyllium، مستخلص الخروب، مستخلص فريضة القمح ومستخلص الخروب وفريضة القمح. اظهرت النتائج تحسن ملموس لمرحلة النمو الاسي والاقفي، مع تباين كبير بين السلالات. نتائج الدراسة مكنت من عزل وتشخيص بكتيريا لبنية وابرار خصائصها: كالبريببوتيك، مقاومة المضادات الحيوية وانتاج مواد البكتيريوسين المثبطة.

Annexe N:

Tests biochimiques classiques

1- Coloration de Gram

Une colonie était déposée sur la lame puis additionner une goutte de l'eau physiologique pour former un frottis qui va être fixé à la chaleur. Ensuite, était coloré par le violet de gentiane après une minute rincé rapidement avec l'eau distillée. Ajouté pendant une minute la solution de lugol après rincé.

Et puis vient l'étape de décoloration par alcool, rincé. finalement, coloré par le fuchsin après une minute rincé une autre fois, et observé sous le microscope à grossissement $\times 100$.

Les bactéries apparaissant en violet gram + et en rose sont à gram -.

2 – État frais:

Deux tubes, un contenant le bouillon d'M17 et l'autre bouillon de MRS inoculé et incubés à 37°C jusqu'à l'apparition d'un trouble. Ensuite, par une anse de platine, une suspension bactérienne met sur la lame et observé la forme et la mobilité sous le microscope à grossissement $\times 100$.

Teste biochimique:

1- Teste de catalase:

Les bactéries qui ont un métabolisme oxydatif, porte l'enzyme de catalase qui décompose l'eau oxygénée selon cette réaction : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Ce teste consiste à déposer une colonie de la bactérie étudiée sur la lame, sur laquelle ajouté des gouttes de l'eau oxygénée. la présence de cette enz manifesté par un des dégagements des bulles de gaze.

2-Teste d'oxydase

Suspension bactérienne de 10 gouttes épaissée en eau physiologie, ajouté le réactif ou des disques. coloration en rose apparue après une minute.

3-Test Urée indole

Suspension bactérienne étudiée introduite dans 0.5 ml de milieu urée indole incubés 24 -48 h. Le virage de la couleur verte le rouge rose indiqué uréase positif.

Ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs, si il ya l'apparition d'un anneau rouge donc indole positif.

4- Mannitol- mobilité

Mannitol indiqué par la réduction de D mannose.

La mobilité par la diffusion de gélose.

Ensemencement de la bactérie dans le milieu par piqure centrale, incubés à 31°C pendant 24 h .Le virage de la couleur vert le jaune indiqué la réduction de mannose, donc mannitol positif.

5- Test TSI: (gélose, glucose, lactose, saccharose et H₂S)

Sur un tube contenant une gélose incliné, nous avons ensemencé la pente pare strie.

Ensuite, le culant par piqure centrale, incubé à 31°C pendant 48 à 72 h.

La coloration de la pente en jaune, lactose positif.

La coloration de culant en jaune, glucose positif.

La coloration de zone intermédiaire en jaune, saccharose positif.

H₂S positif par le noircissent de la zone joignant la pente et le culant, présence des bulles dans le gélose, production de gaz.

6- Détermination du type fermentaire:

Un Tube contenant bouillon MRS additionné le glucose au lieu de lactose , ajouté la cloche de durham puis inoculé avec la souche étudiée , pour mettre en évidence la production de CO₂ et savoir le type fermentaire . Après incubation de 24 h à 30 °C ,la présence de gaze dans la cloche donné un métabolisme hétérofermentaire .

Pour les lactobacillus homofermentaire,doit utiliser le bouillon MRS en remplaçant le glucose par le gluconate pour séparer entre Lb homofermentaire stricte (par dégagements de CO₂)

Et entre les Lb hétérofermentaire facultatif (dégagements de CO₂ en présence de gluconate)

7-Croissance en présence de diverse concentration de NaCl:

La croissance des souches lactiques a été testé à différents concentration de NaCl (6 et 5 %)

8- Croissance à différents températures

Ce teste permet de distinguer entre la bactéries lactiques mésophile et thermophiles .

Les bouillons MRS, M17 et Elikor ont été préparé puis inoculé par la souches lactiques correspondent pendant 24h à 48h aux températures 15°C, 37°C et 45°C pour les lactobacilles et 4°C, 10°C et 45°C pour les Coques. Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux. La thermorésistance a aussi été testé au bain marie à 63,5°C pendant 30m

9- Tolérance au pH acide et alcalin

La croissance des souches a été testée à différents pH (4,8 et 9,6) pour les leuconostocs et à pH (4 Et 9,6) pour les lactobacilles.

La croissance se manifeste par un trouble en milieu liquide MRS

10- Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)

La recherche de l'argininedéhydrolase (ADH) est étudiée sur le milieu M16 BCP.

Les bactéries lactiques utilisent le lactose en acidifiant le milieu, les colonies donnant ainsi une Coloration jaunâtre.

D'autres bactéries lactiques sont capables d'utiliser l'arginine et réalcaliniser

Le milieu (cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'arginine) et par conséquent Change la couleur du milieu du jaune au violet qui est la couleur initiale