

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة 20 أوت 1955-سكيكدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : sciences biologiques  
Spécialité : microbiologie appliquée  
Intitulé :

**Isolement et identification de bactéries lactiques à partir  
de fruits exotiques cultivés en Algérie : Fruit de papaye,  
fruit de pamplemousse et fruit de la passion.**

*Présenté Par :*

Chekroud Bochra

Chelghoum Khouloud

**Membre de Jury :**

Dr. Gueddah Doria (MCB) Présidente Univ. du 20 Août 1955– Skikda

Dr. Becheker Imene (MCA) Promotrice Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Dr. Bouhaddouda Nabila (MCB) Examinatrice Univ. du 20 Août 1955– Skikda

**Année universitaire 2023/2024**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## *Remerciements*

Tout d'abord et avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant d'être avec nous et de nous avoir donné la force, l'esprit, la santé, la volonté, le courage et la patience pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee et toutes nos reconnaissances à notre promotrice : Mme **BECHEKER Imène** , nous là remercions du fond du cœur pour son encouragement ,sa patience, sa gentillesse ,sa disponibilité, sa positivité, et surtout ses judicieux conseils particulièrement dans les moments qui ont été difficiles pour nous, malgré son emploi du temps très chargé, elle a toujours été présente lorsque nous avons eu besoin d'elle. Nous exprimons ici notre reconnaissance.

Nous remercions également **Dr. GEUDDAH Doria** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.

Nous tenons à remercier **Dr. BOUHADDOUDA Nabila** d'avoir acceptée d'examiner notre mémoire.

Un grand merci au **Mme MACHIA Leila** pour son aide, encouragement et ses conseils. Et sans oublier les doctorantes **BOUGOUIZI Amina**, **BOULAHSA Asma** et surtout **FERAGUENA Imane** pour leur aide et encouragements durant la réalisation de notre travail.

Nous voudrions remercier l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de Microbiologie de l'université 20 Aout 1955 Skikda pour leurs aides et leurs encouragements durant la période de la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos derniers remerciements à tous les professeurs qui ont contribué de près ou de loin à notre soutien et nos encouragements, ainsi que nos collègues de master.

# Dédicaces

Avant toute chose, je remercie **ALLAH** de m'avoir donné la santé, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

A mon cher père Mr. Chekroud Abel madjid l'un de mes piliers, ma force et ma fierté je vous remercie du plus profond de mon cœur pour tous les efforts, l'encouragement, les conseils et aussi ton aide durant mon parcours universitaires, que dieu te donne la santé et longue vie papa.

A ma chère ma mère Fatiha mon plus grand amour et ma grande fierté, je suis tellement chanceuse d'avoir une mère comme toi, merci beaucoup d'être toujours là, de m'aider, m'encourager et de sacrifié pour me voir réussir et être à la hauteur, que dieu le garde pour moi et te donne bonne santé.

A Mes frères Bilel, Imad et Amuer merci pour l'encouragement et l'aide que vous avez me donnez pendant mes années d'études.

A mes sœurs Besma et Rima un grand merci pour les conseils, le soutien et l'encouragement durant toutes mes années universitaires.

Un grand merci à Mme Machia leila pour leur disponibilité, aide, motivation, encouragement et surtout pour toutes les conseils que vous avez partagé avec moi durant toute la durée de réalisation de ce travail.

A la doctorante Freugna Iméne je tiens à vous remercier infiniment pour ta présence, ton aide, tes conseils, tes efforts et de l'espoir que vous avez me donné pour finir le travail.

Je remercie madame Maizi chef service de laboratoire de Microbiologie à EH Abderrezak Bouhara –Skikda qui m'a soutenu , aidé et m'a encouragé .

Merci au notre docteur de l'université durant mon parcours universitaire .

A mes chères amies Hiba , Imene ,Safia ,Chahinez .

A mon binôme Khouloud .

A tous les gens de prés et de loin qui m'ont aidé, écouté, supporté et m'ont encouragé.

*Bohra*

# Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A ma très chère mère Houria quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme Il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a Toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père Mounir la flamme de mon cœur à qui je dois un remerciement profond pour leur sacrifice sans limites, patience, soutien, amour et leur encouragement Tu as toujours été à mes côtés pour lequel je souhaite une longue et heureuse vie pleine de bonheur que Dieu vous protège et vous garde.

A mes frères « Oussama » et « Toufik ». Les mots ne suffisent pas pour vous exprimer ma gratitude pour tous vos efforts et votre soutien.

A mes sœurs les plus merveilleuses du monde « Sirine », « Nesrine », « Manel », « Rahma » pour leur soutien et sacrifices.

A ma cousine « Aya » et mes cousins « Bardo » et « Islam » pour leur Encouragements.

A Mon cœur Anis et Marama les plus beaux du monde, les bijoux de ma vie.

A mes proches et mes collègues qui je connu.

A mon très chère binôme « Bouchra ».

A mes enseignants que je leurs préserve beaucoup de respect et de considération.

A ma famille Et pour toutes les personnes qui m'ont soutenu jusqu'à la fin.

***Khouloud***

# TABLE DES MATIÈRES

## LISTE DES TABLEAUX

## LISTE DES FIGURES

## LISTE DES ABRVIATIONS

## Résumé

## INTRODUCTION..... 1

### SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1 : Les bactéries lactiques

1. Généralités sur les bactéries lactiques .....	3
2. Historique.....	3
3. Définition .....	4
4. Origine.....	4
5. Classification et taxonomie des bactéries lactiques .....	4
5.1. Critères morphologiques et biochimiques.....	4
5.2 Critères phylogéniques.....	4
6. Principaux genres des bactéries lactiques .....	5
6.1. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	6
6.2. Le <i>lactococcus</i> .....	6
6.3. Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	7
6.4. Le genre <i>Streptococcus</i> .....	7
6.5. Le genre <i>Enterococcus</i> .....	8
6.6. Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	9

#### Chapitre 2 : Les fruits étudiés

1. Les fruits étudiés .....	10
1.1. Fruit de la papaye ( <i>Carica papaya</i> ) .....	10
1.2. La classification de la papaye .....	10
1.3. La composition nutritionnelle du fruit de la papaye .....	11
1.4. La richesse en bactéries lactiques.....	12
2. Le pamplemousse .....	13
2.1. Généralité et définitions du pamplemousse « <i>Citrus paradisi</i> ».....	13
2.2. Description botanique.....	13
2.3. La composition du fruit de pamplemousse .....	14

2.4. La richesse en bactéries lactiques .....	14
3. Fruit de la passion : .....	15
3. 1. Classification botanique du <i>Passiflora caerulea</i> (L) .....	16
3 .2. La composition de fruit de la passion .....	16
3.3. La richesse en bactéries lactiques .....	17

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

<b>1. Matériel.....</b>	<b>18</b>
1.1. Provenance des échantillons utilisés .....	18
1 .2. Les souches bactériennes cliniques .....	19
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>19</b>
2.1. Préparation des échantillons .....	19
2.2. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales .....	20
2.3. Isolement des bactéries lactiques .....	21
2.4. Purification des isolats .....	22
2.5. Conservation des isolats.....	23
2.6. Identification des souches isolées .....	24
2.6.1. Identification phénotypique .....	24
2.6.1.1. Examen macroscopique .....	24
2.6.1.1. Examen microscopique .....	25
2.6.2. Identification physiologique .....	25
2.6.2.1. Croissance à différentes températures .....	25
2. 6 .2. 2. Test de la thermorésistante des bactéries : .....	26
2.6.2.3. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6.....	27
2.6.2.4. Croissance en milieu hyper salé Na Cl 3,5 ; 6,5 .....	28
2.6.3 Identification biochimique.....	28
2.6.3.1. Test catalase .....	28
2. 6.3. 2. Test oxydase.....	29
2. 6.3.3. Test Mannitol –Mobilité.....	30
2.6.3.4. Test de croissance sur le lait bleu de Sherman.....	31
2. 6.3.5 Type fermentaire .....	32
2.6.4. Identification technologique .....	32
2.6.4.1. Pouvoir protéolytique .....	32

2. 6.4.2. Pouvoir Aromatisant .....	33
2.6.4.3. L'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes .....	34

## **RÉSULTATS**

1. Isolement des bactéries lactiques .....	36
2. Purification des bactéries lactiques .....	36
3. Conservation des bactéries lactique .....	36
4. Caractères macroscopiques .....	37
5. Caractères microscopiques.....	38
6. Identification des bactéries lactiques.....	39
6.1. Identification physiologique .....	39
6.1.1. Croissance à différentes températures .....	39
6.1.2. Thermorésistante des bactéries.....	40
6.1.3. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6.....	41
6.1.4. Croissance en milieu hyper salé Na Cl.....	44
6.2. Identification biochimique .....	46
6.2.1. Résultats du test catalase .....	46
6.2.2. Résultats du test oxydase .....	47
6.2.3. Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman .....	48
6.2.4. Résultats du test Mannitol-Mobilité .....	49
6.2.5 Résultat du test type fermentaire.....	51
6.3. Identification technologique .....	52
6.3.1. Pouvoir protéolytique .....	52
6.3.2. Pouvoir aromatisant .....	53
6.3.3 L'activité antibactérienne .....	<b>54</b>
a. L'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>staphylococcus aureus</i> .....	54
b. L'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>Streptococcus sp</i> .....	55
c. l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>Klebseilla sp</i> .....	55
d. L'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>Escherichia .coli</i> .....	56
7. Identification des bactéries isolées .....	58
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>61</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>62</b>

## Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre	Page
1	Composition et valeurs nutritionnelle de fruit de la papaye.	<b>12</b>
2	Composition biochimique moyenne du pamplemousse.	<b>14</b>
3	Classification botanique du Passiflore caerulea (L.)	<b>16</b>
4	Composition de 100 grammes de pulpe pour les cinq espèces de passiflores les plus répandues.	<b>17</b>
5	Provenance et date d'achat des fruits.	<b>18</b>
6	Les souches pathogènes utilisées.	<b>19</b>
7	les caractères macroscopiques des isolats à partir des fruits frais exotiques.	<b>37</b>
8	Résultats du test de croissance à différente températures.	<b>39</b>
9	Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.	<b>41</b>
10	Résultats du test de croissance à différents pH.	<b>42</b>
11	Résultats du test de croissance en milieu hyper sal NaCl.	<b>44</b>
12	Résultats du test catalase.	<b>46</b>
13	Résultats du test oxydase.	<b>47</b>
14	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman à concentration 1% et 3%.	<b>48</b>
15	Résultats du test Mannitol-Mobilité.	<b>50</b>
16	Résultats de type fermentaire pour les souches lactiques isolées à partir des fruits frais exotiques.	<b>51</b>

17	Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur milieu M17 additionné de lait écrémé à 10%.	<b>52</b>
18	Résultats d'activités antagonistes des souches lactiques vis-à-vis des souches testées : <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus sp</i> , <i>Klebsella sp</i> .	<b>57</b>
19	Caractères physiologiques, biochimiques et technologiques des bactéries isolées à partir des fruits exotiques cultivés en Algérie.	<b>58</b>

### Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrent les principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques à faible % G+C et les genres Gram positifs non reliés <i>Bifidobacterium</i> et <i>Propionibacterium</i> .	5
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> .	6
3	Morphologie en microscopie électronique de <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> X100.	7
4	<i>Leuconostoc lactis</i> observé microscopie électronique à transmission (X 100).	7
5	<i>Streptococcus thermophilus</i> au microscope électronique.	8
6	<i>Enterococcus faecalis</i> au microscopie électronique.	8
7	<i>Bifidobacterium</i> sp .	9
8	Les constituants du ( carica papaya ) .	10
9	Fruit de papaye.	10
10	Plants de Papayers Solo en fructification.	11
11	Inflorescences du papayer Solo 8 : <b>A</b> ) inflorescence femelle , <b>B</b> ) inflorescence male. .	11
12	Fruit de pamplemousse.	13
13	Les constituants de fruit de pamplemousse.	14
14	Arbre de fruit de pamplemousse.	14
15	Fruit de la passion jaune <i>Passiflora edulis</i> forma <i>flavicarpa</i> .	15
16	Les étapes de préparation des échantillons.	20
17	Préparation des séries de dilutions des échantillons des fruits frais exotiques pour isolement de bactéries lactiques.	21

18	Schéma résumant la technique de purification des isolats purifiés.	<b>22</b>
19	Schéma de conservation à courte durée des bactéries lactiques purifiés.	<b>23</b>
20	Voie d'identification des bactéries lactiques selon le genre.	<b>24</b>
21	Test de croissance a différents température.	<b>26</b>
22	Test de thermorésistante des bactéries.	<b>27</b>
23	Test de croissance à différents PH.	<b>28</b>
24	Test catalase.	<b>29</b>
25	Test d'oxydase.	<b>30</b>
26	Test de mannitol –mobilité.	<b>31</b>
27	Test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	<b>31</b>
28	Test de type fermentaire.	<b>32</b>
29	Test du pouvoir protéolytique des souches.	<b>33</b>
30	Test de pouvoir aromatisant.	<b>34</b>
31	Méthode des spots.	<b>35</b>
32	Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 à partir de : <b>A)</b> Papaye, <b>B)</b> Pamplemousse, <b>C)</b> Passion.	<b>36</b>
33	Résultats de la conservation des souches sur milieu M17 incliné.	<b>37</b>
34	Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir des fruits frais exotiques sur milieu M17.	<b>38</b>
35	Observation microscopique de la souche S6.	<b>39</b>
36	Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries testées <b>A)</b> à T =, <b>B)</b> à T = 4°C, <b>C)</b> =45°C, <b>D)</b> =04°C.	<b>40</b>
37	Résultats du test de thermorésistance des bactéries testées.	<b>41</b>
38	Résultats du test de croissance à différents pH : <b>A)</b> pH = 4,4 ; <b>B)</b> pH = 4 ,9 <b>C)</b> pH = 9 ; <b>D)</b> pH = 9,6.	<b>43</b>
39	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : <b>A)</b> 3.5%. <b>B)</b> 6.5%.	<b>45</b>

40	Résultats du test catalase de S6 et S 8 isolées à partir de fruit de la passion <b>A)</b> Résultat positif, <b>B)</b> Résultat négatif.	<b>46</b>
41	Résultats du test oxydase de S3, S4 et S8 isolées à partir des fruits frais exotiques <b>A</b> : S3, <b>B</b> : S4, <b>C</b> : S8.	<b>47</b>
42	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman, <b>A)</b> : à 0.1% de bleu de méthylène. <b>B)</b> : à 0.3% de bleu de méthylène.	<b>49</b>
43	Résultats du test Mannitol-Mobilité.	<b>50</b>
44	Résultats du test type fermentaire.	<b>51</b>
45	Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées.	<b>53</b>
46	Production de l'acétoïne par les bactéries lactiques.	<b>54</b>
47	Résultat de l'activité antibactérienne vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>54</b>
48	Résultat de l'activité antibactérienne vis-à-vis <i>Streptococcus sp</i>	<b>55</b>
49	Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>Klebseilla sp</i> .	<b>56</b>
50	Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> .	<b>56</b>

### Liste des abréviations :

BL	Bactéries lactiques
GRAS	Generally Recognized AS Safe
O <sub>2</sub>	Oxygène
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Eau oxygénée
H <sub>2</sub> O	L'eau
BM	Bleu de Méthylène
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
Kj	Kilojoule
G	Gramme
Mg	Milligramme
Kcal	Calories
°C	Degré Celsius
FP	Fruit de passion
Cm	Centimètre
%	Pourcentage
UI	L'unité internationale
pH	Potentiel hydrogène
µl	Microlitre
SO <sub>2</sub>	Soufre d'oxygène
H <sub>2</sub> S	Hydrogène sulfureux
ADN	Acide désoxyribonucléique
GC%	Le coefficient de Chargaff, pourcentages des bases guanine et cytosine contenu dans le génome d'un organisme vivant
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique

Na Cl	Chlorure de Sodium
L+	Acide lactique positif
MH	Miller Hinton
MRS	Man, Rogosa et Sharpe
M17	TERZAGID et SANDINE M17
EPS	Exopolysaccharide
S	Souche
T	Température
Na Cl	Chlorure de sodium
HCL	L'acide chlorhydrique
Na OH	L'hydroxyde de sodium
VP I	Na OH à 16% d'alcool
VP II	Alpha -naphtol à 6% d'alcool
ml	Millilitre
H	Heure
O2	Oxygène

## RÉSUMÉ

Les fruits exotiques présentent une source très intéressante pour isoler de nouvelles espèces de bactéries lactiques à intérêt technologique, utilisées dans les différentes industries afin d'améliorer les conditions sanitaires du consommateur.

Le but de notre travail est d'isoler des bactéries lactiques à partir de trois fruits frais exotiques qui sont : la papaye, le pamplemousse et le fruit de la passion.

Les bactéries ont subi un ensemble d'identifications préliminaires phénotypiques, biochimiques et technologiques à savoir : la coloration de Gram, la température de croissance, la thermorésistance, la résistance à différents pH et différentes concentrations de NaCl, le test catalase et oxydase, le test de croissance sur le lait bleu de Sherman, le test de Mannitol-Mobilité, la détermination du type fermentaire, la propriété protéolytique, le pouvoir aromatisant et l'activité antibactérienne.

Au final nous avons pu isoler et identifier 4 souches (S2 et S3 de la papaye, S4 du pamplemousse et S6 du fruit de la passion, présentant les caractéristiques de la bactérie *Lactococcus lactis*

**Mots clés** : Bactéries lactiques, Caractérisation biochimique, Caractérisation phénotypique, Caractérisation technologique, Fruits exotiques.

## **ABSTRACT**

Exotic fruits are a very interesting source for isolating new species of lactic acid bacteria of technological interest, used in various industries to improve consumer health conditions.

The aim of our work is to isolate lactic acid bacteria from three selected fresh fruits: papaya fruit , grapefruit as well as passion fruit .

The bacteria underwent a series of preliminary phenotypic, biochemical and technological identifications (Gram staining, growth temperature, thermoresistance, resistance to different pH and NaCl concentrations, catalase and oxidase test, Sherman's blue milk growth test, Mannitol-Mobility test , proteolytic property , Flavouring power and the anti-bacterial activity ).

In the end we were able to isolate and identify 4 strains (S2 and S3 from papaya, S4 from grapefruit and S6 from passion fruit), presenting the characteristics of the bacteria *Lactococcus lactis* .

**Key words:** Lactic acid bacteria, Biochemical characterization, phenotypic characterization, Technological characterization, exotic fruits.

## ملخص

تمثل الفواكه الاستوائية مصدرًا مثيرًا للاهتمام للغاية لعزل أنواع جديدة من بكتيريا حمض اللاكتيك ذات الأهمية التكنولوجية والمستخدمه في صناعات مختلفة لتحسين الظروف الصحية للمستهلك.

الهدف من عملنا هو عزل بكتيريا حمض اللاكتيك من ثلاث فواكه استوائية طازجة مختارة: فاكهة البابايا , الليمون الهندي و كذلك فاكهة العاطفة .

خضعت البكتيريا لمجموعة من التعريف الأولي للنمط الظاهري والكيميائي الحيوي والتكنولوجي (تلطيخ الجرام ، درجة حرارة النمو ، مقاومة الحرارة ، مقاومة الأس الهيدروجيني المختلفة وتركيزات كلوريد الصوديوم المختلفة ، واختبار الكاتلاز و أوكسيديز ، اختبار النمو على حليب شيرمان الأزرق ، اختبار مانيتول-النتقل ، اختبار نوع التخمر ، محلل البروتين ملكية، قوة النكهة و كذلك النشاط المضاد للبكتيريا).

في النهاية، تمكنا من عزل وتحديد 4 سلالات من البكتيريا: سلالة 2 و 3 من فاكهة البابايا والسلالة 4 من فاكهة الليمون الهندي والسلالة 6 من فاكهة العاطفة)، مع عرض خصائص بكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك ، التوصيف الكيميائي الحيوي ، التوصيف المظهري ، التوصيف التكنولوجي ، الفواكه الاستوائية



# Introduction

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale. Elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (**Stiles et al., 1997**), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe). Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (**Klaenhammer et al., 2005**).

Elles sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où elles permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation. En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le diacétyl et les bactériocines (**Hugenholtz et al., 1999**).

Les bactéries lactiques sont trouvées aussi dans les fruits tels que les fruits exotiques c'est derniers sont issu des pays tropicaux où le climat tropical est chaud et humide. La grande majorité de la liste des fruits exotiques proviennent des pays latins, d'Afrique et d'Asie. Parmi les plus connus consommés et appréciés, nous retrouvons : fruit de la passion, le pamplemousse et fruit de papaye .... Etc. Les fruits exotiques sont souvent riches en vitamine C. La vitamine C est connue pour réduire la fatigue, elle contribue également au fonctionnement normal des systèmes nerveux et immunitaires ainsi qu'à la formation du collagène. Ils contiennent également beaucoup d'antioxydants et sont composés par les pigments (caroténoïdes, anthocyanes) qui apportent la couleur aux fruits mais également par les polyphénols. Ils conféreraient des propriétés bénéfiques sur la santé, en limitant le développement des maladies cardiovasculaires, du diabète de type 2 et des syndromes métaboliques et du cancer (**Klaenhammer et al., 2005**).

Les bactéries lactiques peuvent améliorer les propriétés nutritionnelles, sensorielles et de conservation des fruits tropicaux par la fermentation lactique. Elle peut améliorer la conservation des composés phénoliques et l'activité antioxydante des fruits, contrairement à d'autres procédés. Cela s'explique par la libération de ces composés et la production d'exopolysaccharides (EPS) par les bactéries (**Izquierdo et al., 2009**).

La production d'EPS est fortement dépendante du fruit fermenté et de la souche utilisée. Elle peut être stimulée par l'ajout de saccharose pour l'ananas ou un pH de 6 pour la mangue. Les jus de

fruits lacto-fermentés pourraient avoir des effets bénéfiques sur le métabolisme énergétique, l'inflammation et le stress oxydant chez les mammifères, grâce aux composés phénoliques et EPS. Ils pourraient aussi avoir un effet prébiotique sur le microbiote intestinal (**Izquierdo et al., 2009**).

Des études sur la diversité microbienne de niches et environnements inexplorées ont conduit à l'isolement d'un nombre infini de nouvelles espèces bactériennes, qui peuvent présenter des propriétés technologiques et/ou bénéfiques pour la santé.

Le but de notre travail est l'isolement et l'identification de bactéries lactiques à partir de fruits frais : la papaye, le pamplemousse et le fruit de la passion. Qui sont riches en Vitamines comme la Vitamine C et A, minéraux et fibres et pauvres en protéines, avec un pH légèrement acide constituant ainsi un milieu adéquat pour la prolifération de ces dernières.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the rolled-up ends. The text is centered within the scroll.

***Chapitre I :***  
***Synthèse***  
***Bibliographiques***

A decorative graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curving inward. The left and right ends of the scroll are rolled up, showing a grey interior. The text is centered on the white surface of the scroll.

***Chapitre 1 :***  
***Les bactéries***  
***lactiques***

## 1. Généralités sur les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes très répandues dans la nature. On les retrouve dans le sol, sur les végétaux, elles jouent un rôle important dans notre santé car elle constitue une fraction majeure de notre flore intestinale et tapissent les muqueuses nasales buccales et vaginales, contribuant ainsi à nous protéger contre l'invasion des germes pathogènes. **(Klaenhammer et al, 2005).**

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes de catégorie alimentaire qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles occupent des niches écologiques extrêmement variées. Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré, de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme des composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés **(Hamidi Chadia , 2017) .**

## 2. Historique :

L'utilisation de la fermentation par l'Homme remonte à des temps très anciens. Les premiers produits fermentés ont certainement été obtenus par acidification spontanée des jus végétaux (vins, bières...) ou par contamination naturelle du lait (yaourts, fromages...). Les premières preuves de l'existence des produits laitiers fermentés remontent à 8000 ans avant JC dans le croissant fertile au Moyen Orient (plaines du Nil, du Jourdain, de l'Euphrate et du Tigre), époque où les végétaux et les animaux sont domestiqués **(Fox, 1993)**. La fermentation des végétaux (vins, bières) et la production de levain apparaissent entre 4000 et 2000 avant JC chez les Égyptiens. La fermentation est réalisée à partir de différents types d'aliments : des végétaux (concombres, betteraves, dattes, jus de fruits, soja, etc.), des produits animaux (viande, lait) ou du poisson. Elle permet de conserver les aliments mais aussi de leur donner une saveur différente du produit original.

Il faudra attendre Pasteur et ses travaux sur la fermentation en 1857 pour établir un lien entre la fermentation lactique et les bactéries. La première culture bactérienne pure sera d'ailleurs une culture de *Lactococcus lactis* obtenue et décrite par Joseph Lister en 1873 cité par Penaud, (2006). Metchnikoff isole en 1904 le « bacille bulgare » (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) présent dans le yaourt. Il étudie les propriétés acidifiantes des bactéries du yaourt et il développera l'idée que les bactéries contenues dans les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé **(Metchnikoff, 1907)**. Il plaidera en faveur de l'introduction de produits laitiers fermentés dans le régime alimentaire

et en 1905, les premières entreprises fabricant du yaourt à partir des souches de l'Institut Pasteur voient le jour (**Bibel, 1988**).

### **3. Définition :**

Les bactéries lactiques (BL) sont des êtres vivants procaryotes qui partagent un certain nombre de caractères permettant de les classer. Elles sont hétérotrophes, chimioorganotrophes, généralement immobiles, non-sporulantes, à Gram positif, munies d'oxydase, dépourvus de cytochromes, de catalase et de nitrate réductase. Elles sont aéro-anaérobies facultatives, ne liquéfient pas la gélatine et ne produisent ni d'indole, ni d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S) (**De Roissart et Luquet, 1994**).

### **4. Origine :**

La présence des bactéries lactiques est révélée dans de nombreux milieux riches en nutriments, comme la multitude de produits alimentaires (lait, viandes, et produits et végétaux) (**J-lenoir et al., 1992**).

Les espèces des genres *Streptococcus*, *Lactococcus* ou *Leuconostoc* se rencontrent plutôt chez les hommes, les animaux et les oiseaux. On peut les isoler de la peau des animaux, des matières fécales et les poussières, mais aussi de l'ensilage du foin et des grains.

Les espèces de genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature, on les trouve dans les végétaux où elles assurent l'acidification de l'ensilage. On les trouve aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme car *Lactobacillus* résiste aux sels biliaires, peu d'espèces ont un caractère pathogène. Les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent pratiquement que sur les plantes (**Lenoir et al., 1992**).

### **5. Classification et taxonomie des bactéries lactiques :**

La classification des bactéries lactiques repose sur des critères qui permettent la différenciation et la caractérisation de multiples espèces, qui sont :

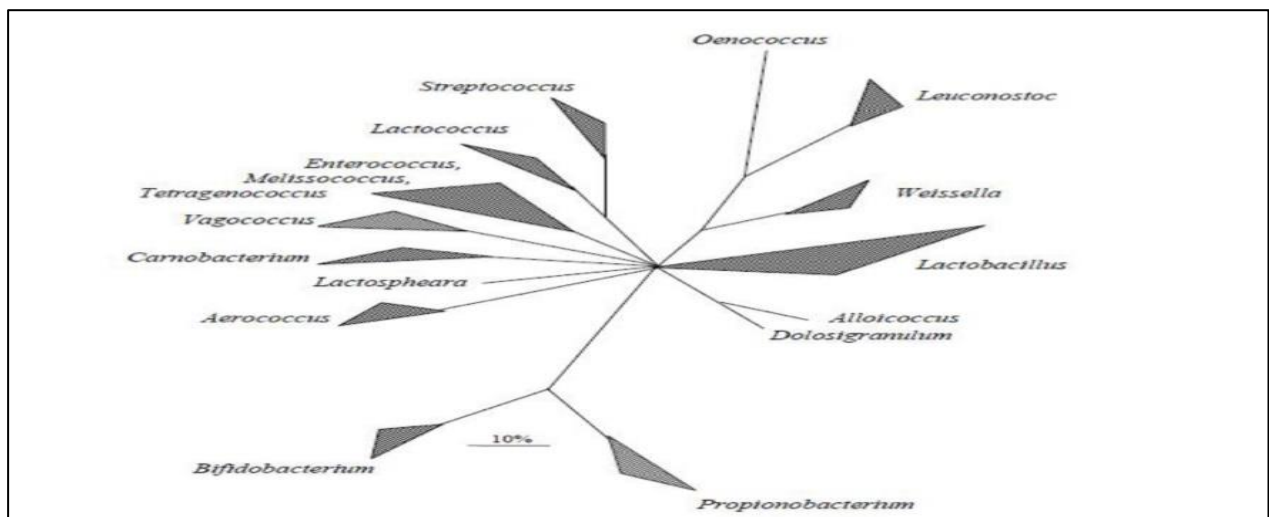
#### **5.1. Critères morphologiques et biochimiques :**

Incluant la disposition et la morphologie des cellules, le type de Gram, le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides, le caractère fermentaire, la synthèse des enzymes (protéase) et des bactériocines, ainsi que la résistance aux bactériophages (**Bekhouche, 2006**).

#### **5.2. Critères phylogénétiques :**

Basés sur l'utilisation des méthodes moléculaires, qui sont :

- ✓ L'hybridation de l'ADN qui permet la différenciation des genres et des espèces entre elles (**Bekhouche, 2006**).
- ✓ Le pourcentage en bases Guanine + Cytosine% (GC%). Chez les bactéries lactiques il est généralement inférieur à 50%, bien que certaines espèces de *Lactobacillus* aient un GC% atteignant 55% (**Axelsson, 2004**).
- ✓ Les bactéries lactiques appartiennent à la classe des *Bacilli* et de l'ordre des *Lactobacillales* et elles rassemblent 6 familles qui sont : *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococcaceae* (**Madigan et Martinko, 2007**).



**Figure 1 :** Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques à faible % G+C et les genres Gram positifs non reliés *Bifidobacterium* et *Propionibacterium* (**Holzappel et al, 2001**).

## 6. Principaux genres des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques regroupent, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactobacoccus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *vagococcus* et *Bifidobacterium*.

### 6.1. Le genre *Lactobacillus* :

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Elles sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (**Hammes et Vogel, 1995**).

les espèces de *Lactobacillus* utilisées pour la fermentation des céréales et comme Starter pour la production des produits laitiers fermentés , tel le yaourt qui résulte de la fermentation du lactose dans le lait par l'association de *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* et *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* pour libérer l'acide lactique (**Glory et Etienne, 2021**), ce dernier inhibe la croissance des microorganismes indésirables (**Maciel, 2003**). Cette inhibition augmente la qualité nutritive et sanitaire du yaourt ainsi que sa durée de conservation. (**Aslam, 2010**).

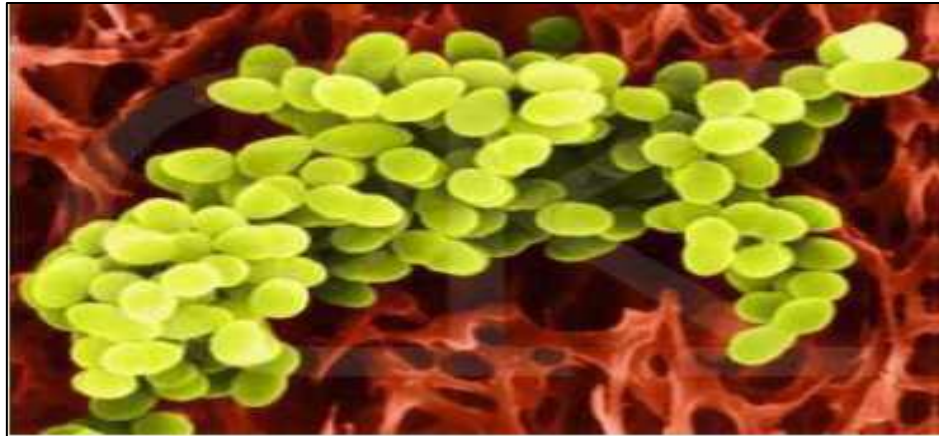


**Figure 2 :** *Lactobacillus plantarum* (Web1).

### 9.2. Le genre *Lactococcus* :

Le genre *Lactococcus* est de Gram positif, en forme de coques avec un métabolisme homo-fermentaire produisant exclusivement de l'acide lactique (L+) Elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C et ne poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5 % de NaCl Excepté l'espèce *Lactococcus garvieae* (**Ammor, 2007**).

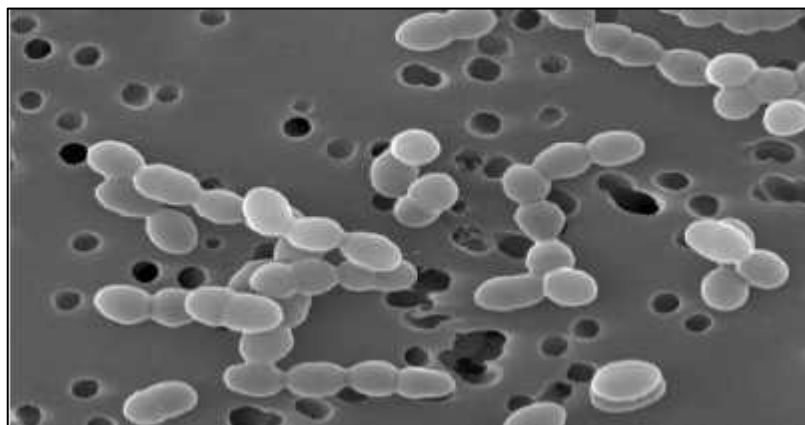
Les espèces les plus utilisées sont *Lactococcus lactis subsp.cremoris* et *Lactococcus lactis subsp.lactis* qui jouent un rôle majeur dans l'acidification des fromages par production d'acide lactique (**Li et al. 2020**). Elles ont une activité protéolytique et contribuent à la texture par production d'exopolysaccharides et à la flaveur par production de composés aromatiques(**Mc Auliffe., 2018**).



**Figure 3 :** Morphologie en microscope électronique de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* x1000  
(Menad, 2017)

### 9.3. Le genre *leuconostoc* :

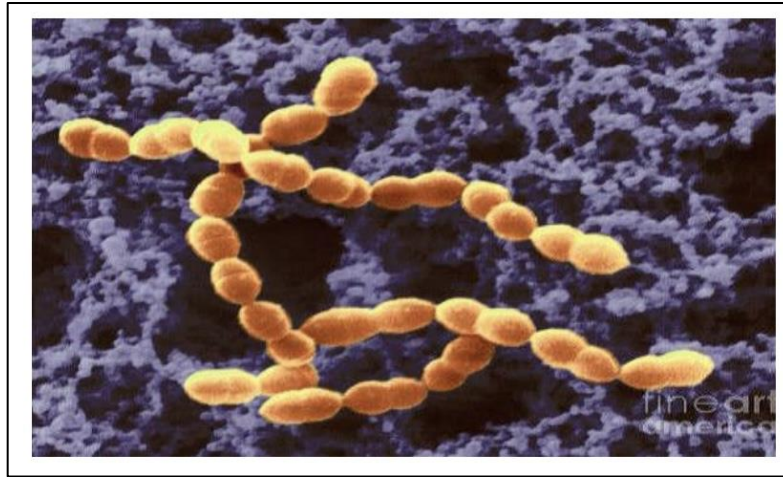
Elles se trouvent sur les légumes dans l'ensilage et les produits alimentaires fermentés tel que le fromage blanc, la crème aigre le kéfir, la choucroute et le kimchi (Rezac et al. 2018). Elles produisent de l'acide lactique (Garvie, 1980) et des polysaccharides qui entraînent une amélioration de la texture des produits fermentés (Poulsen et al. 2020).



**Figure 4 :** *Leuconostoc lactis* observé microscope électronique à transmission (x 10000)  
(Bendimerad, 2013).

### 9-4. Le genre *Streptococcus* :

L'espèce la plus reconnue est *Streptococcus thermophilus* qui est perçue comme une bactérie alimentaire (Delorme et al, 2010).



**Figure 5 :** *Streptococcus thermophilus* au microscope électronique (Furet et al, 2004).

### 9.5. Le genre *Enterococcus* :

Les entérocoques étaient classés dans le genre *Streptococcus* par Schleifer et Kilpper- Bälz (1984). Ce genre comprend 13 espèces reconnues. Ils hébergent généralement le tractus intestinal de l'Homme et des animaux (Devriese et al, 1991). De forme sphérique ou ovoïde, ils ont la capacité d'effectuer un métabolisme homofermentaire. Leur énergie est tirée par la dégradation des acides aminés. Quelques espèces de ce genre peuvent produire des polysaccharides. La spécificité des enterocoques est leur aptitude à croître en présence de NaCl à 6,5%, un pH égal à 9,6 et à température entre 10 à 45°C (Schleifer et Kilpper- Bälz, 1987).



**Figure 6 :** *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace et al. ,2003)

**9.6. Le genre *Bifidobacterium* :**

Les bifidobactéries sont des bactéries Gram positives, anaérobies, hétéro-fermentaires non mobiles, non-sporulantes (**Mattarelli , 2001**). les bifidobactéries sont ajoutées en grande nombre comme bactéries vivantes dans de nombreuses préparations alimentaires avec diverses actions liées à la santé. (**Savado etTraore, 2011**).



**Figure 7 : *Bifidobacterium sp* (Wallace et al., 2003) .**

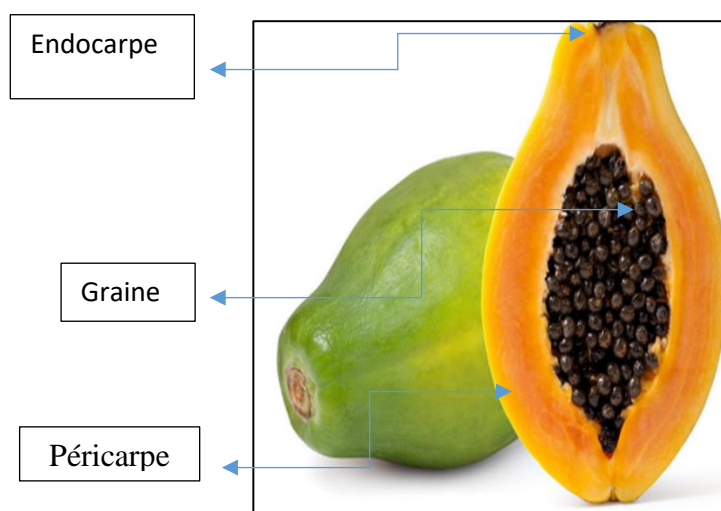
A decorative scroll graphic with a white background and a black outline. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered on the scroll.

***Chapitre 2 :***  
***Les fruits étudiés***

## 1. Les fruits étudiés :

### 1.1. Fruit de la papaye (*Carica papaya*) :

Le fruit du papayer appelé papaye (**Figure08**) est une baie, longue de 15 à 40cm pour un diamètre de 7 à 25 cm, elle possède une forme ovoïde ou arrondie et est marquée d'angle saillants. Son poids varie de 500g à 8kg. Les fruits sont regroupés par deux ou trois (**Fabert, 2011**). Le péricarpe de la papaye passe du vert au jaune- orangé à mûré. L'endocarpe est de couleur orangé, parfois rouge. La cavité centrale renferme de graines noires ou grisâtres, de saveur piquante, contenu dans un mucilage (**Lannuzel, 2009**).



**Figure 08 :** Les constituants du fruit de papayer, papaye (*carica papaya* ).



**Figure 09 :** Fruit de la papaye (**Prise personnelle**).

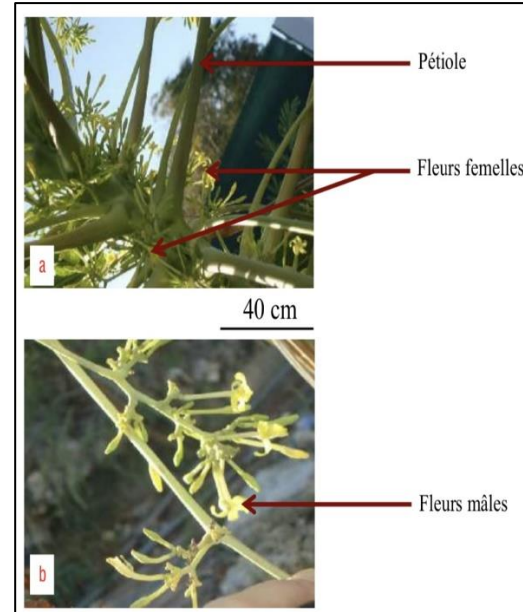
### 1.2. La classification de la papaye :

Le Papayer est un petit arbre de trois à dix mètres de hauteur, à port de palmier. Son tronc charnu porte des cicatrices en losanges, empreintes laissées par la chute des feuilles. Il est droit, cylindrique, nu et couronné d'un bouquet de feuilles. Il s'agit d'un arbre le plus souvent dioïque, c'est-à-dire que l'on retrouve des pieds mâles et des pieds femelles, mais certaines espèces cultivées peuvent avoir des pieds bisexués, on retrouve alors sur le même tronc des fleurs mâles et femelle (monoïques). Le tronc du Papayer est le plus souvent non-ramifié (**Gérard debuigne et al, 2009**).

Les feuilles du papayer se présentent sous la forme d'un bouquet terminal à l'extrémité du tronc. Elles peuvent atteindre jusqu'à 60 cm de long. Elles sont longuement pétiolées (jusqu'à 1 m). Elles sont palmatilobées avec sept ou neuf lobes (Boullard, 2001).



**Figure 10 :** Plants de Papayers solo  
En fructification (Yao, 2013).



**Figure 11 :** Inflorescences du papayer solo 8 (Fabert, 2011).

a : inflorescence femelle

b : inflorescence mâle

### 1.3. La composition nutritionnelle du fruit de la papaye :

La papaye est très riche en eau et pauvre en énergie : c'est un fruit rafraîchissant, acidulé et relativement riche en fibres. Elle contient sensiblement plus de caroténoïdes (Tableau 01).

**Tableau 01** : composition et valeurs nutritionnelle de fruit de la papaye (Web 2).

Composition et valeurs moyennes pour 100 g de fruit frais	
Énergie	40 kcal ou 167 kJ
Eau	80 g
Protides	0,5 g
Lipides	0,1 g
Glucides, dont	7 g
Glucose	3 g
Fructose	1 g
Saccharose	3 g
Fibres	2 g
Sodium	3,5 mg
Potassium	200 mg
Magnésium	40 mg
Calcium	22 mg
Manganèse	0 ,02 mg
Fer	0,4 mg
Cuivre	0,02 mg
Zinc	0,05 mg
Phosphore	8 mg
Sérotonine	1,5 mg
Caroténoïdes totaux, provitamine A	0,2 mg
Vitamine B <sub>1</sub> (thiamine)	0,03 mg
Vitamine B <sub>2</sub> (riboflavine)	0,04 mg
Vitamine B <sub>3</sub> (PP, nicotinamide)	0,3 mg
Vitamine B <sub>5</sub> (acide pantothénique)	0,2 mg
Vitamine B <sub>6</sub> (pyridoxine)	0,02 mg
Vitamine B <sub>9</sub> (Bc, folates)	0,03 mg
Vitamine C (acide ascorbique)	70 mg
Acide malique	30 mg
Acide citrique	60 mg
Acide salicylique	0,1 mg

#### 1.4. La richesse en bactéries lactiques :

Le fruit de la papaye est riche en bactéries lactiques appartenant aux genres suivants (Monique zagorec et al ,2012) :

*Leuconostoc ,Lactococcus ,Weissella ,Lactobacillus et Fructobacillus.*

## 2. Le pamplemousse :

### 2.1. Généralités et définitions du pamplemousse « Citrus paradisi »

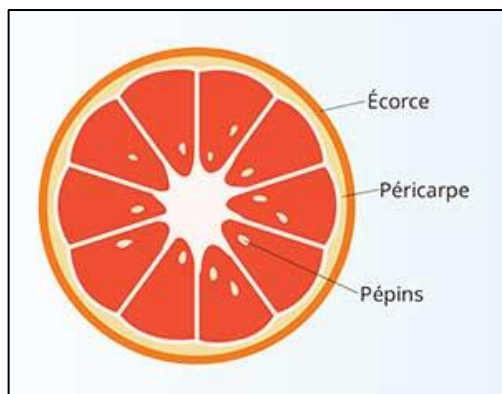
Le capitaine anglais de la Compagnie des Indes orientales, Philip Shaddock, aurait apporté des graines de pamplemousse indonésien à la Barbade en 1649. L'espèce s'est répandue dans les Caraïbes et a produit des fruits plus petits que l'original. En effet, le pamplemousse est un agrume hybride. Il est né dans les Caraïbes d'un croisement entre un pomelo et une orange douce (**Spiegel et Goldschmidt, 1996**). Le pamplemousse est également connu sous le nom de citron de la Barbade, ou Shaddock en anglais (**Tonelli et Gallouin, 2013**) (**Figure 12**).



**Figure 12** : Fruit de pamplemousse (prise personnelle).

### 2.2. Description botanique :

Le pamplemoussier est un grand arbre qui peut atteindre 10 mètres de haut et 8 mètres de large. Les feuilles sont ovales, avec un bord légèrement denté vers l'extrémité pointue, et elles ont un pétiole ailé en forme de cœur. Les feuilles sont des Rutacées, comme celles de la plupart des arbres de la famille des Rutacées. (**Tonelli et Gallouin, 2013**). Le pamplemousse est le plus grand des agrumes, mesurant 15 à 30 centimètres de diamètre et pesant plusieurs kilos. De forme piriforme, sa peau est lisse ou granuleuse, de couleur jaune clair à verte, et épaisse. Sur cette peau, on trouve de nombreuses poches d'essence, qui sont colorées par des caroténoïdes visibles à l'œil nu. Son albédo (peau blanche sous l'écorce du fruit) est important et comporte 16 à 18 quartiers bien séparés. La pulpe peut être blanche, rose, voire plus colorée selon les espèces. Elle présente une variété de gros pépins ovoïdes et pointus qui sont mono-embryonnés. (**Dupont et Guignard, 2015**).



**Figure 13** : Les constituants de fruit de pamplemousse (Web3).

**Figure 14** : Arbre de fruit de pamplemousse (Web4).

### 2.3. La composition du fruit de pamplemousse :

Selon **Morton (1987)**, des analyses réalisées en Californie, au Texas, en Floride, à Cuba et en Amérique centrale ont révélé la composition biochimique moyenne du pamplemousse.

**Tableau 02** : Composition biochimique moyenne du pamplemousse (**Morton, 1987**).

Composition pour 100g	Pulpe	Jus	Ecorce
<b>Calories (Kcal)</b>	34,4-46,4	37-42	316
<b>Humidité (g)</b>	87.5-91.3	89.2-90.4 g	17.4 g
<b>Protéines (g)</b>	0.5-1.0	0.4-0.5 g	0.4 g
<b>Lipides (g)</b>	0.06-0.20	0.1 g	0.3 g
<b>Glucides (g)</b>	8.07-11.5	8.8-10.2 g	80.6 g
<b>Fibres (g)</b>	0.14-0.77	traces	2.3 g
<b>Cendre (g)</b>	0.29-0.52	0.2-0.3 g	1.3 g

### 2.4. La richesse en bactéries lactiques :

Le fruit de pamplemousse est riche en bactéries lactiques tels que : Le *Lactobacillus pentosus*. *Lactobacillus paraplantarum*. *Lactobacillus plantarum* (**Emerenini et al. 2013**).

### 3. Fruit de la passion :

Le fruit de la passion (FP) dont le nom botanique est le *Passiflora edulis*, est le troisième fruit tropical le plus important après la mangue et l'ananas (Anderson et al., 2022). Il est connu comme le « roi des jus de fruits » et des « fruits épicés » car il a l'arôme de plus de 130 fruits, dont la pomme, la goyave, la banane, la fraise, la mangue, l'ananas, etc. (Xin et al., 2021 ).Le fruit de la passion doit son nom à la fleur dont il est issu : la passiflore. Ce terme apparaît en français vers 1808. Il vient du latin : Flor (fleur) et Passio (passion). De la famille des Passifloraceae . Les espèces du genre *Passiflora* sont largement cultivées dans les régions tropicales et subtropicales de la planète (Zeraik et al., 2010) et leur estimation varie entre 520 et 700 (Feuillet., 2004). Ces espèces offrent également un intérêt ornemental, du fait de la forme singulière et spectaculaire de leurs fleurs, et certaines sont exploitées pour leurs propriétés sédatives, antispasmodiques, antibactériennes ou anti-insectes (Perry et al., 1991).



**Figure 15 :** Fruit de la passion jaune *Passiflora edulis* forma *flavicarpa* (Prise personnelle).

### 3.2. Classification botanique du *Passiflora caerulea* (L.) : ou (passiflore bleue) (SAKHRAOUI Nadjah ,2022).

**Tableau03** : classification botanique du Passiflore caerulea (L.)

Nom botanique	<i>Passiflora caerulea</i>
Famille	Passifloraceae – Passifloracées
Genre	<i>Passiflora</i> – Passiflores
Classe	Magnoliopsida – Dicotylédone, plantes à fleurs
Ordre	Malpighiales – Malpighiales

### 3.3. La composition du fruit de la passion :

La composition chimique des différentes passiflores est présentée dans le tableau 1 (**Chan, 1980**). La pulpe des passiflores possède une forte teneur en glucides et en phosphore. Le maracuja jaune contient une quantité importante d'amidon, de l'ordre de 2,4 %, qui augmente la viscosité du jus et gêne la transmission de la chaleur pendant la pasteurisation et la concentration, surtout quand la température de gélatinisation est dépassée (**Idarraga, 1992**). Les maracujas et la curuba ont des teneurs élevées à très élevées en provitamine A. Les maracujas et, surtout, la curuba sont d'excellentes sources de vitamine C. Les teneurs en riboflavine et en niacine sont également intéressantes.

**Tableau 04** : Composition de 100 grammes de pulpe pour les cinq espèces de passiflores les plus répandues, d'après **Bernai et al ., 1992**

	Maracuja pourpre ( <i>P. edulis</i> )	Maracuja jaune ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> )	Grenadille de montagne ( <i>P. ligularis</i> )	Barbadine ( <i>P. quadran- gularis</i> )	Curuba ( <i>P. mollissima</i> )
Eau (g)	75-85	80-87	79-86	78-88	92
Protéines (g)	0,4-2,2	0,7	0,47-1,1	0,3-0,9	0,6
Lipides (g)	0,1-0,7	0,2	0,1-1,5	0,2-1,2	0,1
Glucides (g)	13-21,2	13,7	12	10,1	6,3
Cendres (g)	0,3-0,8	0,5	0,9-1,3	0,8-0,9	0,7
Calcium (mg)	3,6-13	4	7-13,7	9-10	4
Phosphore (mg)	12,5-64	25	30-78	22-40	20
Fer (mg)	0,2-1,6	0,4	0,8-1,56	0,6-3	0,4
Vitamine A (UI)	700-1 310	2 410	0	70	1 700
Riboflavine (mg)	0,1-0,15	0,1	0,1-0,12	0,1	0,03
Niacine (mg)	1,5-1,7	2,2	1,8-2,1	2,7-15,3	2,5
Vitamine C (mg)	30	16-29	20-28	14-20	64-70
Energie (kCal)	51-90	53	46-80	41	25
Fibres (g)	0	0,2	0,3-5,6	0-3,6	0,3

**10.3.6. La richesse en bactéries lactiques :**

Le fruit de passion est très riche en bactéries lactiques qui sont : *Bacillus subtilis strain* ,*Bacillus Wiedemanni*, *Bacillus cereus*,*Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium* (**Iif Hanifa Nurrosyidah et al .,2020.**)






***Matériel***  
***Et***  
***Méthodes***

**1. Matériel :**

**1.1. Provenance des échantillons utilisés :**

Nous avons utilisé trois (3) fruits frais exotiques qui sont : fruit de la papaye, fruit du pamplemousse et le fruit de la passion. Le tableau suivant porte le lieu et la date d'achat des fruits utilisés :

**Tableau05 :** provenance et date d'achat des fruits.

Echantillons	Lieu d'achat	Datte d'achat	Images
Fruit de la papaye	Wilaya de Tlemcen (Maghnia )	Le 20/02/2024	
Fruit de la passion			
Fruit de pamplemousse	Wilaya de Skikda		

### 1.2. Les souches bactériennes cliniques.

Pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques nous avons utilisés quatre (4) souches pathogènes. Ces souches sont connues par leurs pouvoirs pathogènes pour l'Homme et l'animal. Et qui sont cités dans le **tableau 06** avec leurs Gram et origine :

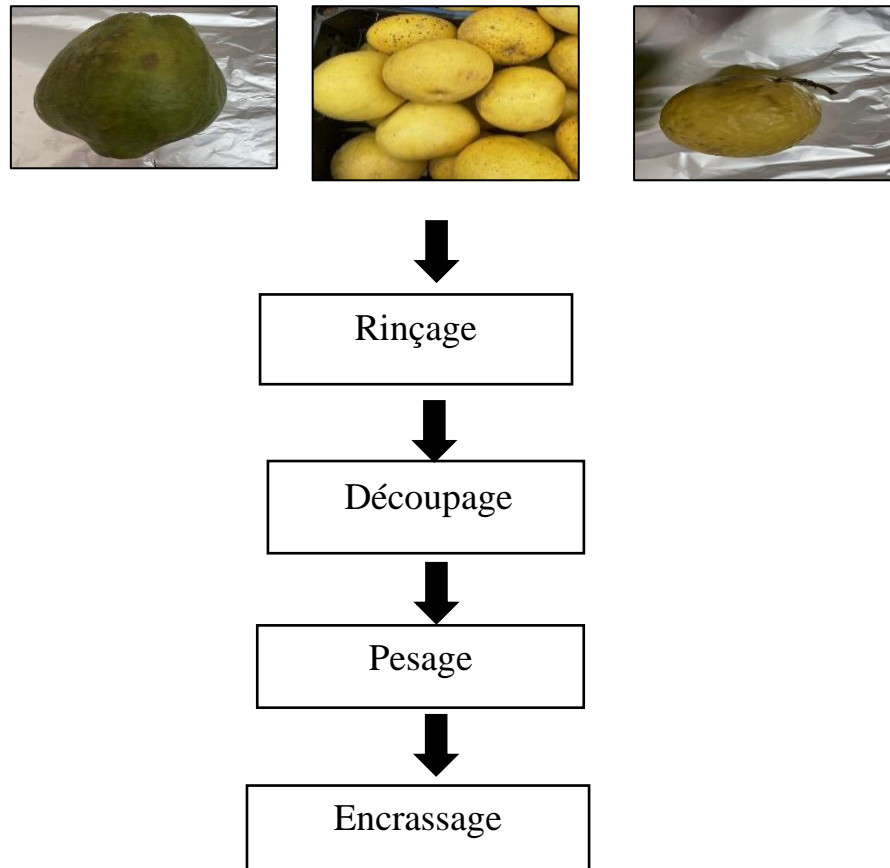
**Tableau 06** : les souches pathogènes utilisées.

Les souches pathogènes	Gram	Origine
Escherichia coli	Négative	Laboratoire des analyses microbiologique de l'hôpital privé NISOMED.
Staphylococcus aureus	Positive	
Streptococcus sp	Positive	
Klebsiella sp	Négative	

### 2. Méthodes :

#### 2.1. Préparation des échantillons :

Les échantillons des fruits utilisés dans notre travail expérimental sont : fruit de la papaye, fruit de pamplemousse et fruit de la passion. Ces fruits sont été lavés, coupés puis pesés (25g) et finalement écrasés (**Figure 16**).



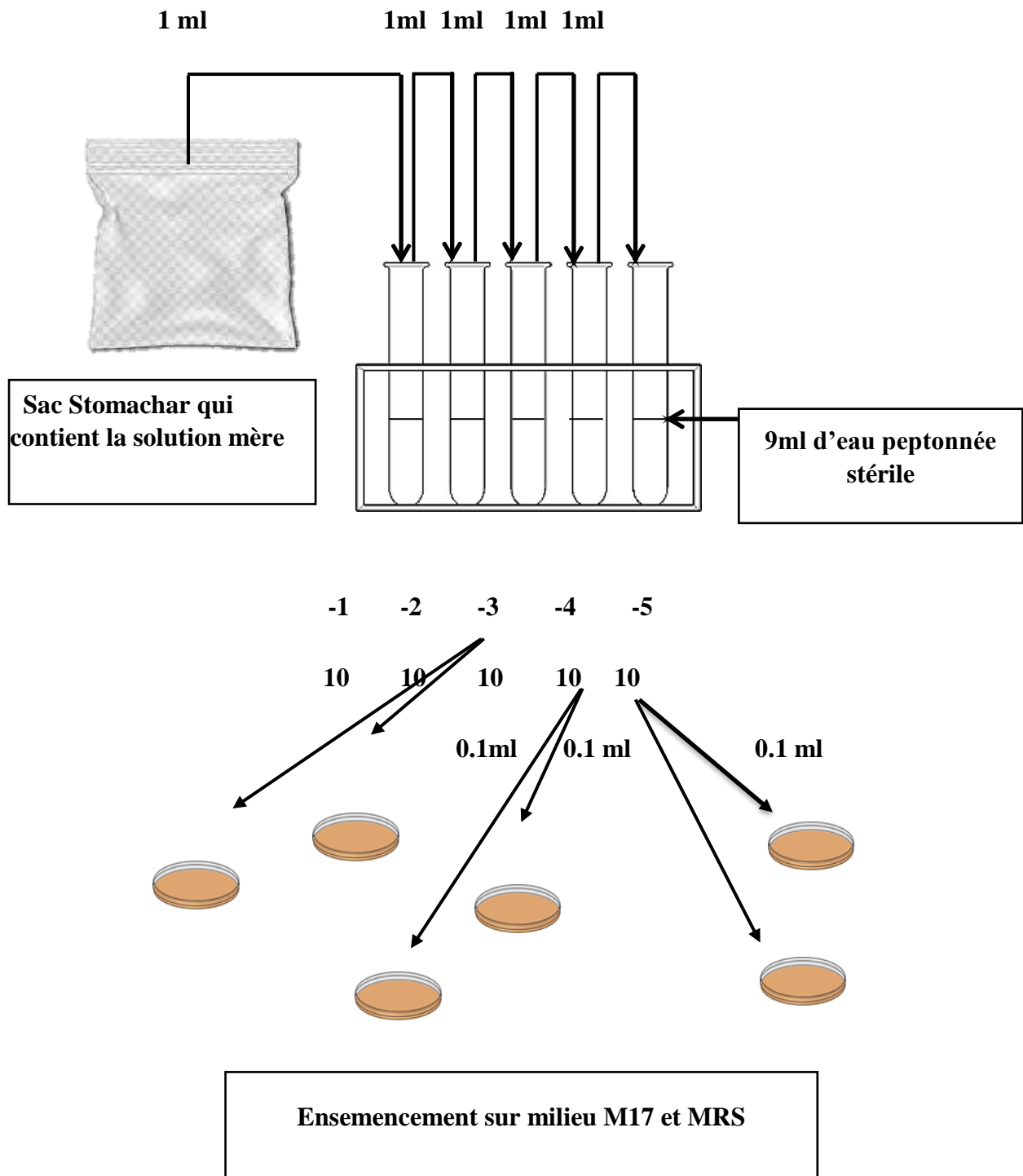
**Figure16** : Les étapes de préparation des échantillons.

#### 4.2. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales :

Une quantité de 25g d'échantillons a été mélangée avec 25 ml d'eau peptonée stérile dans un sac Stomacher (sac de congulation stérile) puis nous avons fait une agitation manuelle de ce mélange pendant 1 min pour l'obtention de la solution mère. Ensuite nous avons préparées des dilutions décimales jusqu'à  $10^{-5}$  à partir de la solution mère.

A l'aide d'une micropipette un volume de 1 ml de la phase aqueuse est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau peptonée stérile pour l'obtention de la dilution  $10^{-1}$ . Ensuite 1ml de cette dernière est repris et additionné à 9ml d'eau peptonée pour réaliser la dilution  $10^{-2}$ , et le processus a été répété jusqu'à l'obtention de la dernière dilution  $10^{-5}$  (**Idoui et al., 2009**) (**Figure17**).

Le protocole réalisé est représenté par la figure suivante :



**Figure 17 :** Préparation des séries de dilutions des échantillons des fruits frais exotiques pour isolement de bactéries lactiques.

### 2.3. Isolement des bactéries lactiques :

L'isolement a été réalisé sur géloses M17 (pour l'isolement des *Lactocoques* et des *Streptococcus thermophilus*) et MRS (pour la culture des *Lactobacillus*) coulées et solidifiées dans des boîtes de pétri à partir des trois dernières dilutions : 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> en déposant 0.1 ml de ces dilutions à la surface des milieux suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à

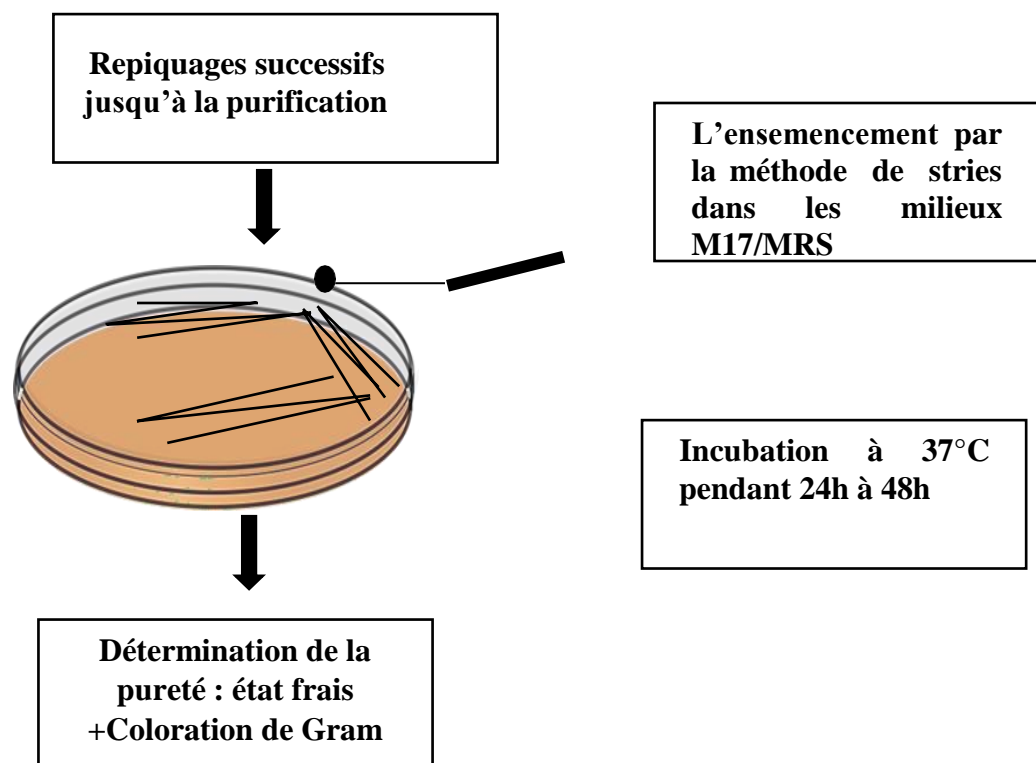
48h en condition d'anaérobies ; après incubation, les colonies obtenues ont été sélectionnées après analyse macroscopique, coloration de Gram et test de catalase et oxydase.

Seules les colonies qui présentent un aspect typique des colonies de bactéries lactiques, et qui sont Gram + et catalase – et oxydase – ont été prises en considération et ont servies pour le repiquage des tubes contenant la gélose M17 ou MRS afin d'entamer leur purification par la suite. (Nehal *et al.*, 2007).

### 2.4. Purification des isolats :

La purification des souches isolées a été réalisée par repiquages successifs sur des boîtes de pétrie coulés avec les géloses MRS et M17 par la méthode des stries. L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h à 48h (Kacem et Karam, 2006, Cheriguene *et al.*, 2007). Et cette opération est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures.

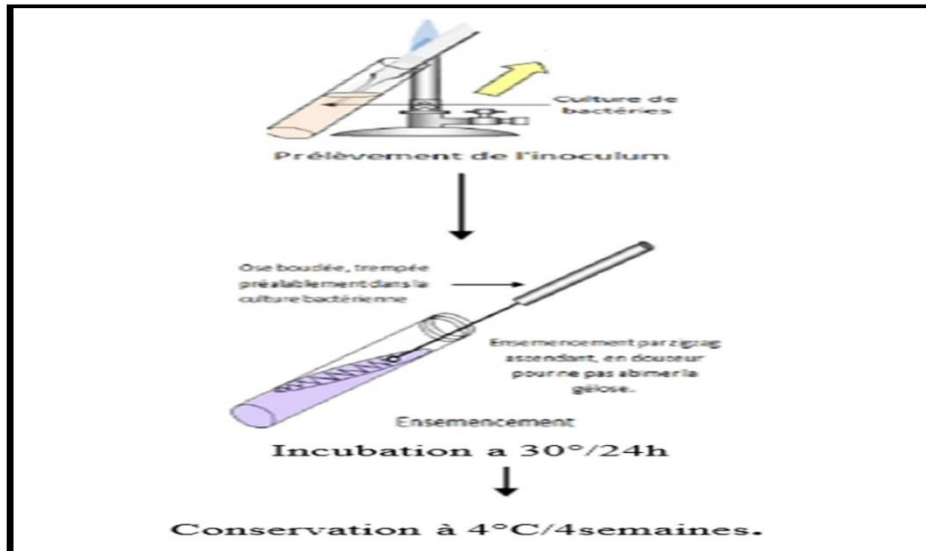
La pureté des souches est révélée par la présence sur gélose des colonies homogènes ayant le même aspect, la même couleur, la même taille et la même forme (Guiraud, 2004). L'état frais et la coloration de Gram ont été faits pour confirmer la pureté des souches (Figure 18).



**Figure 18** : Schéma résumant la technique de purification des isolats purifiés.

### 2.5. Conservation des isolats :

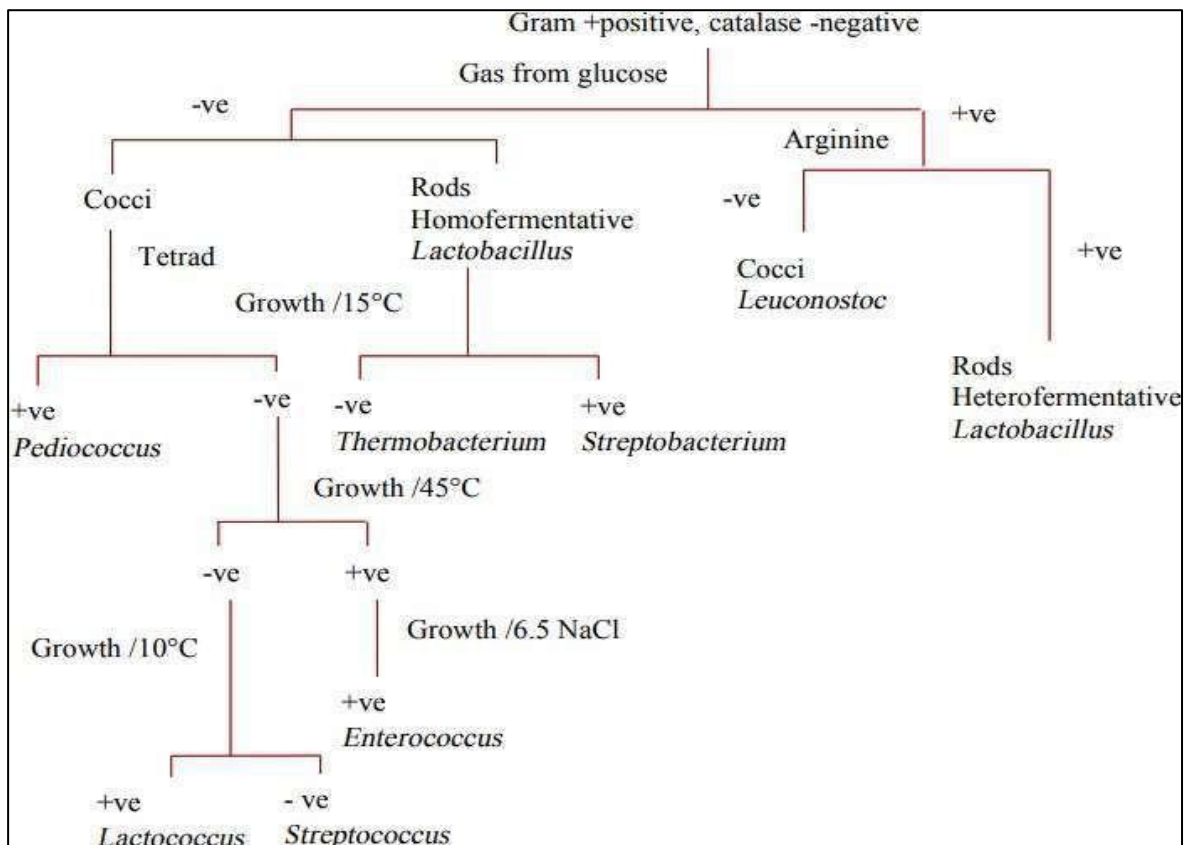
Après purification les souches sont conservées a courte durée, par l'ensemencement sur les géloses M17 et MRS inclinées en tubes et incubés à 30 °C pendant 24 h, puis conservées à 4°C (Ouhab Abdelhak et al ., 2018) (Figure19).



**Figure19** : Schéma de conservation à courte durée des bactéries lactiques purifiées (Badis *et al.*, 2005).

### 2.6. Identification des souches isolées :

L'identification des bactéries lactiques repose sur leurs propriétés phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques (Figure 20).



**Figure 20 :** Voie d'identification des bactéries lactiques selon le genre (Adnan et al., 2017).

## 2.6.1. Identification phénotypique :

### 26.1.1. Examen macroscopique :

Il s'agit d'une observation visuelle de l'aspect des colonies sur la surface des milieux M17 et MRS solide elle vise à apprécier et caractériser les éléments suivants (Badis et al, 2005).

**La forme des colonies :** circulaires, ponctiformes, ondulées, érodées.

**Le contour :** régulier ou irrégulier.

**L'opacité :** opaque, translucide ou transparente.

**L'élévation :** convexes, concaves, plates, à centre élevé.

**La surface :** lisse, rugueuse, sèche, dentelée.

**La taille :** grande, moyenne, petite.

**La couleur :** jaune, blanc, rouge, gris.

### 2.6.1.2. Examen microscopique :

#### ➤ Observation à l'état frais

Cette technique permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie. Il est souvent possible de visualiser si, les cellules sont mobiles ou non. La technique consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur lame en verre propre, puis à l'aide d'une anse de platine stérile, apporter un prélèvement bactérien de la colonie à identifier et la dissocier dans la goutte d'eau physiologique, ensuite recouvrir la lame par une lamelle en évitant la formation de bulles d'air, l'observation est réalisée au microscope optique à l'objectif (X40) puis à immersion (X100) (Singleton, 2005) .

#### ➤ Coloration de Gram

Cette technique est l'une des méthodes de coloration la plus utile, elle permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (Tortora et al., 2003). Cet examen a été effectué selon la méthode classique.

### 2.6.2 .Identification physiologiques :

#### 2.6.2.1. Test de croissance à différentes températures :

Ce test est important de point de vue taxonomique, car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermotolérant, (Guiraud et Galzy, 1980). Et aussi permet la mise en évidence de la croissance des isolats à différentes températures (T : 04, 30, 37 et 45°C) (Larpent, 1996).

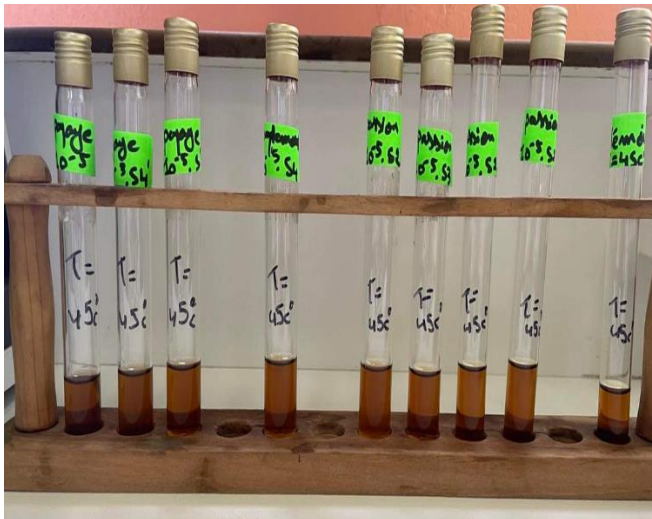
Ce test a été réalisé après inoculation des bouillons M17 et MRS (chaque tube à essai stérile contient 5ml) par les cultures pures .les tubes sont incubés pendant 24h à 72h aux températures 30°C ,37°C, 45°C, et pour les cultures à 04 °C l'incubation des tubes est pendant une semaine. au bout de se délai la croissance des souches est appréciée par l'apparition de trouble dans les bouillons (BARKA Itab et KHAKHA Halima Saadia ,2021) et par comparaison avec un tube témoin non ensemencé (tube de milieu M17, MRS liquide) (Figure21).



A : à température 30°C



B : à température 37°C



C : à température 45°C



D : à température 60°C

**Figure 21 : Test de croissance a différents température (Prise personnelle).**

**2.6.2.2. Test de la thermorésistance des bactéries :**

Ce test permet d'isoler ou identifier les souches résistantes à une température de 60°C (les espèces thermorésistantes) pendant 30 minutes.

Les souches sont inoculées en milieux liquides M17 et MRS, la culture bactérienne doit être jeune et pure. Les tubes sont introduites dans un bain marie à 60°C pendant 30 min, puis incubés à 37°C durant 24 à 48 heures avec un témoin M17 liquide.

Un résultat positif se traduit par un trouble (De Roissart et al, 2006)

Seules les souches thermophiles poussent, contrairement aux souches mésophiles qui sont incapables de se développer (**Figure 22**).



**Figure 22** : Test de thermorésistance des bactéries (**Prise personnelle**).

### 2.6.2.3. Test de croissance à différents PH : 4.4/4.9/9/9.6 :

A l'aide d'un PH mètre nous avons ajusté le PH des bouillons M17 et MRS par l'utilisation de la solution Na OH (pour diminuer le PH) ou de l'HCL (élever le PH) stérilisée, puis des tubes contenant 5 ml de milieu sont inoculés avec toutes les souches. La croissance des cultures se traduit par un trouble du milieu après incubation pendant 24 à 48 heures à 37°C (**Guiraud et Galzy, 1980**). Et en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (**Figure 23**).



A : à PH 4.4



B : à PH 4.9

**Figure23 : Test de croissance à différents PH (Prise personnelle).**

#### 2.6.2.4. Test de croissance en présence de 3,5 et 6,5 de Na Cl :

Ce test permet de savoir si les bactéries lactiques ont la capacité de croître dans un milieu hyper salé, ce qui permet classiquement de distinguer les entérocoques et les cocci. La méthode consiste à ensemercer ces bactéries dans des tubes des milieux M17 et MRS à 3.5% (3,5 g de Na Cl avec 100 ml de milieu) et 6,5% de chlorure de Sodium (Na Cl) et les incuber à 37°C pendant 24 à 72 heures. Après incubation, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemençé (Hassaine, 2013).

#### 2.6.3. Identification biochimique :

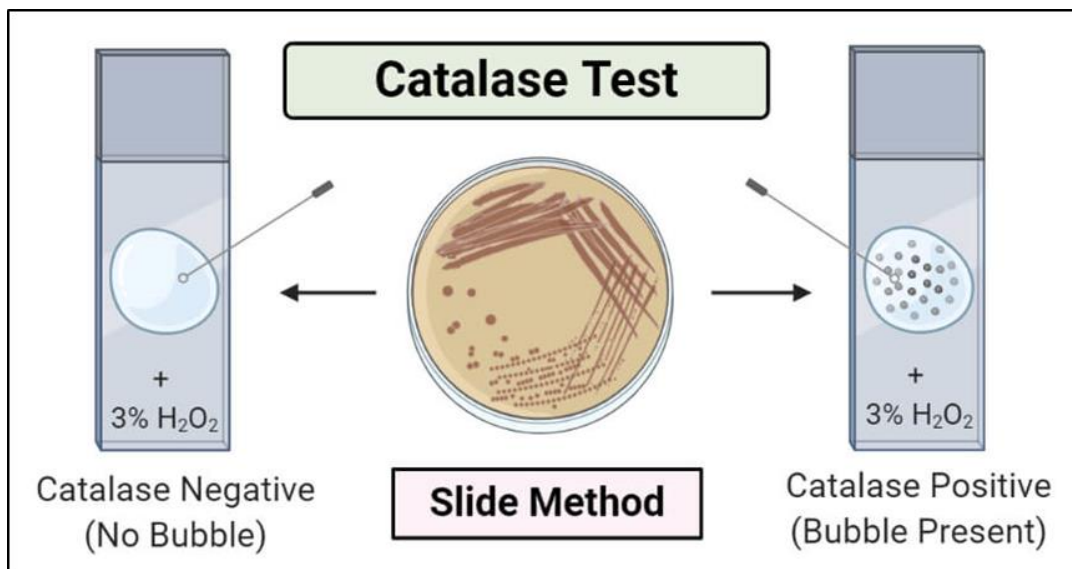
##### 2. 6.3.1 .Test de la catalase :

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) celui-ci est très toxique. Certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :  $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ .

Selon (Marchal et al. 1990) (Ahirwar et al.2017).Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase négatif) des autres bactéries (catalase positif). La réaction positive

se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz ( $O_2$ ), ce test consiste sur les étapes suivantes :

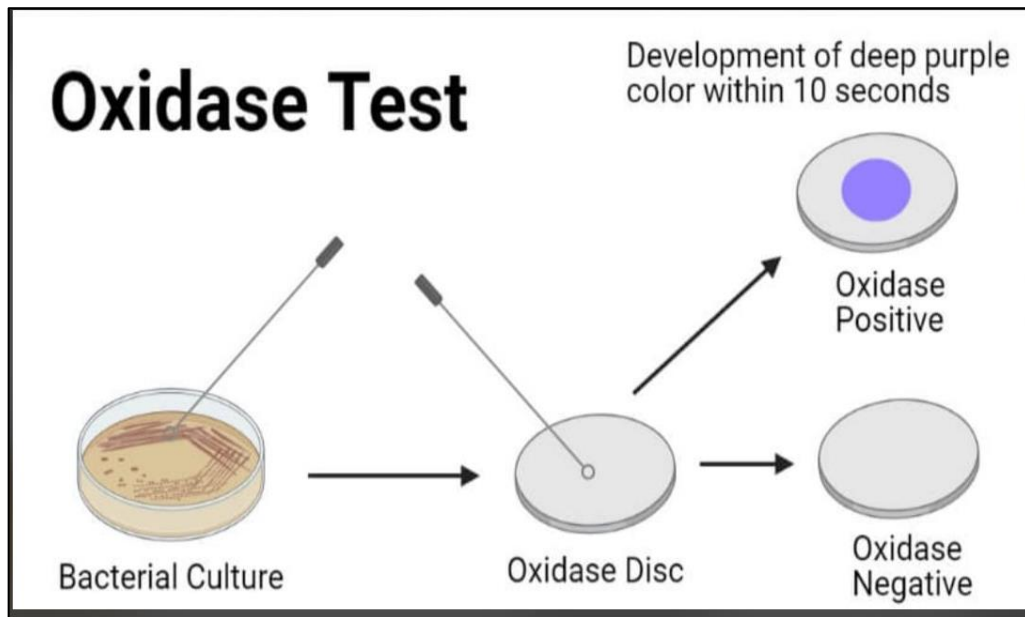
- Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame.
- Y déposer à l'aide de l'anse de platine une colonie isolée (ou plusieurs) de la souche à tester, puis dissocier.
- Observer l'apparition de bulle (**Figure 24**).



**Figure24:** Test catalase (**Web5**).

### 6.3.2. Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet. (**Carbonnelle et al., 1988**) (**Figure 25**).



**Figure 25: Test d'oxydase ( Web6)**

### 2.6.3.3. Test de Mannitol Mobilité :

Le milieu mannitol mobilité est un milieu semi solide qui permet d'étudier simultanément la dégradation du mannitol (la dégradation en anaérobiose conduit à la formation de fructose qui est un produit de dégradation du mannose) et la mobilité. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une pipette pasteur. Incubation à 37C° durant 24 heures à 48 heures (**Kerkour Kenza et al ,2023**).

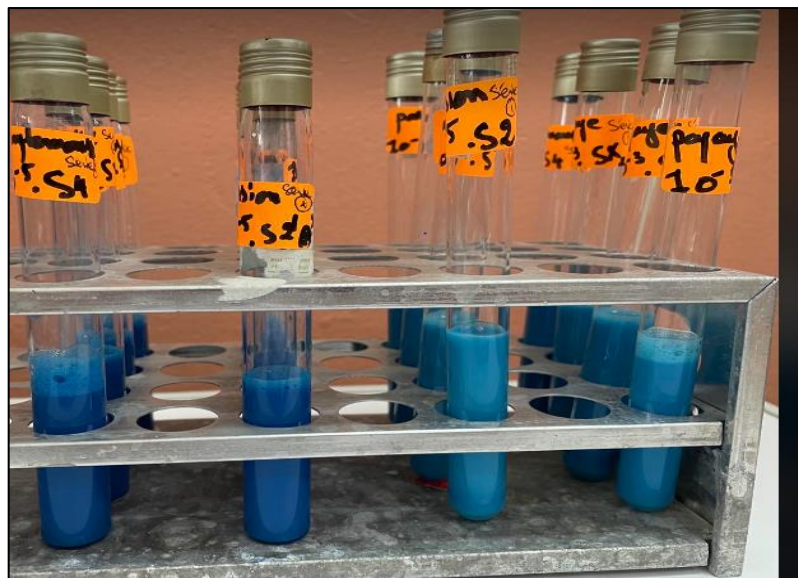
Le virage de l'indicateur coloré rouge de phénol du rouge au jaune témoigne d'une utilisation du mannitol. De plus la mobilité des souches est avérée par la formation de voiles autour de la piqûre centrale avec un trouble du milieu. Les colonies testées sont Mobilité + et mannitol+ (**Figure 26**).



**Figure26 : Test de mannitol mobilité (Prise personnelle).**

#### 2.6.3.4. Test de croissance sur le lait de Sherman :

L'aptitude des souches lactiques à croître en présence d'un inhibiteur (bleu de méthylène) été testé à 0,1% et 0,3%, le milieu utilisé est le lait écrémé stérilisé contenu dans tubes à essais de 9 ml et 1ml d'une solution de bleu de méthylène à 1% stérile et 3ml d'une solution de bleu de méthylène à 3% stérile sont ajoutés dans chaque tube. Le milieu estensemencé avec les souches à tester et incubé à 37°C durant 48 heures. Le bleu de méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène, ce test porte toujours sur le système respiratoire des Lactocoques, car vu que ce sont des microaérophiles, ils ne vont utiliser qu'une partie de l'oxygène présent dans le méthylène (0.1%) et de ce fait la couleur du lait (bleu) virera ver le blanc. Seul certain espèces sont capable de se développer (Guiraud ; 1998) (Figure 27).



**Figure 27 : Test de croissance sur le lait bleu de Sherman (Prise personnelle).**

### 2.6.3.5. Type fermentaire :

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homofermentaires de celles hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production du gaz (CO<sub>2</sub>).

(Hassaine ,2013). De jeunes souches préalablement préparées sont ensemencées dans des tubes contenant du bouillon nutritif, avec une cloche de Durham. Après incubation à 37°C pendant 24–48 heures, la présence ou l'absence du gaz dans la cloche indique le type fermentaire (Hariri et al., 2009). Les souches homofermentaires vont produire 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO<sub>2</sub>, par contre les souches hétérofermentaires vont produire l'acide lactique et le CO<sub>2</sub> a proportions égales (Carr et al., 2002) (Figure28) .



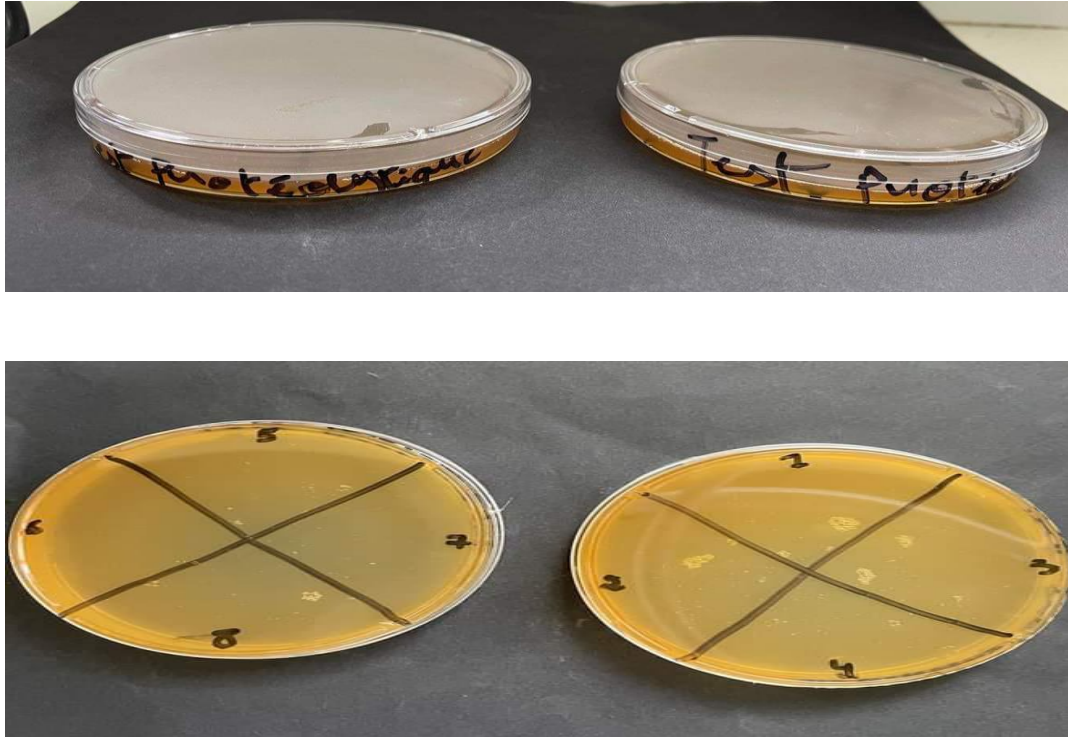
Figure 28 : Test de type fermentaire (Prise personnelle).

### 2.6. Identification technologiques :

#### 2.4.1. Pouvoir protéolytique :

L'activité protéolytique est une autre propriété technologiquement importante des bactéries lactiques (Cogan et al., 1994). La capacité de produire des protéinases extracellulaires est une caractéristique très importante des bactéries lactiques. Ces enzymes hydrolysent les caséines, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance. Il est connu que le système protéolytique des bactéries lactiques dégrade les protéines et par conséquent, change la texture, le goût et les arômes des produits fermentés (El-Ghaish et al., 2011).

La détection de l'activité protéolytique a été testée par ensemencement des milieux MRS et M17 à 10% de lait écrémé par la méthode des spots. Un volume de 5µl d'une culture fraîche de chaque souche est déposé en spot puis l'incubation à 30°C pendant 24 à 48h. Une apparition d'un halo clair autour des colonies est signe d'une dégradation protéique (**Franciosi et al., 2009**) (**Figure29**).



**Figure 29** : Test du pouvoir protéolytique des souches (**prise personnelle**).

### 2.4 .2. Pouvoir aromatisant :

Ce test permet de mettre en évidence la présence de l'acétyl –méthyl –carbonil (acétoïne), un caractère d'intérêt taxonomique mais également industriel parce que le diacetyl est considéré comme une substance aromatique importante dans la saveur des produits laitiers, beurre et fromage (**Mokdad,2020**) .

La réalisation de ce test a été fait sur milieu Clark et Lubs .chaque tube contenant 2ml de milieu Clark et Lubs est inoculé par une culture jeune, pure de la souche lactique tester .après incubation à 37C° pendant 24h à48h .ensuite les réactifs de Vogues-Proskauer VP1(Na OH à 16% d'alcool )et VP2 (alpha -naphthol à 6%d'alcool ) sont ajoutés sur les cultures et le mélange est maintenu à 5 jusqu'au 10min avant de lire la réaction (**Avril et al .1992, HadeF,2012**).

La production d'acétoïne (présence d'arôme) se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rose à la surface du milieu .un VP positif signifie que la souche possède une voie

métabolique particulière pour la fermentation des hexoses, la voie butylène glycolique (Zouarari et al., 1992 ; Guessas et al., 2006) (Figure 30) .



**Figure30** : Test de pouvoir aromatisant (Prise personnelle).

### 2.4.3. L'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes :

Pour étudier l'activité antibactérienne des bactéries lactiques nous avons utilisées quatre (4) souches pathogènes qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* *Streptococcus sp* et *Klebsiella sp*.

Le principe de la détection de l'activité antimicrobienne est basé sur la diffusion de l'agent antimicrobien dans des milieux de culture solides pour inhiber la croissance des micro-organismes indicateurs sensibles. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne est effectuée sur quelques souches représentant des espèces d'intérêt. (Izquierdo et al., 2009). Et pour confirmer l'activité antibactérienne de nos souches lactiques, nous avons utilisé la méthode des spots (**test d'antagoniste direct**).

#### ➤ Préparation des suspensions bactériennes :

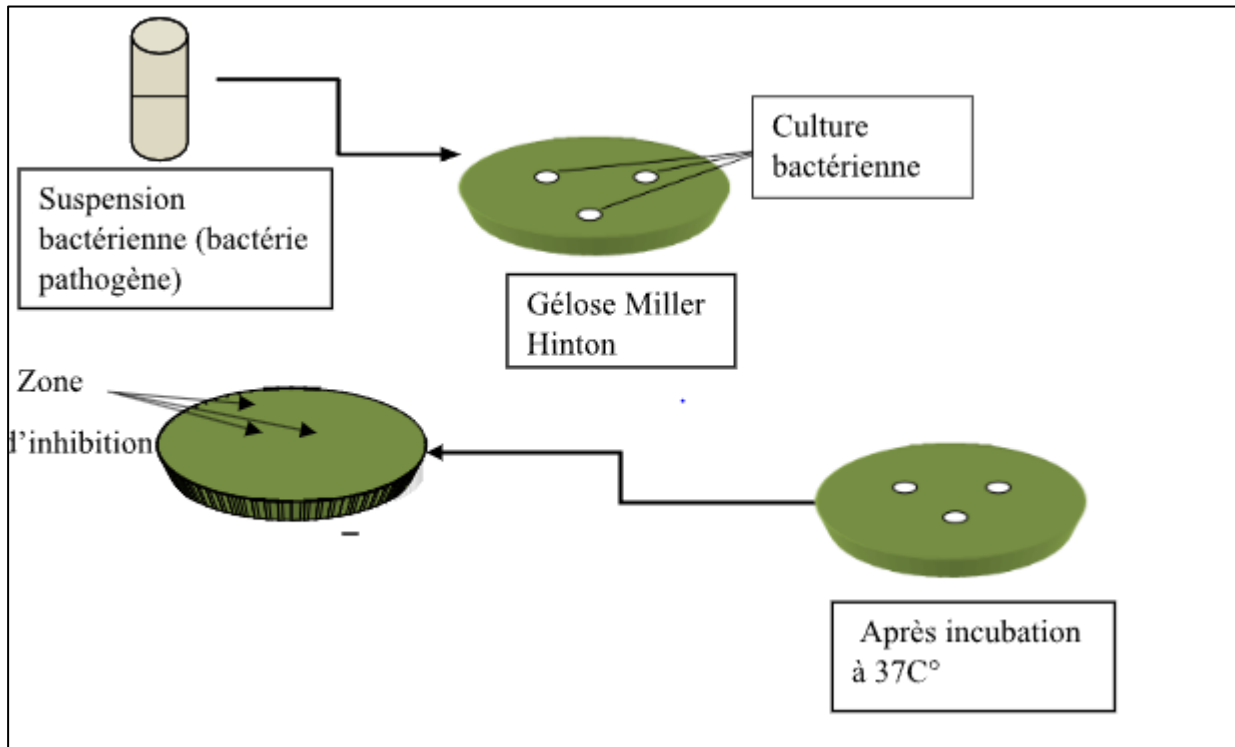
Pour effectuer cette activité, il faut avoir des souches pures et jeunes. A partir de ces 4 souches pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* *Streptococcus sp* et *Klebsiella sp*) qui sont déjà conservées sur le milieu de conservation à 4C° puis nous avons fait un ensemencement des boites de pétri qui contient la gélose nutritive. L'incubation de ces boites à 37C° pendant 24h à 48h.

Ensuite, nous avons préparées les solutions des bactéries pathogènes, dans chaque écouvillon stérile contient 5ml de l'eau physiologie stérile on met les colonies pathogènes qui sont déjà repiqués sur gélose nutritive et on agite bien .

### ➤ Méthode des spots :

Après avoir rempli les boîtes de pétri avec la gélose Miller Hinton (MH), nous avons ensemencé les souches pathogènes par la technique d'écouvillonnage puis les souches lactiques sont déposés en spots sur la surface. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h.

L'apparition d'un halo clair autour du spot est considéré comme inhibition positive et ce traduit par la mesure des diamètres (Samat et al., 2013, Flening et al., 1975) (Figure 31).



**Figure 31 :** Méthode des spots.



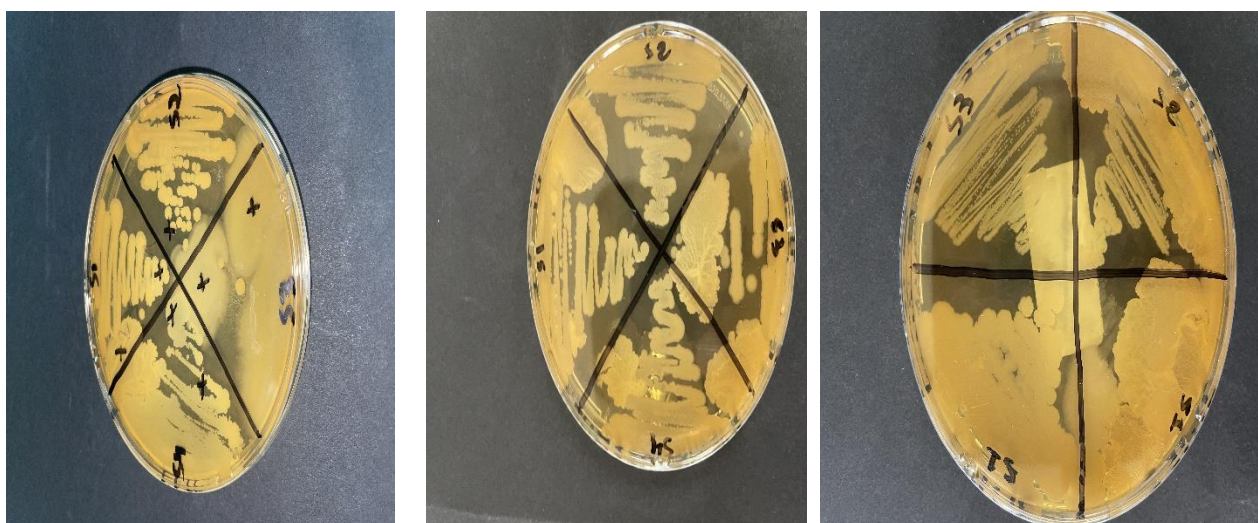
# ***Résultats***

### 1. Isolement des bactéries lactiques :

Lors de cette étude nous avons isolés les souches à partir des fruits frais exotiques (la papaye, le pamplemousse, et la passion). Et nous avons procédé à l'étude des caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques.

### 2. Purification des bactéries lactiques :

Nous avons obtenues des colonies pures après plusieurs repiquages successifs sur la gélose M17 (**Figure32**).



**A : Papaye**

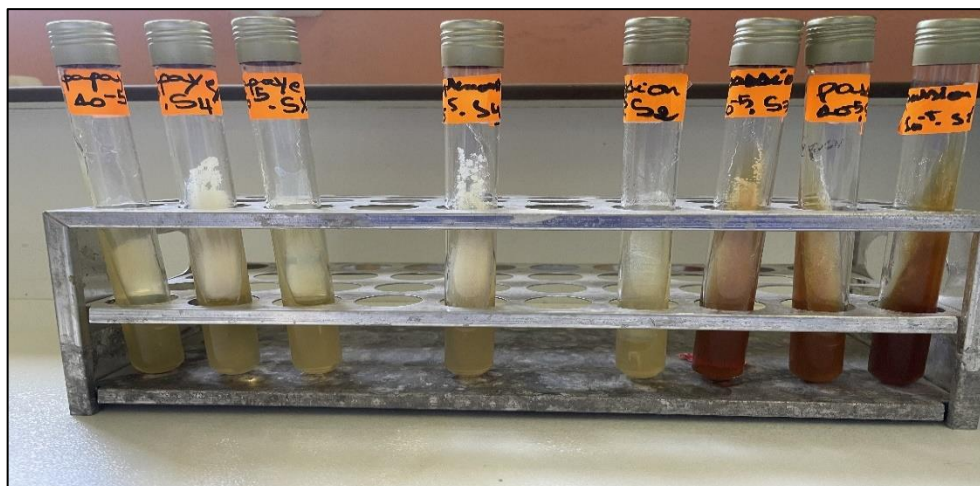
**B : Pamplemousse**

**C : Passion**

**Figure 32 :** Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 à partir de : **A)** Papaye, **B)** Pamplemousse, **C)** Passion (**Prise personnelle**).

### 3. Conservation des bactéries lactiques :

Une fois que nous avons purifiés les différentes colonies obtenues, nous avons conservé nos bactéries sur un milieu solide M17 incliné afin de les identifier. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les tubes ont été conservés à 4°C (**Figure33**).



**Figure 33** : Résultats de la conservation des souches sur milieu M17 incliné (Prise personnelle).

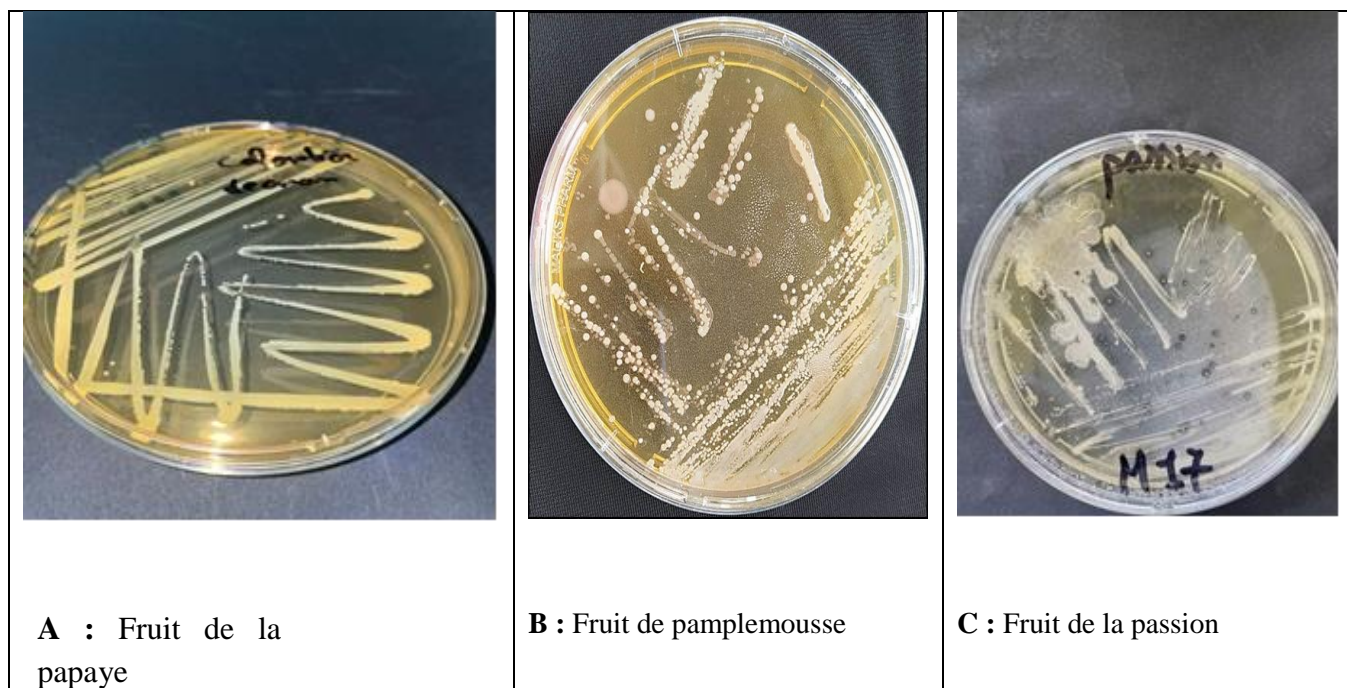
#### 4. Caractères macroscopiques :

Après ensemencement des différentes dilutions préparées à partir de la solution mère (10-3, 10-4 et 10-5), nous avons sélectionnés les différentes colonies obtenues et nous avons procédé à l'ensemencement de ces dernières, par la technique de stries dans le but d'avoir des colonies séparées sur les géloses MRS et M17.

Les résultat de l'examen macroscopique des isolats lactiques cultivés sur milieux solide MRS et M17 tel que la forme ( cocci, bacilles) , la taille ( petite, grande et moyenne ), et le contour( régulier, lisse, bombé) , la couleur ( blanchâtres , jaunâtres , beige ...), l'aspect opaque ou muqueux apparaissent à la surface de gélose sont illustré par la figure 34 et résumé dans le tableau suivant Tableau 07.

**Tableau07** : Les caractères macroscopiques des isolats à partir des fruits frais exotiques.

Les souches	La forme	La couleur	La taille	Relief	Opacité	consistance	Surface
S1	Ronde	Beige	moyenne	Bombé	Opaque	Crémeuse	Lisse
S2	Ronde	Blanchâtre	moyenne	Bombé	Opaque	Crémeuse	Lisse
S3	Ronde	Beige	moyenne	Bombé	Opaque	Crémeuse	Lisse
S4	Ronde	Beige	moyenne	Bombé	Opaque	Crémeuse	Lisse
S5	Ronde	Beige	Petite	Plat	Opaque	Crémeuse	Lisse
S6	Ronde	Beige	Grande	bombé	Opaque	Crémeuse	Lisse
S7	Ronde	Jaunâtre	Petite	Plat	Opaque	Crémeuse	Lisse
S8	Ronde	Beige	moyenne	Plat	Opaque	Crémeuse	Lisse



**Figure 34** : Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir des fruits frais exotiques sur milieu M17 : **A** : Fruit de la papaye, **B** : Fruit de pamplemousse, **C** : Fruit de la passion (**Prise personnelle**).

### 5. Caractères microscopiques :

L'état frais nous a permis d'éliminer les mycètes obtenus sur la gélose MRS. Et toutes les colonies obtenues sur gélose M17 ont subi une coloration de Gram après observation à l'état frais.

Ensuite, nous avons passés à l'observation microscopique (GX100) en utilisant l'huile à immersion. Notre bactéries étudiées sont divisés en bactéries à Gram (+) et d'autres sont des bactéries à Gram (-).

Ces colonies se sont distinguées par deux formes la plupart de nos souches elles ont une forme cocci disposées en tétrade, en paire, groupés en amas et parfois en courtes chaînes. Les autres souches présentent une forme bacille isolée, en amas en tétrade, en paire et aussi en chaînes.

Les souches isolées visées par notre étude sont en forme coque (cocci) (**Figure35**).

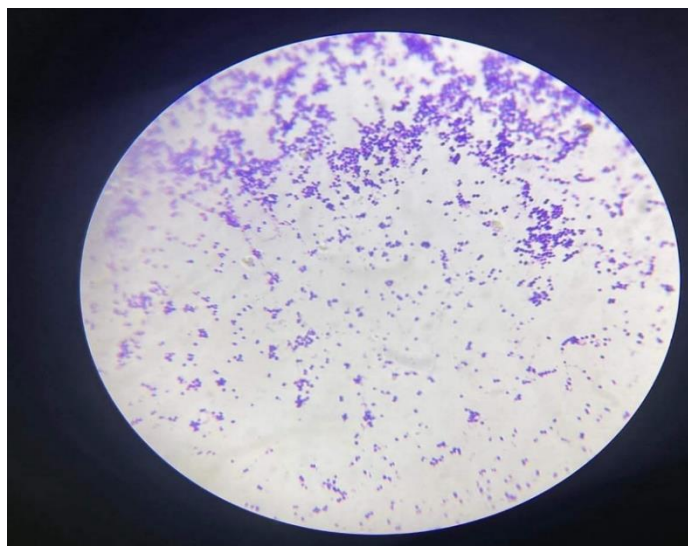


Figure 35 : Observation microscopique de la souche S6 (Prise personnelle).

**6. Identification des bactéries lactiques :**

**6.1. Identification physiologique :**

**6.1.1. Croissance à différentes températures :**

Les variations de température d’incubation (04°C ,30 C°,37 C°et45 °C) pour les différents isolats est un critère physiologique de sélection pour l’identification et la mise en évidence des aptitudes biotechnologique. Ce test permet de faire la différence entre la flore thermophile (45°C), mésophile (30°C ,37°C) et psychrophile (04 °C) (Carr et al. 2002).

Les résultats obtenus après incubation 48h ont montré que les souches qui ont été testés poussent bien à 30C°, 37C° et 45 C° ce que signifie la présence des troubles dans les tubes contenant le bouillon M17 qui est un indicateur de la croissance ainsi que ces souches ne poussent pas à la température 04 °C donc l’absence des troubles dans les tubes .(Tableau 08) (Figure 36) .

**Tableau 08 :** Résultats du test de croissance à différente températures.

Fruits	Souches testées	Croissance à différentes températures			
		4°C	30°C	37°C	45°C
Papaye	S1	-	+	+	+
	S2	-	+	+	+
	S3	-	+	+	+
Pamplemousse	S4	-	+	+	+
Passion	S5	-	+	+	+
	S6	-	+	+	+
	S7	-	+	+	+
	S8	-	+	+	+

(+) : présence de croissance des souches testés.

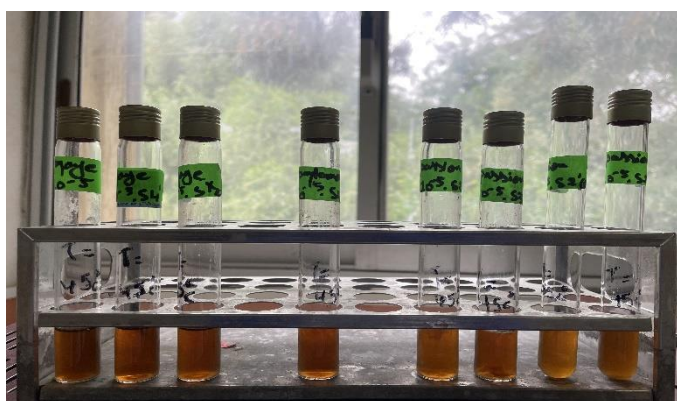
(-) : absence de croissance des souches testés.



**A** : T= 30°C



**B** : T= 37°C



**C** : T= 45°C



**D** : T=04°C

**Figure 36** : Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries

Testées **A**) à T =30°C, **B**) à T = 37°C, **C**) =45°C, **D**)=04°C (Prise personnelle).

## 6.1.2. Thermorésistance des bactéries :

La thermorésistance est un caractère physiologique qui permet de connaître la résistance de ces souches (S1 /S2/S3/S4/S5/S6/S7/S7/S8) à température 60°C est mise en évidence par la présence des troubles sur milieu liquide M17.

Le résultat de ce test après incubation pendant 48h s'interprète par l'apparition des troubles dans tous les tubes qui démontre la croissance des bactéries lactiques thermorésistantes (**Tableau09**) (**Figure 37**).

**Tableau 09** : Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.

Fruits	Souche testées	Thermorésistance
Papaye	S1	+
	S2	+
	S3	+
Pamplemousse	S4	+
Passion	S5	+
	S6	+
	S7	+
	S8	+



**Figure 37 :** Résultats du test de thermorésistance des bactéries testées.

### 6.1.3. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6 :

Après incubation à 37 °C pendant 24h à 72h on obtient les résultats suivants : la croissance de huit (8) isolats a été noté sur le milieu M17 à PH 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6 par présence d'un trouble bactérien .concernant le PH égale à 04 il y'a une croissance dans les souches (S2, S3, S4, S5, S6etS8) sauf deux (02) souches qui sont S1 et S7 en n'été pas faite la croissance. (Tableau 10) (Figure38).

Tableau 10 : Résultats du test de croissance à différents pH.

Fruits	Souches testées	Croissance à différents pH			
		pH = 4,4	pH = 4,9	pH = 9	pH = 9,6
Papaye	S1	-	+	+	+
	S2	+	+	+	+
	S3	+	+	+	+
Pamplemousse	S4	+	+	+	+
Passion	S5	+	+	+	+
	S6	+	+	+	+
	S7	-	+	+	+
	S8	+	+	+	+



A) PH =4.4



B) PH =4.9



C) PH =09



D) PH =9.6

**Figure 38** : Résultats du test de croissance à différents pH : **A)** pH = 4,4 ; **B)** pH = 4,9 ; **C)** pH = 9 ; **D)** pH = 9,6 (Prise personnelle).

#### 4.1.4. Croissance en milieu hyper salé NaCl :

La mise en culture des souches en présence de 3.5% et 6.5% de NaCl, nous a permis d'évaluer leurs aptitudes à croître en présence de ces différentes concentrations.

Les résultats obtenue ont montré que toutes les souches testés (S1/S2/S3/S4/S5/S6/S7/S8) sur milieu hyper salé a une très bonne croissance qui traduit par la présence de trouble dans les tubes. (**Tableau 11**) (**Figure 39**).

**Tableau 11** : Résultats du test de croissance en milieu hyper sal NaCl.

Fruits	Souches testées	Croissance à différents NaCl	
		3.5 %	6.5 %
Papaye	S1	-	-
	S2	+	+
	S3	+	+
Pamplemousse	S4	+	+
	S5	-	-
	S6	+	+
Passion	S7	-	+
	S8	+	+
	S9	+	+



A) à 3.5% de NaCl



B) à 6.5 % de NaCl

**Figure 39** : Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : **A)** à 3.5% de NaCl , **B)** à 6.5% de NaCl (**Prise personnelle**).

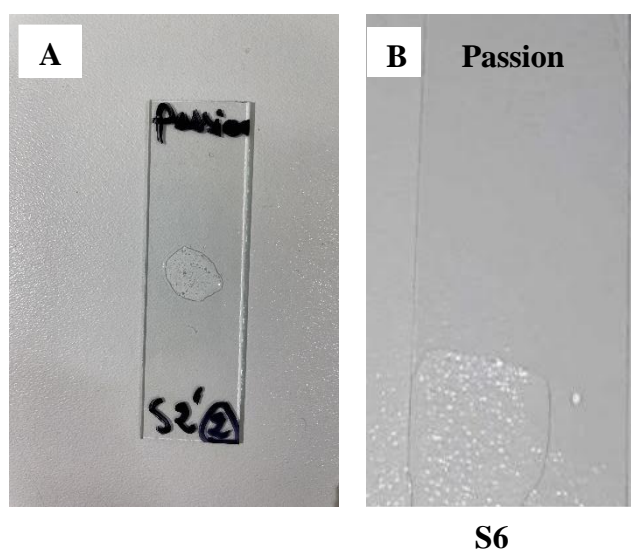
## 6.2. Identification biochimique

### 6.2.1. Résultats du test catalase :

Les résultats obtenus après la réalisation de ce test montrèrent que les souches étudiées et isolées à partir des fruits frais exotiques sont de catalase négative et catalase positive (**Tableau 12**) (**Figure 40**).

**Tableau 12** : Résultats du test catalase.

Fruits	Souches testées	Test catalase
Papaye	S1	+
	S2	-
	S3	-
Pamplemousse	S4	-
Passion	S5	+
	S6	-
	S7	+
	S8	+



**Figure 40** : résultats du test catalase de S6 et S8 isolées à partir de fruit de la passion

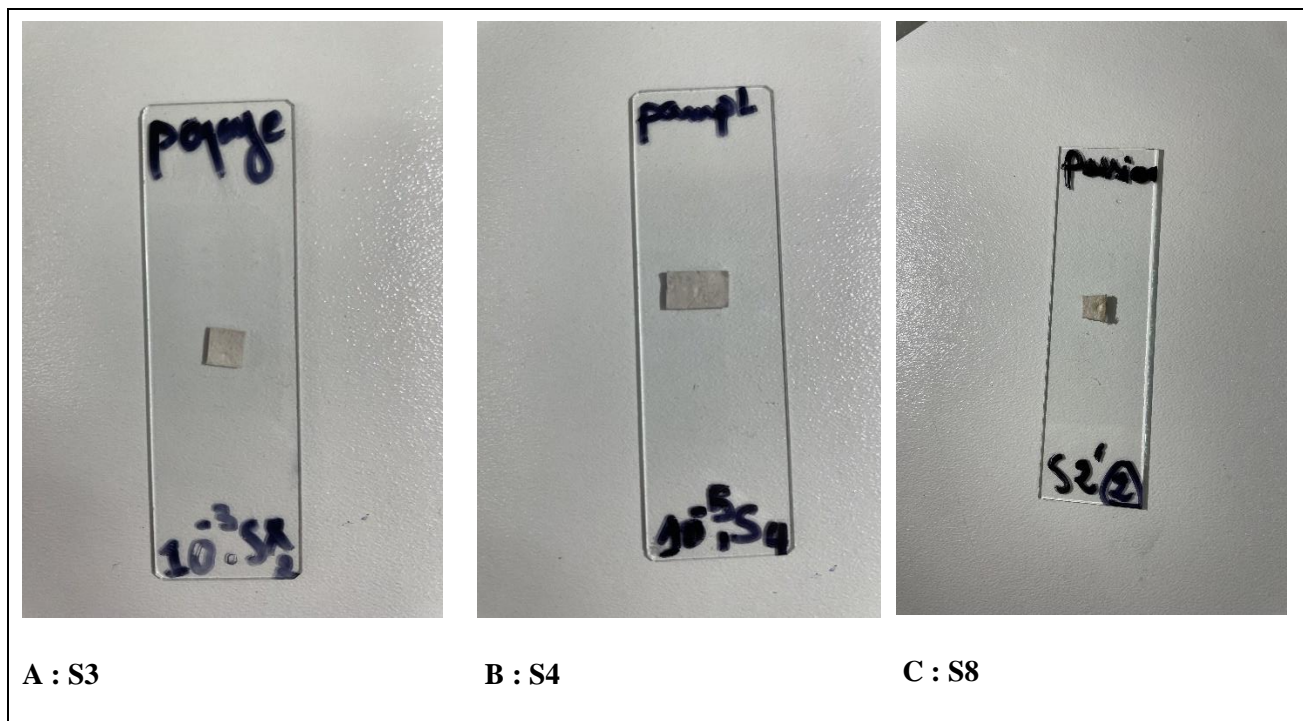
A) Résultat positif, B) Résultat négatif (**Prise personnelle**).

**6.2.2. Résultats du test oxydase :**

Les résultats de ce test ont révélés que toutes les souches isolées sont de oxydase négative .car aucun changement de la couleur du disque d'oxydase vers le violet foncé n'a été observé pendant les premières 30 secondes. (Tableau 13) (Figure 41).

**Tableau 13 :** Résultats du test oxydase.

Fruits	Souche testées	Test oxydase
Papaye	S1	-
	S2	-
	S3	-
Pamplemousse	S4	-
Passion	S5	-
	S6	-
	S7	-
	S8	-



**Figure 41 :** Résultats du test oxydase de S3, S4 et S8 isolées à partir des fruits frais exotiques A : S3, B : S4, C : S8 (Prise personnelle).

**6.2.3. Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman :**

Les souches (S1 ,S2,S3,S4,S6,S7,S8) ont exprimé un résultat positifs c'est-à-dire que ces souches ,elles ont l'aptitude de réduire le bleu de méthylène dans le milieu à concentrations de 1% et 3% donc il y a une croissance, et cela exprime leur capacité à se développer en utilisant l'oxygène du bleu de méthylène ce qui induit la perte de couleur de ce dernier . Cette réaction traduite par la formation d'un caillé blanc.

Par contre la souche (S5) est exprimée un résultat négatif à centration 3%. Car, n'est pas pu réduire le bleu de méthylène dans le milieu .donc aucune croissance n'a été observée (**Tableau 14**) (**Figures 42**).

**Tableau 14 :** Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman à concentration 1% et 3%.

Fruits	Souches testées	Croissance sur le lait bleu de Sherman	
		1%	3%
Papaye	S1	+	+
	S2	+	+
	S3	+	+
Pamplemousse	S4	+	+
Passion	S5	+	-
	S6	+	+
	S7	+	+
	S8	+	+



**A** : à 0.1% de bleu de méthylène.



**B** : à 0.3% de bleu de méthylène.

**Figure 42** : Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman **A**) : à 0.1% de bleu de méthylène, **B**) : à 0.3% de bleu de méthylène. **(Prise personnelle).**

### 6.2.4. Résultats du test Mannitol-Mobilité :

Après incubation, on observe que toutes les souches (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 et S8) sont positives selon le Mannitol on observe un changement de couleur du rouge vers le jaune avec une diffusion d'un trouble homogène au centre du milieu dans tous les tubes.

Et la majorité des souches sont immobiles (S1, S2, S4, S6 et S7) par contre les autres souches (S3, S5, S8) sont mobile avec une acidification du milieu ce qui indique une fermentation du mannitol (**tableau15**) (**Figure 43**).

**Tableau 15** : Résultats du test Mannitol-Mobilité.

Fruits	Souches testées	Mannitol-Mobilité	
		Mannitol	Mobilité
Papaye	S1	+	-
	S2	+	-
	S3	+	-
Pamplemousse	S4	+	-
Passion	S5	+	-
	S6	+	-
	S7	+	-
	S8	+	-



**Figure 43** : Résultats du test Mannitol-Mobilité (Prise personnelle).

**6.2.5. Résultats de type fermentaire :**

Les résultats de ce test ont montré que toutes les souches testés ne produisent pas de CO<sub>2</sub> par la fermentation du glucose. Et ça indiquent que toutes les souches sont des bactéries lactiques homofermentaires (**Tableau 16**) (**Figure 44**).

**Tableau 16 :** Résultats de type fermentaire pour les souches lactiques isolées à partir des fruits frais exotiques.

Les isolats	Type fermentaire
S1	Homofermentaire
S2	Homofermentaire
S3	Homofermentaire
S4	Homofermentaire
S5	Homofermentaire
S6	Homofermentaire
S7	Homofermentaire
S8	Homofermentaire



**Figure 44 :** Résultats du test type fermentaire (prise personnelle) .

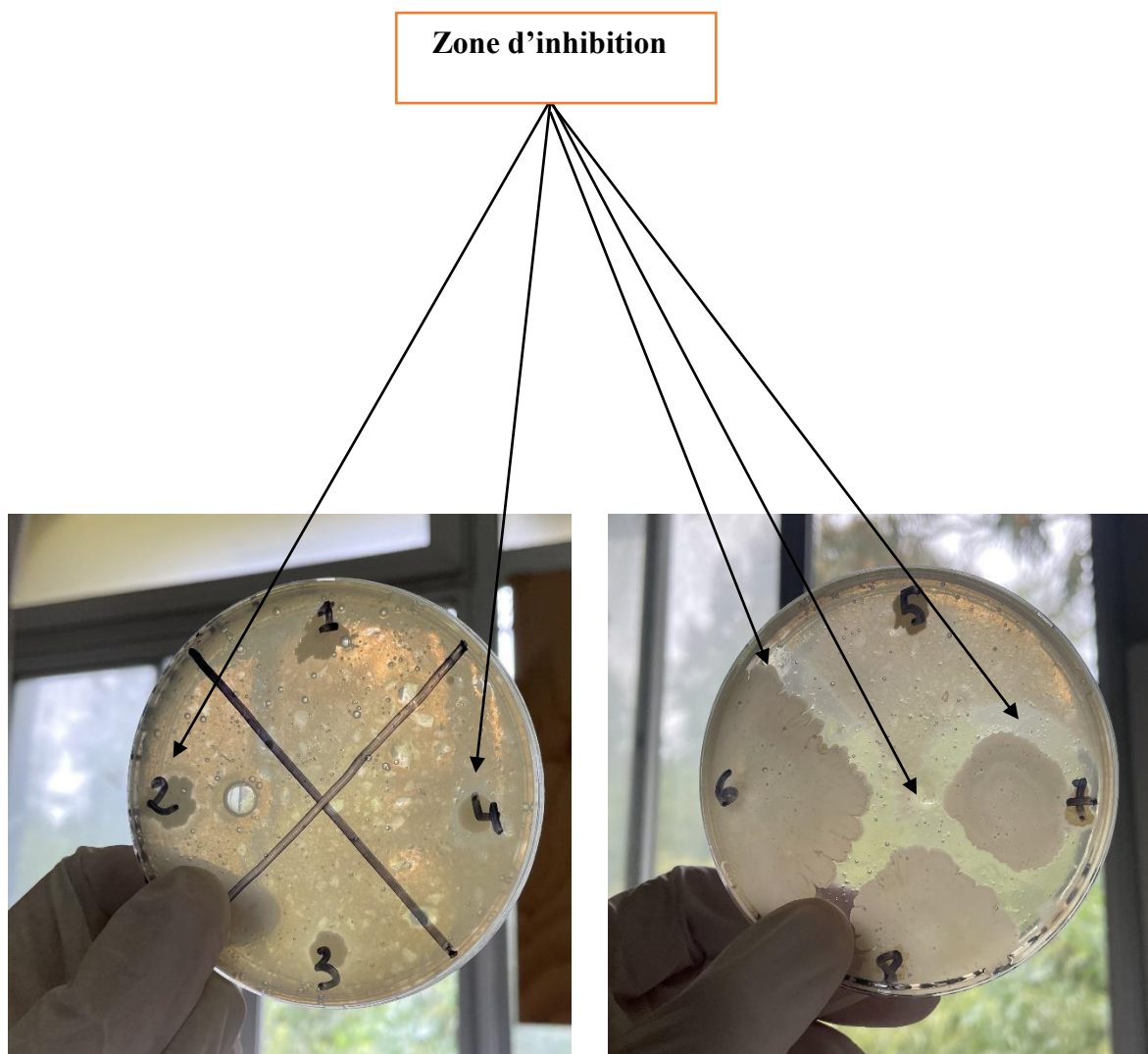
**6.3. Identification technologique :**

**6.3.1. Pouvoir protéolytique :**

Une activité protéolytique a été observée chez certaines souches testées, et se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des souches ensemencées en raison de la dégradation de la caséine. la mesure de diamètre d'un halo apparie de ces souches est un indicateur de leurs activité protéolytique (**Tableau17**) (**Figure 45**).

**Tableau 17** : Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur milieu M17 additionné de lait écrémé à 10%.

<b>Fruits</b>	<b>Souches testées</b>	<b>Activité protéolytique</b>	<b>Diamètres</b>
<b>Papaye</b>	<b>S1</b>	-	/
	<b>S2</b>	+	<b>1.6mm</b>
	<b>S3</b>	-	/
<b>Pamplemousse</b>	<b>S4</b>	+	<b>1.5mm</b>
<b>Passion</b>	<b>S5</b>	-	/
	<b>S6</b>	+	<b>06 mm</b>
	<b>S7</b>	+	<b>4.2mm</b>
	<b>S8</b>	+	<b>05mm</b>



**Figure 45** : Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées (**Prise personnelle**).

### 6.3.2. Pouvoir aromatisant :

La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. (Marilley Et Casey, 2004). D'après les résultats obtenus nous avons remarqués que les souches S1/S2/S3/S7/S8 sont capables de produire l'acétoïne d'où un anneau rouge clair a apparu dans le milieu Clark et Lubs cela indique sa capacité à produire des substances aromatisantes.

Par contre les souches S4/ S5/et S6 sont incapables de produire l'acétoïne d'où l'absence d'anneau rouge dans le milieu (**Figure 46**).



**Figure 46 :** Production de l'acétoïne par les bactéries lactiques (**Prise personnelle**).

### 6.3.3. L'activité antibactérienne :

#### a. l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Staphylococcus aureus* :

A partir de nos résultats obtenues, nous avons remarqués que trois (3) souches isolées qui sont : S1 /S2 /S4 possèdent une activité anti bactérienne contre la bactérie *Staphylococcus aureus*. le diamètre de la zone d'inhibition a servie entre 0.9cm pour la souche1 (S1), 1.1cm pour la souche 2(S2) et 1 cm pour la souche 4(S4) .le reste des souches (S3, S5, S6) ne présent aucune activité anti bactérienne vis-à-vis de cette espèce bactérienne (**Figure 47**).



**Figure 47 :** Résultat de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (**Prise personnelle**).

### b. l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Streptococcus sp* :

On obtient que les souches S1/S2/S4 présentent d'un halo, les diamètres d'un halo est mesuré de 1.5 cm pour S1, 1 cm pour S2 et 1.2cm pour S4 autour ces souches qui est un indicateur de leur activité antibactérienne contre le germe testé (*Streptococcus sp*) .et aucune zone d'inhibition n'a été observé pour les souches lactiques S3,S5 et S6 (**Figure48** ).



**Figure 48** : Résultat de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Streptococcus sp* (**Prise personnelle**).

### c. l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Klebseilla sp* :

Parmi les 6 souches, on observe que les souches S1/S2/S3 et S4 représentent aucun spectre (halo) d'activité vis-à-vis du germe ciblé *Klebseilla sp* et signifie que il y a aucune inhibition .Par contre les souches S5 et S6 l'apparition d'halo avec diamètre varie entre 3.3mm pour la souche 05 et 3.2cm pour la souche 06 (**Figure 49**).



**Figure 49** : Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Klebsiella* *sp* (Prise personnelle).

**d. l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Escherichia .coli* :**

On observe que les souches n'a allant pas d'activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia .coli* parce que aucun halo apparaît autour ces souches qui sont S1, S2, S3, S4, S5 et S6 donc il n'est y a pas une inhibition (**Figure 50**).



**Figure 50** : résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *Escherichia .coli* (Prise personnelle).

**Tableau 19 :** Résultats de l'activité antibactérienne des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes testés : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp* ,*Klebsiella sp* et *Escherichia coli* .

souches lactiques	Souches pathogènes testées			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>S1</b>	<b>09mm</b>	<b>15mm</b>	/	/
<b>S2</b>	<b>11mm</b>	<b>10mm</b>	/	/
<b>S3</b>	/	/	/	/
<b>S4</b>	<b>10mm</b>	<b>12mm</b>	/	/
<b>S5</b>	/	/	<b>33mm</b>	/
<b>S6</b>	/	/	<b>32mm</b>	/

7. Identification des bactéries isolées :

Le tableau 20 englobe un récapitulatif de tous les tests effectués afin de caractériser l'ensemble des souches isolées dans le but de les identifier.

**Tableau 20 :** Caractères physiologiques, biochimiques et technologiques des bactéries isolées à partir des fruits.

Fruits	Souches testées	Caractères																Pouvoir aromatisant			
		T°				Thermo-résistance	pH				NaCl		Test catalase	Test oxydase	Lait bleu de Sherman		Mannitol-Mobilité		Type fermentaire	Activité protéolytique	
		4°C	30°C	37°C	45°C		pH 4,4	pH 4,9	pH 9	pH 9,6	3,5%	6, 5%			1%	3%	Mannitol				Mobilité
Papaye	S1	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	-	+
	S2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	+	+	
	S3	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	-	+	
Pamplemousse	S4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	+	-	
Passion c	S5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	<b>Homofermentaire</b>	-	-	
	S6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	+	-	
	S7	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	+	+	
	S8	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	<b>Homofermentaire</b>	+	+



# *Discussion*

A partir des fruits sélectionnés, à savoir : la papaye, le pamplemousse et le fruit de la passion on a pu isoler 8 souches cocci à Gram positif sur milieu M17. Sur milieu MRS on n'a pas eu de croissance caractéristique des bacilles correspondant aux bactéries lactiques.

Notre caractérisation et identification s'est focalisée sur les 8 souches précédemment citées. Sur ces 8 souches, seules 6 souches se sont révélées catalase négative S2 et S3 isolées de la papaye : S4 à partir du pamplemousse et S6 du fruit de la passion. Les souches à oxydase positive donc ne font pas partie des différents groupes de bactéries lactiques. La catalase négative ainsi que l'oxydase négative sont des caractéristiques majeures des bactéries lactiques.

Le test du Mannitol-Mobilité indique que les 4 souches (S2, S3, S4 et S6) concernées par l'identification sont immobiles.

La souche isolées sont des souches mésophiles capable de croître à 37°C et non pas à 45°C et elles sont en même temps thermorésistante, c'est-à-dire de croître après exposition à 60°C pendant 30 min. Ces mêmes souches présentent une croissance à pH 9,6 et à 6,5% de NaCl. Selon des études faites par (Guiraud, 2003 ; Mofredj et al., 2007) les bactéries présentant ces caractéristiques appartiennent au *Lactococcus lactis*.



***Conclusion***

Les bactéries lactiques ont un intérêt majeur dans l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire. Elles sont utilisées en tant que supplément nutritionnelle et médicamenteux qui exercent un effet bénéfique sur la santé humaine. On trouve ces bactéries dans les produits laitiers (lait, fromage, yaourt) mais aussi dans les fruits. Les bactéries lactiques ont toujours occupé une place importante dans le domaine de fermentation et de conservation alimentaire.

Dans ce travail nous avons isolé un total de 8 souches bactériennes ayant la forme de cocci (coque) à partir de fruits exotiques cultivées en Algérie qui sont : la papaye, le pamplemousse et le fruit de la passion. Ces bactéries ont subi un ensemble d'identification préliminaires phénotypiques, biochimiques et technologiques (la coloration de Gram, la température de croissance, la thermorésistance, la résistance aux différents pH et différentes concentrations de NaCl, les tests catalase et oxydase, le test de croissance sur le lait bleu de Sherman, le test Mannitol-Mobilité, test de détermination du type fermentaire, la propriété protéolytique, le pouvoir aromatisant et l'activité antibactérienne).

Sur ces 8 souches testées, 4 souches ont présenté les caractéristiques de l'espèce *Lactococcus lactis*, il s'agit des souches S2 et S3 (papaye), S4 (pamplemousse) et S6 (fruit de la passion).

### **En perspective :**

- Ces résultats préliminaires nécessitent une confirmation par une meilleure caractérisation biochimique (Galerie API 50CH), suivi d'une caractérisation des propriétés technologiques.
- Une identification moléculaire sera idéale pour confirmer les espèces isolées.
- Application de ces bactéries dans des procédés industriels comme la bioconservation et la fermentation.



***Références***  
***Bibliographiques***

### A

**Adnan, T. et al. (2017)** .Pathophysiology of Dyslipidemia and Its Management by PCSK9

Inhibitors: A Literature - Review', Internal Medicine and Medical Investigation Journal, 9(c).

**Ahirwar, SS, Gupta, MK, Gupta, G., & Singh, V. (2017)**. Dépistage, isolement et identification des espèces de lactobacilles des caries dentaires des enfants. International Journal Of Current Microbiology and Applied Sciences, 6 (1), 497- 503.

**Ammor M.S. et Mayo B., (2007)**. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. Meat. Science. 76: 138-146.

**Anderson ., Ravena Ferreira Vidal ., Maria Brym .,Eric T.Stafne .,Marcio F.R. Resende Jr., Alexandre Pio Viana .,Alan H.Chamber.,(2022)**. Genotyping-by-sequencing of passion fruit (*Passiflora* spp.) generates genomic resources for breeding and systematics. Genet Resour Crop Evol, 69:2769–2786.

**Aswini K ,Mangesh K ,Kailash V,Pratibha C et Mahavir G.(2012)** .Pharmacognostic investigation on leaves of citrus maxima(Burn) .Merr.(Rutaceae)CIB Teach Journal of Pharmaceutical sciences .

**Azzouz Imane,Hachefa chaima,Mesbahi Houda,Regaz Nour Elhouda.(2023)**.Etudes expérimentales et théoriques de l'activité biologiques des principes actifs des fruit de pomelo.

**Axelsson L. (2004)**. Lactic acid bacteria: Classification and Physiology. *In*: S. Salminen, A. von Wright & A.Ouwehand (Ed.) Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. Marcel Dekker Inc. New York. 1-66.

### B

**Badis A., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., (2005)**.Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Scien&Tech, 23 : 30-37.

**Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., (2005)**. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et kabyle", Sci et Technologie n° :23, pp 30-37.

**Barnett. (1946)**.La papaye. journal of département of Agriculture .wes tern Austauralie,Mars .Fruit d'Outre-Mer-Vol ,n° 11.

**Bekhouche F., (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et identification biochimique.2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de Doctorat. Discipline : Génie Alimentaire. Algérie : Université de Mentouri Constantine. 22-149.

**Bendimerad N., (2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P 05.

**Bernai J.A., (1992).** El cultivo de la granadilla, Passiflora ligularis. In : Primer simposio internacional de passifloras. Palmira, Colombie, Universidad Nacional de Colombia, p. 153-161.

**Bibel, D.J.Elise Metchnikoffs. (1988).** bacillus of longue life.ASM News,54:661-665.

**Boullard B. (2001).** Carica papaya L. In: Dictionnaire plantes médicinales du monde, réalités et croyance. St Just-la-Pendue : édition Estem, P.106.

### C

**Camille ,Delarras. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier.P : 128.

**Chan H.T., (1980).** Passion fruit. In.Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses, S. Nagy et P. Shaw éd., Westport, Etats-Unis, AVI Publishing, p. 36-47.

**Carbonnelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p. Carbonnelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p.

**Carr, F.J., Chill, D., Maida, N. (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey, Critical Reviews in microbiology, 28(4) :281-370.

**Cheriguene A., Chougrani F. et Bensoltane A., (2006).** Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from goat's Algerian milk. Pakistan J. Biol. Sci. 9(7) : 1242-1249.

**Cogan, T.M, (1981).** Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in Streptococcus lactis subsp. diacetylactis. Journal of DairyResearch, 48: 489-495.

**Coxam, Séraphin Kati- Coulibaly et Kouamé Koffi., (2022).**paramètre physicochimiques et composition Nutritive de la peuple de 4 variétés de Papaye (Carica papaya) Vendues sur le marché

d'Abidjam (Cote d' Ivoire) .American Journal of Innovative Research and Applied Science. 15(6) :247-265.

### D

**Delangue Y** .traité des plantes tropicales, Actes Sud ; 2002 ,239 p.

**De Roissart H.et Luquet F.(1994)** .Bactéries Lactiques I :Aspets fondamentaux et technologiques vol 1 .Lorica ,uriage edn .France .

**De Rouissat, L. et Bensoltane, A. (2006)**. Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algeria tow breeds (OuledDjellal and El Hamra). Egypt. J. App.ci.21: (2B), 567-580.

**Devriese *et al.* (1998)**. Differentiation between *Streptococcus gallolyticus* strains of human clinical and veterinary origins and *Streptococcus bovis* from the intestinal tracts of ruminants. Journal of Clinical Microbiology, 38: 3520-3523.

**Dupont F. & Guignard J.-L. (2015)** .Abrégés de pharmacie : Botanique, Les familles de plantes - 16ème Ed. Elsevier Masson - p. 243-246.

### E

**El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji-Sfaxi I., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y.G., A. Kuliev A., Mozzi F., Chobert J.M. et Haertlé T., (2011)**. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. Tre. Food Sci. Technol. 1-8.

### F

**Fabert C. M. (2011)**. Le papayer (*Carica papaya* L.) de la medecine traditionnelle à la medecine actuelle. Etudes Botanique et pharmacognosique. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, Université de Limoges, p. 129.

**Fabrice Le Bellec, Valérie Renard, (1997)**. LE GRAND LIVRE des Fruits Tropicaux, CEE, Orphie.

**Fleming H.P., Etchells J.L. et Costilow R.N., (1975)**. Microbial inhibition of isolates of *Pediococcus* from cucumber brine. Appl. Env. Microbiol. 30: 1040-1042.

**Fox, P.F. (1993).** Chesse :an overview. In Cheesse: chemistry, physics and microbiologie, pp 1-36. Edited by P.F.Fox. London: Chapman and Hall.

**Frey L, et Hurbert J. (1993).** Lactobacilles ,Oxygène, Métabolisme et Antagonisme . Le lait .73(2) :133-144.

### G

**GARVIE (E. I.) (1980).** Bacterial lactate dehydrogenases. Microbiol. Rev., 44, 106-139.

**Gérard DEBUIGNE, François COUPLAN. (2009).** Papayer. In Petit Larousse des plantes médicinales. Villeneuve d'Ascq : édition Larousse. P260-261.

**Guessas B. et Kihal M., (2004).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. African J. Biotechnol. 3(6) : 339-342.

**Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P., ( 2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR.

### H

**Hammes W.P. and Vogel R.F., (1995).** The genus Lactobacillus. In: B. J. B. Wood and W.H. Holzapfel (Eds.). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Elsevier Applied Science Publishers. London, UK. 19–54.

**Hamidi Chadia. (2017)** .mémoire de fin d'étude .isolement et pré- identification des bactéries lactiques du lait du chèvre et de chamelle de wilaya de Laghouate ;p 1 .

**Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F. et Bouhadi D. (2009).** Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, Rev.Microbiol. Ind. San et Environn. P : 37-55.

**Hassaine, O. (2013).** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien, thèse de doctorat en boitechnologie, université d'oran Es-senia, Oran.

**Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73(suppl): 365S–73S.

**Hugenholtz J. & Kleerebezem M., (1999).** Metabolic engineering of lactic acid bacteria: overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 10(5), 492-497.

### I

**Idarraga H., (1992).** Parámetros de rendimiento y calidad del maracuyá como material prima industrial. In : Primer simposio internacional de passifloras. Palmira, Colombie, Universidad Nacional de Colombia, p. 207-218.

**Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., Karam N., (2009).**Lactic acid bacteria from « sheep's Dhan », a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits, *Gr. Y. Aceites*, 60 (2): 177-183.

### J

**J-Lenoir, J.Hermier,F .Weber .(1992).**Les Groupes microbien d'intérêt laitier .

### K

**Kacem M. et Karam N.E., (2006).** Physicochemical and microbiological study of "shmen", a traditional butter made from camel milk in the sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Gr. Y. Aceites*. 57(2) : 198-204.

**Kerkour Kenza. (2022).**Mémoire de fin d'étude :évaluation de la prévalence de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* dans les différentes infections humaines p 24 .

**Klaenhammer ,T .R ;Barrangou,R ,Buck,B .L ;Azcarate-Peril, M .A .et Altermann ,E .(2005).**Genomic features of lactic acid bacteria effing bioprocessing and health.*FEMS Microbiol Rev.*29:393-409.

### L

**Larpent J-P. (1996) .**Les bactéries lactiques In *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaires*.

**Iif Hanifa Nurrosyidah. Isnaeni Isnaeni. Ni Made Mertaniasih.(2020).**Potential Probiotic from Indigenous Indonesian Red Passion Fruit (*Passiflora edulis Sims*). *Sys Rev Pharm*. A multifaceted review journal in the field of pharmacy. 11(8):123-130.

### M

**Madigan, M., Martinko, J. (2007).** Brock-Biologie des micro-organismes. 11<sup>ème</sup> édition.

**Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, CL. (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries 3<sup>ème</sup> Ed., Doin éditeurs, Paris.

**MENAD N., (2017).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de Salmonella sp, Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Doctorat: 196.

**Metchnikoffs E,(1907).** The prolongation of life. In Optimistic studies (Heinemann W, Ed), pp.1-100. G.P. Putnam and sons, London; UK.

**Monique Zagorec, Marie Chistine Champomier\_ Verges , Pierre Renault , Flore Valence, Yves le loir, et al (2012).** Ecosystème microbiens et préservation des aliments. Innovations Agronomiques, 24, PP.57-77 .hal-01019534.

**Morton, J. (1987).** Grapefruit. In: Fruits of warm climates. (Eds), Julia F. Morton, Miami, pp, 152–158.

### N

**Nathalie Raynaud (2008).** Les agrumes, source : Saveur du monde. [Http://WWW.Saveur du monde .net /.Dessins Clipart](http://WWW.Saveur du monde .net /.Dessins Clipart).

### O

**Ouahab, I., & Behar, A. (2017).** Forme complexe de maladie de Crohn: à propos d'un cas clinique. Batna Journal of Medical Sciences, 4(1), 108-110.

### P

**Perry N.B., Albertson G.D., Blunt J.W., Cole A .L . , Munro M .H., Walker J.R., (1991).** 4-hydroxy-2-cyclopentenone: an anti-Pseudomonas and cytotoxic component from Passiflora tetrandra. Planta Medica, 57: 129-131.

### S

**SAKHRAOUI Nadjah .(2022).** Mémoire de master en chimie pharmaceutique sur la passiflore (*Passiflora Caerulea*) investigation pharmacologique, phytochimique et biologique .université Mohamed Khider de Biskra.

**Savadogo A ., Traore AS. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés, Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(5): 2057-2075.

**Singleton, D.R., Powell, S.N., Sangaiah, R., Gold, A., Ball, L.M., Aitken, M.D. (2005)** .Stableisotope probing of bacteria capable of degrading salicylate, naphthalene, or phenanthrene in a bioreactor treating contaminated soil. Appl. Environ. Microbiol. ; 71:1202.

**Stiles M.E. & Holzapfel W., (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol., 36(1), 1-29.

### T

**Tonelli et Gallouin.( 2013)** .Des fruits et des graines comestibles du mondes antier-Ed lavoisier .

**Tortora, G.J., Funke, B.R., Case C.L. (2003).**Introduction à la microbiologie. Edition durenouveau pédagogique.Canada.945p.

### X

**Xin Ning., Zhihui Luo ., Zhilin Chen., Chunyao Zhou., Cuiqing Xie., Wei Du., and Lei Wang .,(2021).**Fortification of set yogurt with passion fruit juice: Effects on fermentation kinetics, physicochemical properties, and functionality. Journal of Dairy Science, 104: 4084–4093.

### Y

**Yao N' zué Benjamin (2012)** .Thèse de doctorat de l'université Nangui Abrogoua en sciences et Technologie des Aliments .Conservation du fruit du papayer (Carcia Papayer L.Var solo 8) par le contrôle du stade de maturité à la récolte et quelques activités biochimiques p. 10-11-13

### Z

**Zeraik., J.H. Yariwake.,(2010).** Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp by HPLC-UV/DAD.Microchemical Journal ,96 :86-91.

### Les références web :

Web1 : <https://www.sciencephoto.fr/image/12299020-Lactobacillus-plantarum-bacterium-SEM> .  
Consulté le 26avril 2024.

Web2 : <https://www.furet.com/media/pdf/feuilletage/9/7/8/2/7/4/3/0/9782743014810.pdf>.  
Consulté le 28avril 2024.

Web3 : <https://www.laboratoire-lescuyer.com/blog/nos-conseils-sante/jus-et-extrait-de-pepins-de-pamplemousse-quelles-differences>. Consulté le 30avril 2024.

Web4 : <https://www.jardiner-malin.fr/fiche/pomelo-pamplemoussier.html>. Consulté le 02mai 2024.

Web5 : <https://microbenotes.com/catalase-test-principe-procedure-and-result-interpretation>. Consulté le 04mai2024.

Web6 : <https://microbenotes.com/oxidase-test-principe-procedure-and-results>. Consulté le 04mai 2024.