الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Réf :……

Université El Moudjahid Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée Thème

:

Effet de l'ajout d'extrait d'*Origanum Vulgar* sur la croissance des bactéries lactiques dans lait cru réfrigéré

Présenté par :

- **Bouzidi Oumnia Aysel**
- **Belkhiri Tassnim Inés**

Devant le jury :

Lalaoui Meriem	**M.C. A**	**Président**
Hadef Sawsen	**M.C. A**	**Examinatrice**
BOUCHAIR Khadidja	**M.C. B**	**Promotrice**

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciement

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Madame **BOUCHAIR Khadidja**, mon encadrante et promotrice, pour son accompagnement précieux, sa disponibilité, ses conseils avisés ainsi que son soutien constant tout au long de la réalisation de ce travail. Son encadrement rigoureux et bienveillant a été d'une importance capitale dans l'aboutissement de cette étude, que j'ai menée avec détermination et persévérance.*

*J'adresse également mes sincères remerciements à Madame **LALAOUI Meriem**, Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury ainsi que pour l'intérêt qu'elle a porté à ce mémoire.*

*Mes remerciements vont aussi à Madame **HADEF Sawsen**, examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour ses remarques pertinentes et enrichissantes qui ont contribué à sa valorisation.*

Je tiens enfin à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire de l'Université de Mila pour leur accueil chaleureux, leur soutien technique et les moyens mis à ma disposition durant la phase expérimentale de cette étude.

.

الاهداء

الحمد لله حبًّا، وشكرًا، وامتنانًا.

الحمد لله الذي ما اجتزنا دربًا، ولا تخطّينا جهدًا، إلا بفضله وتوفيقه.

وأخيرًا، الشكر موصول لنفسي على الصبر، والعزيمة، والإصرار. فلم تكن الرحلة قصيرة، ولا كانت لحظاتها تؤرث أو تشُترى، لقد دفعت ثمنها من عمري وشبابي، ومن سهري، وخوفي، ودموعي. أسأل الله تعالى أن ينفعني بما علمّني، وأن يعلمّني ما أجهل.

إلى **حبيبي أبي،** سندي الذي لم يملّ يومًا، إلى من كان لي مصدر الدعم والعطاء، إلى من تشققت يداه لكي تبقى يدي ناعمة تحمل القلم، أرجو أن يكون هذا الإنجاز أول غيثٍ في ردّ جميلك العظيم.

إلى **حبيبتي أمي،** زهرة العمر، وحلو السنين، منكِ بدأت، وبكِ أستمر، ولولاكِ لما كنت وجهتي الأولى دائمًا.

إلى ضلعي الثابت، وأمان أيامي، وخيرتها ، **إخوتي وأختي**.

إلى من دعمني، ومدّ يده في أوقات ضعفي....

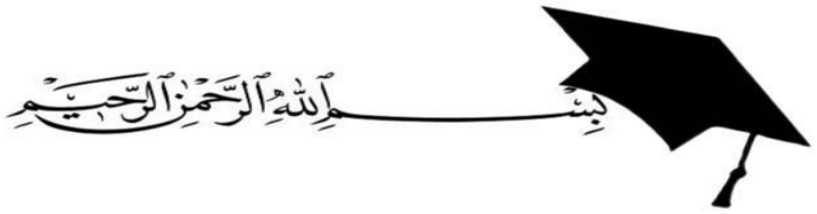
دمتم لي، ودام وجودكم حياةً كامة.

النهاية هنا...

ولكن الرحلة لم تنتهِ بعد ، فالبداية قادمة.

فالحمدُ للهِ على تمامِ النِّعم، واكتمالِ المسير، فما أحسنتُ به ظنًّا إلا أغرقني من فضله، وما أنعم عليَّ به إلا أنساني مشقَّة الطريق.

تسنيم ايناس



" فرحيين بما اتاهم الله من فضله"

وآخر دعواهم" الحمد لله رب العالميين"

لم تكن الرحلة قصيرة ولا الطريق محفوفا بالتسهيلات، لكنني تجاوزتها بعزم وصبر فالحمد لله الذي يسر البدايات وأتم النهايات.

أقف اليوم شاكرة لنفسي على صبر لم يخذلني وعلى قوة منحتني القدرة على الاستمرار وعلى كل خطوة حضنتها بإيمان ويقين حتى بلغت هذا المقام.

إلى **أمي وأبي** السند والنور الذي انار دربي كل حرف في هذه المذكرة يحمل أثر تعبكم وكل نجاح أصله أنتم شكرا لأنكم كنتم الأمان في أصعب الأيام حفظكم الله لي.

إلى الضلع الثابت **إخوتي** وصديقة الطفولة **"اختي"** ولكل من وقف بجانبي ودعمني ممتنة لوجودكم ومحبتكم ادامكم الله لي سندا.

أمنية أيسال

Résumé

Cette étude a permis de suivre l'évolution des bactéries lactiques dans du lait cru réfrigéré (4 °C) pendant 10 jours, en comparant un échantillon témoin à un échantillon additionné de 25 % d'extrait aqueux d'origan. Les résultats montrent que les bactéries lactiques se sont développées dans les deux échantillons au cours du stockage, mais leur croissance a été ralentie dans le lait traité à l'extrait d'origan, notamment durant les premiers jours de conservation. Le temps de génération a été plus long dans l'échantillon traité (3,5 jours) que dans le témoin (2,98 jours), traduisant un effet inhibiteur des composés bioactifs de l'origan. Toutefois, les deux échantillons ont atteint une charge bactérienne similaire en fin de stockage.

Ces résultats suggèrent que l'association de la réfrigération et de l'extrait aqueux d'origan peut contribuer à ralentir temporairement la croissance des bactéries lactiques et ainsi participer à une meilleure conservation de la qualité microbiologique du lait cru.

Mots-clés : lait cru, réfrigération, paramètres de croissance microbienne, bactéries lactiques lactobacilles, durée de conservation, extrait aqueux.

Abstract

This study aimed to monitor the evolution of lactic acid bacteria in raw milk stored under refrigeration at 4°C for 10 days by comparing a control sample with a sample supplemented with 25% aqueous oregano extract. The results showed that lactic acid bacteria grew in both samples throughout the storage period; however, their growth rate was slower in the oregano-treated milk, particularly during the first days of storage. The generation time was longer in the treated sample (3.5 days) than in the control sample (2.98 days), indicating an inhibitory effect of the bioactive compounds present in oregano. Nevertheless, both samples reached a similar bacterial population by the end of the storage period. These findings suggest that combining refrigeration with the addition of aqueous oregano extract may temporarily slow the growth of lactic acid bacteria, thereby contributing to the preservation of the microbiological quality of raw milk during storage.

Keywords: raw cow's milk, refrigeration, microbial growth parameters, lactobacillus populations, shelf life, aqueous extract.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى متابعة تطور البكتيريا اللبنية في الحليب الخام المحفوظ بالتبريد عند 4°م لمدة 10 أيام، من خلال مقارنة عينة شاهدة بعينة مضاف إليها مستخلص مائي للأوريغانو بتركيز 25%. أظهرت النتائج أن البكتيريا اللبنية نمت في كلتا العينتين خلال فترة التخزين، إلا أن معدل نموها كان أبطأ في الحليب المعالج بمستخلص الأوريغانو، خاصة خلال الأيام الأولى من الحفظ. كما كان زمن التضاعف أطول في العينة المعالجة) 5.3 أيام(مقارنة بالعينة الشاهدة) 98.2 يوم(، مما يدل على وجود تأثير مثبط للمركبات الحيوية الفعالة الموجودة في الأوريغانو. ومع ذلك، وصلت كلتا العينتين إلى حمل بكتيري متقارب في نهاية فترة التخزين. وتشير هذه النتائج إلى أن الجمع بين التبريد وإضافة المستخلص المائي للأوريغانو يمكن أن يساهم في إبطاء نمو البكتيريا اللبنية مؤقتاً، وبالتالي المساعدة في الحفاظ على الجودة الميكروبيولوجية للحليب الخام أثناء التخزين.

الكلمات المفتاحية: الحليب الخام البقري، التبريد، معلمات النمو الميكروبي، تجمعات البكتيريا اللبنية، مدة الصلاحية ،المستخلص المائي.

Table des Matières

Liste des Abréviations……..I

Liste des Tableaux ……..... II

Liste des Figures ……..…….III

Introduction 1

Partie I : Recherche Bibliographique

Chapitre 1. L'Origanum

1. Définition..... 6

2. Morphologie 6

3. Classification botanique ……..... 7 4.

Composition chimique.....8

5. Répartition géographique 8

6.Activité antibactérienne.....9

7. Mécanisme d'activité antimicrobienne des substances naturelles à l'échelle de la cellule bactérienne. 11

8. Usages de l'Origanum sp..... 11

8.1. Usages traditionnels..... 12

8.2. Usages culinaires et alimentaires..... 12

8.3. Usages cosmétiques..... 12

Chapitre 2. Bactéries lactiques

1. Définition des bactéries lactiques..... 14

1.2. Caractères morphologiques..... 14

1.3. Caractérisation biochimique et physiologique..... 15

1.3.1. Test de catalase 15

1.4. Classification des bactéries lactiques.....15

1.4.1. Le genre Lactobacillus..... 16

1.4.2. Le genre Lactococcus 17

1.4.3. Le genre Streptococcus.....19

1.4.4. Le genre Enterococcus.....20

1.5. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....22

1.6. L'effet du froid sur la croissance des bactéries lactiques.....23

1.7. Le rôle des bactéries lactiques.....26

1.8. Les variations du pH de lait.....27

Chapitre 3. Dynamique et paramètres de croissance microbienne

1. Dynamique de croissance des populations microbiennes.....29

2. Description de la cinétique de croissance microbienne 29

3. Les phases de croissances.....30

4. Paramètres de croissance 31

5. Exemples d'études de la dynamique de croissance bactérienne à froid.....35

Partie II : Recherche Expérimentale

1. Matériel et Méthodes.....38

1.1. Préparation de matériel végétal 38

1.1.1. Présentation de la zone de prélèvement..... 38

1.1.2. Séchage..... 38

1.1.3. Broyage..... 39

1.1.4. Préparation de l'extrait aqueux de l'Origanum..... 39

1.1.5. Préparation de la solution mère de l'extrait aqueux 42

1.2. Échantillonnage du lait 43

2. Analyses microbiologiques..... 44

2.1. Culture bactérienne 44

2.2. Préparation de l'eau physiologique..... 45

3. Suivie de la cinétique de croissance microbienne 45

3.1. Préparation des dilution décimales 46

3.2. Ensemencement et incubation 46

3.3. Rechereche des bacteries lactique 48

3.4. Dénombrement 48

3.5. Obesrvation macroscopique et microscopique 48

4. Préparation du frottis 49

4.1. Coloration de gram 49

4.2. Manipulation du logiciel ORIGIN.....50

2. Résultats et Discussions.....55

2.1. Résultats 55

2.1.1. Culture bactérienne..... 55

2.1.2. Evolution du pH 56

2.1.3. Contrôle de la présence microbienne dans l'extrait aqueux 58

2.1.4. Dynamique de la croissance microbienne 58

2.1.5. Traitement biomathematique.....….....60

2.2. Niveau de croissance intiale.....….....63

2.3. Niveau de croissance maximale 63

2.4. La phase latence 64

2.5. Régression linéaire 66

Conclusion 68

Références 72

Annexe

Liste d'abréviations

BL : Bactéries lactiques

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice

CMB : Concentration Minimal Bactéricide

G : Temps de génération (temps pour un doublement de population) λ

(lambda) : Phase de latence (lag phase)

Log UFC·mL^{-1} : Logarithme des Unités Formant Colonie par millilitre

Ml de MRS : Millilitres de milieu MRS reconstitué à partir de poudre

MRS : Man Rogosa et Sharpe N : Le nombre de

cellules pH : Potentiel hydrogène μmax : Vitesse

maximale de croissance (mu max)

Xmax : Concentration bactérienne maximale atteinte.

Liste des fugures :

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1.	(A) Fleurs et feuilles *d'Origanum vulgare* L. (B) Fleurs d'O. Vulgare (Fleurentin2007)	6
Figure2.	Dessin d'O. *vulgare ssp* vulgare d'après Ietswaart (1980)	7
Figure3.	Tige et feuilles de l'espèce *O. vulgare* (*Origanum vulgare* — wild marjoram, s. d.)	7
Figure4	Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).	8
Figure 5	*Lactobacillus* sous microscope (Kim et *al.,* 2020)	17
Figure 6	*Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008)	18
Figure 7	Observation microscopique de bactéries du genre *Streptococcus* (Cocci à Gram positif disposés en chaînes), issue d'un cours de bactériologie générale.	19
Figure 8	Aspect microscopique des *Enterococcus (*Holden.,2002)	21
Figure 9	Identification et analyse du protéome de *L. plantarum* K25. (A) Les protéines identifiées étaient basées sur leur masse protéique. (B) Nombre de peptides uniques qui correspondent à des protéines. (C) Pourcentages de longueur de peptide.	25
Figure 10	Courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases.	30

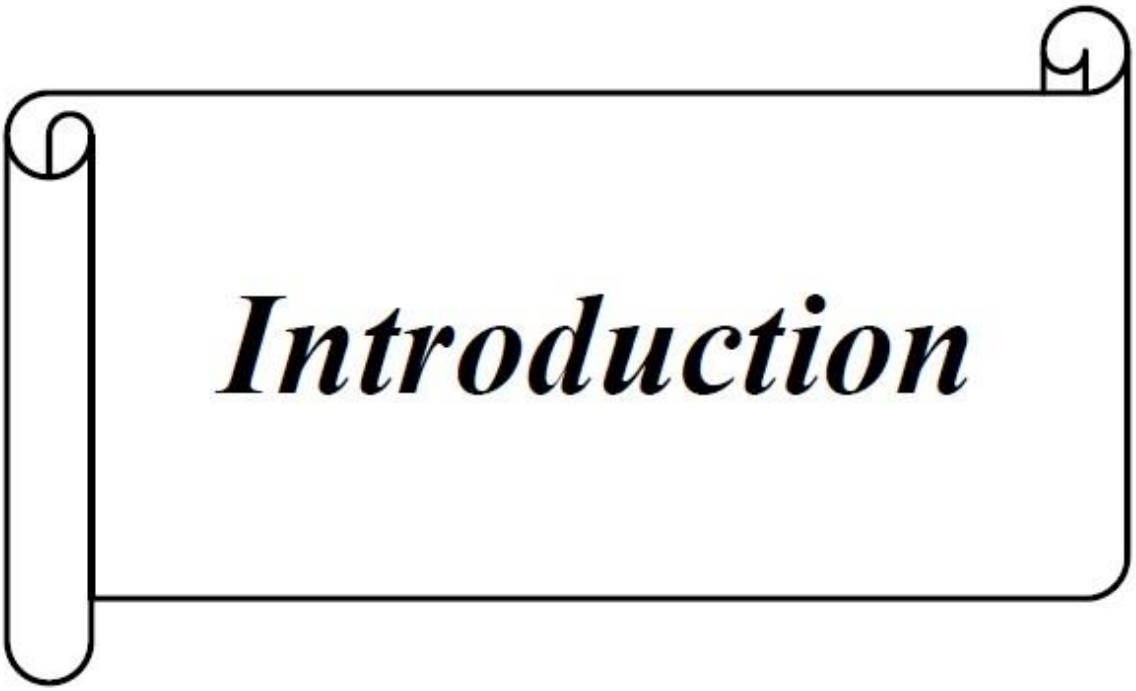
Figure 11	Dynamique des populations bactériennes psychrotrophes (□) et mésophiles (▲) dans le lait cru prélevé entre avril 2004 et janvier 2005. Chaque date d'échantillonnage représente une moyenne des échantillons provenant de quatre fermes (moyenne + l'erreur-type). (Zwirzitz et *al*., 2007).	33

Figure 12	Courbe analyse transcriptomique des séries temporelles de réponses aux chocs thermiques et froids chez les bactéries lactiques psychrotrophes. (Duru et *al.,* 2021).	34
Figure13	*Origanum vulgare* récolté dans la région de Constantine a Djebel El Ouahch.	38
Figure14	Les feuilles de l'*Origanum* V.	39
Figure15	La poudre de l'*Origanum* V.	39
Figure 16	Protocole de préparation de l'extrait aqueux de l'*Origanum*	41
Figure17	La solution mère de l'extrait aqueux de l'*Origanum* V. préparée le 12/04/2026	42
Figure18	La région d'Oued Khlouf	43
Figure 19	Les vaches laitières prélevées dans l'étude.	44
Figure20	Préparation du milieu de culture.	45
Figure21	La préparation de l'eau physiologique.	45
Figure 22	Suivi de la cinétique de croissance microbienne durant la réfrigération du lait. .	46
Figure23	Ensemencement et incubation	47
Figure 24	Etapes opératoires de l'évaluation de bactérie lactique	47

Figure25	Dénombrement des bactéries lactiques	48
Figure26	Suivie du pH pendant 10	50
Figure27	Logiciel Origin 6	50
Figure28	Ajout des colonnes	51
Figure29	Insertion des données expérimentales	51
Figure30	Renommage des colonnes	52
Figure 31	Tracé des courbes	52
Figure 32	Personnalisation des axes	53
Figure 33	Modélisation de la courbe de croissance	56
Figure 34	Les variations du pH durant 10 jours de réfrigération du lait.	57
Figure 35	Contrôle microbien de l'EA.	60
Figure 36	Courbes de croissance du nombre des bactéries lactique obtenues par le logiciel origine 06 dans le lait réfrigéré pendant 10 jours à 4 °C (dans le lait sans extrait et le lait additionne d'extrait), provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie. Effet de l'ajout de l'extrait aqueux sur les paramètres de croissance. Microbienne : la croissance maximale (X max), la vitesse maximale de croissance (μ max). Et le temps de générations (G).	61
Figure 37	Régression linéaire de la corrélation entre les concentrations de l'EA et la croissance microbienne maximal (X max).	65

Liste des Tableaux :

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Classification botanique de *l'Origanum* V. (Figueredo, 2007).	7
Tableau 2	Exemples d'études de La concentration minimale inhibitrice (mg/ml) de	10
Tableau 3	Classification de genre *lactobacillus* (Zheng et *al*., 2020).	17
Tableau 4	Classification de genre *Lactococcus*	18
Tableau 5	Classification de genre *Streptococcus (Skerman et al., 1980 ; Oren & Garrity.,2021 ; LPSN (2025) - page du genre Streptococcus.*	20
Tableau 6	Classification de genre *Enterococcus (*Oren & Garrity.,2021 ; Ludwig et *al*. ,2010 **;** Schleifer & Kilpper-Bälz.,1984**).**	21
Tableau 7	Concentrations, pourcentages et volumes d'EA de l'*Origanum* V. ajoutés au lait	43
Tableau 8	Description macroscopique et microscopique des bactéries lactiques	55
Tableau 9	Evolution de la croissance microbienne en log UFC. mL-1 des bactéries lactiques du lait à 4 °C durant 10 jours	61
Tableau 10	Les valeurs des paramètres de croissance microbiennes des bactéries lactiques dans le lait	64


Introduction

Introduction générale

Le lait cru constitue un aliment de grande valeur nutritionnelle en raison de sa richesse en protéines, lipides, glucides, vitamines et minéraux essentiels. Cette composition complexe favorise non seulement son intérêt nutritionnel, mais également le développement de nombreuses populations microbiennes pouvant influencer sa qualité technologique et sanitaire du lait (Quigley et *al*., 2013 ; Claeys et *al*., 2014).

Dès la traite, le lait est exposé à différentes sources de contamination microbiologique provenant de la surface des trayons, de l'environnement d'élevage, du matériel de traite, des manipulations humaines et des conditions de stockage. La flore microbienne du lait cru est très diversifiée et comprend des bactéries mésophiles, psychrotrophes, sporulées, ainsi que des bactéries lactiques naturellement présentes dans l'écosystème laitier (Martin et *al.,* 2011 ; Porcellato *et al.,* 2018 (Samaržija et *al*., 2012)

Par ailleurs Les bactéries lactiques occupent une place particulière dans la microbiologie du lait cru. Elles regroupent plusieurs genres tels que *Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Weissella, ces* bactéries capables de fermenter le lactose en acide lactique. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu (Leroy et De Vuyst, 2004 ; O'Callaghan et van Sinderen, 2016).

L'augmentation de la demande du consommateur pour des produits sains sans conservateurs encourage l'industrie alimentaire à valoriser les substances bioactives d'origine végétale (Grigoraş 2012). En effet, les composés phénoliques issus des végétaux et les huiles essentielles connaissent de nos jours un gain d'intérêt pour leur éventuelle utilisation comme alternatives aux substances synthétiques (Tamgno et Ngamo 2014).

De nombreux composés isolés à partir de plantes ont montré une activité antimicrobienne contre certains microorganismes les plus courants qui affectent la qualité des aliments et la durée de vie (Tajkarimi *et al.,* 2010).

Parmi les plantes qui sont connues pour leur richesse en principes actifs, l'Origan de la famille des Lamiaceaes (Chishti *et al.,* 2013), est une épice largement utilisée dans l'industrie alimentaire.

Dans ce contexte, les objectifs principaux du présent travail sont :

- Prolongation de la durée de vie (shelf-life) du lait réfrigérée par allongement de la phase de latence en le supplémentant par une concentration de l'Extrait Aqueux (EA) d'*Origanum* V.

De ce fait les actions suivantes ont été menées dans cette étude :

- D'abords, réunir le maximum d'informations bibliographiques sur le sujet selon les données citées dans l'introduction.

- Préparation d'EA de *l'Origanum L.*

- Addition de différentes concentrations d'EA au lait.

- Conservation du lait (supplémenté d'EA et témoin) à 4°C durant 10 jours avec des prélèvements réguliers.

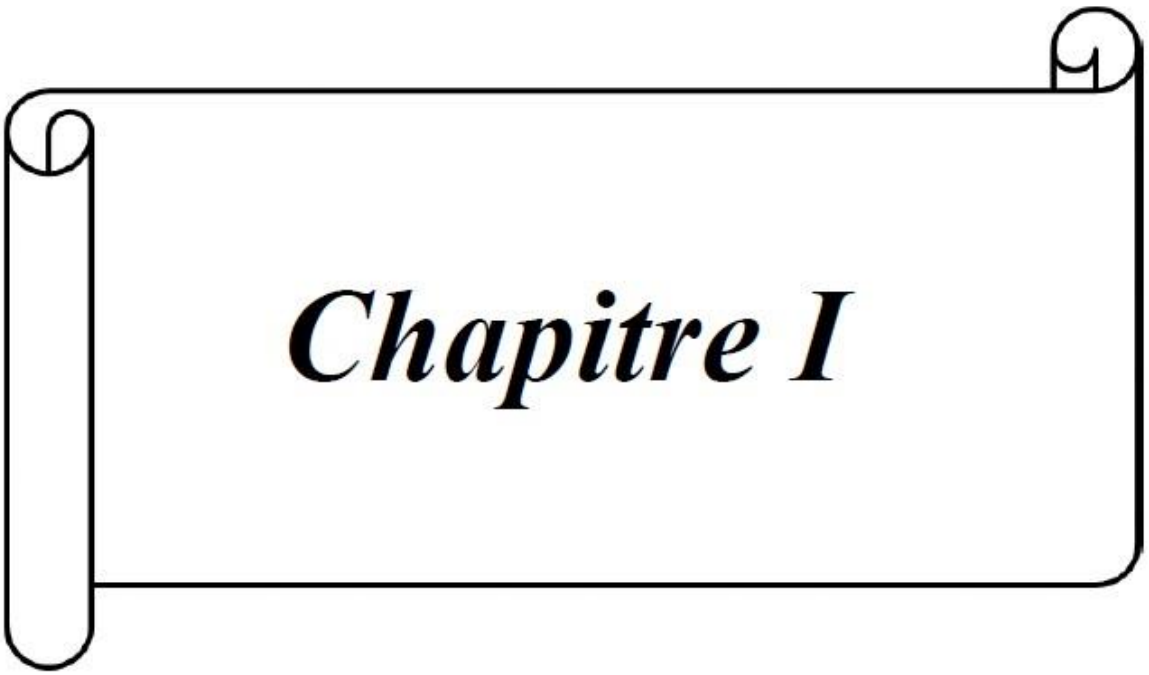
- Suivie de la cinétique de croissance microbienne, spécialement les bactéries lactiques.

- Calcul des paramètres cinétiques de croissance.

- Isolement et caractérisation de quelques isolats bactériens.

- Discussion des résultats et enfin conclusion et perspectives

PARTIE 01 : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE


Chapitre I

Chapitre 1. L'Origanum

1. Définition

Le mot origanum dérive de deux mots grecs : « oros », qui signifie montagne, et « ganos », qui signifie éclat, Il signifie donc « ornement de montagne » (Chishti et *al*.,2013).

L'origan commun est une plante herbacée vivace dicotylédone elle appartient à la famille des Lamiacées, mesurant de 30 à 80 cm de hauteur, aux feuilles et fleurs parfumée. Epicés et chaleureux (Dubois et *al*., 2006), Il pousse à des altitudes inférieures à 4 000 mètres, principalement sur des substrats calcaires, et fleurit de mai à octobre. C'est une plante semicryptobryonique (Qui sont des plantes vivaces dont les bourgeons) (Caillaud, 2013), *Origanum vulgare* V est l'espèce la plus répandue de ce genre (Goliaris et *al*., 2002) communément appelé « zaâter » (Spada et Perrinorr, 1996).



(A) (B)

Figure 1. (A) Fleurs et feuilles d'Origanum vulgare L. (B) Fleurs d'O. Vulgare (Fleurentin.,2007)

2. Morphalogie

L'origan est une plante à tiges dressées, généralement velues, parfois glabres. Les feuilles poussent sur ces tiges sont ovales et les fleurs sont pourpres, à bords entiers ou dentelés (jusqu'à 30 paires par tige), généralement elliptiques, à apex arrondi et obtus elles sont velues ou glabres et portent des glandes sessiles peu visibles (jusqu'à 800 par centimètre carré).

(Sharifi-Rad, J. et *al*.,2021).

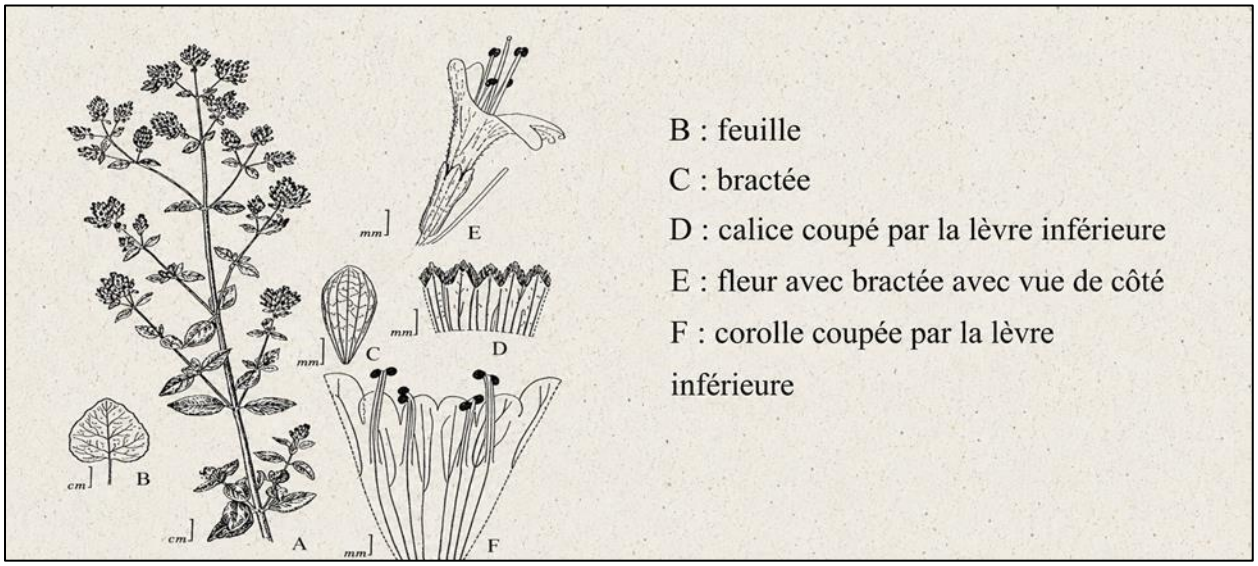


Figure2. Dessin d'O. *vulgare ssp* vulgare d'après Ietswaart (1980)



Figure3.Tige et feuilles de l'espèce *O. vulgare* (*Origanum vulgare* — wild marjoram, s. d.)

3. Classification botanique

La classification de *l'Origanum* V. est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1. Classification botanique de *l'Origanum* V. (Figueredo, 2007).

Rang taxonomique	**Nomenclature**
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétracycliques
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoides
Genre	*Origanum*
Espèce	*Origanum vulgare*

4. Composition chimique

Selon Bekhechi et *al*. (2008), l'huile essentielle d'Origanum contient une concentration élevée en thymol, oscillant entre 41 et 49,5%. Effectivement, l'examen de *l'origanum. G* qui a un rendement de 2,7% v/m a mis en évidence des niveaux respectivement élevés de caracole, γ-terpinène, p-cymène et thymol (45-13-11 et 6,6%). L'extrait acétonique *d'origanum. G*, à la suite de l'analyse du contenu total en flavonoïdes, a révélé la présence de flavanols et de flavones comme la quercétine, l'apigénine et/ou la lutéoline. Pour les extraits acétoniques, les valeurs des polyphénols totaux, exprimées en mg d'équivalent d'acide caféique par 100 ml,

étaient de 100,6 et 14 mg/100 ml. Quant aux autres extraits, elles s'élevaient à 326,3 et 76,5 mg/100 ml pour les extraits aqueux (Belhattab ,2018), et des constituants divers comme fibres, manganèse, vitamine E, fer, calcium, acides gras oméga et tryptophane (Teixeira et *al*. ,2013).

5. Répartition géographique

Ietswaart a particulièrement étudié le genre Origanum en 1980. Il identifie trois groupes, dix sections, trente-huit espèces, six sous-espèces, trois variétés et seize hybrides. L'origan pousse dans des îles Canaries et des Açores jusqu'en Europe du Nord et vers l'est de l'Asie. On peut également le trouver en culture à Cuba ou sur l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne constitue son habitat le plus prépondérant (Mahfouf ,2018).

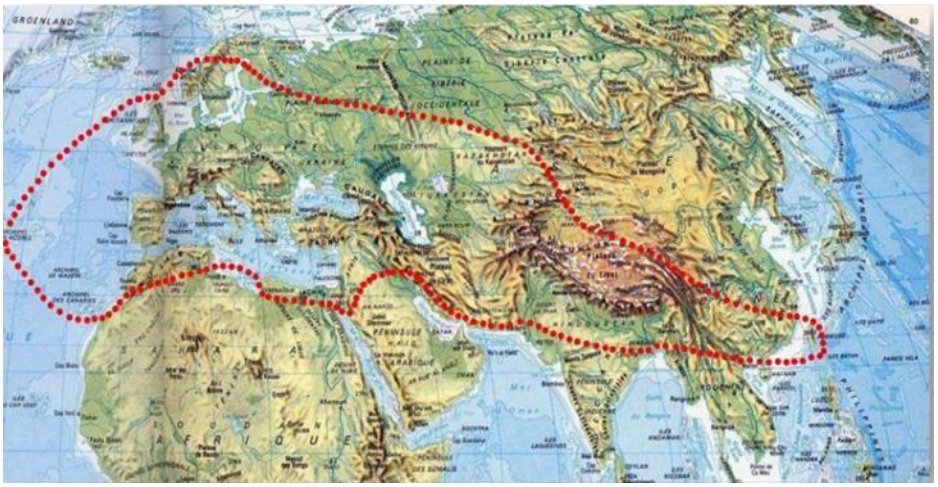


Figure4. Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

En Algérie, l'origan englobe diverses espèces botaniques que l'on retrouve le long du littoral et même dans les régions intérieures, y compris les zones arides (Mebarki, 2010), l'origan est représenté par beaucoup d'espèces, mais leur identification est compliquée à cause de leurs variations et de leur tendance à s'hybrider facilement.

6. Activité antimicrobienne de l'origanum

Plusieurs travaux scientifiques ont mis en évidence l'activité antibactérienne des extraits d'*Origanum vulgare* contre différents microorganismes pathogènes. Antoniadou, M. et al. (2024). Cette activité est particulièrement observée chez certaines bactéries à Gram

positif, telles que *Lactobacillus* acidophilus et *Streptococcus* mutants. Dans une étude réalisée par

Abdul Sattar et al. (2012), l'extrait aqueux *d'Origanum vulgare* a montré un effet inhibiteur sur les microorganismes testés (*Lactobacillus acidophiles, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutants, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae et Pseudomonas Aeruginosa*). Avec l'apparition de zones d'inhibition à partir d'une concentration d'environ 200 mg/ml. Cette concentration peut être considérée comme une CMI approximative dans les conditions expérimentales de l'étude. L'activité antimicrobienne de cette plante est généralement attribuée à la présence de divers métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes et d'autres substances bioactives connues pour leurs propriétés antimicrobiennes.
Les résultats rapportés dans cette étude sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2. Exemples d'études de La concentration minimale inhibitrice (mg/ml) de L'extrait aqueux de l'Origan

Espèces	**Type d'extrait**	**CMI (mg/ml)**	**CMI (mg/ml)**
/	/	R1	R2
Lactobacillus acidophiles	Extrait aqueux	200	/
Enterococcus faecalis	Extrait aqueux	5	/
Streptococcus mutants	Extrait aqueux	200	/
Escherichia coli	Extrait aqueux	5	200
Klebsiella pneumoniae	Extrait aqueux	2.5	200

Pseudomonas Aeruginosa	Extrait aqueux	5	200
References	/	Abdul Sattar et *al*. 2012 Licina et *al.* (2013)	Mohanakrishnan Kandasamy et *al*. (2017).

7. Mécanisme d'activité antimicrobienne des substances naturelles a l'échelles de la cellule bactérienne

Les substances naturelles, en particulier les huiles essentielles issues de plantes médicinales telles que *Organum vulgaris,* présentent une activité antimicrobienne remarquable reposant sur plusieurs mécanismes d'action à l'échelle cellulaire bactérienne. Les principaux composés bioactifs, notamment le thymol et le carvacrol, agissent en perturbant la structure et la fonction de la membrane cytoplasmique, entraînant une augmentation de sa perméabilité, une fuite des constituants intracellulaires et, finalement, la mort cellulaire (Burt, 2004 ; Bouhdid et *al.,* 2009). Par ailleurs, ces composés peuvent inhiber des enzymes essentielles au métabolisme bactérien et interférer avec la production d'énergie en provoquant une déplétion de l'ATP. Ils sont également capables d'inhiber les pompes d'efflux, augmentant ainsi l'accumulation intracellulaire des agents antimicrobiens, ainsi que de perturber la formation de biofilms, structures protectrices impliquées dans la résistance bactérienne (Nazzaro et *al*., 2013). De plus, certaines études ont montré que ces substances peuvent interagir avec le matériel génétique bactérien, inhibant ainsi la réplication et la transcription (Hyldgaard et *al.,* 2012). L'ensemble de ces mécanismes confère aux huiles essentielles d'origan une efficacité notable contre diverses bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ce qui souligne leur potentiel en tant qu'alternative ou complément aux antibiotiques conventionnels (Burt, 2004 ; Nazzaro et *al*., 2013).

8. Usage de *l'origanum*

8.1. Usages traditionnels

Depuis des siècles, *Origanum vulgare* est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections, telles que les troubles respiratoires, les douleurs abdominales, les menstruations douloureuses, la polyarthrite rhumatoïde, les troubles nutritionnels ainsi que les affections urinaires, où il agit comme diurétique et antiurolithique. Les parties aériennes de la plante sont les plus couramment utilisées. Des études ethno pharmacologiques ont montré que cette plante est largement employée comme tonique, expectorant, carminatif, stimulant et agent antibactérien (Soltani et *al.,* 2021 ; Lombrea et *al.,* 2020 ; Al-Snafi, 2024). Les formes de consommation varient selon les indications thérapeutiques, incluant notamment les infusions, les décoctions et les teintures, utilisées principalement dans le traitement des affections respiratoires, digestives et du rhume, ainsi que pour améliorer l'état général de l'organisme. Les préparations sous forme de décoction ou d'infusion sont également reconnues pour leurs propriétés expectorantes, antiseptiques, digestives et antispasmodiques. De plus, certaines pratiques traditionnelles rapportent l'inhalation de fumée d'origan pour soulager les douleurs dentaires (Pieroni et *al*., 2005)

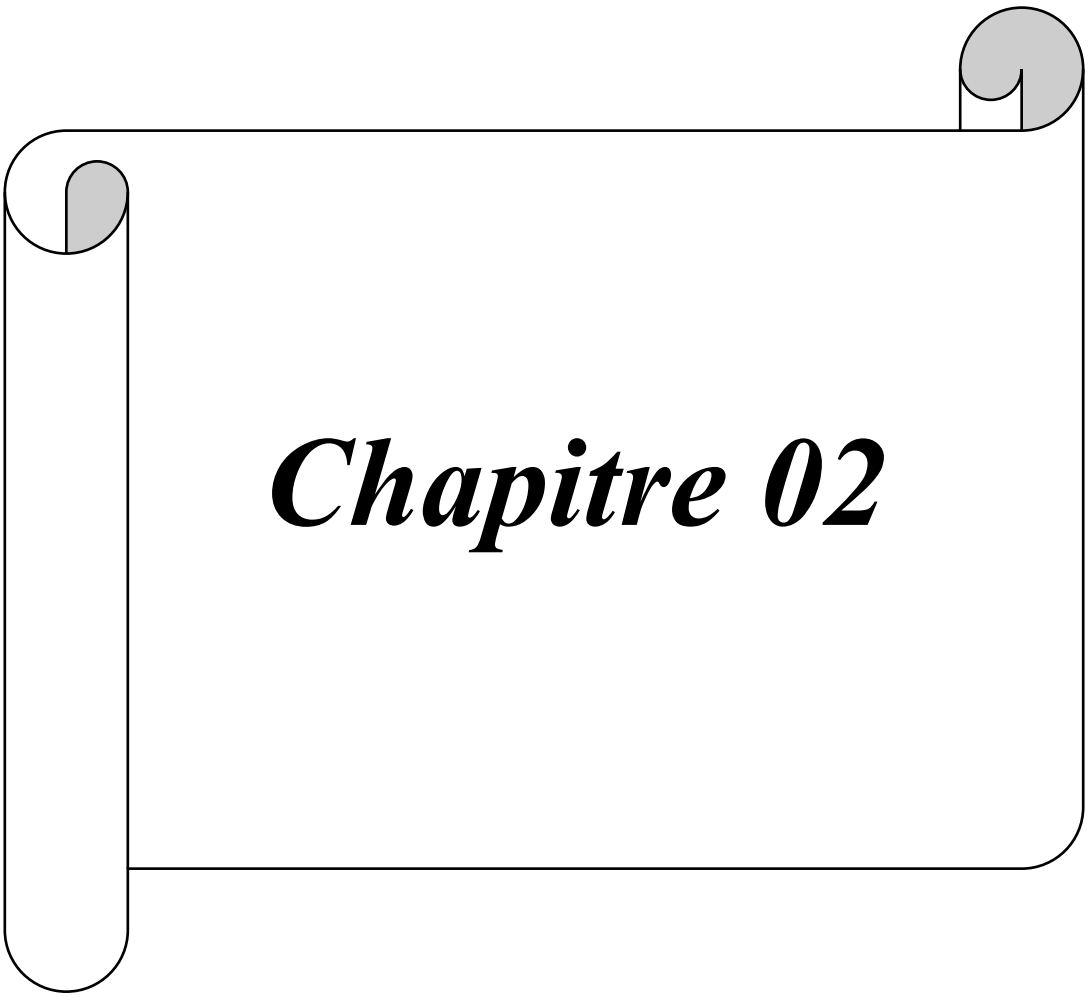
8.2. Usages culinaires et alimentaires

L'origanum vulgare était employé pour assaisonner le poisson, la viande, les légumes et le vin. Plusieurs sous-espèces, notamment O. *vulgare subsp*. *Gracile, subsp. Glandulosum* et *subsp. Hirtum*, sont particulièrement utilisées en cuisine. La plante est reconnue pour sa richesse en huiles essentielles, ce qui lui confère son arôme caractéristique et son rôle d'aromate alimentaire (Pieroni et *al*., 2005)

8.3. Usages cosmétique

En cosmétique, *Origanum vulgare* est principalement utilisé sous forme d'extraits ou d'huile essentielle pour leurs propriétés bénéfiques sur la peau et les cheveux. Grâce à sa richesse en composés bioactifs comme le carvacrol et le thymol, cette plante présente des activités antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires qui en font un ingrédient précieux

dans les formulations de soins cutanés (Bakkali et *al*., 2008 ; Nostro & Papalia, 2012). Des études récentes ont démontré que les extraits d'origan possèdent d'excellentes propriétés antioxydantes et photoprotectrices, avec un facteur de protection solaire (SPF) mesuré à 47,29, suggérant leur potentiel comme agent naturel dans les crèmes solaires et les produits anti-âge (Al-Oqail et *al.,* 2019 ; Kaurinovic et *al*., 2011). En soin capillaire, l'origan stimule la circulation sanguine du cuir chevelu, traite les pellicules et favorise la repousse des cheveux, comme l'a montré une étude sur modèle animal où l'extrait d'Origanum vulgare a significativement stimulé la croissance des cheveux comparé au minoxidil (Oh, Park, & Kim, 2014). On retrouve cet ingrédient dans diverses préparations cosmétiques : crèmes, lotions, gels, shampoings, aprèsshampoings, produits d'hygiène intime et parfums, où il agit comme agent rafraîchissant, aromatique et conditionneur de peau (García-Salas et *al*., 2010 ; Sienkiewicz et *al*., 2013).



Chapitre 02

Chapitre 2. Les Bactéries lactiques

1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) constituent un groupe des bactéries à Gram positif, non sporulantes, généralement catalase négatives, de morphologie variable (coques ou bacilles), caractérisées par une forte tolérance aux conditions acides et une capacité d'adaptation à divers environnements nutritifs (Wang et *al*., 2021 ; Lahiri et *al.,* 2022). Elles sont considérées comme des micro-organismes essentiels dans les processus de fermentation alimentaire, contribuant à l'amélioration des propriétés organoleptiques des aliments, notamment le goût, la texture et l'arôme (Lahiri et *al.,* 2022).

Les BL se distinguent principalement par leur aptitude à fermenter les glucides, en particulier le glucose, avec production majoritaire d'acide lactique comme produit final du métabolisme (Wang et *al*., 2021). En outre, elles synthétisent divers métabolites antimicrobiens, tels que les bactériocines, les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène, leur conférant un rôle important dans l'inhibition des micro-organismes pathogènes et d'altération (Lahiri et *al.,* 2022).

Sur le plan phylogénétique, les bactéries lactiques appartiennent au groupe des bactéries à Gram positif à faible teneur en G+C, regroupées principalement au sein du phylum des Firmicutes, incluant plusieurs genres tels que *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc*, *Pediococcus et Streptococcus* (Wang et *al*., 2021)

1.2. Caractères morphologiques

Les bactéries lactiques (BL) sont des micro-organismes à Gram positif, caractérisés par une paroi cellulaire épaisse riche en peptidoglycane, responsable de leur coloration violette après la coloration de Gram. Elles sont généralement non sporulantes, non mobiles et dépourvues de catalase. Sur le plan morphologique, elles présentent une grande diversité de formes, apparaissant soit sous forme de Cocci (sphériques), soit sous forme de bacilles (bâtonnets), selon les genres et les espèces (Wang et al., 2021 ; Lahiri et al., 2022 ; Psomas et al., 2023). Ces bactéries peuvent être observées isolées ou organisées en paires, en chaînes ou en amas, traduisant leur diversité structurale. Leur taille est généralement comprise entre 0,5 et 1,5 µm. L'ensemble de ces caractéristiques morphologiques constitue un critère essentiel

pour leur identification et leur classification (Wang et *al*., 2021 ; Lahiri et *al.,* 2022 ; Psomas et *al*., 2023).

1.3. Caractérisation biochimique et physiologique

1.3.1. Test de catalase

Les caractéristiques biochimiques des isolats ont été évaluées par le test de la catalase. Une colonie bactérienne âgée de 48 h a été émulsionnée dans une goutte de peroxyde d'hydrogène déposée sur une lame de verre propre. Ce test a été réalisé afin de mettre en évidence la présence de l'enzyme catalase, capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La présence de bulles de gaz indique une réaction catalase positive, tandis que leur absence indique une réaction catalase négative, caractéristique des bactéries lactiques

(Khedid et *al*., 2009). Cette réaction indique la présence de l'enzyme catalase, dont l'activité peut être représentée par l'équation suivante :

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2\,H_2O$$

1.4. Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) sont classées dans le phylum des Firmicutes, la classe des *Bacilli* et l'ordre des Lactobacilles. Cet ordre regroupe plusieurs familles, notamment Streptococcaceae, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae, Carnobacteriaceae* et *Aerococcaceae.* La classification des BL repose sur des critères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Les principaux genres de bactéries lactiques comprennent *Lactobacillus, Lactococcus*,

Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Enterococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Carnobacterium et Weissella. Parmi eux, le genre *Lactobacillus* représente le groupe le plus diversifié, regroupant un grand nombre d'espèces largement distribuées dans divers environnements, notamment les produits alimentaires et le tractus gastro-intestinal.

Cependant, cette classification a été profondément révisée au cours des dernières décennies à la suite des avancées en biologie moléculaire, en particulier le séquençage de l'ARNr 16S et les analyses génomiques. Ces approches ont permis de mieux définir les relations phylogénétiques entre les espèces et ont conduit à une réorganisation majeure de certains taxons, notamment au sein du genre *Lactobacillus*, désormais réparti en plusieurs nouveaux genres afin de refléter plus fidèlement leur diversité évolutive (Zheng et *al*., 2020 ; Endo, 2020 ; Hill et *al.,* 2022 ; Suzuki & Fujita, 2022).

1.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* comprend des bactéries à Gram positif, non sporulées, qui apparaissent sous forme de bacilles longs ou courts, parfois coco bacillaires, organisées de manière isolée, en paires ou en chaînes. Sur un substrat solide, les colonies sont habituellement petites, lisses, brillantes, dépigmentées et souvent opaques. Ces bactéries se distinguent par l'absence d'activité catalase et oxydase, un critère essentiel pour leur identification (Holzapfel & Wood, 2014 ; Papadimitriou et *al.,* 2016). Le genre *Lactobacillus* montre une grande diversité phylogénétique et écologique, même si sa classification a été récemment modifiée, entraînant sa division en plusieurs nouveaux genres à cause de son hétérogénéité (Zheng et *al.,* 2020). Les lactobacilles se retrouvent largement dans des milieux riches en glucides, tels que les plantes, les produits laitiers, le système gastro-intestinal des animaux et les aliments fermentés (Marco et *al*., 2017). Certaines espèces affichent une activité protéolytique significative, jouant un rôle dans la décomposition des protéines et dans l'évolution des caractéristiques organoleptiques des aliments fermentés (Papadimitriou et *al.,* 2016). De plus, ces bactéries ont la capacité de synthétiser différents composés antimicrobiens tels que des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines, leur conférant un rôle clé dans la bio conservation des aliments et dans des applications en tant que cultures de départ dans les produits fermentés
(Chen et *al*., 2019 ; Ouwehand et *al*., 2016)

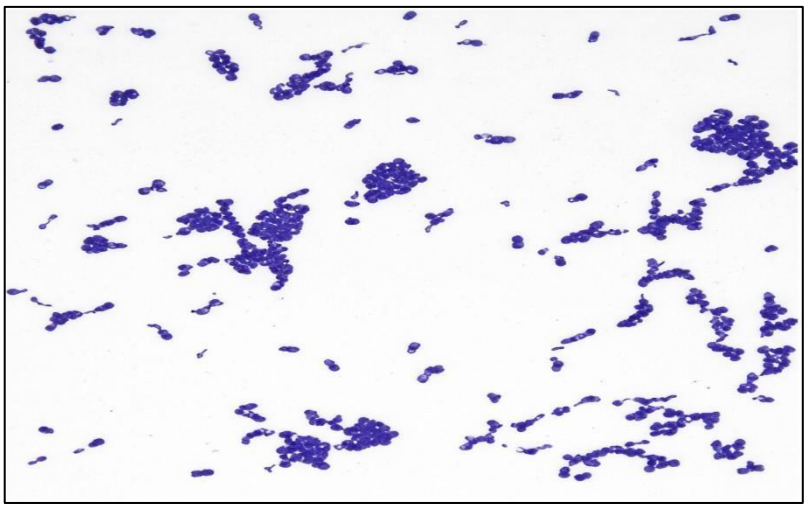


Figure 5. *Lactobacillus* sous microscope (Kim et *al.,* 2020)

1.4.1.1. Taxonomie

Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum bacillota (anciennement firmicutes), classe des bacilles, ordre des *Lactobacillales*, famille des *Lactobacillaceae*.

Tableau 3. Classification de genre *lactobacillus* (Zheng et *al*., 2020).

Domaine	Bacteria
Phylum	Bacillota *(anciennement Firmicutes)*
Classe	Bacilli
Order	Lactobacillales
Famille	Lactobacillaceae
Genre	Lactobacillus

1.4.2. Le genre *Lactococcus*

Lactococcus est un genre de bactérie lactique à faible teneur en G+C (environ 35-38 mol%), de forme ovoïde ou sphérique, qui se regroupe en paires ou en chaînettes de longueur variable (Sun et *al*., 2023) C'est une bactérie mésophile dont la température optimale de

croissance est de 30 °C, avec une croissance possible entre 10 °C et 40 °C mais généralement pas à 45 °C. Son métabolisme est anaérobie facultatif (Sun et *al*., 2023). La surface de *Lactococcus* est recouverte d'une couche de polysaccharides liée de manière covalente au peptidoglycane de la paroi cellulaire. La structure de ces polysaccharides varie selon les souches. Cette bactérie est naturellement présente sur les surfaces végétales, dans le lait cru par contamination lors de la traite, ainsi que dans les produits fermentés traditionnels. Des souches probiotiques potentielles, comme *L. lactis* GV103, ont été caractérisées pour leur capacité à produire des laits fermentés sans lactose avec une excellente viabilité (>10,50 log UFC/ml) et une bonne survie dans les conditions du tractus gastro-intestinal (Costa et *al*., 2025) *Lactococcus* est largement utilisée comme ferment lactique mésophile dans l'industrie agroalimentaire pour la fabrication de fromages, de beurre et de babeurre, en raison de sa capacité à produire rapidement de l'acide L(+)-lactique à partir du lactose.

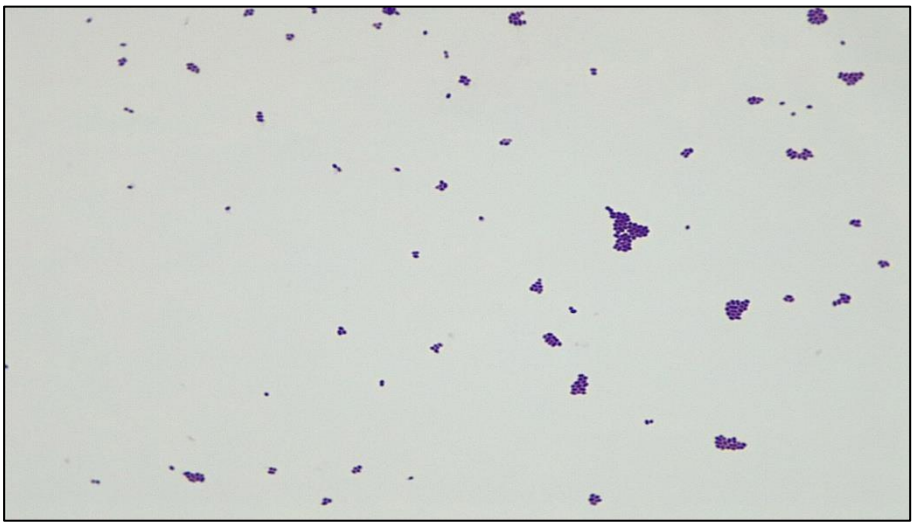


Figure 6. *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008)

1.4.2.1. Taxonomie

Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum bacillota (anciennement firmicutes), classe des bacilles, ordre des *Lactobacillales*, famille des *Streptococcaceae (Schleifer* et al. (1985) ; Oren et Garrity (2021).

Tableau 4. Classification de genre *Lactococcus*

Domaine	Bacteria
Phylum	Bacillota *(anciennement Firmicutes)*
Classe	Bacilli
Ordre	Lactobacillales
Famille	*Streptococcaceae*
Genre	*Lactococcus*

1.4.3. Le genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* regroupe des bactéries à Gram positif, de forme Cocci, apparaissant généralement par paire ou en chainette (Patel et *al*., 2024). Ce sont des anaérobies facultatifs, négatifs à la catalase, au métabolisme fermentaire (Patel et *al*., 2024). Leur croissance est exigeante et nécessite des milieux enrichis en acides aminés et en vitamines (González-Sánchez et *al*., 2021). La température de croissance varie entre 7 et 45 °C selon les espèces, avec un optimum approximatif à 37 °C (González-Sánchez et *al*., 2021). Ils peuvent se développer entre pH 4,8 et 9,6, avec un optimum à pH 7,0 (González-Sánchez et *al*., 2021). Certaines espèces tolèrent des concentrations élevées en Na Cl (jusqu'à 6,5 %) (Patel et *al*., 2024). Enfin, le caractère catalase négatif reste un trait distinctif majeur pour l'identification des streptocoques (González-Sánchez et *al*., 2021).



Figure 7. Observation microscopique de bactéries du genre *Streptococcus* (Cocci à Gram positif disposés en chaînes), issue d'un cours de bactériologie générale.

1.4.3.1. Taxonomie

Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum bacillota (anciennement firmicutes), classe des bacilles, ordre des *Lactobacillales*, famille des *Streptococcaceae. (*Skerman *et al*., 1980*).*

Tableau 5. Classification de genre *Streptococcus (Oren & Garrity.,2021 ; LPSN, (2025) - page du genre Streptococcus.*

Domaine	*Bacteria*
Phylum	*Bacillota*
Classe	Bacilli
Ordre	*Lactobacillales*
Famille	*Streptococcaceae*
Genre	*Streptococcus*

1.4.4. Le genre *Enterococcus*

Les bactéries de la famille *Enterococcus* sont Gram-positives, elles ne produisent pas de catalase, ne forment pas de spores et peuvent vivre en absence d'oxygène. Elles poussent le mieux à 35 °C, mais peuvent supporter des températures allant de 10 à 45 °C (Bouchair, 2021).

Ce sont des bactéries en forme d'ovale, qui se trouvent seules en paires ou en groupes de quelques individus. Les colonies d'entérocoques sont transparentes et mesurent moins de 1 mm, et certaines variétés produisent une décoloration autour des colonies sur les géloses au sang (Bouchair, 2021). Dans une étude, le taux de résistance chez *Enterococcus* était très élevé contre l'ampicilline, la streptomycine, la tétracycline, l'érythromycine et la ciprofloxacine, et plus modéré contre la pénicilline. Les entérocoques se trouvent dans les légumes, les aliments végétaux et les produits alimentaires, surtout ceux d'origine animale comme les fromages et les laits (Bouchair, 2021). En Turquie, *E. faecalis* a été trouvé comme étant le principal type d*'Enterococcus* dans le lait cru. La présence *d'E. faecalis et d'E. faecium* dans le lait cru a également été constatée. *L'Enterococcus* est connu pour prolonger la durée de conservation des aliments et augmenter leur sécurité alimentaire, car il génère des substances capables de combattre les bactéries, telles que l'acide lactique, les bactériocines

(appelées aussi entérocines) et le peroxyde d'hydrogène. Les bactériocines attirent beaucoup d'intérêt car elles agissent souvent contre plusieurs pathogènes microbiens présents dans les aliments, notamment des bactéries Gram positifs comme le *Clostridium botulinum,* la *Listeria monocytogenes* et le *Staphylococcus aureus* (Bouchair, 2021).

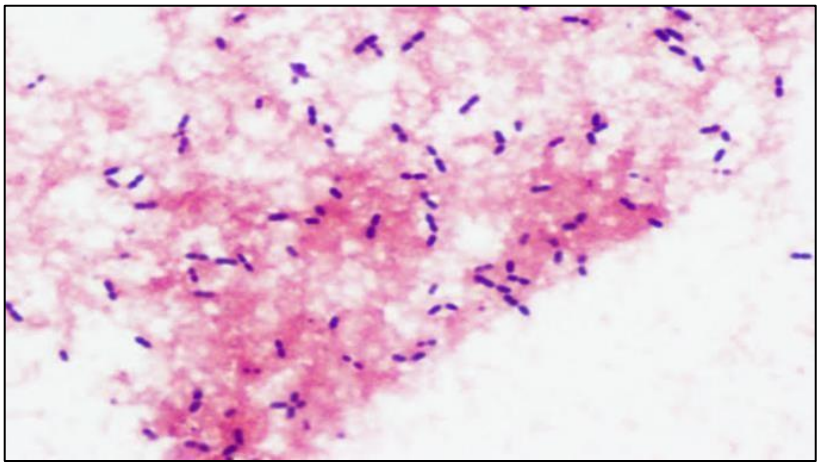


Figure 8. Aspect microscopique des *Enterococcus (*Holden.,2002)

1.4.4.1. Taxonomie

Genre *Enterococcus* appartient au phylum *Bacillota,* classe des *bacilles* ordres *Lactobacillales*, famille *Enterococcaceae.*

Tableau 6. Classification de genre *Enterococcus (Ludwig* et *al*. ,2010 **;** Oren & Garrity.,2021**).**

Domaine	*Bacteria*
Phylum	*Bacillota*
Classe	Bacilli
Ordre	*Lactobacillales*
Famille	*Enterococcaceae*
Genre	*Enterococcus*

1.5. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Les micro-organismes disposent d'une reconnu gamme de mécanismes de Défense microbiens préserver leurs existences ou leurs habitats écologiques face à la concurrence ou aux infections. La synthèse de peptides microbiens représente une première ligne de défense. Ces peptides exercent un impact direct sur les microorganismes, par exemple en perturbant la membrane bactérienne, virale ou fongique, ou en influençant d'autres cibles (Djadouni, 2013). De nombreuses recherches ont démontré l'effet inhibiteur des bactéries lactiques sur les bactéries pathogènes (Rodrigues et *al*., 2005 ; Mercha et *al*., 2020). On peut associer les propriétés antimicrobiennes de ces bactéries à divers facteurs. Elles proviennent de l'interaction de divers éléments biologiques issus de leurs processus métaboliques, produisent des molécules avec des propriétés antibactériennes et/ou bactériostatiques comme l'acide lactique, les acides organiques, le diacétyle, le dioxyde de carbone (Chentouf, 2015 ; Bouzaid et *al.,*2016) On a évalué 14 souches productrices de bactériocines originaires des genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc, Pediococcus et Lactococcus* pour leur potentiel à freiner la prolifération de 8 souches de *Listeria monocytogenes*. Lors d'essais d'antagonisme différé sur gélose, 7 souches de bactéries lactiques ont démontré leur caractère antagoniste à l'égard de *L. monocytogenes*. Les supernatants acellulaires provenant de cultures de trois des sept souches productrices de bactériocines qui inhibent la croissance de *L. monocytogenes* lors des tests d'antagonisme différé ont également entravé sa prolifération lors des essais de diffusion en puits. Les huit souches de *L. monocytogenes* montraient une sensibilité ou une résistance identique face aux bactériocines. Des enzymes protéolytiques inhibaient l'activité des

bactériocines (Harris et *al*.,1989) Les composés antimicrobiens présents dans le surnageant de culture de *L. lactis* ont inhibé *Enterococcus faecium*, diverses espèces de Lactobacillus et *Staphylococcus aureus*, Les métabolites antimicrobiens étaient thermostables et actifs dans une gamme de pH de 2 à 10.
L'activité antimicrobienne des surnageants des deux bactéries a été inhibée par de nombreuses protéases, mais pas par la catalase (Millette et *al*.,2007)

Par ailleurs, 4 souches distinctes de fromage Camembert non pasteurisé – deux provenant de *Lactobacillus plantarum* et deux de *Lactobacillus paracasei* – ont été identifiées et génétiquement caractérisées, Elles ont prouvé leur efficacité antibactérienne contre divers agents pathogènes alimentaires habituels, y compris *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella et Escherichia coli*. (Coeuret,2004).

Les souches ont montré des capacités de Co-agrégation variant de 7 à 71 % avec des pathogènes tels que *: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica Typhimurium* ; L'activité antagoniste la plus élevée a été observée pour *Lactobacillus paraplantarum* contre *E. coli et S. aureus* après 60 minutes.

Une étude sur la conservation du yaourt à 4 °C a montré que l'ajout de 2 % (v/v) de *Lactobacillus* casei inhibait totalement la croissance de Penicillium, utilisé comme champignon indicateur. Cette souche produit de l'acide lactique et des composés cyclo- Leu Pro. Tous deux dotés d'une activité antifongique. Comparé au groupe témoin, l'ajout de Lactobacillus casei a augmenté le nombre de *Lactobacillus* tout en réduisant celui de *Streptococcus lactis* d'environ 1,0 log UFC/ml. Par conséquent, l'utilisation directe de souches de *Lactobacillus* à activité antifongique comme souches protectrices suscite un intérêt croissant dans l'industrie agroalimentaire (Lee et *al*., 2009).

Une étude a montré que l'ajout de *Lactobacillus acidophilus* au lait contaminé par *Escherichia coli* a entraîné une réduction significative du nombre de bactéries pathogènes, atteignant jusqu'à 99 % après 48 heures, grâce à la production d'acides organiques et de bactériocines inhibant la croissance des germes pathogènes (Sengun et Karagöz, 2007)

1.6. L'effet du froid sur la croissance des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques, qui sont des bactéries fondamentalement mésophiles, se développent idéalement à 30 °C. Néanmoins, certaines souches se sont adaptées à

l'environnement, entraînant des mécanismes d'adaptation qui leur permettent de résister à des températures proches de 0 °C (Kato et *al*., 2000). La croissance des bactéries lactiques est inhibée par le froid car elle ralentit leur fonction métabolique et leur reproduction.

L'effet du stress causé par le froid entraîne des altérations de la fluidité de la membrane cellulaire, ce qui affecte le mouvement des nutriments. De plus, les activités enzymatiques diminuent et affectent le processus du métabolisme. De plus, la stabilité de l'ARN est également affectée et, par conséquent, le processus de traduction est entravé. Tous ces facteurs ont des effets directs sur la vitalité des bactéries (Shi et *al*., 2016).

Par exemple, lorsque *Lactobacillus* plantarum est exposé à de basses températures, ses processus de croissance et de multiplication sont réduits. En conséquence, les bactéries créent des systèmes de contrôle internes afin de développer une tolérance au stress dû au froid. Selon les découvertes de Lui L. plantarum K25 possède un système biologique capable de résister au stress dû au froid, en particulier par la régulation du métabolisme des glucides, des acides aminés et des acides gras. (Liu et *al.,*2020)

Le mécanisme de résistance au froid de cette souche se compose des caractéristiques suivantes : une conservation de l'énergie comme mode de survie et système de réparation, et une capacité accrue de synthèse des protéines. De nombreux chaperons moléculaires ont été trouvés dans *L. plantarum* K25 lorsqu'il est soumis à de basses températures. Ces molécules jouent un rôle vital dans la protection des cellules en dégradant les protéines endommagées (Craig et al., 1993).

Les protéines de choc froid (CSP) – CSP, CSPB et CSPC – ne sont pas seulement sensibles à la chaleur mais servent également de chaperons d'ARN.

Grâce à l'interaction avec un acide nucléique simple brin, la capacité de synthèse des protéines est élevée puisque ce processus de liaison empêche la formation secondaire d'ARNm (Grumman et al., 1996). Par conséquent, les protéines sont importantes pour maintenir la viabilité de la cellule.

De plus, le métabolisme des glucides ralentit en réponse aux conditions météorologiques froides pour restreindre le développement des bactéries, ce qui conserve la quantité d'énergie nécessaire à la survie. La réduction de la synthèse et du métabolisme des acides gras modifie le

contenu en lipides de la membrane cellulaire et ses propriétés de fluidité. Cependant, l'amélioration de la biosynthèse du peptidoglycane et la production de LTA augmente la résistance de la membrane cellulaire. En ce qui concerne le métabolisme des purines et des pyrimidines, l'amélioration contribue à la disponibilité de substrats pour la biosynthèse de l'ADN (Liu et al., 2020).

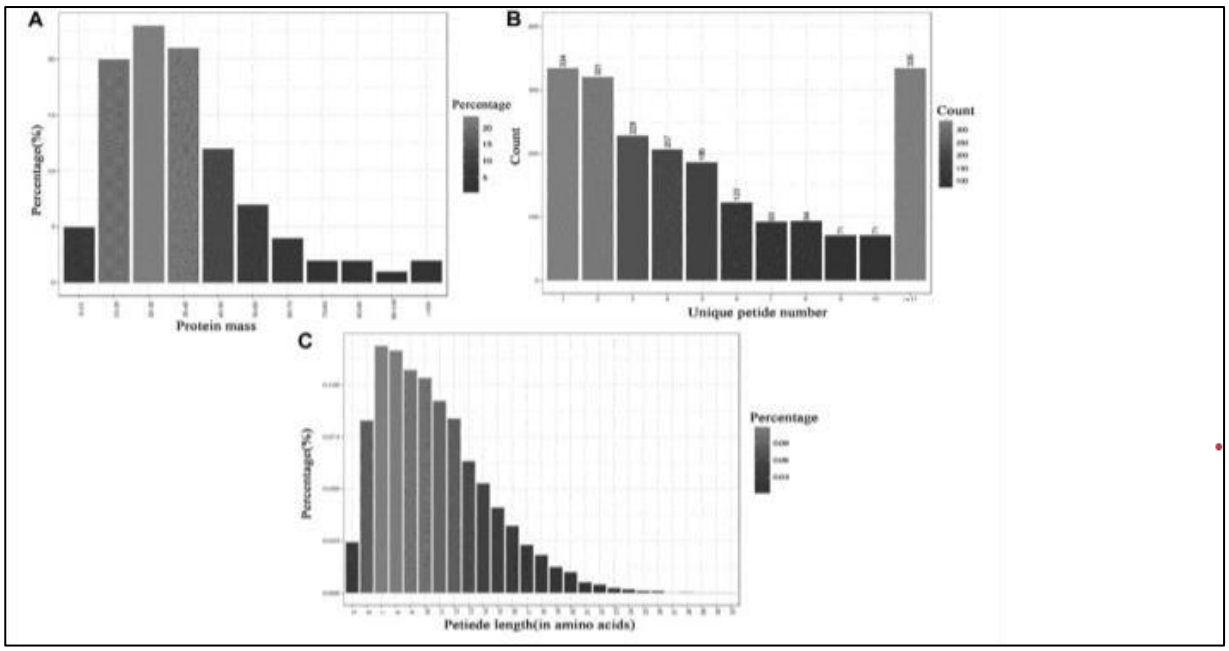


Figure 9. Identification et analyse du protéome de *L. plantarum* K25. (A) Les protéines identifiées étaient basées sur leur masse protéique. (B) Nombre de peptides uniques qui correspondent à des protéines. (C) Pourcentages de longueur de peptide.

Selon Matamoros deux souches de *Leuconostoc gelidum* ont significativement augmenté la durée de conservation des deux séries de production, tandis que deux souches de *Lactococcus piscium* ont montré des effets moyens ; deux bactéries étaient des spoilers (*Lactobacillus fuchuensis et Carnobacterium alterfunfuntum),* et une souche *(Leuconostoc gelidum)* ont montré des effets très variés en fonction du lot de production. Quatre souches de bactéries, qui ont bien performé dans les expériences sur les crevettes, ont été utilisées dans la même expérience en utilisant du saumon fumé à froid. Chez le saumon fumé à froid, les souches de *Lactococcus piscium* se sont avérées plus efficaces pour retarder la détérioration, ce qui a entraîné une amélioration significative des qualités sensorielles après 14 et 28 jours de réfrigération. Enfin, les capacités d'inhibition de deux souches (*Leuconostoc gelidum* et *Lactococcus piscium*) ont été évaluées contre trois bactéries pathogènes (*Vibrio cholerae,*

Listeria monocytogenes). (Matamoros et *al*., 2009). Les réponses adaptatives semblent être un mode habituel de protection contre le stress en LAB. Cependant, la protection croisée à d'autres contraintes, souvent induite par l'expression d'une réponse adaptative donnée, semble varier entre les espèces. Cette observation suggère que les bases moléculaires des réponses adaptatives sont, au moins en partie, spécifiques à une espèce (ou même à une sous-espèce). (Van de Guchte et *al.,* 2002).

1.7. Le rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont essentielles à la conservation des aliments et au développement de leurs arômes, jouant un rôle vital dans la production alimentaire humaine depuis des millénaires. Elles présentent non seulement une valeur économique considérable, mais contribuent également de manière cruciale au bon fonctionnement des aliments, Les bactéries lactiques sont aussi utilisées dans l'agriculture, en médecine, en cosmétique et dans la fabrication D'alternatives écologiques aux plastiques (Razola et *al.,* 2024).

Les bactéries lactiques abaissent le pH des aliments, ce qui crée un environnement acide. Cet environnement acide freine le développement de bactéries indésirables. Cette technique de conservation naturelle aide à prolonger la fraîcheur des aliments et à allonger leur durée de conservation (leroy et *al*.,2004).

Concernant la saveur et la texture les bactéries lactiques ont également un impact sur la saveur et la texture des aliments. Elles offrent aux aliments fermentés des saveurs acidulées, comme c'est le cas pour le kimchi ou le pain au levain. Aussi ces bactéries offrent des consistances lisses et onctueuses, à l'instar du yaourt. Cela est dû à la présence d'exo polysaccharides qui renforcent l'épaisseur du produit fini.

Et dans le cas de la fermentation les bactéries lactiques figurent parmi les microorganismes les plus étudiés (De et *al*., 2020). Elles jouent un rôle central dans la fermentation alimentaire et sont utilisées depuis des millénaires pour fabriquer des aliments fermentés via un processus appelé lacto fermentation (Mathur et *al*.,2020). Bien que le terme « lactique » tire son origine du mot latin « lactis » (lait), la lactofermentation ne concerne pas uniquement les produits laitiers, elle s'applique aussi à d'autres matrices. Ce processus s'applique, par exemple, lors de la fabrication des cornichons, de la choucroute, du kimchi, du

levain ou encore de certaines viandes séchées. La partie « lacto » fait simplement référence à l'acide lactique généré, rendant ces aliments légèrement acides et agissant comme un conservateur naturel (Wang et *al*.,2021).

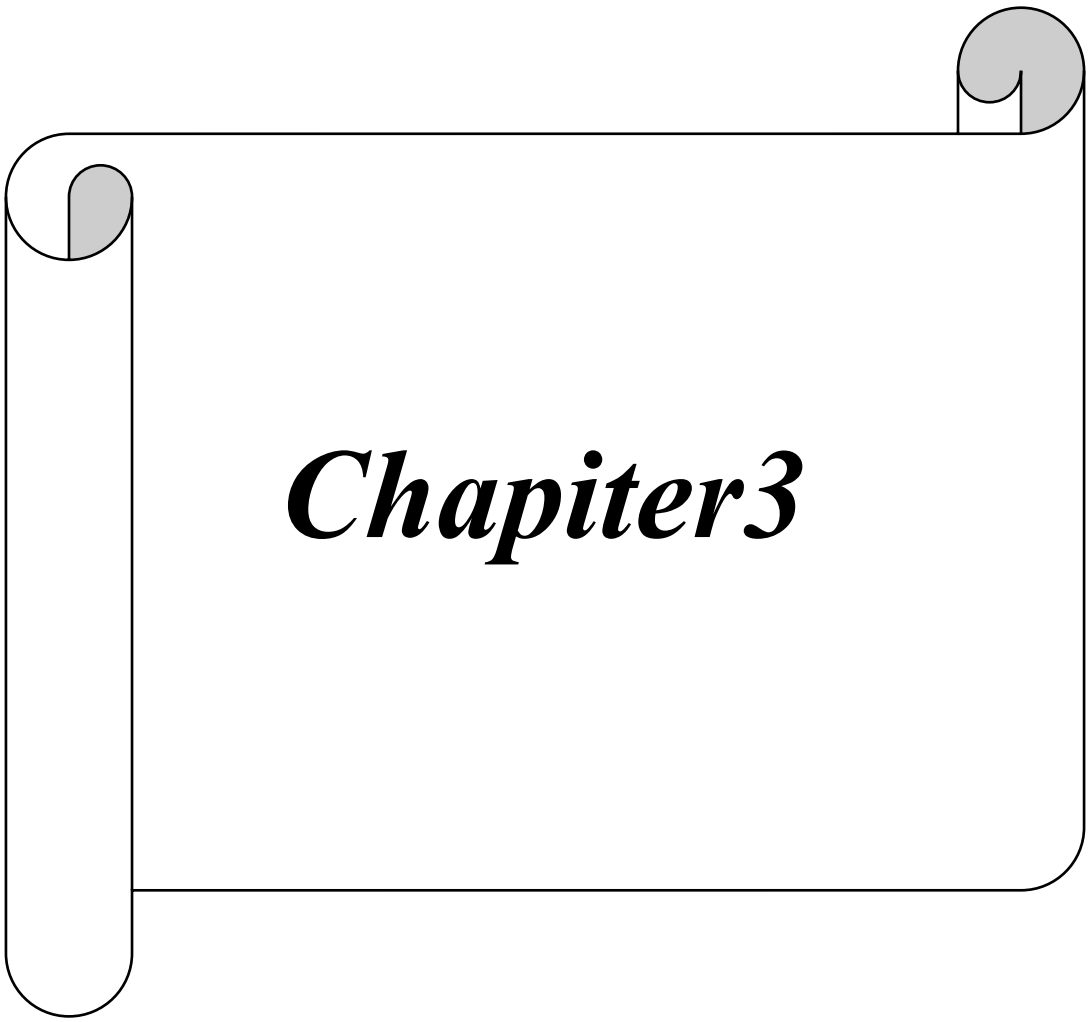
1.8. Les variations du pH de lait

Le pH est déterminé à de nombreuses fins, notamment comme indication de la qualité du lait (contamination bactérienne), l'acidification de la caséine, la fabrication du fromage, garantissant des conditions optimales pour la digestion des protéines, etc. Cependant, on dispose de peu d'informations sur le concept de base du pH et sa détermination dans l'industrie laitière ; au lieu de cela, il fonctionne généralement selon le principe de cause à effet (Aydogdu et *al.,*2023).

La valeur du pH du lait de vache normal provenant d'un animal en bonne santé est comprise entre 6,6 et 6,7, et un pH inférieur la valeur indique la croissance de micro-organismes qui convertissent le lactose en acide lactique par processus de fermentation ou lipolyse excessive. Cependant, des niveaux de pH plus élevés sont souvent trouvés dans le lait. Pendant la période de stress physiologique sur le producteur d'animaux, lorsqu'il y a une perturbation l'équilibre minéral dans le lait en raison des changements de perméabilité du lait Hema barrière, par exemple, très tard dans le cycle de lactation ou lors d'une infection de mammite. La température affecte le pH du lait, diminuant généralement avec une augmentation de la température due aux variations dans la dissociation des groupes ionisables. La lipolyse abaisse également le niveau de pH du lait car l'hydrolyse des esters, en particulier des esters phosphoriques.

Le chauffage modifie le pH du lait diminue, et à des températures de <80 °C, la valeur du pH du lait diminue linéairement avec augmentation de la température.

La réduction du pH causée par le traitement thermique dans cette plage de températures est principalement due aux modifications de l'équilibre minéral du lait, et réversible lors du refroidissement ultérieur du lait. La perte de CO2 causée par le traitement thermique est l'augmentation compensatoire du pH, mais est moins significatif que le premier mécanisme. Un traitement thermique sévère abaisse davantage le pH, en raison de la décomposition thermique du lactose en acides organiques, en particulier l'acide formique (Tamime 2009).



Chapiter3

Chapitre 3. Dynamique de croissance des populations microbiennes

1. Dynamique de croissance des populations microbiennes

Le processus de croissance se base sur un nombre de réactions chimiques anaboliques (la production de substances) et cataboliques (leur décomposition) qui finalement aboutissent 3à la division cellulaire, Sous des conditions de culture optimales (abondance de nutriments, température et environnement spéciaux), le temps qu'utilise une cellule bactérienne pour se diviser est d'environ 10 minutes. En revanche, sous les conditions naturelles, le processus de croissance de microorganismes est souvent long en raison du manque de nutriments, de leur dispersion et des conditions difficiles.

2. Description de la cinétique de croissance microbienne

L'étude de la cinétique de croissance microbienne consiste en l'étude de l'évolution du nombre d'agents pathogènes au cours du temps dans un milieu (Madigan et al., 2021). Généralement, cette étude se fait grâce à la courbe de croissance bactérienne. La courbe de croissance bactérienne est une représentation graphique décrivant l'évolution de la population bactérienne au cours du temps dans un milieu de culture donné. Elle constitue un outil essentiel en microbiologie permettant d'analyser la dynamique de croissance des microorganismes et leur comportement physiologique en fonction des conditions environnementales (FernándezMartínez et *al*., 2024).

Elle se caractérise par une succession de phases distinctes, correspondant aux variations de la vitesse de croissance au cours du temps. On distingue généralement la phase de latence, la phase exponentielle, la phase stationnaire et la phase de déclin, qui traduisent l'évolution globale de la population bactérienne d**a**ns le milieu.

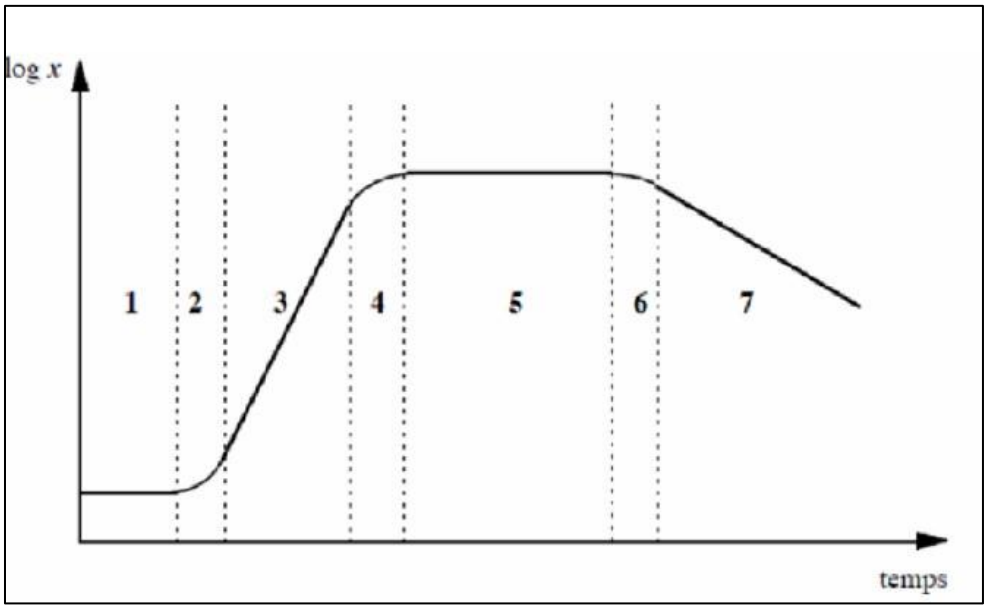


Figure 10. Courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases.

X représente la densité ou la biomasse de la culture. Les phases sont :(1) phase stationnaire initiale ou de latence, (2) phase d'accélération de la croissance, (3) phase de croissance (maximale) à vitesse constante, (4) phase de ralentissement de la croissance, (5) phase stationnaire maximale, (6) et (7) phases de décroissance (Buchanan 1918) cité par Augustin (2005).

3. Les phases de croissances

La croissance des populations bactériennes passe par plusieurs phases :

3.1. La phase stationnaire initiale ou phase de latence

La phase de latence correspond à la période initiale de la croissance bactérienne durant laquelle les cellules ne se divisent pas encore activement. Pendant cette phase, les bactéries s'adaptent à leur nouvel environnement en ajustant leur métabolisme, en synthétisant les enzymes nécessaires et en réparant les structures cellulaires. Bien qu'il n'y ait pas d'augmentation du nombre de cellules, cette phase est essentielle pour préparer la croissance future (Madigan et *al*., 2021 ; Fernández-Martínez et *al.,* 2024). Ce qui peut être exprimé par l'équation suivante

3.2. La phase d'accélération ou augmentation de la vitesse décroissance

Les bactéries commencent par une phase d'adaptation au nouveau milieu, puis se multiplient progressivement jusqu'à atteindre leur vitesse maximale de croissance spécifique (μmax) au cours de la phase exponentielle (Smug et al., 2024).

3.3. La phase de croissance à vitesse constante maximale ou phase de croissance exponentielle

La phase exponentielle est caractérisée par une croissance rapide et régulière des bactéries. Les cellules se divisent par fission binaire à un rythme constant, entraînant une augmentation exponentielle de la population. Durant cette phase, les cellules sont physiologiquement homogènes et présentent une activité métabolique élevée, ce qui permet des comparaisons fiables entre différentes conditions expérimentales. Cette phase constitue également la base de nombreux modèles modernes de croissance microbienne (Moreno-Gámez et al., 2023 ; Smug et al., 2024).

3.4. La phase de ralentissement de la croissance (décélération)

C'est la phase de décélération durant laquelle la vitesse de croissance diminue progressivement jusqu'à devenir nulle, en raison de l'épuisement des nutriments et de l'accumulation de métabolites inhibiteurs (Moreno-Gámez et al., 2023).

3.5. La phase stationnaire maximale ou plus simplement phase stationnaire

La phase stationnaire apparaît lorsque la croissance bactérienne cesse d'augmenter. Cela est généralement dû à l'épuisement des nutriments essentiels et à l'accumulation de déchets métaboliques dans le milieu de culture. À ce stade, le taux de division cellulaire devient égal au taux de mortalité, maintenant ainsi une population globale stable. Malgré cette stagnation apparente, les bactéries activent des mécanismes d'adaptation et de survie face au stress environnemental (Hengge-Aronis, 2002 ; Madigan et *al*., 2021).

3.6. La phase de décroissance ou phase déclin

La phase de déclin correspond à une diminution progressive du nombre de cellules viables dans la culture. Elle survient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, notamment en raison de l'épuisement des nutriments et de l'accumulation de

métabolites toxiques. Le taux de mortalité dépasse alors le taux de division, entraînant une réduction de la population bactérienne et une lyse cellulaire progressive (Moreno-Gámez et al., 2023)

4. Les paramètres de croissance

La croissance microbienne se définit par le processus de l'augmentation du nombre de cellules d'une population microbienne avec le temps. C'est le résultat d'une série de processus métaboliques qui impliquent des processus anaboliques et cataboliques et conduisent à la reproduction cellulaire. L'étude de cette croissance s'appuie sur l'étude de paramètres cinétiques capables de décrire et modéliser le comportement des micro-organismes dans diverses conditions d'environnement (Willey et *al*., 2017 ; Madigan et *al*., 2018).

- ✓ **Le taux de croissance spécifique (µ)**

Le taux de croissance spécifique (µ) est une mesure de l'allure à laquelle se développe la biomasse au cours de la phase exponentielle. Il est couramment donné en h-1 et dépend considérablement de l'environnement, par exemple la température, le pH et l'alimentation en nutriments. C'est un paramètre important pour faire la comparaison des capacités de croissance de différents microorganismes (Madigan et *al*., 2018).

- ✓ **Le temps de génération (g)**

Le temps de génération est appelé la durée nécessaire à une cellule pour se diviser en deux cellules filles. Il est directement proportionnel au taux de croissance spécifique, ce qui signifie qu'un µ élevé entraînera un temps de génération faible. C'est un paramètre important pour déterminer la vitesse de prolifération des micro-organismes (Willey et *al.,* 2017).

- ✓ **La phase de latence (lag)**

La phase de latence est une période d'adaptation pendant laquelle les cellules ne se divisent pas immédiatement après leur inoculation dans un nouveau milieu. Au cours de cette phase, les micro-organismes synthétisent des enzymes et ajustent leur métabolisme aux nouvelles conditions environnementales. La durée de cette phase dépend de l'état physiologique des cellules ainsi que des caractéristiques du milieu de culture (Smug et al., 2024)

- ✓ **La densité cellulaire**

L'indice de densité cellulaire est la quantité de micro-organismes dans un environnement. Il peut être évalué par divers moyens, y compris la turbidimétrie (ou densité optique), le comptage direct et la culture au solvant. Cette caractéristique est très importante pour la supervision du processus de croissance microbienne (Willey et *al*., 2017).

- ✓ **Croissance totale**

Il s'agit de la quantité de matière bactérienne (en g/L) produite à la fin de la phase de croissance, ce qui se rapporte à la biomasse produite par unité de volume (Madigan et *al*., 2018).

5. Exemples d'études de la dynamique de croissance bactérienne à froid

Les recherches expérimentales ont confirmé la capacité refroidissante. Par exemple, lors d'un test effectué par Halpern et Zwirzitz (2007), il est prouvé que les micro-organismes peuvent se reproduire dans des conditions de température faible et fabriquer des enzymes extracellulaires. Parmi eux, on peut citer des protéases et des lipases qui conservent leur activité même après avoir été soumis à des traitements thermiques. Ces enzymes catalysent la destruction des protéines et des lipides, ce qui entraîne la détérioration du lait. Selon l'étude, le seul refroidissement n'est pas capable d'empêcher complètement la reproduction microbienne.

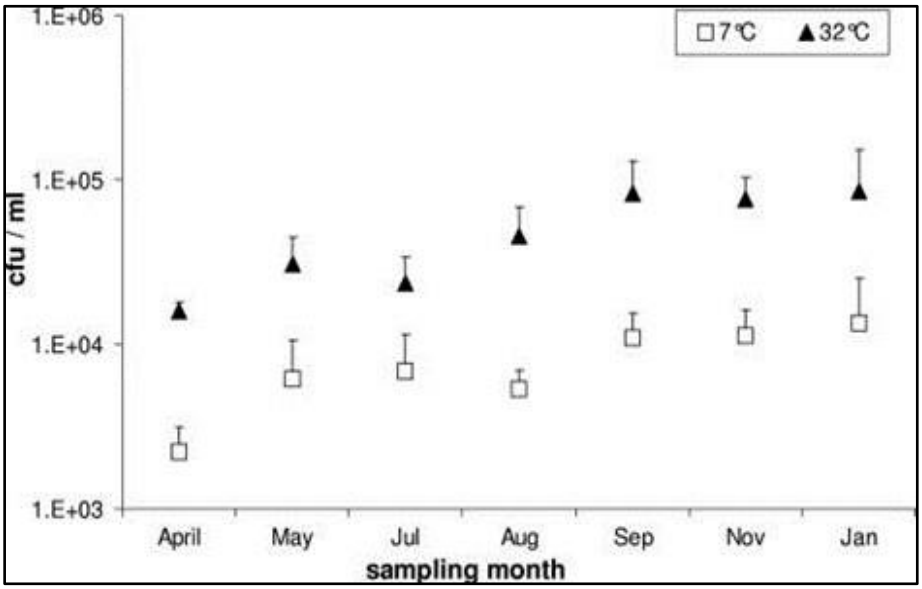


Figure 11. Dynamique des populations bactériennes psychrotrophes (□) et mésophiles (▲) dans le lait cru prélevé entre avril 2004 et janvier 2005. Chaque date d'échantillonnage représente une moyenne des échantillons provenant de quatre fermes (moyenne + l'erreurtype). (Zwirzitz et *al*., 2007).

En revanche, dans une recherche plus moderne ont examiné l'adaptabilité de bactéries lactiques au froid par transcriptomique. Leur recherche a montré qu'en réponse au stress thermique, la production de protéines de choc thermique et la modification de la composition lipidique membranaire sont nécessaires pour l'adaptation au froid. Ceux-ci aident à conserver la fluidité membranaire et la fonction enzymatique, ce qui facilite la reproduction bactérienne dans des conditions froides (Duru et *al.,*2021).

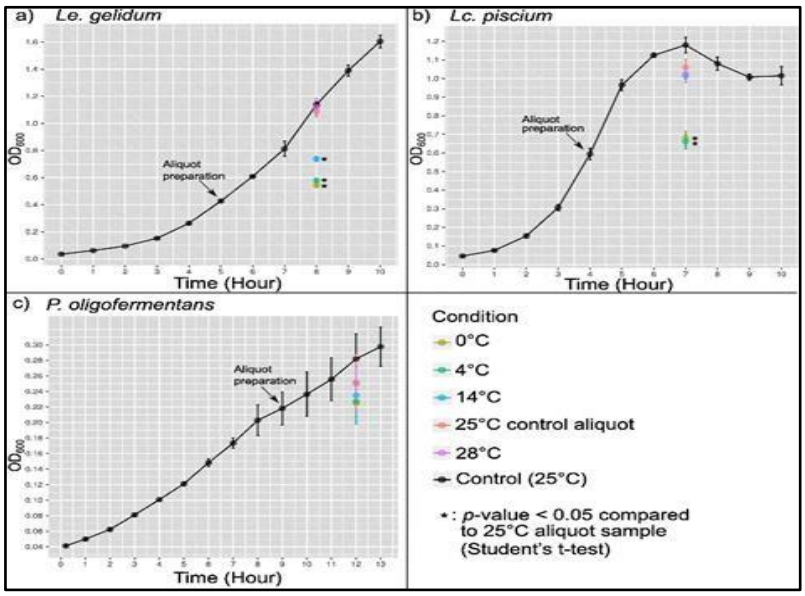


Figure 12. Courbe analyse transcriptomique des séries temporelles de réponses aux chocs thermiques et froids chez les bactéries lactiques psychrotrophes. (Duru et *al.,* 2021).

En outre, ont regroupé différentes recherches concernant le développement de bactéries psychrotrophes dans les aliments conservés au réfrigérateur. Selon ces scientifiques, certains micro-organismes peuvent survivre et se reproduire à une température proche de 0 °C. Les auteurs ont aussi noté que l'influence de différents facteurs environnementaux, y compris la présence de nutriments et la mobilité de l'eau, peut affecter le développement microbien. (Zhang et *al*., 2019).

Dans l'agroalimentaire, la multiplication de bactéries psychrotrophes telles que *Listeria monocytogenes, Pseudomonas spp*. Ou *Brochothrix thermosphacta* à 4 °C est une source de danger pour la sécurité sanitaire des aliments conservés au frais. En effet, ces micro-organismes peuvent se multiplier pendant le stockage, provoquant ainsi la détérioration de la qualité des produits au niveau sensoriel ou, pire encore, la possibilité de toxi-infections alimentaires (Zhou et Wang, 2021). La mise en œuvre d'une autre méthode de conservation, en plus de la réfrigération, s'avère alors indispensable. Par exemple, on peut citer le conditionnement sous vide, l'emploi d'additifs antimicrobiens ou d'emballages actifs.

Dans les environnements naturels froids, les bactéries psychrophiles participent à la dégradation de la matière organique et au recyclage des nutriments. Leur étude présente aussi

un intérêt biotechnologique, notamment dans la production d'enzymes froid-actives pour des applications industrielles (détergents, bioremédiation, bioconversion à basse température) (Gerday et Glansdorff, 2007).

Environnementales deviennent défavorables, notamment en raison d'une forte limitation en nutriments et de l'accumulation de composés toxiques. Le taux de mortalité dépasse alors le taux de division, entraînant une réduction exponentielle de la population bactérienne et la lyse cellulaire (Fernández-Martínez et *al.*,2010).

Partie II : Recherche Expérimentale

Matériel & Méthodes

1. Matériel et Méthodes

L'ensemble des manipulations expérimentales ont été réalisé dans les laboratoires de Biologie de l'université Abdelhafid Boussouf de Mila.

1.1. Préparation de matériel végétal

1.1.1. Présentation de la zone de prélèvement

Le présent travail utilise comme échantillon végétal *l'Origanum Vulgare*, qui inclut des tiges et des feuilles comme parties aériennes. Il a été cueilli le 14/02/2026 à une température de 19°C, dans la région Djebel El Ouahch, Constantine. (Figure13).

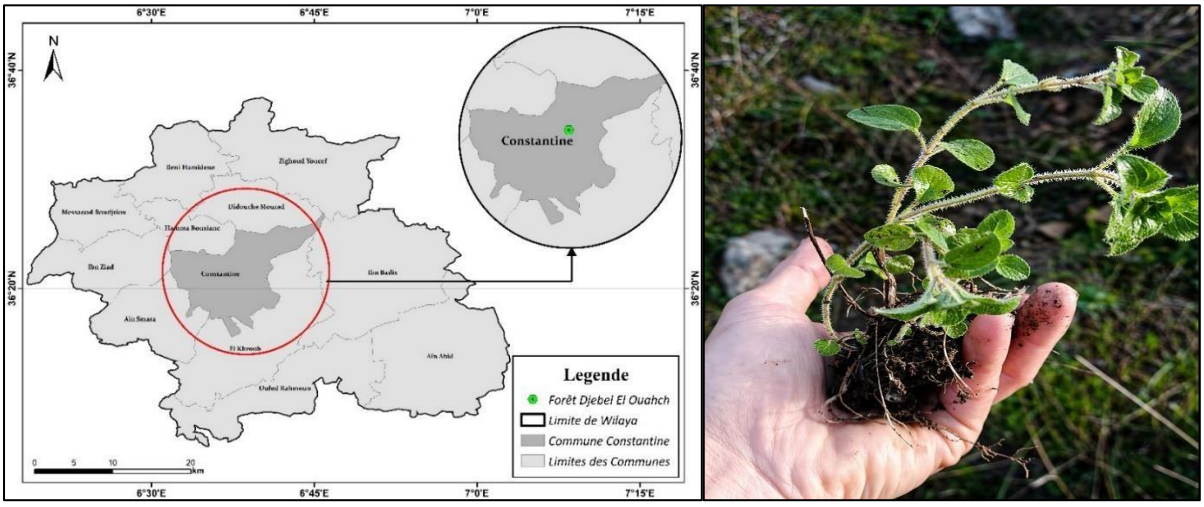


Figure13. *Origanum vulgare* récolté dans la région de Constantine a Djebel El Ouahch.

1.1.2. Séchage

À la suite de la récolte, le matériel végétal a été minutieusement nettoyé afin d'éliminer les impuretés, notamment les particules de poussière. Les tiges ainsi que les fleurs ont été totalement retirées, ne conservant que les feuilles pour les analyses ultérieures. Les feuilles de *Origanum* V. ont été séchées à l'ombre durant une semaine, disposées sur un support propre et exposées à l'air libre, tout en étant protégées de l'humidité. Aucun procédé thermique n'a été utilisé afin d'éviter toute altération des composés bioactifs. Après séchage, les feuilles ont été conservées dans des sacs en papier propres jusqu'à leur utilisation (figure 14).



Figure14. Les feuilles de l'*Origanum* V.

1.1.3. Broyage

Les feuilles séchées de la plante (*Origanum* V) ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique pour matières végétales. La poudre obtenue a été emballée dans du papier propre sellé à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à utilisation.



Figure15. La poudre de l'*Origanum* V.

1.1.4. Préparation de l'extrait aqueux de l'*Origanum* V

Selon la méthode décrite par Saeed S. Al-Zoreky (2009) l'extrait aqueux a été préparé par addition d'eau distillée stérile, préalablement chauffée entre 40 et 50 °C, à 100 g de poudre d'*Origanum* V., jusqu'à atteindre la saturation (environ 650 ml). Le mélange a été maintenu sous agitation. Modérée et continue à une vitesse de 50 Hz pendant 48 heures, selon la méthode de macération sous agitation. Ensuite, l'extrait obtenu a été filtré à deux reprises à l'aide d'un papier filtre standard. Le filtrat obtenu a été réparti dans des boîtes de Pétri afin d'accélérer le séchage. Le séchage a pris une semaine dans l'étuve. L'extrait séché a été rassemblé par une spatule et pesé et stocké dans des tubes Eppendorf (microtubes) L'extraction est réalisée à partir de 100g de poudre dans 650 ml d'eau distillée stérile

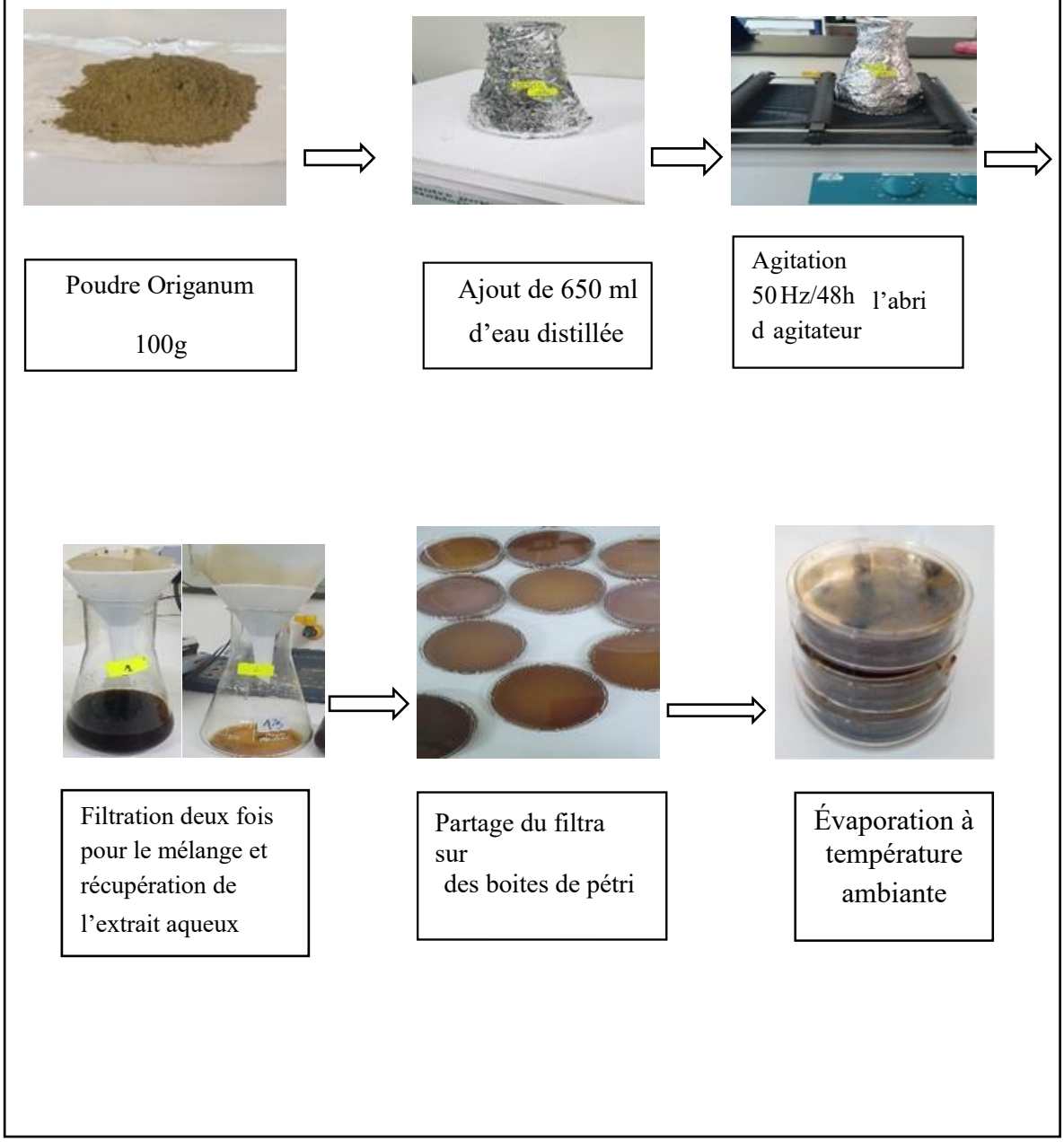


Figure 16. Protocole de préparation de l'extrait aqueux de l'*Origanum*

1.1.5. Préparation de la solution mère de l'extrait aqueux

À l'aide d'une balance, prélever 5 g de l'extrait aqueux séché d'*OriganumV*., puis le mélanger avec 50 ml d'eau distillée stérile chauffée à une température ne dépassant pas 40 °C, (rapport 5 g/50 ml). Le mélange est ensuite transféré dans un flacon stérile (Figure 17)

et homogénéisé à l'aide d'un vortex. Le récipient est recouvert de papier aluminium, puis conservé au réfrigérateur en vue des utilisations ultérieures.

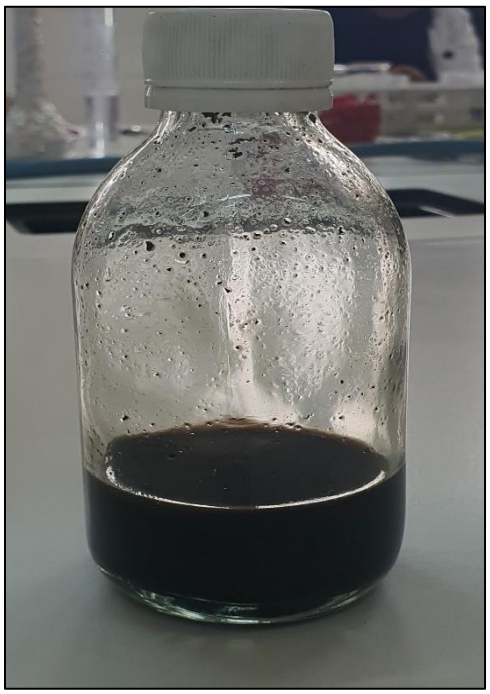


Figure17. La solution mère de l'extrait aqueux de l'*Origanum* V. préparée le 12/04/2026

Selon les valeurs des CMI (voir Tableau, Chapitre 1), nous avons choisis la concentration 5mg/ml comme concentration de la solution mère (100%).

A partir de la concentration de départ (100%), les volumes de l'extrait ajoutés au lait sont calculés comme suit :

$C1 \times V1 = C2 \times V2$

$5g / 50mL \times V1 = 5mg/mL \times 100mL$

- Concentration de la solution mère de l'EA Concentration de EA recherchée dans le lait.

- Volume réactionnel du lait supplémenté d'EA.

Donc 5000mg/50mL × V1 = 5mg/ml × 100mL

V1= 5mL 100%

Ainsi de suite pour : V2, V3, V4

V2= 3,75 ml 75%

V3=2,5mL 50%

V4=1,25mL 25%.

Selon les résultats rapportés dans les différentes études, la concentration de 25 %, correspondant à l'ajout de 1,25 ml d'extrait d'*Origanum* au lait, apparaît comme la concentration optimale pour les bactéries à Gram positif, en particulier les bactéries lactiques.

Les valeurs des volumes ajoutés au lait sont résumées dans le Tableau

Tableau 7. Concentrations, pourcentages et volumes d'EA de l'*Origanum* V. ajoutés au lait

Concentration de EA dans le lait (mg/ml)	Volume ajoute au lait (ml)	Pourcentage (%)
1	5	100
25	1,25	25

1.2. Echantillonnage du lait cru

La zone concernée est située dans la région d'Oued Khlouf, relevant de la commune d'Oued Khlouf, daïra de Chelghoum 4L'Aïd, wilaya.

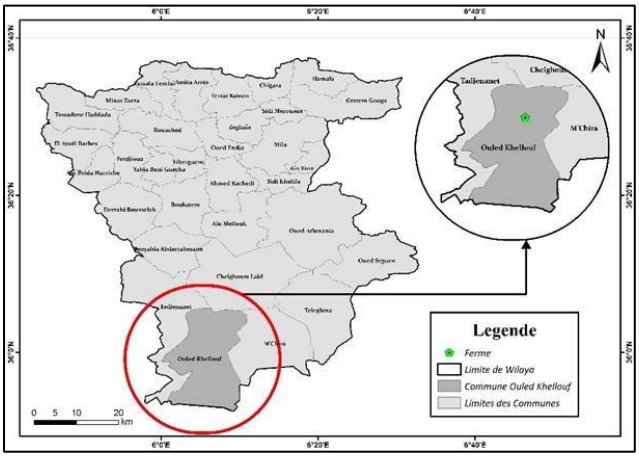


Figure18. La région d'Oued Khlouf

Les échantillons de lait ont été prélevés sur une seule vache en bonne santé de race importée (Figure19). Elle a environ quatre ans et sa nourriture est représentée par, l'ensilage, d'orge, d'avoine et de foin.

Chaque fois que le prélèvement a été fait, le bout des trayons a été nettoyé avec un essuyage avec des serviettes de papier secs et stériles. Les jets initiaux sont écartés et 25 ml de lait cru sont prélevés de chaque pis des quatre vaches et mis dans un flacon stérilisé. Les échantillons sont transportés au laboratoire dans une glacière à 4 °C.



Figure 19. Les vaches laitières prélevées dans l'étude.

2. Analyses microbiologiques

2.1. Culture bactérienne

- ✓ Gélose nutritive pour l'évaluation de la flore totale aérobie mésophile. Peser 23 g de la poudre de gélose, dissoudre cette masse dans un volume de 1000 ml d'eau distillée avec agitation sur plaque chauffante agitée. Répartir le milieu dans des flacons en verre et placer directement à l'autoclave pour la stérilisation à une température de 121 °C pendant 10 min.
- ✓ Gélose MRS (Man Regossa et Sharpe) pour l'isolement des bactéries lactiques : Pour préparer ce milieu mélanger 55,4g de MRS en poudre avec 15 g d'agar agar dans 1000 ml d'eau distillée. Répartir le milieu dans des flacons en verre et placer directement à l'autoclave pour la stérilisation.

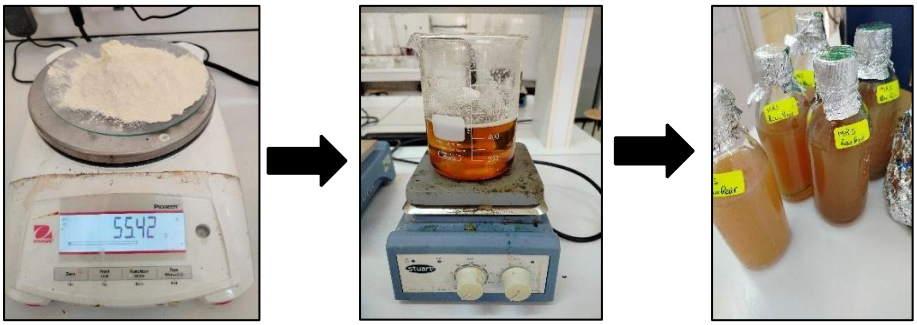


Figure20. Préparation du milieu de culture.

2.2. Préparation de l'eau physiologique

La solution physiologique a été preparee par dissolution de 9 g de NACL dans un litre d'eau distillee, puis la solution a été sterilisee avant utilisation.

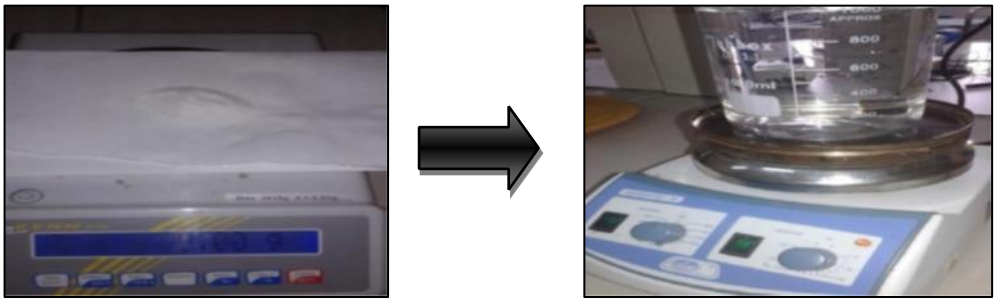
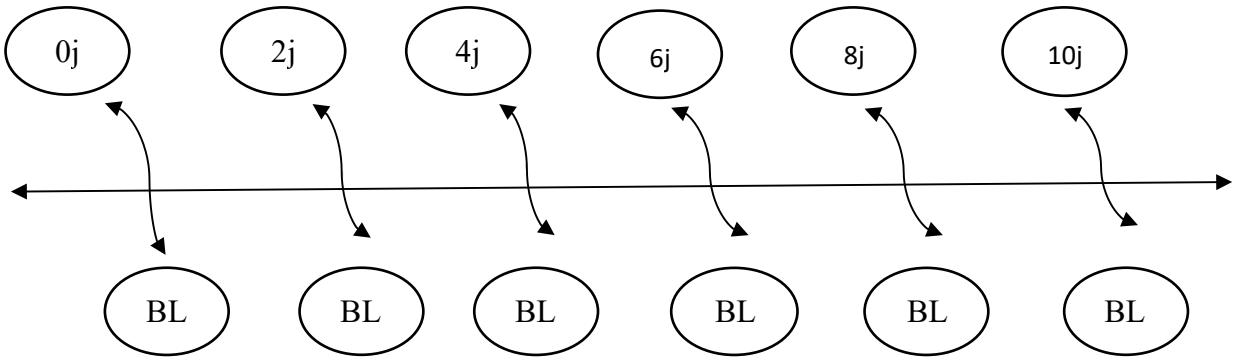


Figure21. La préparation de l'eau physiologique.

3. Suivie de la cinétique de croissance microbienne

Dans l'industrie laitière, le stockage du lait cru au réfrigérateur à moin de 10 °C avant transformation, pendant 2 à 5 jours, est une pratique courante afin de ralentir la croissance des bactéries mésophiles et thermophiles pathogénes , le lait cru constitue un environnement idéal pour la prolifération de divers micro-organismes. Il peut être facilement contaminé, notamment par des bactéries d'altération, lors de la manipulation, du stockage, du transport et de la transformation (Yuan, L et *al*., 2017) .

Les cinétiques de croissance microbiennes des bactéries lactiques ont été suivies à des Intervalles de temps réguliers : 0, 2, 4, 6, 8,10 jours.



J : jour **BL** : Bactéries lactiques-

Figure 22 . Suivi de la cinétique de croissance microbienne durant la réfrigération du lait.

3.1. Préparation des dilutions décimales

- Selon Guiraud et Rosec (2004) et Dellarras (2007), des dilutions stériles jusqu'à 10^{-5} sont préparées.
- 1 mL d'échantillon est transféré dans 9 mL d'eau physiologique pour obtenir 10^{-1}, puis cette procédure est répétée jusqu'à 10^{-5}.

3.2. Ensemencement et incubation

- Trois boîtes de Pétri ont été préparées pour chaque dilution.
- 1 mL de dilution est versé au centre de chaque boîte.
- Ajout de gélose fondue à 45 °C, homogénéisation en 8.
- Solidification à température ambiante (15 min).
- Incubation à 37 °C pendant 48 h, boîtes retournées.
- Seules les boîtes présentant des colonies entre 30 et 300 ont été prises en compte pour le dénombrement (Guiraud et Rosec, 2004).

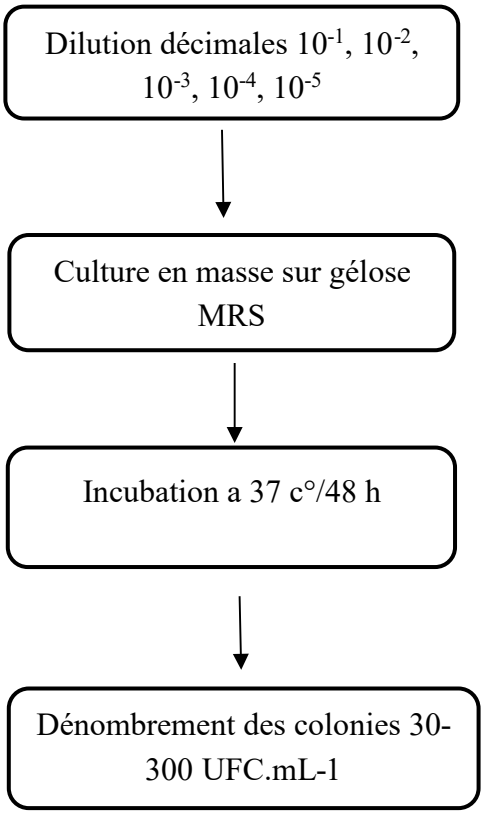


Figure 24. Etapes opératoires de l'évaluation des bactéries lactiques

3.3. Dénombrement

Le nombre de dilutions à réaliser dépend de la concentration cellulaire de l'échantillon de départ. Le nombre de colonies comptées dans une boite de pétri doit être compris entre 30 et 300 UFC/mL.

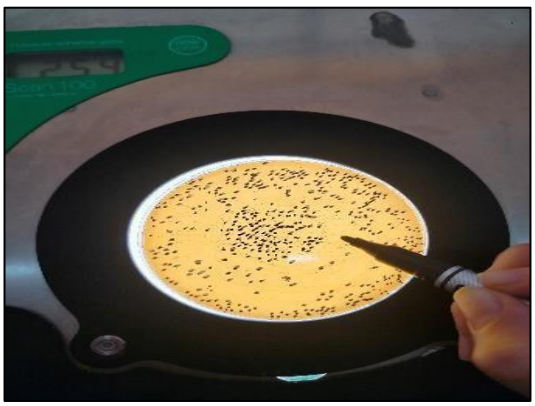


Figure 25. Dénombrement des bactéries lactiques .

3.4. Suive du pH

Le pH du lait a été mesuré toutes les 48 heures pour suivre les modifications dues à l'activité microbienne.

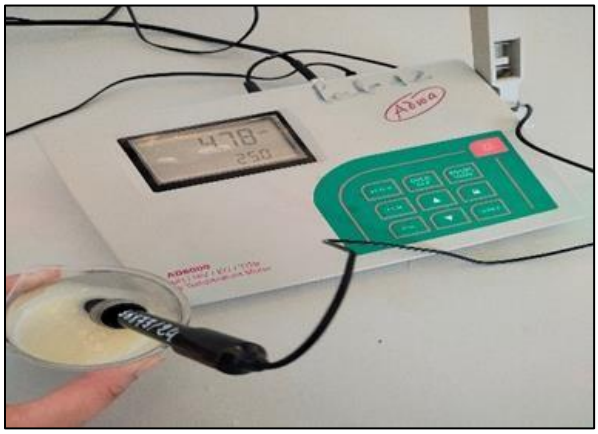


Figure25. Suivie du pH pendant 10

3. 5.Observation macroscopique et microscopique

Après culture sur gélose MRS, une observation macroscopique des colonies (forme,couleur, bord, taille) a été réalisée. Seules les colonies aux caractéristiques compatibles avec les bactéries lactiques ont été retenues .

4. Préparation du frottis

La préparation du frottis a été réalisée selon la méthode décrite par Hans Christian Gram (1884

- Déposer une petite goutte d'eau sur une lame.
- Flamber l'anse de platine dans la flamme du bec benzène.
- Laisser refroidir quelques secondes (10s), en restant près de la flamme.
- Prélever un minuscule fragment d'une colonie isolée, couvercle entrouvert et rester à proximité de la flamme.
- Etaler le prélèvement à la surface de la lame en le dispersant dans la goutte d'eau.
- Attention: flamber l'anse avant de la redéposer.
- Laisser sécher (complètement) à l'air
- Fixer les bactéries sur la lame en plassant celle-ci rapidement dans la flamme, 3 fois.
- Laisserrefroidir quelques secondes après chaque passage.

4.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode décrite par Cappuccino et Welsh (2017), avec le violet de gentiane comme colorant primaire et la fuchsine comme contrecolorant. Un frottis bactérien a été préparé sur une lame propre, séché à l'air libre puis fixé à la chaleur. Le frottis a ensuite été recouvert de violet de gentiane pendant 1 min, puis rincé délicatement à l'eau distillée. Après ajout du Lugol pendant 1 min et rinçage à l'eau, la décoloration a été effectuée à l'éthanol à 95 % pendant 10 à 20 s. La lame a ensuite été rincée immédiatement à l'eau puis recouverte de fuchsine pendant 30 à 60 s. Après un dernier rinçage et séchage, les préparations ont été observées au microscope optique à l'objectif à immersion (×100). Les bactéries Gram positives apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives prennent une coloration rose à rouge (Cappuccino & Welsh, 2017).

5. Manipulation du logiciel ORIGIN 6

1. L'ouverture de programme

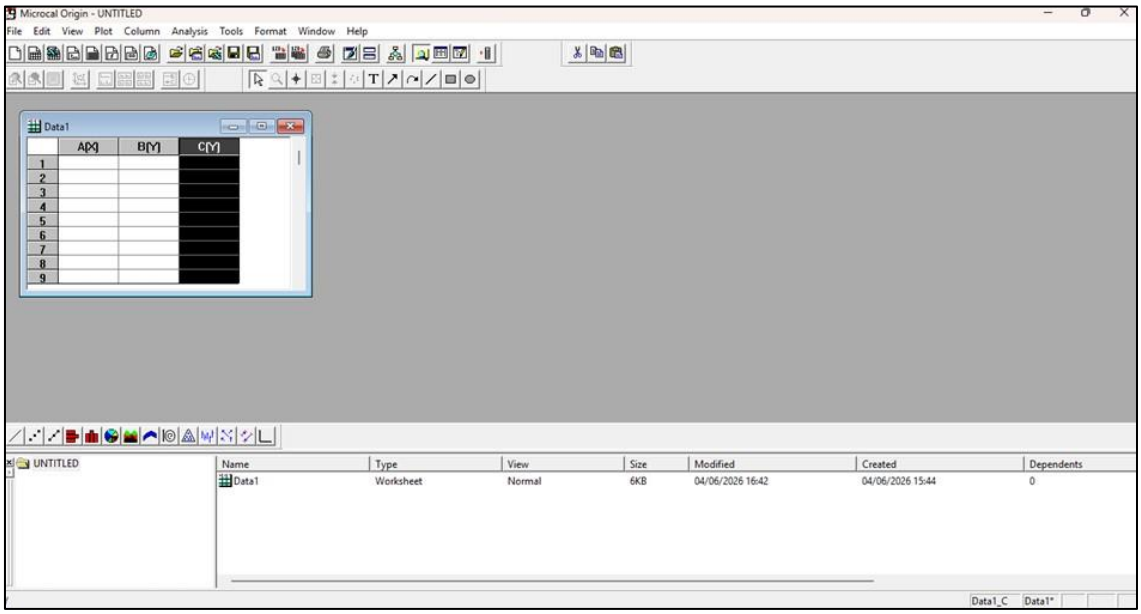


Figure27. Ajout des colonnes

2. Insertion des données expérimentales dans les cellules correspondantes à chaque variable (temps, UFC, pH, etc.).

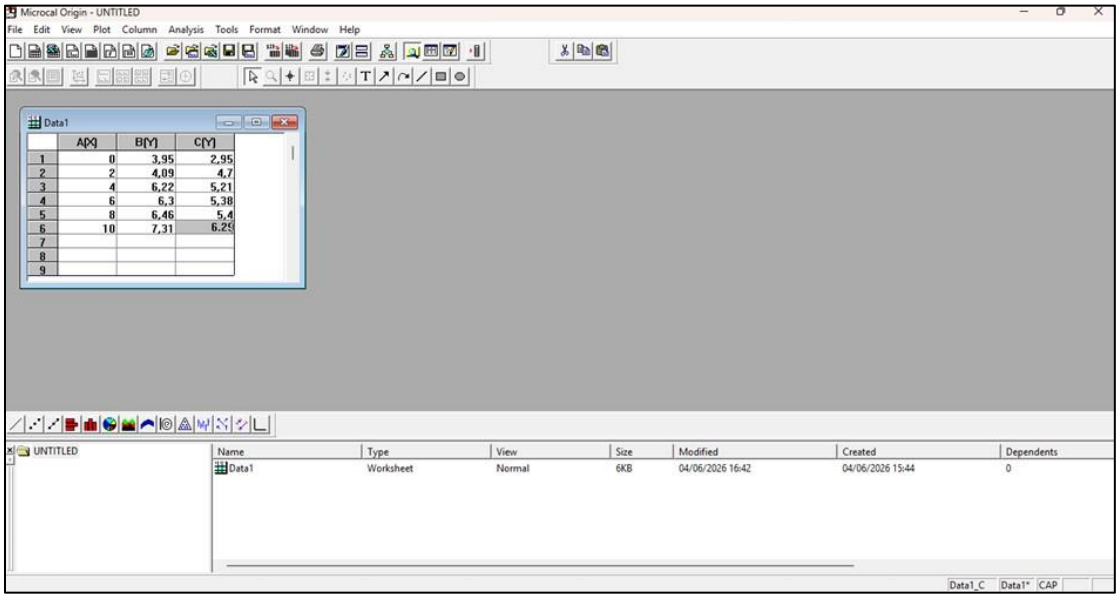


Figure28. Insertion des données expérimentales

3. Renommage des colonnes

Par double-clique sur l'intitulé de la colonne (ex. : A(x), B(X)) dans "Column Name" entrée le nom adapte (ex : temps, UFC, etc.)

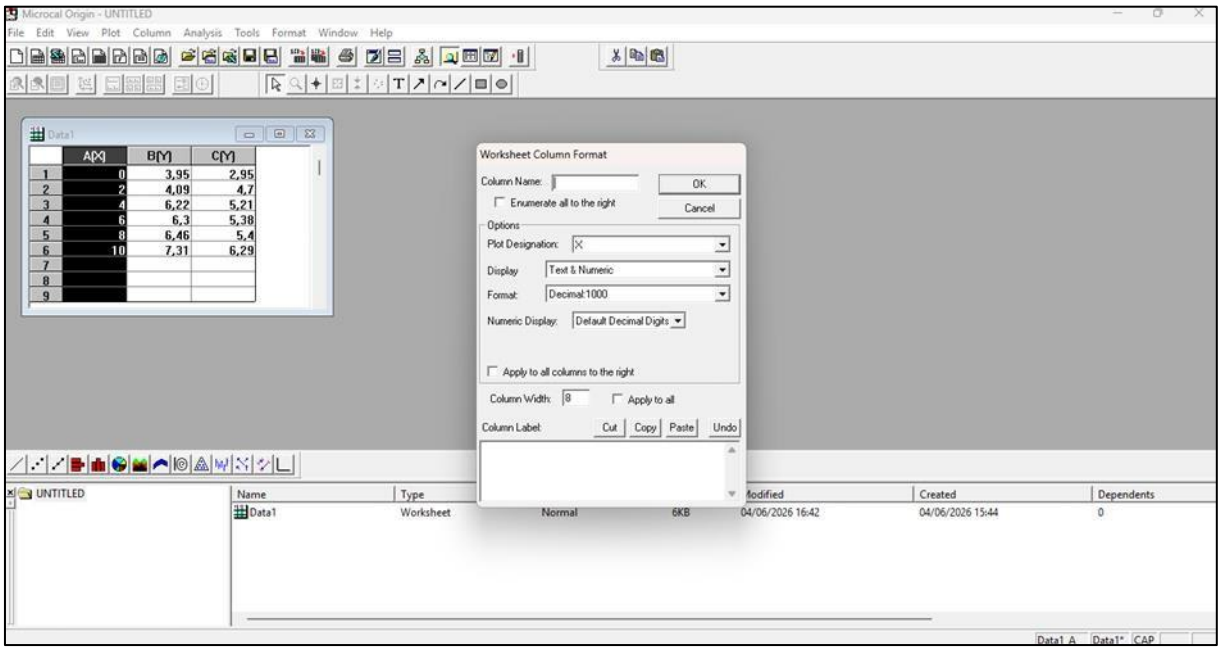


Figure29. Renommage des colonnes

3.Tracé des courbes

Par sélection des colonnes de données, puis clic sur l'icône "Scatter" dans la barre d'outils pour générer un graphique de dispersion.

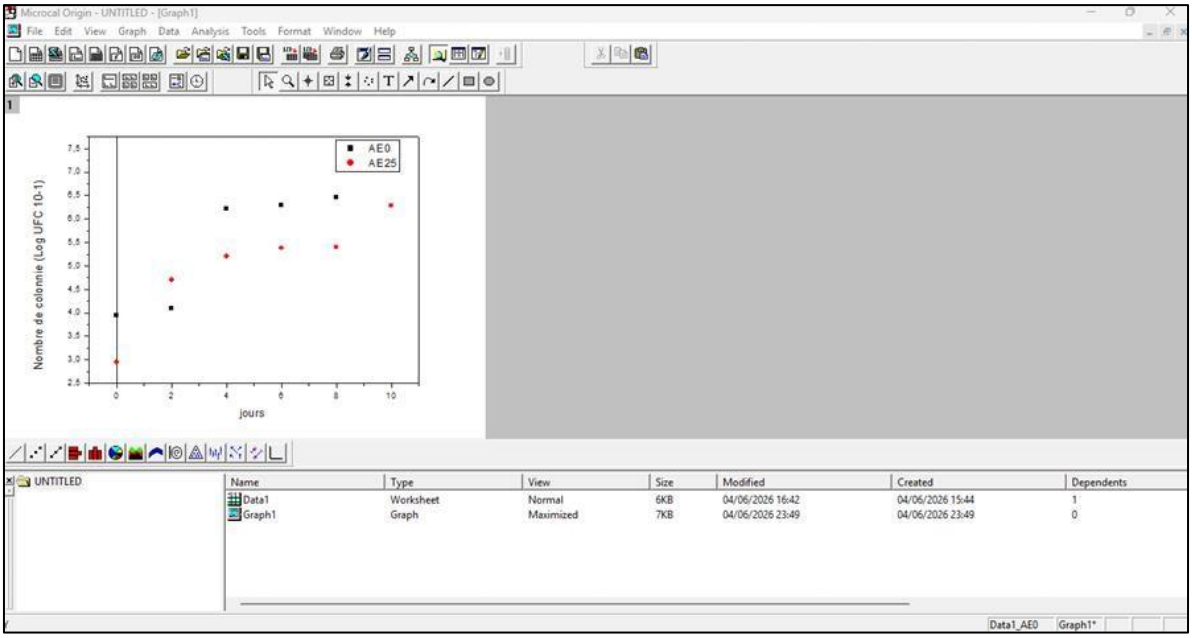


Figure30. Tracé des courbes

4. Personnalisation des axes

Un double-clic sur les titres des axes permet d'accéder à la fenêtre de configuration afin de les personnaliser selon les variables étudiées (Temps (j), UFC/ml, pH, etc.).

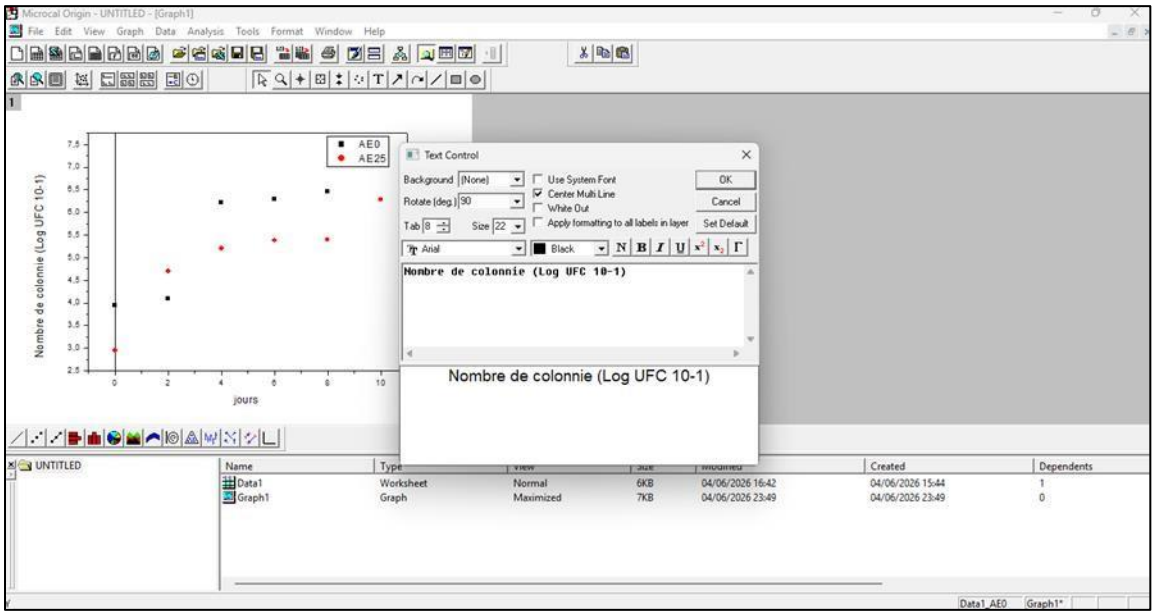


Figure 31. Personnalisation des axes

5 Modélisation de la courbe de croissance

Par l'utilisation de l'option" Line +Symbol" on obtient la modélisation

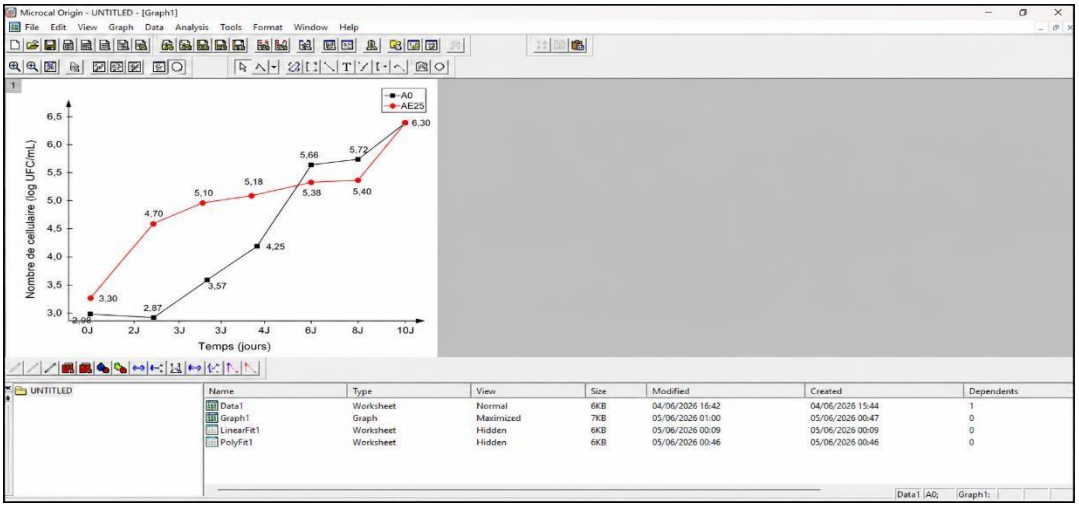


Figure 32. Modélisation de la courbe de croissance

Résultats & Discussion

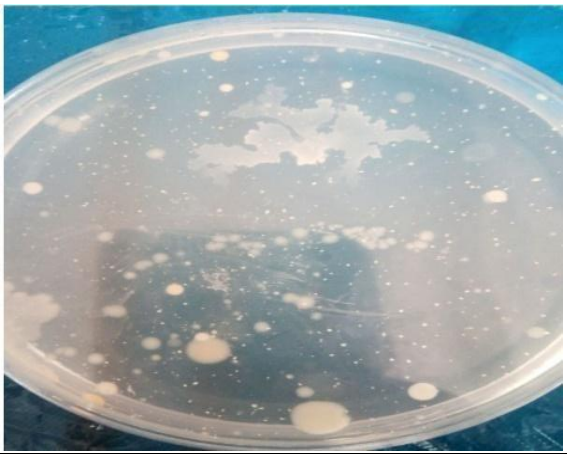
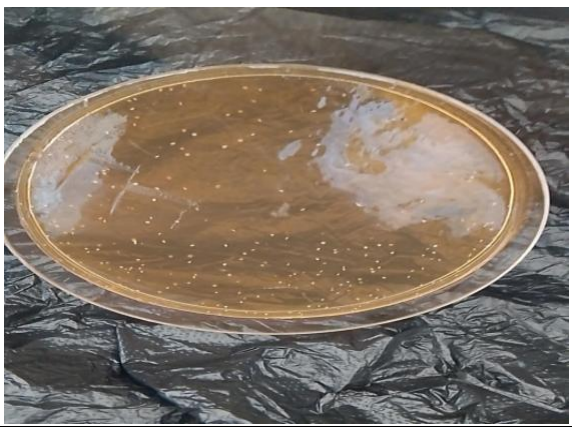
2. Résultats et Discussions

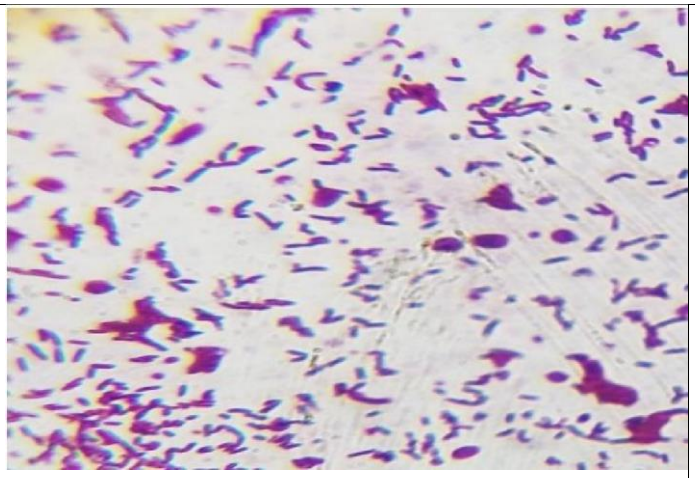
2.1. Résultats

2.1.1. Culture bactérienne

Il est important de noter que l'objectif de cette étude est le contrôle des cinétiques de développement des bactéries lactiques dans le lait cru réfrigérée a 4 °C durant 10 jours, en présence et en absence d'extrait végétal.

Tableau 8. Description macroscopique et microscopique des colonies

Flore totale Aérobie mésophile Sur gélose Nutritive		Aspect macroscopique des colonies Sur gélose nutritive. Les colonies sont de tailles différentes de 1 à 3 mm. La plupart des colonies apparaissent blanches et rondes à contour régulier
Sur milieu MRS		Les colonies sont de forme ronde, grande ou petite de couleur blanchâtres

Lactobacillus		Bâtonnets coccobacilles à Gram positif, groupés en paires ou en chaînettes.

2.1.2. Evolution du pH

De 0 à 6 jours de conservation, une diminution progressive du pH a été observée, passant de 7,37 à 4,76. Cette acidification peut être attribuée principalement à l'activité métabolique des bactéries lactiques naturellement présentes dans le lait, notamment les genres Lactobacillus,Lactococcus et Enterococcus (Fox et McSweeney, 1998 ; O'Callaghan et Van Sinderen, 2016).

Ces microorganismes utilisent le lactose comme substrat énergétique et le transforment en acide lactique, entraînant ainsi une augmentation de l'acidité du milieu et une diminution progressive du pH (Walstra et al., 2006 ; Prescott et al., 2011). L'accumulation de l'acide lactique au cours du stockage favorise l'établissement d'un environnement plus acide, limitant le développement de certains microorganismes indésirables et contribuant à la stabilité microbiologique du lait (Salaün et al., 2005).

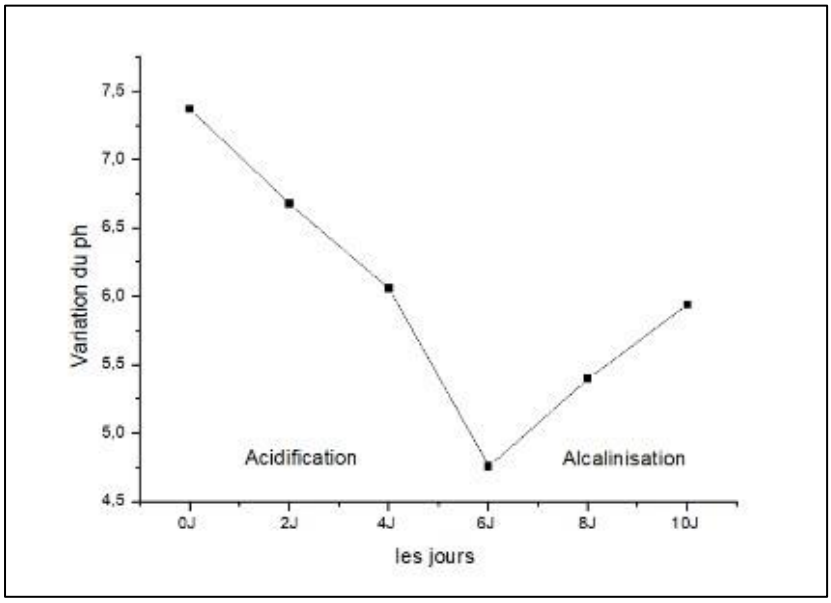


Figure 33. Les variations du pH durant 10 jours de réfrigération du lait.

Au huitième jour, une légère augmentation du pH a été observée, celui-ci passant de 4,76 à 5,40. Au dixième jour, cette augmentation s'est poursuivie pour atteindre 5,94. Cette augmentation peut être expliquée par le développement de bactéries psychrotrophes, notamment Pseudomonas spp., capables de se multiplier à basse température et de produire des enzymes protéolytiques (Cousin, 1982 ; Dousset et al., 1988). Par ailleurs, le pouvoir tampon du lait, assuré principalement par les caséines ainsi que par les sels minéraux (phosphates et citrates), contribue à stabiliser les variations du pH, en neutralisant les acides ou les bases produits par les activités microbiennes. Ainsi, malgré la production d'acide lactique ou de composés basiques, les variations de pH restent modérées et progressives (Salaün et al., 2005 ; Agroscope, 2013).

2.1.3. Contrôle de la présence microbienne dans l'extrait aqueux

On observe la présence de colonies au niveau des dilutions 10^{-3}, 10^{-4} et 10^{-5}, tandis que les boîtes correspondant aux dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ne présentent aucune croissance microbienne, indiquant une culture négative (Figure34). Ces résultats montrent que la croissance microbienne augmente lorsque la dilution diminue. Cette prolifération pourrait être attribuée à la flore microbienne saprophyte naturellement présente sur la plante.



Figure 34. Contrôle microbien de l'EA.

2.1.4. Dynamique de la croissance microbienne

L'évolution de la dynamique de croissance microbienne des bactéries lactiques du lait conservé à 4°C a été suivie durant 10 jours. L'échantillonnage a été effectué après certains intervalles de temps (0, 2, 4, 6, 8 et 10 jours), ou la flore lactique a été dénombrée. Les données complètes sont présentées en détail, tandis que les valeurs résumées de la flore microbienne, exprimées en log UFC·mL^{-1}, figurent dans le Tableau 9

Jours	lait	lait+ extrait
0	3 ,95	3,92
2	4,09	4,7
4	6,22	5,21
6	6,3	5,38
8	7,36	5,4
10	7,31	6,29

Tableau 9. Evolution de la croissance microbienne en log UFC. mL-1 des bactéries lactiques du lait à 4 °C durant 10 jours

L'évolution des bactéries lactiques au cours du stockage à 4 °C a révélé une augmentation progressive de la charge microbienne dans les deux échantillons étudiés. Au début de l'expérience (J0), les charges microbiennes étaient pratiquement similaires, avec 3,95 log UFC·mL⁻¹ pour L0 et 3,92 log UFC·mL⁻¹ pour L1. Après deux jours de conservation, une augmentation légèrement plus marquée a été observée dans L1 (4,70 log UFC·mL⁻¹) comparativement à L0 (4,09 log UFC·mL⁻¹). Cette différence peut être attribuée à la variabilité biologique des échantillons ou à une phase d'adaptation des microorganismes présents (Prescott et *al*., 2011).

À partir du quatrième jour, la croissance des bactéries lactiques devient plus importante dans L0 que dans L1. Les charges microbiennes de L0 (lait sans extrait) atteignent respectivement 6,22 ; 6,30 ; 7,36 et 7,31 log UFC·mL⁻¹ aux jours 4, 6, 8 et 10, alors que celles de L1 restent plus faibles, avec des valeurs de 5,21 ; 5,38 ; 5,40 et 6,29 log UFC·mL⁻¹ aux mêmes périodes. L'écart maximal est observé au huitième jour, où une réduction d'environ 1,96 log UFC·mL⁻¹ est enregistrée dans L1(lait avec extrait) par rapport à L0. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux d'*Origanum vulgare* exerce une activité antimicrobienne capable de ralentir la prolifération de la flore lactique au cours du stockage réfrigéré du lait. Cette action inhibitrice est attribuée aux composés phénoliques de l'origan, notamment le carvacrol et le thymol, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008). Des études antérieures ont également démontré l'activité inhibitrice de l'origan vis-à-vis de diverses bactéries d'altération et pathogènes (Nostro et al., 2004).

Le dépassement du seuil de 7 log UFC/mL représente un risque sanitaire potentiel, particulièrement pour la transformation fromagère ou la consommation directe. Ces résultats soulignent l'importance d'un traitement rapide du lait cru et la nécessité d'une hygiène rigoureuse dès la traite pour limiter la contamination initiale (Kable et al., 2019).

2.1.5. Traitement biomathématique

Les moyennes des résultats obtenus pour les dénombrements des bactéries lactiques sur milieu MRS dans les échantillons de lait stockés à 4 °C ont été traitées à l'aide du logiciel Origin 06. Ce traitement a permis de tracer les courbes de cinétique de croissance microbienne (Figure35) et de déterminer les paramètres de croissance, à savoir : le taux de croissance maximal (µmax), la durée de la phase de latence (λ), ainsi que la concentration maximale en biomasse atteinte (Xmax).

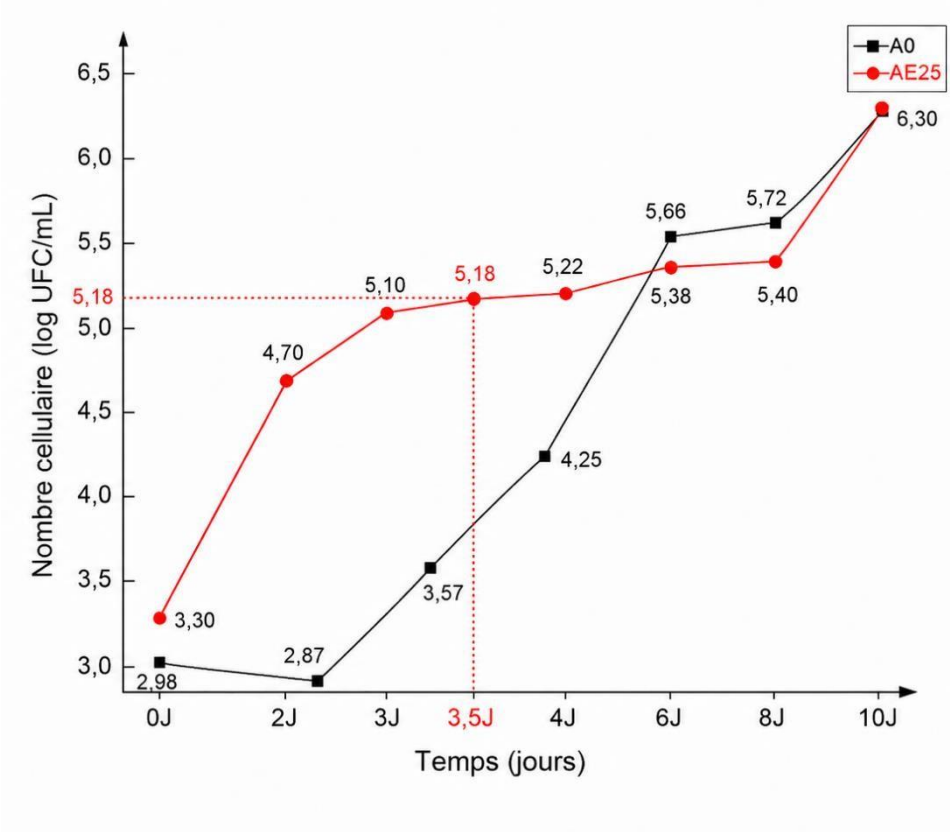


Figure 35. Courbes de croissance du nombre des bactéries lactique obtenues par le logiciel origine 06 dans le lait réfrigéré pendant 10 jours à 4 °C (dans le lait sans extrait et le lait additionne d'extrait), provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie.

À partir des données expérimentales et après application du modèle sigmoïdal via ORIGIN 6, les paramètres cinétiques suivants ont été déterminés (Tableau 10) :

Tableau 10. Les valeurs des paramètres de croissance microbiennes des bactéries lactiques dans le lait

Ferme / Les cordonnes Les altitudes(m)	**localisation géographiques**	**%EA**	**X max**	**µ max**	**G**	
Ferme d'Ouled Khelouf (Mila)	36°03′32″ N ; 6°08′19″ E	926	0	7,31	0,337	2,98
			25	6,29	0,360	3.5

X max : Niveau maximal de croissance (Log UFC.mL-1) µ max :

Vitesse maximale de croissance (Δ Log UFC.mL−1*jour)

G : Temps de génération (Jours) = 1/µ max

Les résultats des paramètres cinétiques de croissance sont transformés en histogrammes (Figure36).

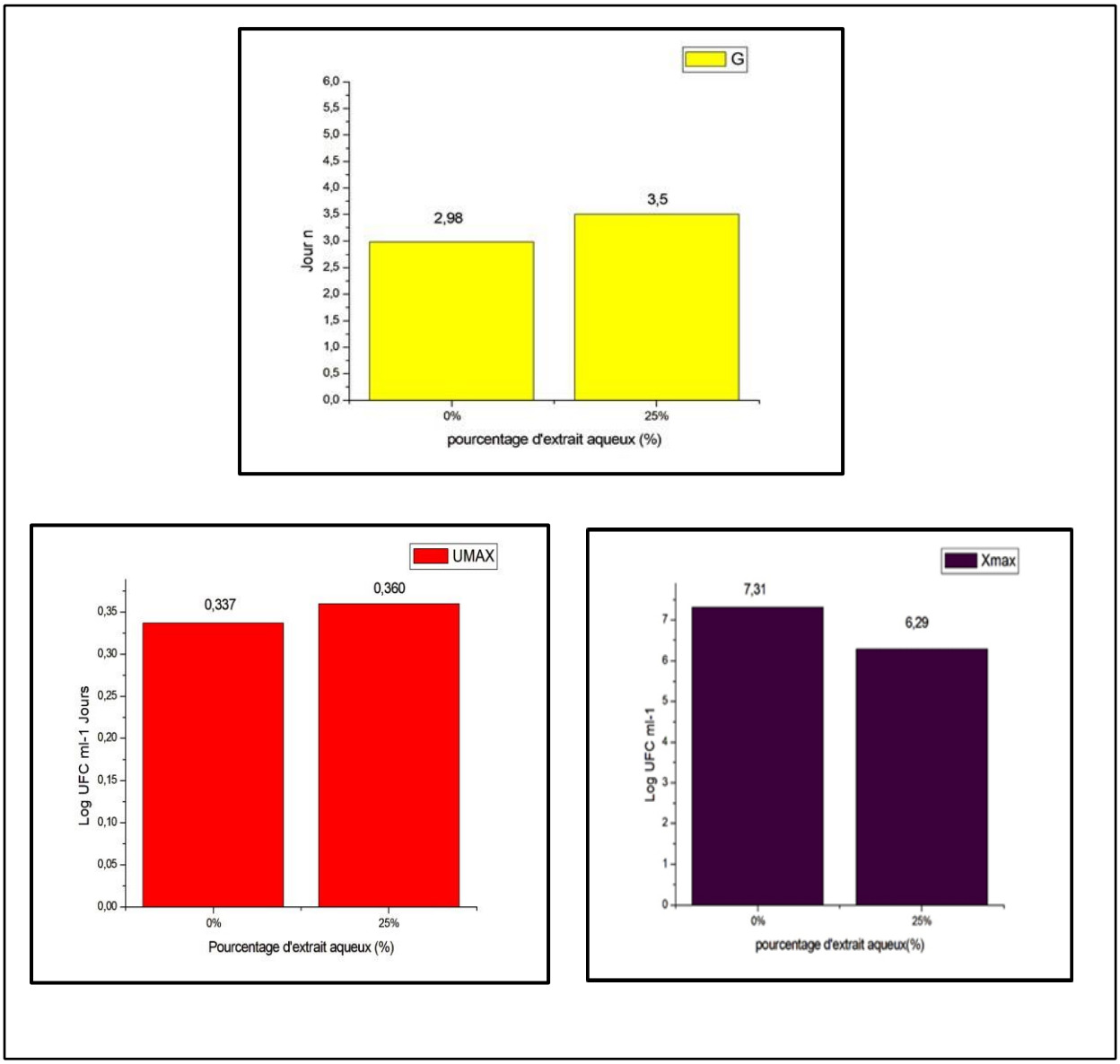


Figure 36. Effet de l'ajout de l'extrait aqueux sur les paramètres de croissance.

Microbienne : la croissance maximale (X max), la vitesse maximale de croissance (µ max) Et le temps de générations (G).

La concentration 25% d'EA a donné le temps de génération le plus long (3,5jours) avec un niveau maximal (X max) faible de 6,29 Log UFC.mL-1 par rapport au témoin (7, 31 Log UFC. mL^{-1}).

Donc la durée de vie du lait est améliorée par l'ajout d'EA à 25% par rapport au témoin

2.2. Niveau de croissance initiale

La dynamique de la croissance microbienne sur gélose MRS pendant 10 jours de stockage à 4 °C est représentée sur la Figure, tandis que le Tableau rapporte les paramètres de croissance microbienne obtenus.

Le nombre initial des bactéries lactiques dans les échantillons de lait cru prélevés dans la ferme

(bassin) été de 3,95 log UFC ml -1 et pour le lait cru avec l'extrait d'origanum été 3,92 Log UFC ml-1. Ces valeurs ne dépassaient pas la limite d'hygiène (4.69 log UFC. mL-1) rapportée par Cempírková et Mikulová (2009) et Gargouri et al. (2013). Cela dénote le respect des bonnes pratiques d'élevage, un bon état de santé des animaux et un environnement de ferme hygiénique appréciable.

Les produits végétaux sont largement utilisés pour aromatiser les aliments et améliorer leurs qualités organoleptiques L'*Origanum vulgare* est particulièrement riche en carvacrol et en thymol, deux composés capables de perturber la membrane cellulaire bactérienne et d'altérer certaines fonctions métaboliques essentielles, limitant ainsi la croissance et la multiplication des microorganismes (Carson et al., 2002). La présence de ces molécules pourrait contribuer à l'effet inhibiteur observé sur la croissance des bactéries lactiques au cours du stockage.

2.3. Niveau de croissance maximale

Après 10 jours de stockage, la croissance microbienne maximale a atteint 7,31 log UFC·mL^{-1} dans l'échantillon témoin contre 6,29 log UFC·mL^{-1} dans l'échantillon traité par l'extrait. Cette réduction de 1,02 log UFC·mL^{-1} met en évidence l'effet inhibiteur de l'extrait sur le développement bactérien. Toutefois, la croissance observée dans les deux échantillons indique que certaines bactéries, notamment les bactéries lactiques, ont conservé leur capacité d'adaptation et de multiplication durant la conservation.

Des résultats similaires ont été rapportés en Algérie et à l'étranger. En Algérie, Boubendir et al. (2016) ont observé une augmentation progressive des populations bactériennes dans le lait cru réfrigéré au cours du stockage, mettant en évidence la capacité d'adaptation de certaines flores bactériennes aux basses températures. Dans une autre étude réalisée en milieu rural algérien, Khedid et al. (2009) ont montré que les conditions d'hygiène insuffisantes lors de la traite, du transport et du stockage favorisent le développement de bactéries psychrotrophes

même sous réfrigération. À l'échelle internationale, Griffiths et Phillips (2000) ont rapporté que certaines bactéries comme les bactéries lactiques du lait peuvent maintenir leur croissance à froid grâce

à leurs mécanismes d'adaptation physiologique. De plus, Burt (2004) a démontré que les extraits naturels riches en composés antimicrobiens réduisent la croissance bactérienne sans l'éliminer totalement. Ces observations concordent avec les résultats obtenus dans la présente étude, où la croissance maximale a été réduite de 7,31 log UFC·mL^{-1} dans le témoin à 6,29 log UFC·mL^{-1} en présence de l'extrait après 10 jours de stockage.

2.4. La phase de latence

Les temps de génération (λ) obtenus dans la présente étude allaient de 2,98 presque 3 jours et de 3,5 jours dans le lait cru sans extrait et dans le lait avec extrait respectivement. Peu d'études ont évalué les paramètres microbiens de croissance pendant la réfrigération du lait. Serrer et al. (2023) ont mis en évidence un allongement significatif de la phase de latence dans du lait cru réfrigéré additionné d'extraits aqueux de romarin et d'origan. Les auteurs ont observé que la durée de la phase de latence passait de 1,20 ± 0,80 à 1,66 ± 0,92 jours dans les échantillons supplémentés en romarin et de 4,12 ± 0,11 à 5,04 ± 0,97 jours dans ceux additionnés d'origan. Cette augmentation a été attribuée à l'activité antimicrobienne des composés phénoliques présents dans ces extraits, notamment le thymol et le carvacrol, capables de retarder l'adaptation et la multiplication des microorganismes.

Toutefois, les valeurs de phase de latence enregistrées dans la présente étude demeurent inférieures à celles rapportées par Boubendir et al. (2016) dans du lait cru réfrigéré provenant d'une région semi-aride algérienne, où une phase de latence particulièrement longue, comprise entre 6,7 et 10,5 jours, a été observée. Les auteurs ont attribué cette croissance microbienne lente à la composition spécifique du microbiote laitier ainsi qu'à la présence potentielle de substances bioactives d'origine végétale issues de l'alimentation des animaux. Ces différences suggèrent que la durée de la phase de latence est influencée non seulement par l'ajout d'extraits végétaux, mais également par les caractéristiques microbiologiques initiales du lait, les conditions d'élevage, l'alimentation animale et les conditions de conservation.

La phase de latence correspond à une étape physiologique durant laquelle les cellules bactériennes restent métaboliquement actives sans entrer immédiatement en phase de

multiplication exponentielle. Sa durée dépend de plusieurs facteurs, notamment la température, le stress initial, la composition du milieu (lactose, protéines, minéraux) et le type d'espèces bactériennes présentes (Madigan, 2018).

Dans la présente étude, un retard de croissance microbienne a été observé dans le lait additionné d'extrait aqueux d'origan par rapport au lait témoin. Cette différence traduit une meilleure stabilité microbiologique du lait traité. Elle suggère également la présence de molécules bioactives dans l'extrait aqueux d'Origanum vulgare, capables d'influencer le développement microbien au cours de la conservation.

Ce comportement peut être expliqué par l'activité antimicrobienne des composés phénoliques de l'origan, notamment le thymol et le carvacrol, reconnus pour leur capacité à perturber les membranes cellulaires et à inhiber la croissance bactérienne. Des résultats similaires ont été rapportés par Gaysinsky et al. (2007), qui ont mis en évidence l'effet inhibiteur des composés phénoliques dans des matrices alimentaires. De même, Burt (2004) a démontré l'efficacité des extraits végétaux riches en thymol et carvacrol contre plusieurs bactéries impliquées dans la détérioration des aliments. Par ailleurs, Ananda Baskaran et al. (2009) ont confirmé l'activité antibactérienne de divers extraits végétaux sur des bactéries Gram positives et Gram négatives.

L'étude de Pasca et al. (2015) a montré que l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis analysée sur les microorganismes du lait présentait une activité antibactérienne contre Staphylococcus spp., Aeromonas hydrophila et Bacillus cereus, confirmant ainsi l'efficacité des composés aromatiques végétaux contre plusieurs bactéries impliquées dans l'altération et la contamination du lait.

En fin, il est reconnu que l'alimentation des ruminants peut influencer la composition du lait. Les pâturages riches en plantes aromatiques peuvent augmenter la teneur en composés volatils tels que les terpènes (Larsen et al., 2012) et modifier le profil lipidique du lait (Rubino et al., 2006).

En résumé, une analyse comparative entre le lait de contrôle et le lait à forte concentration en extrait aqueux d'origan nous permet de démontrer que l'utilisation de ces extraits végétaux a permis d'inhiber le développement microbien et d'assurer la stabilité du lait pendant la

réfrigération, ce qui met en évidence son potentiel comme conservateur naturel. (Burt, 2004 ; Gaysinsky et al., 2007).

2.5. Régression linéaire

Il est noté que la régression linaire de la corrélation entre les concentrations de l'extrait aqueux d'Origanum V. et les niveaux de croissance maximales sont favorablement linéaires avec une valeur de R2 de 1.

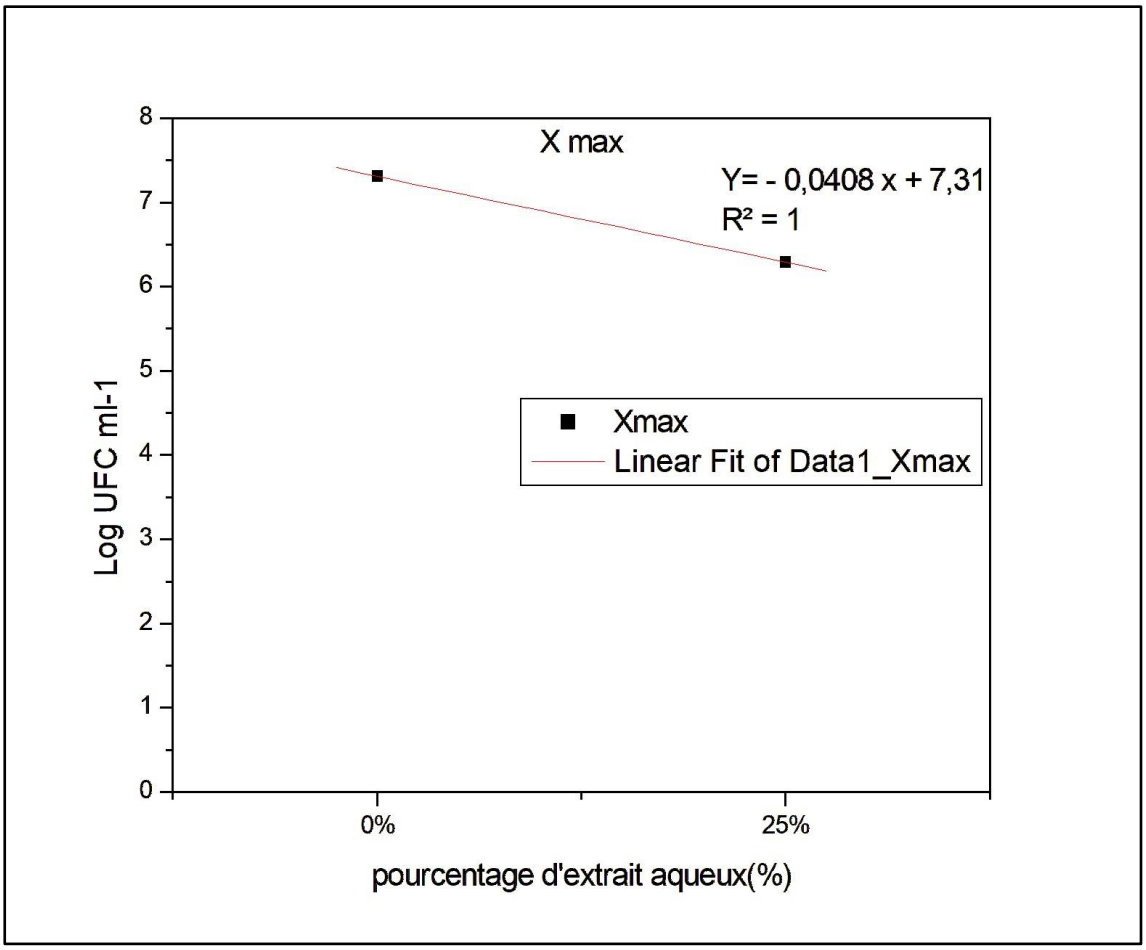


Figure 37. Régression linéaire de la corrélation entre les concentrations de l'EA et la croissance microbienne maximal (X max).

Conclusion& perspectives

Conclusion générale

Cette étude s'est attachée à évaluer l'évolution des bactéries lactiques dans le lait cru réfrigéré, collecté dans une ferme laitière d'ouled khelouf de la région de Mila (Algérie) et aussi dans le lait cru additionne d'un extrait d'origanum, Le travail a été structuré autour de deux objectifs principaux d'une part, suivre la dynamique de développement des bactéries lactiques durant une période de réfrigération à 4 °C sur 10 jours, évaluer l'effet d'extrait aqueux ajoutée au lait réfrigérer sur la croissance des bactéries lactiques.

Les échantillons de lait cru ont été conservés dans des conditions contrôlées de température, et des prélèvements ont été réalisés à intervalles réguliers afin de suivre l'évolution de la flore lactique au cours du stockage. L'ensemencement sur milieu MRS, sélectif pour les bactéries lactiques, a permis d'évaluer la dynamique de croissance de cette population microbienne. Les résultats ont montré une augmentation du nombre des bactéries lactiques dans les deux échantillons durant la conservation réfrigérée. Au cours des premiers jours de stockage, une croissance limitée a été observée, correspondant à une phase de latence durant laquelle les bactéries s'adaptent aux conditions du milieu. Par la suite, le lait cru (AE0) a présenté une augmentation plus rapide de la population bactérienne, traduisant l'entrée dans une phase exponentielle à partir du quatrième jour. En revanche, le lait cru additionné d'un extrait d'*Origanum* (AE25) a montré une croissance plus progressive et moins marquée, indiquant un

ralentissement de la phase exponentielle sous l'effet de l'extrait végétal.

L'étude des caractéristiques culturales et morphologiques des colonies développées sur les milieux de culture (MRS, gélose nutritive) a mis en évidence une diversité phénotypique traduisant la richesse microbienne du lait cru. Les colonies présentaient des formes, couleurs et tailles variées, reflet de la coexistence de différentes espèces bactériennes.

L'observation au microscope après coloration de Gram a mis en évidence une prédominance de bactéries Gram positives présentant une morphologie en bâtonnets. Ces cellules ont été observées soit isolément, soit organisées en chaînettes, ce qui correspond aux caractéristiques morphologiques généralement associées aux bactéries lactiques, notamment celles appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*. En effet, ces bactéries sont réputées pour leur aptitude à produire divers agents antimicrobiens, notamment

des acides organiques (comme l'acide lactique), du peroxyde d'hydrogène, ainsi que des bactériocines, des peptides antibactériens particulièrement actifs. Grâce à ces composés, Lactobacillus joue un rôle essentiel dans la protection du lait contre les bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus saprophyticus*. Des recherches antérieures ont mis en évidence le pouvoir inhibiteur de *L. plantarum* et *L. casei* vis-à-vis de ces pathogènes, confirmant leur fort potentiel en tant qu'agents de biopréservation. Ainsi, une présence stable et équilibrée de Lactobacillus dans le lait réfrigéré peut contribuer à une meilleure stabilité microbiologique, à l'allongement de la durée de conservation du lait cru, tout en limitant la croissance des micro-organismes altérants. Ce mécanisme naturel de protection renforce la sécurité hygiénique des produits laitiers, sans nécessiter l'ajout de conservateurs chimiques.

La construction de courbes cinétiques a permis de modéliser la dynamique de croissance des bactéries lactiques dans le lait cru ainsi que dans le lait cru additionné d'un extrait d'*Origanum*. Elle a mis en évidence les différentes phases de croissance (latence, exponentielle et stationnaire). L'application d'un modèle biomathématique, basé notamment sur la régression linéaire, a renforcé l'interprétation des données et permis de quantifier les principaux paramètres de la croissance bactérienne à basse température.

Il est remarqué aussi qu'il existe un retard de croissance microbienne notable dans le lait de qui contient une concentration de 25 % d'extrait aqueux d'*Origanum* caractérisée par une phase de latence prolongée. Cette activité antimicrobienne pourrait s'expliquer par la richesse et la complexité chimique de l'extrait, dont les composés bioactifs peuvent agir de manière individuelle ou synergique sur les micro-organismes. Ainsi, la concentration de 25 % représente le meilleur compromis entre efficacité inhibitrice et impact sur la dynamique de croissance microbienne. Elle contribue également à la stabilité microbiologique du lait en ralentissant le développement des bactéries et en limitant les phénomènes d'altération.

Aussi comme perspectives il est intéressant, dans des travaux futurs, d'évaluer la qualité sensorielle du produit fini afin d'analyser l'impact de l'ajout de l'extrait aqueux (EA) sur son acceptabilité par les consommateurs aussi ils peuvent être ajoutés des extraits de plante en tant que bio préservateurs pour améliorer la sécurité du lait e sa durée de conservation.

Références Bibliographiques

References

A

Abdul Sattar, B. A., Hassan, A. M., & Hassan, A. S. (2012). In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis*. *Ibn Al-Haitham Journal for Pure and Applied Science, 25*(2), 33–39.

Agroscope. (2013). *Le pouvoir tampon du lait et ses conséquences technologiques*. Agroscope Liebefeld-Posieux Research Station ALP.

Al-Oqail, M. M., Farshori, N. N., Al-Sheddi, E. S., & Siddiqui, M. A. (2019). *Origanum vulgare* L. extract as a potential natural sunscreen agent. *Saudi Pharmaceutical Journal, 27*(7), 1025–1032. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.08.005

Al-Snafi, A. E. (2024). Traditional uses, bioactive constituents and pharmacological importance of *Origanum vulgare*: A review. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive, 8*(2), 79–95.

Ananda Baskaran, S., Kazmer, G. W., Hinckley, L., Andrew, S. M., & Venkitanarayanan, K. (2009). Antibacterial effect of plant-derived antimicrobials on major bacterial mastitis pathogens in vitro. *Journal of Dairy Science, 92*(4), 1423–1429. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1384

Anonymous. (1986). Validation of the publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB. Validation list no. 20. *International Journal of Systematic Bacteriology, 36*(2), 354–356. https://doi.org/10.1099/00207713-36-2-354

Antoniadou, M., Rozos, G., Vaou, N., Zaralis, K., Ersanli, C., Alexopoulos, A., Dadamogia, A., Varzakas, T., Tzora, A., & Voidarou, C. C. (2024). Comprehensive bio-screening of phytochemistry and biological capacity of oregano (*Origanum vulgare*) and *Salvia triloba* extracts against oral cariogenic and food-origin pathogenic bacteria. *Biomolecules, 14*(6), Article 619. https://doi.org/10.3390/biom14060619

Augustin, J.-C. (2005). *Modélisation de la croissance microbienne et gestion de la sécurité sanitaire des aliments.*

Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. (s.d.). *Streptococcus pyogenes: Caractéristiques générales.*

Aydogdu, T., O'Mahony, J. A., & McCarthy, N. A. (2023). pH, the fundamentals for milk and dairy processing: A review. *Dairy, 4*(3), 395–409. https://doi.org/10.3390/dairy4030026

Abdelhafid Boubendir, Diana Isabella Serrazanetti, Mohamed Abdelhafid Hamidechi, Lucia Vannini & Maria Elisabetta Guerzoni (2016)

B

BacDive. (2025). *Streptococcus pyogenes* CCUG 37683. *The Bacterial Diversity Metadatabase*. Consulté le 18 avril 2026, à l'adresse https://bacdive.dsmz.de/strain/149405

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology, 46*(2), 446–475. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106

Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., & Abdelouahid, D. E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie, 6*(3), 153–159. https://doi.org/10.1007/s10298-008-0310-6

Belhattab, R. (2018). *Composition chimique et propriétés antioxydantes, antifongiques et antiaflatoxinogènes d'extraits de* Origanum glandulosum *Desf. et* Marrubium vulgare *L. (Famille des Lamiaceae)* [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1]. http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1338

Boubendir, A., Serrazanetti, D. I., Hamidechi, M. A., Vannini, L., & Guerzoni, M. E. (2016). Changes in bacterial populations in refrigerated raw milk collected from a semi-arid area of Algeria. *Annals of Microbiology, 66*(2), 777–783. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1144-5

Bouhdid, S., Abrini, J., Zhiri, A., Espuny, M. J., & Manresa, A. (2009). Investigation of

functional and morphological alterations in bacteria exposed to essential oils. *Journal of Applied Microbiology, 106*(5), 1558–1568. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04111.x

Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., & Hasib, A. (2016). *Activité antimicrobienne des ...*

Buchanan, R. E. (1918). Life phases in a bacterial culture. *Journal of Infectious Diseases, 23*, 109–125.

Burt, S. A. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology, 94*(3), 223–253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth. *International Journal of Food Microbiology, 23*(3–4), 277–294. https://doi.org/10.1016/01681605(94)90157-0

Braho, L. Ž., Stefanović, O. D., Vasić, S. M., Radojević, I. D., Dekić, M. S., & Comić, L. R. (2013). Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control, 33*(2), 498–504. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.020

C

Caillaud, M.-A. (2013). *Étude de l'espèce Origanum vulgare L.* (Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes).

Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46*(6), 1914–1920. https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1914-1920.2002

Cappuccino, J. G., & Welsh, C. T. (2017). *Microbiology: A laboratory manual* (11th ed.). Pearson.

Cempírková, R., & Mikulová, M. (2009). Incidence of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk. *Czech Journal of Animal Science, 54*(2), 65–73.

Chen, C., Zhao, S., Hao, G., et al. (2019). Role of lactic acid bacteria in food preservation. *Food Control, 98*, 331–340.

Chentouf, H. F. (2015). *Effet des substances antimicrobiennes produites par Leuconostoc mesenteroides isolées à partir du lait de chamelle algérien sur Listeria spp. dans les produits alimentaires* (Thèse de doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella). https://dspace.univoran1.dz/handle/123456789/2196

Chishti, S., Kaloo, Z. A., & Sultan, P. (2013). Medicinal importance of genus *Origanum*: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 5*(10), 170–177. https://doi.org/10.5897/JPP2013.0285

Claeys, W. L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Vandenplas, Y., & Herman, L. (2013). Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control, 31*(1), 251–262. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.035

Coeuret, V., Gueguen, M., & Vernoux, J. P. (2004). In vitro screening of potential probiotic activities of selected lactobacilli isolated from unpasteurized milk products for incorporation into soft cheese. *Journal of Dairy Research, 71*(4), 451–460. https://doi.org/10.1017/S0022029904000469

Corrieu, G., & Luquet, F. M. (2008). *Bactéries lactiques : De la génétique au ferment*. Tec & Doc/Lavoisier.

Costa, T. J. N., Costa, I. M., Rocha, W. C. D., Campos, M. E. C., Oliveira, B. C., Santos, T. E. S., Sartori, D., Ferreira, A. A., Fante, C. A., de Alvarenga, É. R., de Souza, M. R., Rossi, G. A. M., & Salotti-Souza, B. M. (2025). *Lactococcus lactis* GV103, potentially probiotic, applied in the development of lactose-free fermented milk. *Brazilian Journal of Microbiology*. Advance online publication. https://doi.org/10.1007/s42770-025-01709-7

Cousin, M. A. (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. *Journal of Food Protection, 45*(2), 172–207. https://doi.org/10.4315/0362-028X-45.2.172

Craig, E. A., Gambill, B. D., & Nelson, R. J. (1993). Heat shock proteins: Molecular chaperones of protein biogenesis. *Microbiological Reviews, 57*(2), 402–414. https://doi.org/10.1128/MMBR.57.2.402-414.1993

D

De Filippis, F., Pasolli, E., & Ercolini, D. (2020). The food-gut axis: Lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome, and human health. *FEMS Microbiology Reviews, 44*(4), 454–489. https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa015

Dekić, L. R., & Comić, L. (2013). *Food Control, 33*(2), 498–504.

Dellarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Tec & Doc/Lavoisier.

Djadouni, F. (2013). *Évolution de l'activité antimicrobienne des isolats des bactéries…*

Dousset, X., Cormier, M., & Beaudet, R. (1988). Psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. *Le Lait, 68*, 219–236.

Dubois, J., Mitterand, H., & Dauzat, A. (2006). *Dictionnaire étymologique et historique du français*. Larousse.

Duru, I. C., Ylinen, A., Belanov, S., Pulido, A. A., Paulin, L., & Auvinen, P. (2021). Transcriptomic time-series analysis of cold- and heat-shock response in psychrotrophic lactic acid bacteria. *BMC Genomics, 22*, Article 28. https://doi.org/10.1186/s12864-020-07344-8

Dekic, Ljiljana R., Comic. (2013). Food Control 33 498-504.

E

Endo, A. (2020). Update on taxonomy and identification methods of lactic acid bacteria and recent studies toward a reclassification of the genus *Lactobacillus*. *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria, 31*(1), 3–9. https://doi.org/10.4109/jslab.31.3

F

Fackrell, H. (s.d.). *Streptococcus*. University of Windsor. Consulté le 18 avril 2026.

Figueredo, G. (2007). *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origan (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* (Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal).

Fleurentin, J. (2007). *Les plantes qui nous soignent : Tradition et thérapeutique*. Ouest-France Food and Agriculture. 93(11), 2707–2714.

Fox, E. (s.d.). *Micrograph Lactococcus lactis gram stain 1000X p000176* [Image]. OER Commons. https://oercommons.org/courseware/lesson/96652/overview

Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (1998). *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic & Professional.

Fricker, M., Skanseng, B., Rudi, K., Stessl, B., & Ehling-Schulz, M. (2011). Shift from farm to dairy tank milk microbiota revealed by a polyphasic approach. *Journal of Dairy Science, 94*(10), 5141–5150. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4379

Fernández-Martínez, L. T., Javelle, A., & Hoskisson, P. A. (2024). Microbial primer: Bacterial growth kinetics. *Microbiology, 170*(2), Article 001428. https://doi.org/10.1099/mic.0.001428

G

Guetouache, M., Faid, A., & Mebarki, M. (2021). Characterization and identification of *Lactobacilli* from raw goat's milk came from the rural area of the province of Djelfa in Algeria. *IAR Journal of Clinical Medicine and Biochemistry, 1*(1), 21–30. https://doi.org/10.47310/iarjcmb.2021.v01i01.005

García-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic compound extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules, 15*(12),

8813–8826. https://doi.org/10.3390/molecules15128813

Gargouri, A., Hamed, H., & Elfeki, A. (2013). Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: Combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. *Journal of Food Science, 78*(9), M1405–M1411. https://doi.org/10.1111/17503841.12218

Gaysinsky, S., Taylor, T. M., Davidson, P. M., Bruce, B. D., & Weiss, J. (2007). Antimicrobial efficacy of eugenol, carvacrol, thymol, and cinnamaldehyde in milk against common foodborne pathogens. *Journal of Food Protection, 70*(11), 2631–2637. https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.11.2631

Gerday, C., & Glansdorff, N. (Eds.). (2007). *Physiology and biochemistry of extremophiles*. ASM Press.

Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G., & de Valdez, G. F. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control, 20*(2), 144–148. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.005

Goliaris, A. H., Chatzopoulou, P. S., & Katsiotis, S. T. (2002). Production of new Greek oregano clones and analysis of their essential oils. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 10*(1), 29–35. https://doi.org/10.1300/J044v10n01_04

González-Sánchez, M. J., González-Revuelta, L., & García-López, M. L. (2021). *Streptococcus*. In J. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (3rd ed., Vol. 3, pp. 507–515). Academic Press.

Griffiths, M. W., & Phillips, J. D. (2000). The microbiology of raw milk. In R. K. Robinson (Ed.), *Dairy microbiology handbook: The microbiology of milk and milk products* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Grumman, P., & Marahiel, M. A. (1996). Some like it cold: Response of microorganisms to cold shock. *Archives of Microbiology, 166*(5), 293–300.

https://doi.org/10.1007/s002030050386

Guetouache, M., Faid, A., & Mebarki, M. (2021). Characterization and identification of *Lactobacilli* from raw goat's milk came from the rural area of the province of Djelfa in Algeria. *IAR Journal of Clinical Medicine and Biochemistry, 1*(1), 21–30. https://doi.org/10.47310/iarjcmb.2021.v01i01.005

Guiraud, J. P., & Rosec, J. P. (2004). *Microbiologie alimentaire*. Dunod.

Gaysinsky, S., Davidson, P. M., Bruce, B. D., & Weiss, J. (2007). Effect of emulsified essential oils on the growth of food-related bacteria. *Journal of Food Protection, 70*(11), 2608–2614. https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.11.2608

Goliaris, A. H., Chatzopoulou, P. S., & Katsiotis, S. T. (2002). Production of new Greek oregano clones and analysis of their essential oils. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 10*(1), 29–35. https://doi.org/10.1300/J044v10n01_04

H

Halpern, M., & Zwirzitz, B. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*.

Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E., & Klaenhammer, T. R. (1989). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection, 52*(6), 384–387. https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.6.384

Hengge-Aronis, R. (2002). Bacterial stress responses in stationary phase. *Annual Review of Microbiology, 56*, 225–267. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160845

Hill, D., Sugrue, I., Arendt, E., & Stanton, C. (2022). After the storm—Perspectives on the taxonomy of Lactobacillaceae. *Microbial Genomics, 8*(10), e000910. https://doi.org/10.1099/mgen.0.000910

Holden, J. (2002). *Enterococcus faecalis shown by Gram stain of blood culture* [Photomicrograph]. IDImages. https://www.idimages.org/images/organismdetail/?imageid=1895&altimageid

Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. B. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: Biodiversity and taxonomy*. Wiley-Blackwell.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology, 3*, Article 12. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012

I

Ietswaart, J. H. A. (1980). *A taxonomic revision of the genus Origanum (Labiatae)*. Leiden University Press.

J

Jay, J. M. (2000). *Modern food microbiology* (6th ed.). Aspen Publishers.

K

Kable, M. E., Srisengfa, Y., Xue, Z., Coates, L. C., & Marco, M. L. (2019). Viable and total bacterial populations undergo equipment- and time-dependent shifts during milk processing. *Applied and Environmental Microbiology, 85*(13), e00270-19. https://doi.org/10.1128/AEM.00270-19

Kalhoro, M. S., Anal, A. K., Kalhoro, D. H., Hussain, T., Murtaza, G., & Mangi, M. H. (2023). Antimicrobial activities and biopreservation potential of lactic acid bacteria (LAB) from raw buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2023*, Article 8475995. https://doi.org/10.1155/2023/8475995

Kaloustian, J., El-Moselhy, T. F., & Portugal, H. (2003). Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochimica Acta, 401*(1–2), 77–86. https://doi.org/10.1016/S0040-6031(02)00539-3

Kato, Y., Sakala, R. M., Hayashidani, H., Kiuchi, A., Kaneuchi, C., & Ogawa, M. (2000). *Lactobacillus algidus* sp. nov., a psychrophilic lactic acid bacterium isolated from vacuumpackaged refrigerated beef. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50*(3), 1143–1149. https://doi.org/10.1099/00207713-50-3-1143

Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S., & Trivic, S. (2011). Antioxidant capacity of *Origanum vulgare* L. extracts. *Molecules, 16*(2), 1414–1425. https://doi.org/10.3390/molecules16021414

Khedid, K., El Marrakchi, A., Zinedine, A., & El Alami, M. (2009). Microbiological quality of raw milk in Morocco and related hygienic practices. *World Journal of Dairy & Food Sciences, 4*(2), 113–117.

Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., & Zinedine, A. (2009). Characterization of lactic acid bacteria isolated from one-humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological Research, 164*(1), 81–91. https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.10.008

Kilian, M., Slotved, H. C., Fuursted, K., D'Mello, A., & Tettelin, H. (2025). Re-evaluation of boundaries of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus oralis* and demonstration of multiple later synonyms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 75*(3), Article 006704. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006704

Kim, H., Kim, T., Kang, J., Kim, Y., & Kim, H. (2020). Is *Lactobacillus* Gram-positive? A case study of *Lactobacillus iners*. *Microorganisms, 8*(7), Article 969. https://doi.org/10.3390/microorganisms8070969

L

Lahiri, D., Nag, M., Dutta, B., & Dey, A. (2022). Lactic acid bacteria: Classification, applications, and health benefits. *Journal of Applied Microbiology, 132*(2), 1290–1318. https://doi.org/10.1111/jam.15450

Lahiri, D., Nag, M., Dutta, B., Sarkar, T., Pati, S., Edinur, H. A., & Ray, R. R. (2022). Lactic acid bacteria (LAB): Autochthonous and probiotic microbes for meat preservation and fortification. *Foods, 11*(21), Article 3393. https://doi.org/10.3390/foods11213393

Ietswaart, J. H. A. (1980). *A taxonomic revision of the genus Origanum (Labiatae)*. Leiden Botanical Series (Vol. 4). Leiden University Press.

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology, 15*(2), 67–78. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004

Li, H., Liu, L., Zhang, S., Uluko, H., Cui, W., & Lv, J. (2013). Potential use of *Lactobacillus casei* AST18 as a bioprotective culture in yogurt. *Food Control, 34*(2), 675–680. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.023

Liu, J. M., Fehér, C., Cao, M., Lu, F., & Jensen, P. R. (2021). Editorial: Lactic acid bacteria: Microbial metabolism and expanding applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9*, Article 794164. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.794164

Liu, S., Ma, Y., Zheng, Y., Zhao, W., Zhao, X., Luo, T., Zhang, J., & Yang, Z. (2020). Coldstress response of probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 by iTRAQ proteomic analysis. *Journal of Microbiology and Biotechnology, 30*(2), 187–195. https://doi.org/10.4014/jmb.1909.09021

Lombrea, A., Oniga, I., Pinzaru, I., & Hanganu, D. (2020). A recent insight regarding the phytochemistry and bioactivity of *Origanum vulgare* L. essential oil. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(24), Article 9653. https://doi.org/10.3390/ijms21249653

LPSN. (2025). *Streptococcus* Rosenbach 1884 (Approved Lists 1980). *List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature*. Consulté le 18 avril 2026, à l'adresse https://lpsn.dsmz.de/genus/streptococcus

LPSN. (s.d.). *Genus Lactococcus*. *List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature*. Consulté le 18 avril 2026, à l'adresse https://lpsn.dsmz.de/genus/lactococcus

Ludwig, W., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (2010). Revised road map to the phylum Firmicutes. In P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K. H. Schleifer, & W. B. Whitman (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., Vol. 3, pp. 1–13). Springer.

Larsen, M. K., Hymøller, L., Brask-Pedersen, D. B., & Weisbjerg, M. R. (2012). Milk fatty acid composition and production performance of Danish Holstein and Danish Jersey cows fed different amounts of linseed and rapeseed. *Journal of Dairy Science, 95*(7), 3569–3578. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5273

Liu, J. M., Fehér, C., Cao, M., Lu, F., & Jensen, P. R. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9*, 612285. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285

M

Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology, 3*, 371–394. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.03.100149.002103

Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.

Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock biology of microorganisms* (16th ed.). Pearson.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., et al. (2017). Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology, 44*, 94–102. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010

Martin, N. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2011). Symposium review: Effect of postpasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science, 94*(1), 2–14. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3428

Matamoros, S., Leroi, F., Cardinal, M., Gigout, F., Kasbi Chadli, F., Cornet, J., Prévost, H., & Pilet, M. F. (2009). Psychrotrophic lactic acid bacteria used to improve the safety and quality of vacuum-packaged cooked and peeled tropical shrimp and cold-smoked salmon. *Journal of Food Protection, 72*(2), 365–374. https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.2.365

Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients, 12*(6), Article 1679. https://doi.org/10.3390/nu12061679

Mebarki, N. (2010). *Étude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles vis-àvis des bactéries pathogènes* (Mémoire de magister, Université M'Hamed Bougara de Boumerdès).

Mercha, I., Lakram, N., Kabbour, M. R., Bouksaim, M., & Zkhiri, F. (2020). Activité antimicrobienne et potentiel probiotique de bactéries lactiques isolées du lait cru de chamelle.

Millette, M., Dupont, C., Archambault, D., & Lacroix, M. (2007). Partial characterization of bacteriocins produced by human *Lactococcus lactis* and *Pediococcus acidilactici* isolates. *Journal of Applied Microbiology, 102*(1), 274–282. https://doi.org/10.1111/j.13652672.2006.03044.x

Mohanakrishnan, K., Sowmya, N., Sumathi, G., Nithyalakshmi, J., & Suria, V. (2017). Antimicrobial activity of plant extracts and their application in food preservation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6*(8), 1234–1245.

Moreno-Gámez, S., et al. (2023). Microbial growth under limiting conditions—Future perspectives. *Microorganisms, 11*(8), 1974. https://doi.org/10.3390/microorganisms11081974

Mahfouf, N. (2018). *Étude de l'espèce Origanum vulgare L.* (Mémoire de master, Université Chadli Benjedid El Tarf).

N

Navarro Llorens, J. M., Tormo, A., & Martínez-García, E. (2010). Stationary phase in Gramnegative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews, 34*(4), 476–495. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00213.x

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Molecules, 18*(12), 14507–14530. https://doi.org/10.3390/molecules181214507

Nörnberg, M. F. B. L., Friedrich, R. S. C., Weiss, R. D. N., Tondo, E. C., & Brandelli, A. (2010). Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Dairy Technology, 63*(1), 41–46. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00546.x

Nostro, A., & Papalia, T. (2012). Antimicrobial activity of carvacrol: Current progress and future perspectives. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery, 7*(1), 28–35. https://doi.org/10.2174/157489112799829684

Nostro, A., Blanco, A. R., Cannatelli, M. A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A. S., & Alonzo, V. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *Letters in Applied Microbiology, 39*(3), 191–195. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01563.x

O

O'Callaghan, A., & van Sinderen, D. (2016). Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Frontiers in Microbiology, 7*, 925. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00925

Oregon Wild Marjoram (*Origanum vulgare*). (s.d.). *Go Botany, Native Plant Trust*. Consulté le 3 avril 2026, à l'adresse https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/origanum/vulgare/

Oren, A., & Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 71*(10), 005056. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005056

P

Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., et al. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80*(3), 837–890. https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-16

Patel, R., Smith, A., & Jones, B. (2024). Clinical and microbiological characterization of *Streptococcus* species: A 5-year retrospective study. *Journal of Clinical Microbiology, 62*(1), e01234-23. https://doi.org/10.1128/jcm.01234-23

Fernández-Martínez, L. T., Javelle, A., & Hoskisson, P. A. (2024). Microbial primer: Bacterial growth kinetics. *Microbiology, 170*(2), 001428. https://doi.org/10.1099/mic.0.001428

Pepper, I. L., Gerba, C. P., & Gentry, T. J. (2015). *Environmental microbiology* (3rd ed.). Academic Press.

Pieroni, A., Quave, C. L., & Santoro, R. F. (2005). Ethnobotanical knowledge of local medicinal plants in the Balkan Peninsula. *Journal of Ethnopharmacology, 100*(1–2), 117–132. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.017

Porcellato, D., Skeie, S. B., & Catozzi, C. (2018). Bacterial communities of raw milk and their contribution to quality and safety. *Current Opinion in Food Science, 20*, 1–6.

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2011). *Microbiology* (8th ed.). McGraw-Hill Education.

Psomas, E., Andrighetto, C., Lombardi, A., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2023). Characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and their probiotic potential. *Foods, 12*(3), 512. https://doi.org/10.3390/foods12030512

Pașca, C., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D., Bobiș, O., Bonta, V., Mărgăoan, R., Chirilă, F., & Fit, N. (2015). The assessment of the antibacterial activity of some plant extracts on normal and pathogenic microflora from milk. *Animal Science and Biotechnologies, 48*, 166–172.

Q

Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. FEMS Microbiology Reviews, 37(5), 664–698. https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030

R

Razola-Díaz, M. D. C., De Montijo-Prieto, S., Guerra-Hernández, E. J., Jiménez-Valera, M., Ruiz-Bravo, A., Gómez-Caravaca, A. M., & Verardo, V. (2024). Fermentation of orange peels by lactic acid bacteria: Impact on phenolic composition and antioxidant activity. *Foods, 13*(8), 1212. https://doi.org/10.3390/foods13081212

Rodríguez, E., Arqués, J. L., Núñez, M., Gaya, P., & Medina, M. (2005). Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in raw-milk cheese. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(7), 3399–3404.

Rosenbach, F. J. (1884). *Micro-organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen*. J. F. Bergmann.

Rubino, R., et al. (2006). Effect of pasture composition on milk fatty acid profile. *Journal of Dairy Science*.

S

Salaün, F., Mietton, B., & Gaucheron, F. (2005). Buffering capacity of dairy products. International Dairy Journal, 15(2), 95–109. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.06.007

Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different …

Schleifer, K. H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Bälz, R., Collins, M. D., & Fischer, W. (1985). Transfer of Streptococcus lactis and related streptococci to the genus Lactococcus gen. nov. Systematic and Applied Microbiology, 6(2), 183–195. https://doi.org/10.1016/S0723-2020(85)80052-7

Schleifer, K. H., & Kilpper-Bälz, R. (1984). Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb.

nov. and Enterococcus faecium comb. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 34(1), 31–34. https://doi.org/10.1099/00207713-34-1-31

Schober, I., Koblitz, J., Sardà Carbasse, J., Ebeling, C., Schmidt, M. L., Podstawka, A., Gupta, R., Ilangovan, V., Chamanara, J., Overmann, J., & Reimer, L. C. (2025). BacDive in 2025: The core database for prokaryotic strain data. Nucleic Acids Research, 53(D1), D675–D681. https://doi.org/10.1093/nar/gkae987

Sharifi-Rad, J., Rodrigues, C. F., Stojanović-Radić, Z., Dimitrijević, M., Aleksić, A., NeffeSkocińska, K., Zielińska, D., Kołożyn-Krajewska, D., Salehi, B., Milton Prabu, S., Schutz, F., Docea, A. O., Martins, N., & Calina, D. (2020). Probiotics: Versatile bioactive components in promoting human health. Medicina, 56(9), 433. https://doi.org/10.3390/medicina56090433

Sherman, J. M. (1937). Taxonomic studies on the enterococci. Journal of Bacteriology, 35(1), 81–93.

Shi, H., Chen, Z., & Kan, J. (2016). Progress in research on stress response in Escherichia coli during food processing and storage. Food Science, 37, 250–257.

Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., & Kowalczyk, E. (2013). The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. Molecules, 18(8), 9334–9351. https://doi.org/10.3390/molecules18089334

Skerman, V. B. D., McGowan, V., & Sneath, P. H. A. (1980). Approved lists of bacterial names. International Journal of Systematic Bacteriology, 30(1), 225–420. https://doi.org/10.1099/00207713-30-1-225

Soltani, S., Shakeri, A., Iranshahi, M., & Boozari, M. (2021). A review of the phytochemistry and antimicrobial properties of Origanum vulgare L. and subspecies. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 20(Suppl.), 126–150. https://doi.org/10.22037/IJPR.2021.115289.15266

Spada, P., & Perrino, P. (1996, May). Conservation of oregano species in national and international collections: An assessment. In Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, Valenzano, Italy.

Sun, P., Li, X., Shi, W., Zhang, L., Li, M., Su, L., & Qin, C. (2023). Lactococcus intestinalis sp. nov., a new lactic acid bacterium isolated from intestinal contents in Alzheimer's disease mice. Antonie van Leeuwenhoek, 116(5), 425–433. https://doi.org/10.1007/s10482-023-01814-3

Suzuki, K., & Fujita, N. (2022). Taxonomy of lactic acid bacteria with special reference to the division of the genus Lactobacillus in 2020. Journal of the Brewing Society of Japan, 117(9), 612–626.

Serrer, A., Boubendir, A., Bouchair, K., & Boutellaa, S. (2023). Effect of rosemary and oregano aqueous extracts supplementation on microbial growth during refrigerated storage of milk. Agriculturae Conspectus Scientificus, 88(1), 67–73.

Smug, M., et al. (2024). Microbial lag calculator: A Shiny-based application and an R package for calculating the duration of microbial lag phase. Methods in Ecology and Evolution.

T

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21 (9), 1199–1218. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003

Tamime, A. Y. (Ed.). (2009). Milk processing and quality management. Wiley-Blackwell.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (Origanum vulgare) extracts and essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93 (11), 2702–2714. https://doi.org/10.1002/jsfa.6089 **U** uwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2016). Probiotics: an overview. Antonie van Leeuwenhoek, 82, 279–289.

V

Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., & Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 82(1–4), 187–216. https://doi.org/10.1023/A:1020631532202

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2013).

Spices as functional foods. Food Control, 33(2), 498–504. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.011

W

Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy science and technology* (2nd ed.). CRC Press.

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9*, Article 612285. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285

Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2011). *Prescott's microbiology* (8th ed.). McGraw-Hill Higher Education.

Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2017). *Prescott's microbiology* (10th ed.). McGraw-Hill Education.

Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 87*(12), 4576–4579. https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576

Spada, P., & Perrino, P. (1996, May). Conservation of oregano species in national and international collections: An assessment. In *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano* (pp. 8–12).

Y

Yuan, H., Han, S., Zhang, S., Xue, Y., Zhang, Y., Lu, H., & Wang, S. (2022). Microbial properties of raw milk throughout the year and their relationships to quality parameters. *Foods, 11*(19), Article 3077. https://doi.org/10.3390/foods11193077

Zhang, Y., Hu, Z., & Shi, X. (2019). Rapid detection and control of psychrotrophic microorganisms in cold storage foods: A review. *Trends in Food Science & Technology, 86*, 453–464. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.005

Z

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., Lebeer, S., O'Sullivan, O., Claesson, M. J., Ganzle, M., ... Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70*(4), 2782–2858. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107

Zhou, G., & Wang, H. (2021). Recent advances in understanding the role of psychrotrophic bacteria in food spoilage under cold storage. *Food Microbiology, 95*, Article 103687. https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103687

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70*(4), 2782–2858. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107

Annexe

Annexe 1 : Composition de milieu de culture

Milieu MRS (De Man Rogosa et sharpe, 1960)

Extrait de levure 5g

Extrait de viande 10g

Peptone 10g

Acétate de sodium 5g

Citrate de sodium 2g

Glucose 20g

Kh2po 42g

Mgso4 0,25g

Mnso4 0,05g

Agar-agar 15g

Cystéine-Hcl 0,5g

Eau distillée

1000ml pH 6,8

Gélose nutritive

Peptone 5g

Extrait de levures 2,5g

Glucose 1g Agar-

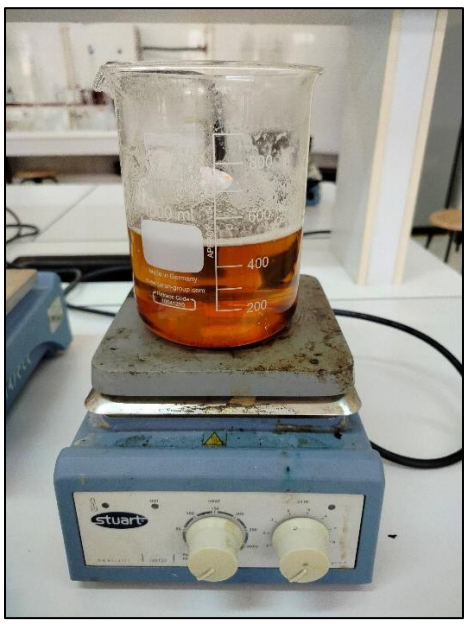
agar 15g pH 7,2

Annexe 2 : Matériels





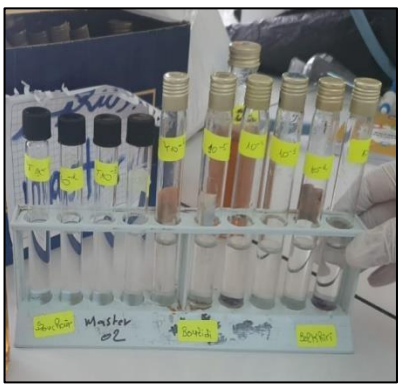
Préparation de gélose nutritive

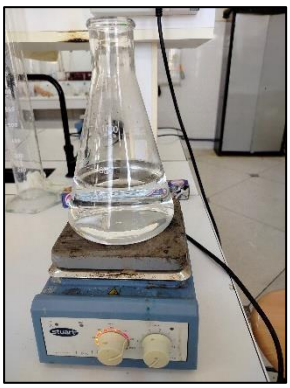




Préparation de MRS







Préparation de l'extrait aqueux 25%








BIOBASE

Annexe 3 : Evolution des bactéries lactiques du lait durant 10 jours de stockage à froid à 4°C sans multiplication par le facteur de dilution

	Dilution	0j		2j		4j		6j		8j		10j	
Témoin	$1{,}00^{E}$-01	84	94	80	74	300	300	300	300	210	300	300	300
	$1{,}00^{E}$-02	88	89	121	123	300	300	300	300	300	300	300	300
	$1{,}00^{E}$-03	77	71	100	93	300	266	216	114	300	282	300	300
	$1{,}00^{E}$-04	50	52	60	66	115	220	116	283	288	290	300	300
	$1{,}00^{E}$-05	12	0	49	40	300	300	243	300	253	200	210	200
25%	$1{,}00^{E}$-01	84	94	25	29	300	300	246	273	300	291	300	300
	$1{,}00^{E}$-02	38	94	25	20	300	300	200	300	300	255	300	240
	$1{,}00^{E}$-03	38	45	45	56	124	200	203	277	235	262	300	290
	$1{,}00^{E}$-04	5	8	70	71	229	300	300	300	300	270	270	120
	$1{,}00^{E}$-05	1	7	11	12	300	200	300	300	200	120	220	240

Annexe 4 : Moyennes de Deux répétitions du dénombrement, écarts types et valeurs de log UFC.

		0 JOURS		**2J**		**4J**		**6J**		**8J**		**10J**	
T1	UFC/ ml	8 800	8 900	12 100	12 300	1 150 000	2 200 000	1 160 000	2 830 000	2 880 000	2 900 000	21 000 000	20 000 000
	Moyenne	8850		12200		1675000		1995000		2890000		20500000	
	Ecart type	70,71		141,42		742 462,12		1 180 868,32		14 142,14		707106,78	
	log UFC	3,95		4,09		6,22		6,30		6,46		7,31	
T2	UFC/ ml	840	940	45 000	56 000	124 000	200 000	203 000	277 000	235 000	262 000	2 700 000	1 200 000
	Moyenne	890		50 500		162 000		240 000		248 500		1 950 000	
	Ecart type	70,71		7 778,17		53 740,12		52 325,90		19 091,88		1 060 660,17	
	log UFC	3,92		4,70		5,21		5,38		5,40		6,29	

Annexe 5 : suivi de pH

Jours	0	2	4	6	8	10
pH	7.37	6.68	6.06	5.94	4.76	5.50