

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 اوت 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 frais**

Présenté Par :

TABANI Nour Elhouda

ZAOUALI Aya

TAYAR Nada

ZOUGGAR Roumaissa

**Membre de Jury:**

Dr. LAIB Imen (MCA)

Président

Université 20 Août 1955 – Skikda

Dr. BECHEKER Imène (MCA)

Promotrice

Université 20 Août 1955 – Skikda

Dr. GUEDDAH Doria (MCB)

Examineur

Université 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023



## *REMERCIEMENTS*

A l'issue de ce travail, nous remercions **ALLAH** le tout puissant d'être avec nous et de nous avoir donné l'esprit, la santé, la volonté, le courage et la patience pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons tout d'abord, à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice : Mme **BECHEKER Imène**, nous la remercions du fond du cœur pour sa patience, 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 tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements à l'ensemble des membres du jury : **Dr. LAIB Imen** et **Dr. GUEDDAH Doria**, qui ont accepté de juger ce travail.

Nous également exprimons nos remerciements à tous les membres du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 Skikda, également un grand merci au directeur de l'hôpital de Tamalous **BABOUCHE Mahmoud** pour nous aider avec certains milieux de culture.

Nous adressons nos derniers remerciements à tous les professeurs qui ont contribué de près ou de loin à notre soutien et nos encouragements, ainsi qu'à nos collègues de promotion de Microbiologie

Appliquée (2022-2023).

## **DÉDICACE**

*Je dédie ce mémoire :*

*A mes chers parents, ma maman et mon père pour leur amour, soutien, affection, leurs sacrifices et leurs encouragements durant ma vie et pour leur confiance qu'il m'a accordés.*

*A mes chères sœurs **Rania** et **Maroua**, et à mon frère, ma source de joie*

***Mehdi.***

*A toute ma famille et mes amis proches.*

*A mes collègues **Roumaïssa**, **Nour Elhouda** et **Nada** pour leur compréhension mutuelles durant ces années d'études.*

*Merci à tous ceux qui m'aiment.*

**Aya**



## **DÉDICACE**

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

*À mon père l'un de mes piliers, ma force et ma fierté je te remercie du plus profond de mon cœur pour tous tes encouragements.*

*À ma mère ma Laylouche 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, durant ces années d'étude.*

*À une personne très spéciale pour moi Tata **Amel** Merci beaucoup.*

*À mes chères sœurs **Chayma**, **Rihem** et à mon cher frère **Imed**.*

*A mon petit cœur d'amour **Djoud**.*

*À mes trinômes **Nour Elhouda**, **Roumaïssa** et **Aya**.*

*À mes copines **Saoussen**, **Marwa**, **Chiraz** et **Wiam**.*

*Nada*



## **DÉDICACE**

*A ALLAH le tout puissant de m'avoir donné courage et santé afin  
d'achever ce travail.*

*A mon père **Ismail** et ma mère **Noura**, qui ont consenti d'énormes  
sacrifices tout au long de ma vie, qui m'ont encouragé et ont cru en moi, et  
sans qui je ne serai pas ou j'en suis aujourd'hui ...que dieu les protège.  
Mon plus beau cadeau de ma vie mon mari **Housseem Eddine Ouar** pour  
son soutien moral, son patience et ses encouragements.*

*A mes chers frères : **Bilal, Hicham** et **Iyad**.*

*A mes chères sœurs : **Maroua** et **Kenza**.*

*A mes chers trinômes **Nada, Roumaïssa** et **Aya** pour tous les moments que  
nous avons partagés, j'espère que vos rêves se réaliseront !*

**Nour Elhouda**



## **DÉDICACE**

*Avec tous mes sentiments de respect, avec fierté, je dédie ce modeste  
travail :*

*A l'homme qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect ; mon cher  
père, pour son sacrifice et la confiance qu'il m'a accordé.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir ; mon adorable mère, qui  
m'a soutenue et encouragé durant mes années d'études.*

*A mes sœurs **Rania, Sara, Asma** et **Malak**, mes sources d'espoir et de  
motivation.*

*A mes chères trinômes **Aya, Nour Elhouda** et **Nada**, pour les instants  
inoubliables que j'ai passés avec vous, je vous remercie.*

*A mes copines **Oumeïma, Amira, Fatima, Wissem, Amina**, pour leur  
amour, veuille **ALLAH** préserve notre amitié.*

*A tous les gens qui m'aiment, tous ceux qui m'ont offert leur aide, m'ont  
écouté et supporté, ...*

*A vous cher lecteur.*

**Roumaïssa**



## TABLE DES MATIÈRES

### RÉSUMÉS

### LISTE DES ABRÉVIATIONS

### LISTE DES TABLEAUX

### LISTE DES FIGURES

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre 1 : Les bactéries lactiques</b>	<b>3</b>
1. Généralités sur les bactéries lactiques	3
2. Habitat	3
3. Classification et taxonomie des bactéries lactiques	3
3.1. Critères morphologiques et biochimiques	3
3.2. Critères phylogénétiques	3
4. Principaux genres des bactéries lactiques	5
4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	5
4.2. Le genre <i>Streptococcus</i>	5
4.3. Le genre <i>Lactococcus</i>	5
4.4. Le genre <i>Enterococcus</i>	6
4.5. Le genre <i>Leuconostoc</i>	6
5. Les voies de fermentation des bactéries lactiques	6
5.1. La voie homofermentaire	6
5.2. La voie hétérofermentaire	7
6. Intérêt des bactéries lactiques	7
7. Domaines d'utilisation des bactéries lactiques	7
7.1. Dans le domaine de l'agro-alimentaire	7
7.2. Dans le domaine de la santé	8
7.3. Dans le domaine de l'agriculture	8
<b>Chapitre 2 : Les fruits et les bactéries lactiques</b>	<b>9</b>
1. Généralités sur les fruits et les bactéries lactiques	9
2. Les fruits étudiés	10
2.1. Les dattes ( <i>Phoenix dactylifera L</i> )	10
2.2. Les fraises ( <i>Fragaria ananassa</i> )	12
2.3. Les oranges ( <i>Citrus sinesis</i> )	13
<b>MATÉRIEL ET MÉTHODES</b>	
<b>1. Matériel</b>	<b>15</b>

1.1. Provenance des échantillons utilisés	15
<b>2. Méthodes</b>	<b>15</b>
2.1. Isolement des bactéries lactiques	15
2.1.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales	15
2.1.2. Isolement des bactéries lactiques	16
2.1.3. Purification des isolats	17
2.1.4. Conservation des isolats	17
2.2. Identification des souches isolées	20
2.2.1. Identification phénotypique	20
2.2.1.1. Examen macroscopique	20
2.2.1.1. Examen microscopique	20
2.2.2. Identification physiologique	21
2.2.2.1. Croissance à différentes températures et la thermorésistance	21
2.2.2.2. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6	22
2.2.2.3. Croissance en milieu hyper salé NaCl	22
2.2.3. Identification biochimique	22
2.2.3.1. Test catalase	22
2.2.3.2. Test oxydase	22
2.2.3.3. Test de croissance sur le lait bleu de Sherman	23
2.2.3.4. Test Mannitol-Mobilité	23
2.2.4. Identification technologique	24
2.2.4.1. Pouvoir protéolytique	24
<b>RÉSULTATS ET DISCUSSION</b>	
1. Isolement des bactéries lactiques	25
1.1. Caractères macroscopiques	25
1.2. Caractères microscopiques	26
2. Purification des bactéries lactiques	26
3. Conservation des bactéries lactiques	27
4. Identification des bactéries lactiques	28
4.1. Identification physiologique	28
4.1.1. Croissance à différentes températures et la thermorésistance	28
4.1.2. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6	30
4.1.3. Croissance en milieu hyper salé NaCl	31
4.2. Identification biochimique	32
4.2.1. Résultats du test catalase	32
4.2.2. Résultats du test oxydase	32
4.2.3. Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman	33

4.2.4. Résultats du test Mannitol-Mobilité	35
4.3. Identification technologique	35
4.3.1. Pouvoir protéolytique	35
5. Identification des bactéries isolées	37
<b>CONCLUSION</b>	<b>39</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>40</b>

## RÉSUMÉ

Les fruits et les légumes 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 sélectionnés : la fraise et l'orange de la wilaya de Skikda ainsi que les dattes.

Les bactéries ont subi un ensemble d'identification préliminaires phénotypiques, biochimiques et technologiques (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 Mannitol-Mobilité et la propriété protéolytique).

Au final nous avons pu isoler et identifier 4 bactéries lactiques, à savoir : deux bactéries de l'espèce *Pediococcus* spp., un *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* et un *Lactococcus lactis*.subsp *lactis*.

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

## ABSTRACT

Fruits and vegetables 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: strawberries and oranges from the wilaya of Skikda, as well as dates.

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 and proteolytic property).

In the end, we were able to isolate and identify 4 lactic acid bacteria: two of the species *Pediococcus* spp., one *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* and one *Lactococcus lactis*.subsp *lactis*.

**Key words :** Lactic acid bacteria, Biochemical characterization, Phenotypic characterization, Technological characterization, Fruit.

## ملخص

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

الهدف من عملنا هو عزل بكتيريا حمض اللاكتيك من ثلاث فواكه طازجة مختارة : الفراولة والبرتقال من ولاية سكيكدة و كذلك التمر.

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-التنقل ، ومحلل البروتين ملكية).

في النهاية تمكنا من عزل وتحديد 4 بكتيريا حمض اللاكتيك وهي : نوعان من البكتيريا من : *Pediococcus spp* ، أحدهما *Lactococcus lactis.subsp lactis* و *Lactococcus lactis subsp. Cremoris* .

**الكلمات المفتاحية :** بكتيريا حمض اللاكتيك ، التوصيف الكيميائي الحيوي ، التوصيف المظهري ، التوصيف التكنولوجي ، الفاكهة.

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN :	Acide Désoxyribonucléique.
ADP :	Adénosine Diphosphate.
ATP :	Adénosine Triphosphate.
Cm :	Centimètre.
CO <sub>2</sub> :	Oxyde de carbone.
g :	gramme.
h :	heur.
Hétéro :	Hétérogène.
Homo :	Homogène.
H <sub>2</sub> O :	Monoxyde de dihydrogène.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Peroxyde d'hydrogène.
KJ :	Kilojoule.
ml :	millilitre.
mm :	millimètre.
min :	minute.
MRS :	Man, Rogosa et Sharpe.
NaCl :	Chlorure de sodium.
O <sub>2</sub> :	Oxygène.
pH :	potentiel Hydrogène.
Pi :	Phosphate inorganique.
S :	Souche.
sec :	seconde.
spp :	Plusieurs espèces non précisées.
T :	Température.
XXe :	20 <sup>e</sup> siècle.
% :	Pourcentage.
°C :	Degré Celsius.
μL :	microlitre.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Exemples de bactéries lactiques sélectionnées pour la fermentation des fruits.	10
2	Résultats du test de croissance à différentes températures.	28
3	Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.	29
4	Résultats du test de croissance à différents pH.	30
5	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl.	31
6	Résultats du test catalase.	32
7	Résultats du test oxydase.	33
8	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	34
9	Résultats du test Mannitol-Mobilité.	35
10	Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur milieu M17 additionné de lait écrémé à 10%.	36
11	Caractères physiologiques, biochimiques et technologiques des bactéries isolées à partir des fruits.	37

## LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
1	Classification simplifiée des bactéries lactiques.	4
2	Datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite).	11
3	Schéma explicatif d'une coupe longitudinale de fraise.	12
4	Schéma descriptif d'une coupe longitudinale d'orange.	13
5	Vue globale du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda.	14
6	Laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda.	14
7	Marché des fruits et légumes de la ville de Skikda.	15
8	Préparation de la solution mère.	16
9	Protocole d'isolement et identification des bactéries lactiques.	18
10	Clé d'identification bactérienne par quelques tests.	20
11	Test de thermorésistance des bactéries.	21
12	Test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	23
13	Test Mannitol-Mobilité.	24
14	Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir de la fraise sur milieu M17.	25
15	Résultat de l'observation microscopique d'un isolat à partir d'une orange après coloration de Gram (X100).	26
16	Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 à partir de : <b>A)</b> Fraise, <b>B)</b> Orange, <b>C)</b> Datte.	27
17	Résultats de la conservation des isolats sur milieu M17 incliné.	27
18	Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries testées <b>A)</b> à T = 45°C, <b>B)</b> à T = 4°C.	28

19	Résultats du test de thermorésistance des bactéries testées <b>A)</b> Résultat positif, <b>B)</b> Résultat négatif.	<b>29</b>
20	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>30</b>
21	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : <b>A)</b> 1% ; <b>B)</b> 2% ; <b>C)</b> 3% ; <b>D)</b> 6.5%.	<b>31</b>
22	Résultats du test catalase de S1 et S2 isolées à partir de la fraise <b>A)</b> Résultat positif, <b>B)</b> Résultat négatif.	<b>32</b>
23	Résultats du test oxydase de S7 et S1 isolées à partir de la datte et la fraise <b>A)</b> Résultat positif, <b>B)</b> Résultat négatif.	<b>33</b>
24	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>34</b>
25	Résultat comparatif de test de croissance sur lait de Sherman à 0.1% et 0.3% de bleu de méthylène de S2 isolée à partir de la fraise.	<b>34</b>
26	Résultats du test Mannitol-Mobilité.	<b>35</b>
27	Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées.	<b>36</b>

# ***INTRODUCTION***

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires qui peuvent être bénéfiques dans la production végétale et animale. Avec leur longue histoire d'utilisation dans la conservation des aliments par de nombreuses cultures dans le monde, elles sont généralement reconnus comme sûres pour la consommation humaine. Par production de l'acide lactique comme métabolite de fermentation, ces microorganismes prolongent le stockage, préservent la valeur nutritive, et rehausser les saveurs d'aliments autrement périssables. Les bactéries lactiques sont faciles à collecter, cultiver, stocker et utiliser (**Ikeda, 2013**).

Les bactéries lactiques désignant un grand groupe de bactéries, plutôt qu'une seule espèce ou souche, qui produisent de l'acide lactique comme sous-produit de la digestion de leur source de nutrition (généralement des glucides). L'acide lactique s'accumule pour fermenter les aliments et ces bactéries sont capables de survivre dans des environnements acides (à faible pH) (**Fajardo et al., 2012**).

Elles sont répandues dans la nature et sont bénéfiques pour notre système digestif (probiotiques). Elles sont parmi les groupes de microorganismes les plus importants utilisés dans la fermentation des aliments, contribuant au goût et à la texture de produits fermentés et inhibant la détérioration des aliments causés par d'autres microorganismes. Elles sont utilisées dans la production des yaourts, fromages, beurres, crème, saucisse, olives et choucroute (**Zamojska et al., 2021**).

Ces dernières années, de plus en plus d'attention a été portée au métabolisme des bactéries lactiques. Les bactéries lactiques sont des bactéries Gram positif qui utilisent les glucides comme seule ou principale source de carbone. Elles sont généralement des cocci ou des bâtonnets. Bien que les bactéries lactiques comprennent plus de 60 genres, les genres fréquemment rencontrés dans la fermentation des aliments sont généralement : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Weissella*, etc... En tant que souches de fermentation, les bactéries lactiques doivent avoir plusieurs caractéristiques métaboliques importantes, telles que la capacité à produire de l'acide et de l'arôme, la capacité d'hydrolyser les protéines, la capacité de produire des exopolysaccharides visqueux et la capacité d'inhiber d'autres bactéries (**Mokoena, 2017 ; George et al., 2018**). Sont également à l'origine de la synthèse d'une large gamme de métabolites bénéfiques qui

affectent les propriétés nutritionnelles, sensorielles et technologiques des produits alimentaires fermentés. Pour ces raisons, les bactéries lactiques ont été largement utilisées comme cultures starters, en tant que probiotiques et dans la production de composés intéressants (nutraceutiques) (**Ruiz Rodríguez et al., 2017**).

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 : fraise, orange et dattes qui sont riches en glucides et pauvres en protéines avec un pH légèrement acide constituant ainsi un milieu adéquat pour la prolifération de ces dernières.

***SYNTHÈSE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

***CHAPITRE 1 :***  
***LES BACTÉRIES***  
***LACTIQUES***

## **1. Généralités sur les bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques sont des organismes procaryotes, découvertes pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle. Elles sont considérées comme étant des bactéries non pathogènes à l'exception de certains genres considérés comme pathogènes opportunistes (**Leonard, 2013**). Elles sont sous forme de coques ou bâtonnets à Gram positif, immobiles, non sporulées, catalase négative, oxydase négative, nitrate réductase négative, elles sont aussi aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles. Les bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides gras, les peptides, les glucides fermentés cibles, les acides aminés et les vitamines (**Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005**).

Grâce à leur fermentation lactique des glucides, elles ont la capacité de synthétiser leur ATP (énergie), et selon la voie métabolique, elles sont classées en deux catégories : homofermentaires (homolactiques) ou hétérofermentaires (hétérolactiques) (**Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005**).

## **2. Habitat :**

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques et peuvent être isolées de divers substrats, environnement et à partir d'aliments riches en sucres simples (fruits, légumes, céréales, produits laitiers, viandes, poissons, boissons, plantes, sols, eaux usées, tractus digestif, génital et respiratoire d'homme et d'animaux) (**Hammes et al., 1992 ; Novel, 1993**).

## **3. 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 :

### **3.1. 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**).

### **3.2. 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).

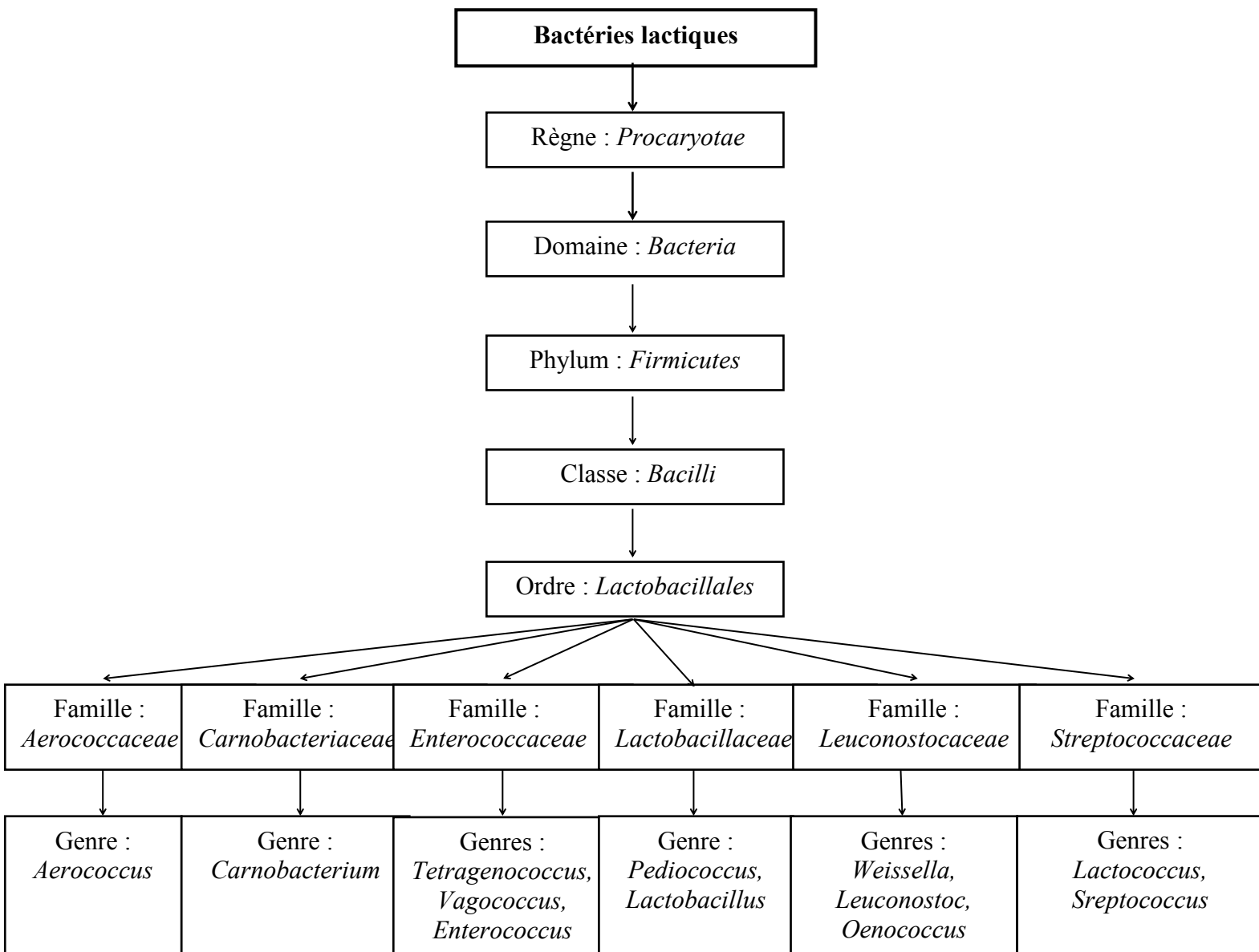


Figure 1 : Classification simplifiée des bactéries lactiques (Vandamme et al., 1996 ; Stiles et Holzapfel, 1997 ; Axelsson, 2004).

#### 4. Principaux genres des bactéries lactiques :

##### 4.1. Le genre *Lactobacillus* :

C'est le genre principal et le plus diversifié de la famille des *Lactobacillaceae*. Il est très hétérogène, englobant les espèces avec une grande variété phénotypique, biochimique et physiologique (**Zhang et Cai, 2014**). Beijerinck a proposé ce genre en 1901, qui comprend plus de 110 espèces (**Kandler et Weiss, 1986b**). Les cellules de ce genre sont polymorphes, isolées à une température optimum de croissance entre 30 à 40°C (bactéries mésophiles) (**Devos et al., 2009**) et un pH optimum entre 5,5 à 6,2 (**Zhang et Cai, 2014**).

##### 4.2. Le genre *Streptococcus* :

Les *streptococcus* sont des bactéries en paire ou en chaîne d'une morphologie sphérique ou ovoïde et sont homofermentaires. Plusieurs espèces de ce genre sont parasites de l'homme et des animaux dont certaines sont pathogènes et provoquent de graves infections. Selon leurs critères sérologiques de Sherman on distingue quatre groupes : les streptocoques à hémolyse  $\beta$  (pathogènes) appartenant aux groupes sérologiques de Lancefield A, B, C, D, E, F, G et H (groupes pyogènes), les streptocoques à hémolyse  $\alpha$  ou  $\gamma$  (oraux), non groupables par la méthode de Lancefield (1933) appartenant au groupe K (groupe viridans), les streptocoques non hémolytiques appartenant au groupe sérologique N (groupe lactique), et les streptocoques à hémolyse  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$  (fécaux) appartenant au groupe sérologique D (groupe des entérocoques) (**Schleifer et Kilpper-Bälz, 1984, 1987**).

##### 4.3. Le genre *Lactococcus* :

Ce genre a été proposé par Schleifer. Il est représenté par les streptocoques lactiques mésophiles du groupe N. Les lactocoques sont des bactéries utilisées fréquemment en fermentation industrielle notamment celle des produits laitiers. Leur habitat naturel est le lait et les autres produits laitiers ainsi que les végétaux (**Schleifer et al., 1985**).

Les lactocoques sont des bactéries anaérobies facultatives, elles ont une température de croissance optimum de 30°C, elles se développent à 10°C (mais pas à 45°C). Parmi leurs caractéristiques les plus importantes, la métabolisation homofermentaire qui conduit à la production d'acide lactique à partir du glucose. En présence de NaCl à 6,5% ou bien lorsque le pH est plus de 9,6 leur développement est impossible (**Teuber, 1995**).

##### 4.4. 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**).

#### **4.5. Le genre *Leuconostoc* :**

Selon la classification d'Orla-Jensen (1919), les leuconostocs étaient décrits comme des cocci hétérofermentaires appartenant au genre *Betacoccus*. Les cellules de ce genre sont polymorphes (ovoïdes, lenticulaires ou sphériques), sont aussi en paires ou en courtes chaînes, anaérobies facultatives et immobiles (**Garvie, 1986a**). Ses espèces sont hétérofermentaires. Parmi leurs caractéristiques, la production du diacétyle et de l'acide acétique et la synthèse de dextrans et de levanes en présence de saccharose. Leur importance réside dans leur utilisation en industrie et en médecine (**Holzappel et Schilling, 1991**).

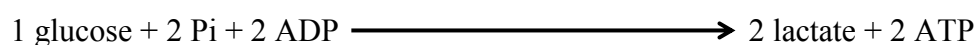
#### **5. Les voies de fermentation des bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire qui repose sur l'utilisation des glucides (glucose, fructose, lactose et saccharose). Selon leur métabolisme, les bactéries lactiques sont soit homofermentaires ou hétérofermentaires (**Leonard, 2013 ; Hassaine, 2013**).

##### **5.1. La voie homofermentaire :**

Dans la voie homofermentaire, l'acide lactique est le seul et le principal produit. Elle emprunte la voie de la glycolyse ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Durant cette voie et en addition d'une phosphorylation de deux molécules d'ADP en ATP, y'aura une conversion du glucose en deux molécules de pyruvate. Ce dernier est converti en lactate par une enzyme dite le lactate déshydrogénase. Les genres de bactéries lactiques homofermentaires sont : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus* (**Faria-oliveira et al., 2015 ; Vos et al., 2011**).

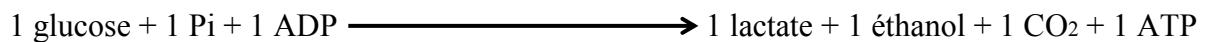
Le bilan de l'homofermentation est le suivant :



### **5.2. La voie hétérofermentaire :**

Dans la voie hétérofermentaire, d'autres composées sont produits, à savoir le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), l'éthanol et l'acide acétique en plus de l'acide lactique qui est le principal produit. C'est la voie des pentoses phosphate pour convertir le glucose. Parmi les genres de bactéries lactiques hétérofermentaires on trouve : *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus* (**Fessard, 2017**).

Le bilan de l'hétérofermentation est le suivant :



### **6. Intérêt des bactéries lactiques :**

On cite principalement :

- La production des métabolites qui ont une activité antimicrobienne vis-à-vis de certains microorganismes pathogènes (**Ponce et al., 2008**).
- L'amélioration des produits fermentés notamment la qualité organoleptique ainsi que la prolongation de leur durée de conservation (**Brul et Coote, 1999**).

### **7. Domaines d'utilisation des bactéries lactiques :**

#### **7.1. Dans le domaine de l'agro-alimentaire :**

L'utilisation des bactéries lactiques est très fréquente en industrie agro-alimentaire. Elles aident à la fabrication et la conservation sans l'ajout de conservateurs chimiques, de plusieurs produits à partir de la matière première (les céréales, les végétaux, la viande, le lait ...), également l'amélioration des caractéristiques organoleptiques de ces produits fermentés (**Bigret, 1989**).

Les bactéries lactiques assurent plusieurs fonctions essentielles dans les produits laitiers via la production d'acide lactique; telle que : la formation des composés aromatiques et des agents épaississants pour améliorer la texture du fromage, également la coagulation du lait. Elles sont aussi impliquées dans la fabrication des salaisons, la vinification, la préparation de produits végétaux fermentés ainsi que la boulangerie traditionnelle (**Desmazeaud, 1998**).

#### **7.2. Dans le domaine de la santé :**

Les bactéries lactiques dans ce domaine exercent un effet bénéfique et sont utilisées comme des probiotiques. Ces derniers améliorent la flore intestinale de l'homme et l'animal. Les espèces couramment utilisées sont : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*. Elles sont également utilisées dans le traitement de certains affections comme

les allergies alimentaires, les diarrhées, l'intolérance au lactose et l'hypercholestérolémie (Salminen et al., 2004).

**7.3. Dans le domaine de l'agriculture :**

Les bactéries lactiques sont utilisées comme des agents biologiques de conservation du fourrage par la fermentation acidifiante. Elles sont utilisées dans les ensilages qui permettent d'inhiber et limiter plusieurs métaboliques indésirables comme l'acétogénèse et la protéolyse (Salawu et al., 2001 ; Gollop et al., 2005).

***CHAPITRE 2 :***  
***LES FRUITS ET LES***  
***BACTÉRIES LACTIQUES***

### **1. Généralités sur les fruits et les bactéries lactiques :**

Les fruits constituent une partie essentielle du régime alimentaire humain. Ils sont également une source de nutriments, nécessaire à tous les stades de développement, d'une multitude d'insectes, mollusques, oiseaux et mammifères car ils sont faciles à consommer en toute saison et occasion. Les fruits sont des aliments attractifs et de plaisir d'une part par leurs formes, couleurs et saveurs et d'une autre part, du fait qu'ils procurent une sensation agréable dans la bouche. Les fruits occupent une importance nutritionnelle majeure présentant une source d'eau, glucides, fibres, minéraux et vitamines en particulier hydrosolubles (**Tonelli et Gallouin, 2013**).

Les fruits frais présentent un milieu favorable à la croissance des différents microorganismes qui peuplent leurs surfaces et qui peuvent être également à l'origine d'intoxications alimentaires causées par des germes pathogènes : des bactéries à Gram positif et négatif, des levures et des moisissures ainsi que des bactéries lactiques. Ces dernières constituent l'un des groupes de microorganismes le plus largement utilisé dans la fermentation spontanée (fermentation lactique) (**Di cagno et al., 2013**).

La fermentation lactique est un procédé de conservation et de transformation des aliments utilisé depuis des millénaires. Elle est considérée comme étant une fermentation naturelle, non contrôlée et non prévisible (**Buckenhüskes, 1993 ; Holzappel, 1997**). Elle joue un rôle primordial dans la détermination des propriétés nutritionnelles des aliments, et particulièrement celles des fruits comme l'apport de nouveaux goûts, des arômes et de la texture (**Paul Ross et al., 2002**) (**Tableau 1**). Au cours de ce procédé, les bactéries lactiques synthétisent beaucoup de molécules, telles que les acides organiques (alcools), le dioxyde de carbone et les bactériocines dans le but d'inhiber la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (**Montet et al., 2014**) et également dans le but de préserver des vitamines et des minéraux (**Dueñas et al., 2005**).

Tableau 1 : Exemples de bactéries lactiques sélectionnées pour la fermentation des fruits.

Fruits	Bactéries lactiques impliquées	Références
Agrumes, Banane, Tomate.	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> , <i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> .	(Emerenini et al., 2013)
Pêches	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Weissella cibaria</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Weissella paramesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Weissella minor</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> .	(Chen et al., 2013)
Câpres, Ananas, Prunes, Kiwi, Cerise, Papayes, Tomate.	<i>Lactobacillus plantarum</i> .	(Di Cagno et al., 2011b ; Pulido et al., 2012)

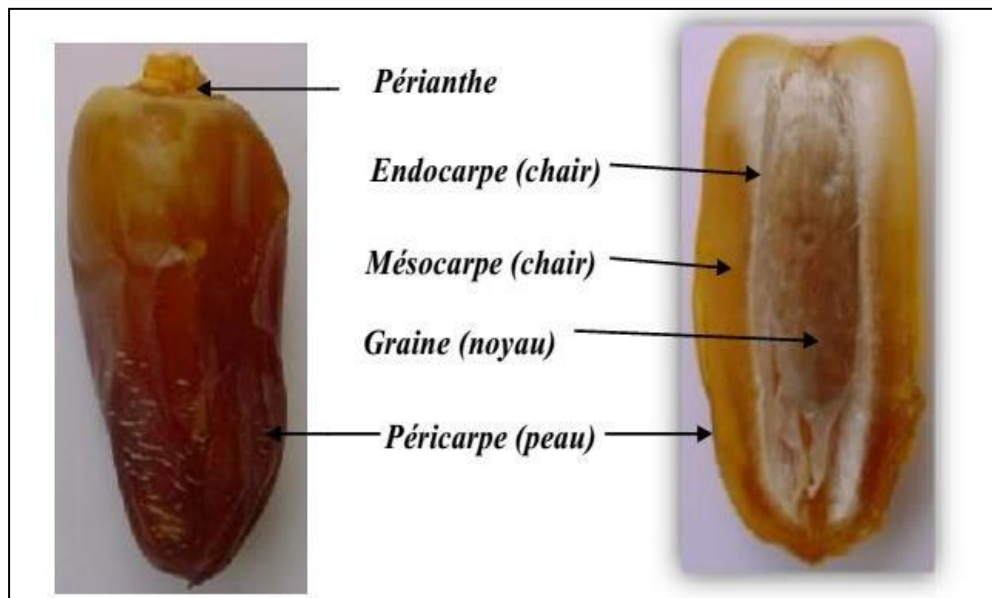
## 2. Les fruits étudiés :

### 2.1. Les dattes (*Phoenix dactylifera L*) :

Les dattes présentent une denrée alimentaire largement consommée dans le monde, les pays arabes et particulièrement en Algérie. La datte est un fruit du palmier dattier cultivé originaire de la région du Moyen-Orient. De la famille des *Palmoe* ou *Arecaceae* et de la classe des *Monocotylédones* (Tonelli et Gallouin, 2013). La datte est une baie de forme oblongue ou ovoïde de 1 à 8 cm de long sur 1.5 à 2.8 cm de diamètre, et un poids à plus de 50 g. (Peyron, 2000). Leur couleur dépend de sa variété et va du jaune au presque noir en passant par toute la gamme des rouges et bruns (Peyron, 2000).

La datte constitue des pièces périnthaires persistantes (marcescentes) à la base et forment une petite coupe ligneuse. La peau (épicarpe) est mince, la pulpe (mésocarpe) est charnue et contre la graine (noyau), une fine membrane parcheminée blanchâtre constitue l'endocarpe

(Figure 2). À la maturité, les dattes peuvent contenir plus ou moins d'eau ce qui donne trois catégories en fonction de leur consistance : molles (30% d'eau), demi molles (25% d'eau) et sèches (10 à 17% d'eau) (Tonelli et Gallouin, 2013). Elles sont dotées de teneurs élevées en sucres (73 à 83%), tels que le glucose, le fructose et le saccharose (Elleuch et al., 2008 ; Elarem et al., 2011). Elles contiennent également des fibres, des protéines, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines de classe B et C (Abou-Zeid et al., 1991).



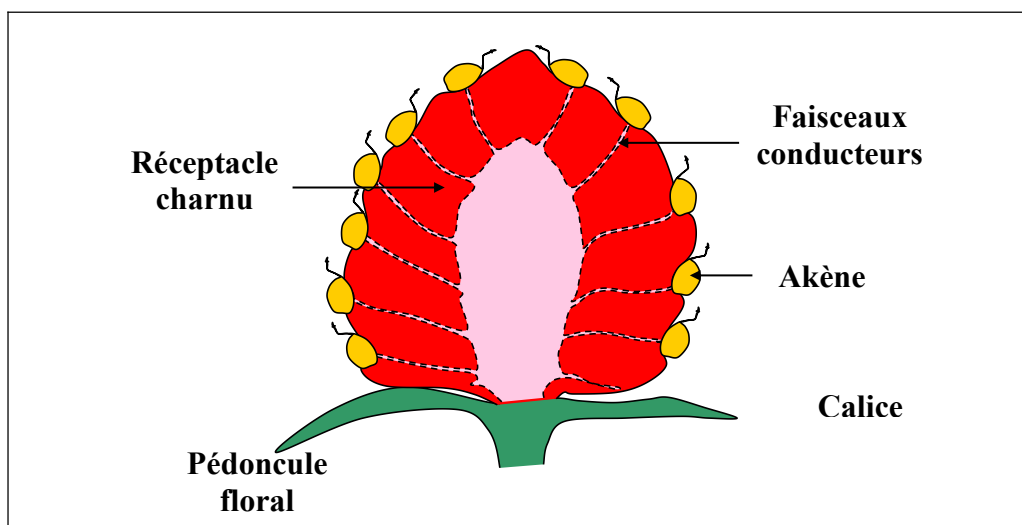
**Figure 2 :** Datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite) (Boulal, 2017).

Les dattes présentent un apport nutritionnel très important en quantité et en qualité. Elles sont également consommées dans les plats cuisinés tels que le couscous, les tajines ainsi que les préparations sucrées telles que les pâtisseries et divers desserts. On les trouve dans les boissons et la production du miel. En médecine traditionnelle, les dattes ont souvent été utilisées pour leur rôle contre l'hypertension, le cancer, les infections, les maladies cardiaques, le rhume et les maux de gorge (Vayalil, 2012). Elles sont connues pour leur pouvoir de traiter les troubles intestinaux comme les diarrhées et entrent dans la production de calmants sous forme de sirop très concentré (Tonelli et Gallouin, 2013).

## 2.2. Les fraises (*Fragaria ananassa*) :

La fraise est un fruit très répandu dans nos régions. Elle est connue depuis l'ère des Grecs et des Romains et est originaire d'Amérique. La fraise est un fruit du fraisier, une espèce herbacée indigène et cultivée de la famille des *Rosaceae* et appartenant au genre *Fragaria* (Tonelli et Gallouin, 2013).

La fraise est un faux fruit, de forme ovoïde, de couleur rouge et de petite taille, porte à sa surface de petites graines beiges qui représentent le vrai fruit et qui s'appellent les akènes qui sont légèrement croquants (Figure 3). La fraise est également parfumée, juteuse, délicieuse au goût, fondante, plus ou moins sucrée, acidulée et extrêmement aromatique. Elle est très riche en eau (90% d'eau) et pauvre en sucres, sa teneur en fibres favorise le transit digestif. De plus, elle est composée de lipides, potassium, calcium, zinc, phosphore et beaucoup de vitamines telles que les vitamines de la classe B (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9), la vitamine E et particulièrement la vitamine C qui intervient dans les différentes fonctions de l'organisme et lui fournit 134 KJ d'énergie. Elle contient aussi un ensemble d'acides comme l'acide citrique, l'acide malique, l'acide oxalique et l'acide quinique qui ont un rôle antioxydant (Tonelli et Gallouin, 2013).

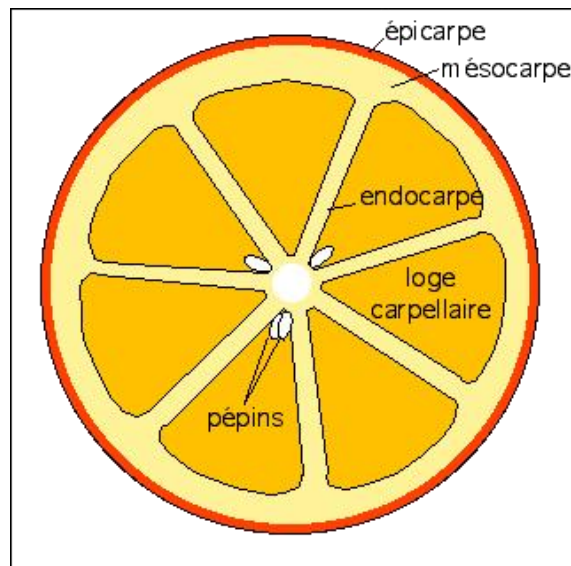


**Figure 3** : Schéma explicatif d'une coupe longitudinale de fraise (Gallien, 2006).

Ce petit fruit possède de nombreux bienfaits et de nombreuses utilisations, que ce soit pour la nutrition, tels que : les boissons, les pâtisseries, les yaourts, les confitures, les glaces ; soit dans le domaine de la santé où la fraise est considérée comme un stimulateur du système immunitaire, le traitement symptomatique des diarrhées légères (voie orale) et comme bain de bouche détartrant des dents (voie locale). Elle garde la peau saine et jeune (Tonelli et Gallouin, 2013).

### 2.3. Les oranges (*Citrus sinensis*) :

L'orange est un fruit originaire de l'Asie, très apprécié dans le monde entier (Kothe, 2007). C'est un agrume de la famille des *Rutaceae* et de la classe des *Dicotylédones*. L'orange est caractérisée morphologiquement par sa couleur jaunâtre à orangé, sa forme sphérique ou ovoïde avec une mesure en moyenne de 8 cm de diamètre (Tonelli et Gallouin, 2013). De plus, elle est constituée extérieurement par une peau lisse et finement piquetée composée elle-même d'un épicarpe externe coloré (Flavedo) et d'un mésocarpe interne (Albêdo). Ainsi, la partie interne de l'orange est considérée comme une partie comestible qui représente 50% à 80% du fruit dont elle est divisée en tranches contenant des pulpes. Ces derniers contiennent généralement des pépins (Espiard, 2002) (Figure 4).



**Figure 4** : Schéma descriptif d'une coupe longitudinale d'orange (Beton et al., 1993).

L'orange est un fruit juteux, rafraîchissant, très parfumé avec un agréable équilibre sucré-acidulé, composé d'eau, de protides, de lipides, de glucides, des fibres et des vitamines de la classe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9), la vitamine K et essentiellement la vitamine C ainsi que quelques acides organiques comme l'acide citrique et l'acide salicylique (Tonelli et Gallouin, 2013).

L'orange peut être consommée sous de multiples formes comme ; des desserts, des boissons, des confitures, des salades de fruits, des huiles essentielles. Elle est excellente pour la peau et les poumons, contre la toux, la grippe et l'irritation de la gorge où elle réduit la durée de l'infection (Tonelli et Gallouin, 2013).

***MATÉRIEL  
ET  
MÉTHODES***

Notre travail pratique a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda (**Figure 5**), durant une période d'un mois allant du 24 Avril au 24 Mai 2023. Il a pour but :

- L'isolement, la purification et l'identification des bactéries lactiques à partir de fruits frais, il s'agit de la fraise et de l'orange (Skikda) ainsi que les dattes.
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques des isolats.



**Figure 5 :** Vue globale du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda (**Prise personnelle**).



**Figure 6 :** Laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda (**Prise personnelle**).

## **1. Matériel :**

### **1.1. Provenance des échantillons utilisés :**

Pour la réalisation de la partie expérimentale, les trois échantillons de fruits : fraises, oranges et dattes ont été achetés au niveau du marché des fruits et légumes de la ville de Skikda (Skikda centre) le 29 Avril 2023 (**Figure 7**).



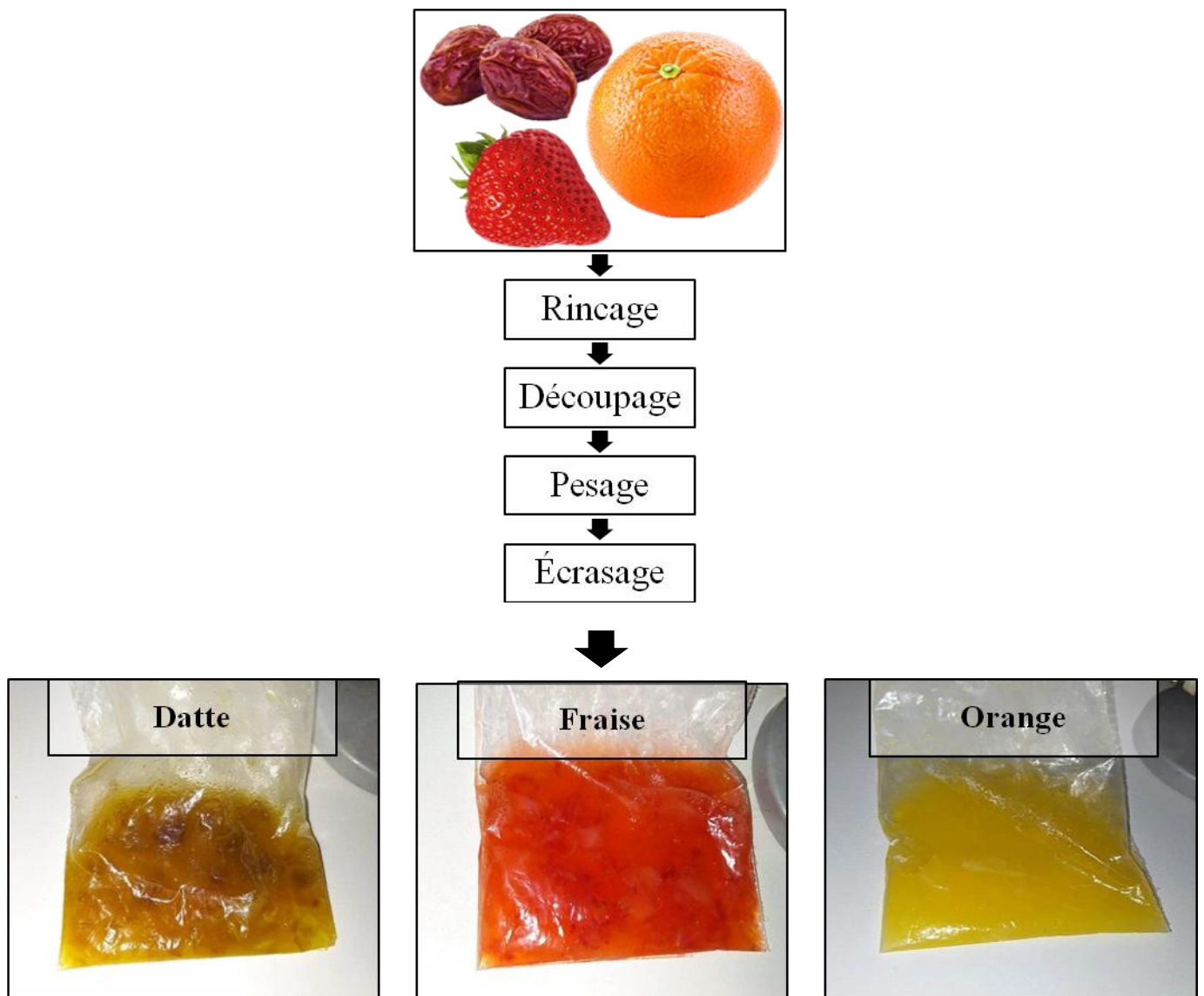
**Figure 7 :** Marché des fruits et légumes de la ville de Skikda (**Prise personnelle**).

## **2. Méthodes :**

### **2.1. Isolement des bactéries lactiques :**

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

Les échantillons ont été rincés, découpés, pesés (25 g) et écrasés. 25 g de chaque échantillon a été mélangé avec 25 ml d'eau peptonnée tamponnée dans un sac de congélation stérile. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'une agitation manuelle pendant 1 min pour l'obtention de la dilution  $10^{-1}$  (**Figure 8**). Ensuite, la préparation des dilutions décimales a été faite en mélangeant 1 ml de la solution mère, à l'aide d'une micropipette, à 9 ml d'eau peptonnée tamponnée contenue dans un tube stérile afin de préparer la dilution  $10^{-2}$ , et l'opération a été refaite jusqu'à l'obtention de la dernière dilution  $10^{-5}$  (**Amandine et al., 2016**).



**Figure 8 :** Préparation de la solution mère (**Prise personnelle**).

### **2.1.2. Isolement des bactéries lactiques :**

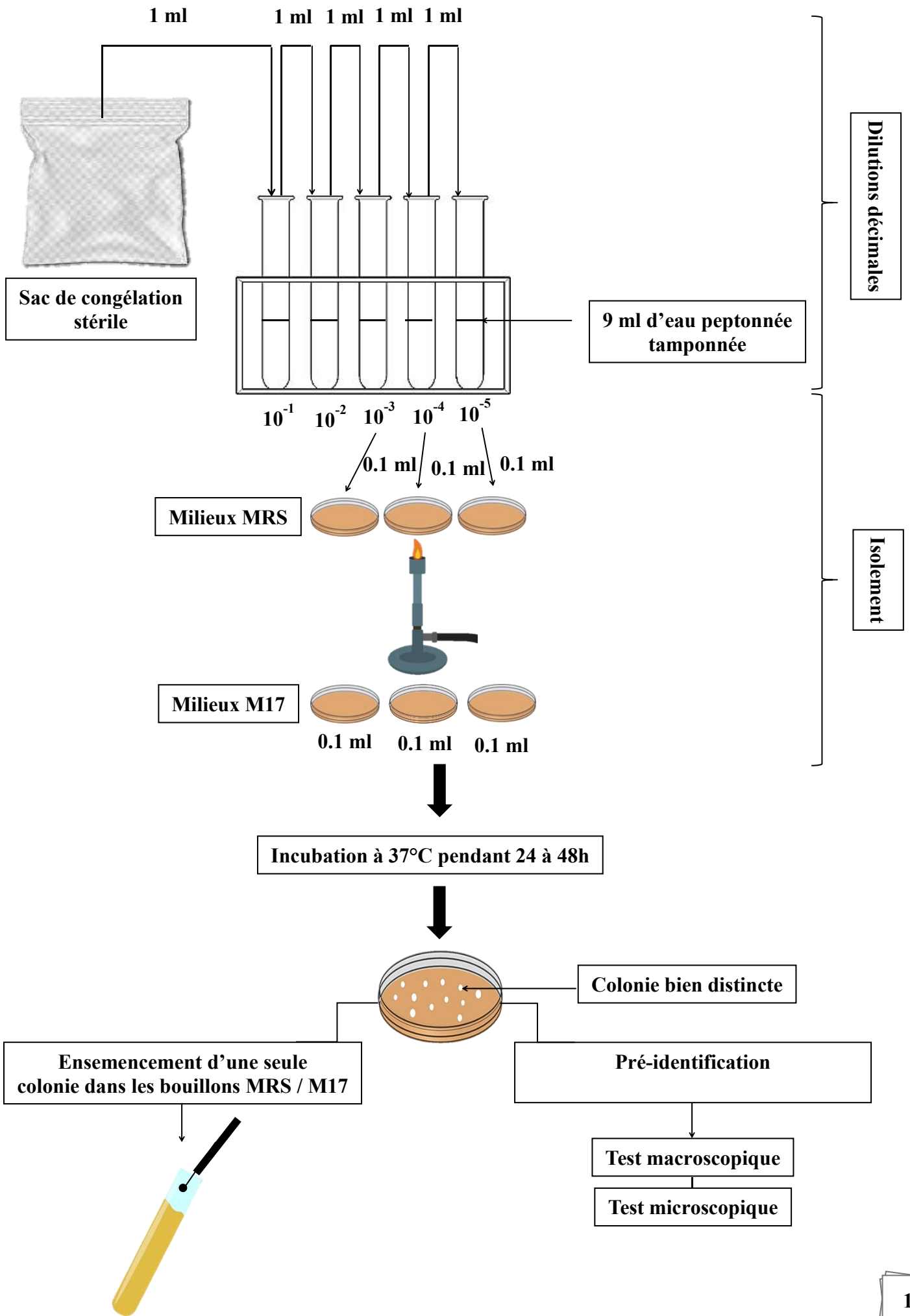
L'isolement a été fait sur les milieux gélosés MRS et M17 coulés et solidifiés dans des boîtes de Pétri inoculées à partir des trois dernières dilutions ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ ) ; en déposant 0,1 ml de ces dilutions à la surface des milieux suivi d'un étalement, puis l'incubation à 37°C pendant 24 à 48h en anaérobiose (**Monnet et al., 2008**). Après l'incubation, les colonies obtenues ont été sélectionnées par une analyse macroscopique et coloration de Gram. Sauf les colonies qui présentent un aspect typique de bactéries lactiques, et qui sont Gram +, ont été prises en considération (**Figure 9**).

### **2.1.3. Purification des isolats :**

La sélection des colonies a été faite après l'incubation. Les colonies isolées sur le milieu M17 ont été purifiées par plusieurs repiquages successifs sur les milieux MRS et M17 par la méthode de stries sur la gélose jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes (**Guiraud, 1998**). La pureté des souches est révélée par la présence des colonies homogènes ayant le même aspect, la même couleur, la même forme et la même taille (**Heleni et al., 2006 ; Guiraud, 2004**). La purification des souches a été vérifiée par la détermination des caractères microscopiques à l'état frais et après la coloration de Gram (**Figure 9**).

### **2.1.4. Conservation des isolats :**

Les souches doivent être conservées dans des conditions adéquates pour assurer une très bonne continuité du travail, et cela se fait par une conservation de courte durée ; où les isolats purifiés ont été ensemencé sur les milieux gélosés inclinés MRS et M17, incubés à 30°C pendant 18h et conservés à 4°C, et sur toutes les deux semaines les cultures sont repiquées (**Saidi et al., 2004**) (**Figure 9**).



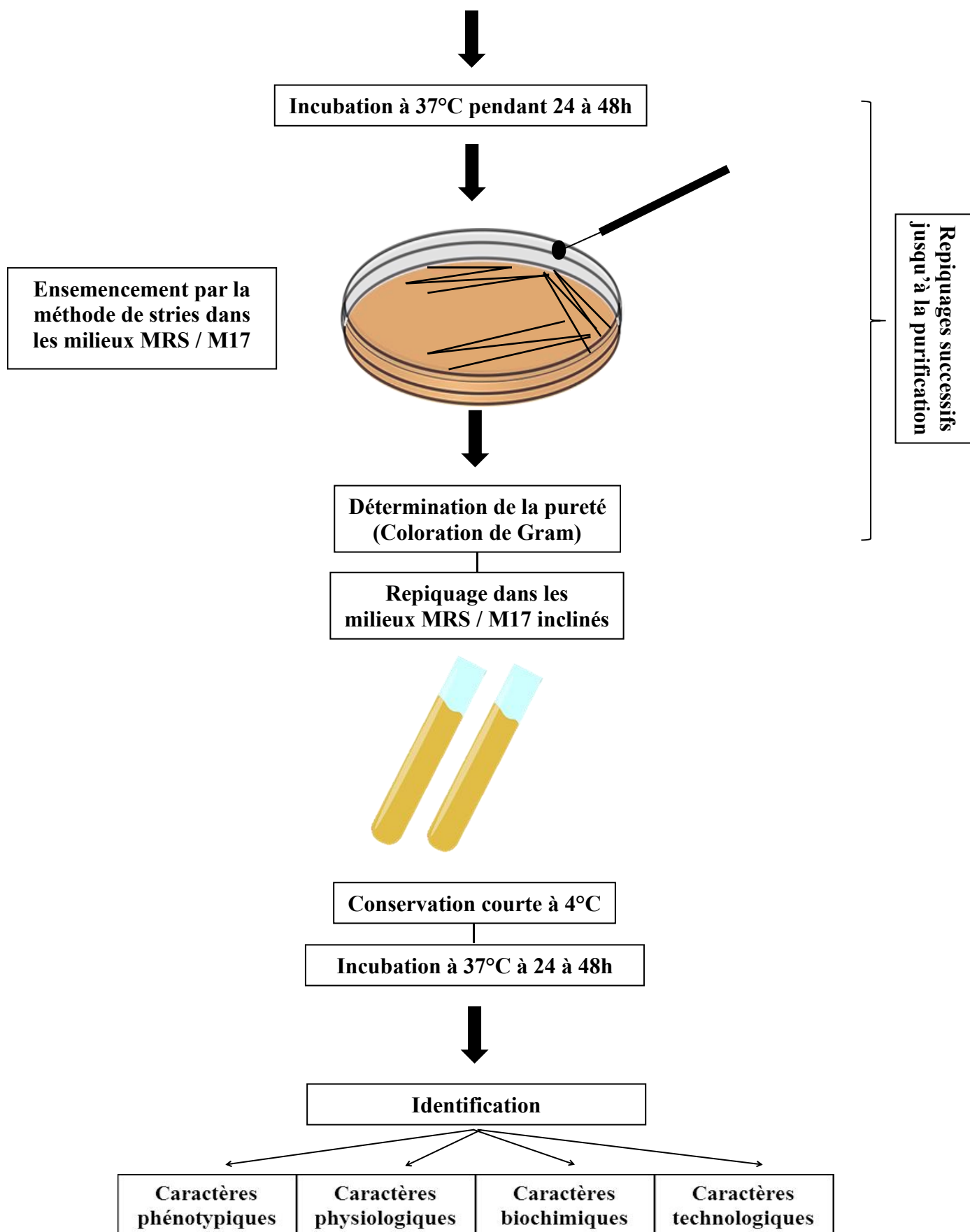


Figure 9 : Protocole d'isolement et identification des bactéries lactiques.

## 2.2. Identification des souches isolées :

L'identification des souches bactériennes est établie en se basant sur l'étude des caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques. Cela se fait par quelques tests (Figure 10).

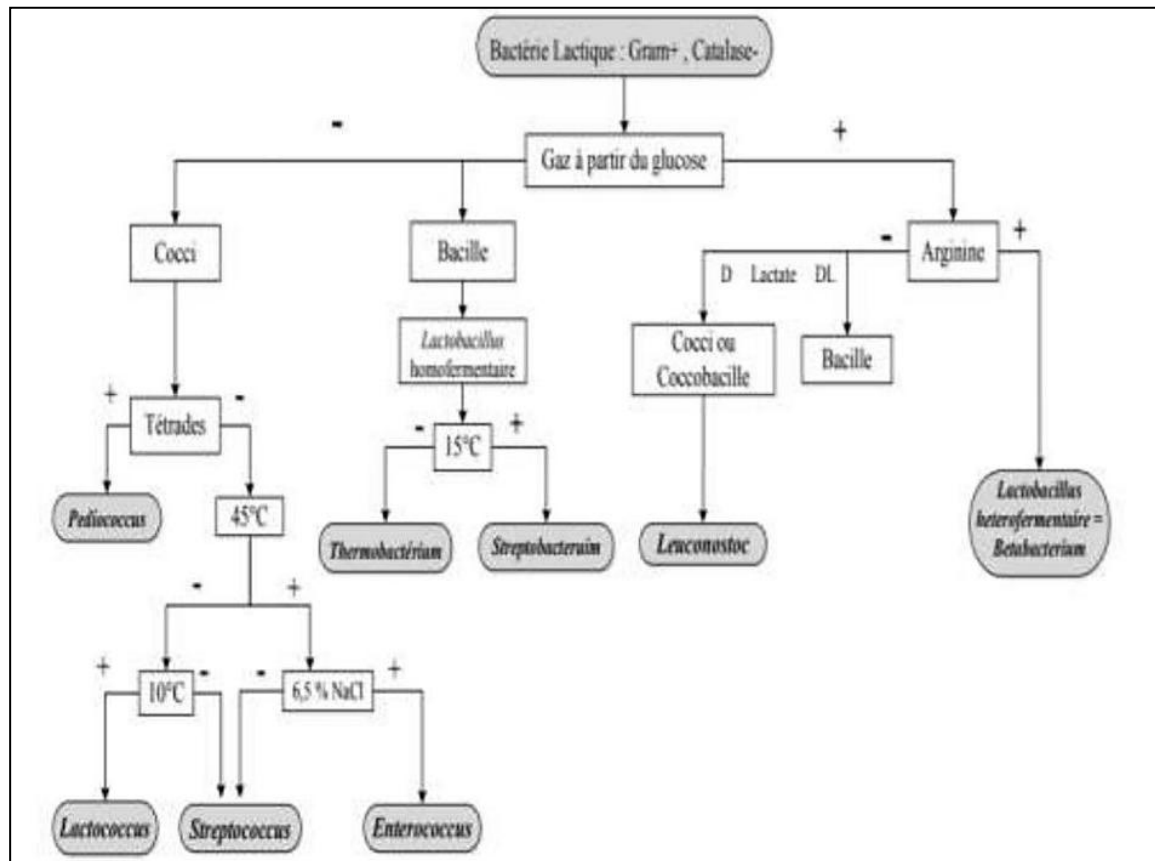


Figure 10 : Clé d'identification bactérienne par quelques tests (Carr et al., 2002).

### 2.2.1. Identification phénotypique :

#### 2.2.1.1. Examen macroscopique :

Ce test permet de déterminer à l'œil nu l'observation macroscopique des colonies, c'est-à-dire la morphologie de la culture des isolats sur les milieux gélosés MRS et M17. On peut distinguer les critères suivants : la forme, la taille, l'aspect, le contour et la couleur des colonies (Chougrani, 2008).

#### 2.2.1.2. Examen microscopique :

Cet examen permet de déterminer le type de Gram (Gram + ou Gram -), la forme cellulaire (bâtonnets ou coques) et le mode de regroupement des colonies obtenues après l'observation macroscopique. Ces colonies ont été soumises à une coloration de Gram d'un

frottis et une observation microscopique à l'objectif (X100) avec l'huile à immersion (Monnet *et al.*, 2008).

## 2.2.2. Identification physiologique :

### 2.2.2.1. Croissance à différentes températures et la thermorésistance :

#### a. Croissance à différentes températures :

Les bactéries lactiques comportent des espèces mésophiles avec une température optimale de croissance proche de 30°C et des espèces thermophiles avec une température optimale de croissance proche de 42°C (Monnet *et al.*, 2008). Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (Benreguieg, 2014). Les isolats sélectionnés ont été testés pour leur aptitude de croissance à différentes températures (4°C, 30°C, 37°C et 45°C) dans les bouillons MRS et M17 (pH 6,8). Après une semaine d'incubation pour les cultures à 4°C et après 24 à 72h pour les autres cultures, la croissance se traduit par la présence des troubles dans les bouillons suite à la comparaison avec un tube liquide non ensemencé (témoin négatif) (Larpent, 1996).

#### b. Thermorésistance des bactéries :

Ce test permet de sélectionner les espèces thermorésistantes. Il se réalise par l'ensemencement des bouillons MRS et M17 et l'exposition au bain marie à une température de 60°C durant 30 min, ensuite, incubation à 30°C pendant 24 à 48h. Les isolats qui ont poussé après ce traitement sont considéré comme thermorésistants (Chougrani, 2008) (Figure 11).



**Figure 11** : Test de thermorésistance des bactéries (Prise personnelle).

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

Cette étape se fait par l'ensemencement des souches dans des tubes qui contiennent les bouillons MRS et M17 à pH ajustés à 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6 ; ensuite, incubation des cultures à 37°C pendant 24h. Le développement se représente par l'apparition des troubles dans les bouillons (Guessas *et al.*, 2006 ; Rouisset et Bensoltane, 2006).

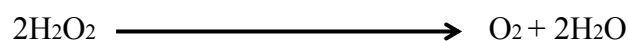
### **2.2.2.3. Croissance en milieu hyper salé NaCl :**

Ce test se réalise à différentes concentrations de NaCl (1%, 2%, 3% et 6,5%) sur les bouillons MRS et M17 et incubation à 37°C pendant 24 h dans le but de connaître leur limite de croissance en milieu hyper salé. La croissance est appréciée par l'apparition des troubles bactériens dans les tubes et comparaison à un tube témoin non inoculé et incubé dans les mêmes conditions (Carr *et al.*, 2002 ; Guiraud, 2003).

## **2.2.3. Identification biochimique :**

### **2.2.3.1. Test catalase :**

Ce test a pour objectif de différencier les bactéries lactiques (catalase -) des entérobactéries (catalase +). La catalase est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se dégage chez la majorité des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La réaction catalysée est la suivante :



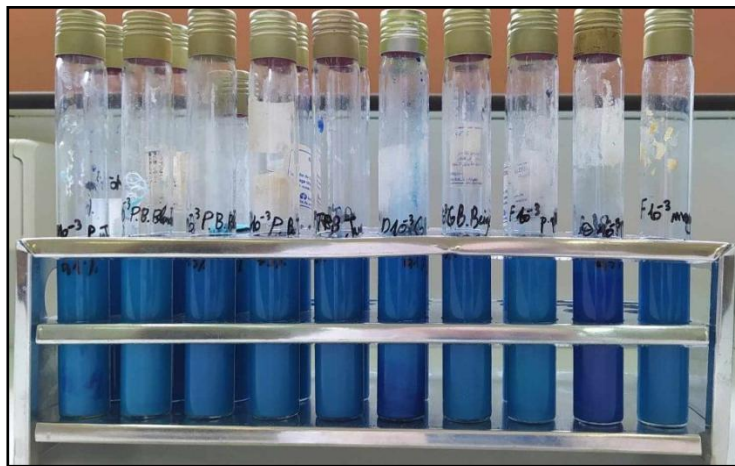
Cette enzyme est mise en évidence par le dépôt d'une colonie bactérienne dans une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame propre. Le dégagement de bulles de gaz se traduit par la présence de catalase (catalase positive) (Delarras, 2007).

### **2.2.3.2. Test oxydase :**

L'oxydase est une enzyme capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyl paraphénylène diamine. Ce test permet de mettre en évidence l'enzyme phénylène diamine oxydase chez les bactéries par le dépôt d'une colonie bactérienne sur un disque oxydase et on rajoute une goutte d'eau physiologique en étalant soigneusement la préparation bactérienne. Le changement de la couleur de disque au violet foncé au bout de 30 sec exprime un test oxydase positif, par contre si le disque reste incolore ou se colore au-delà de 30 sec, le test est négatif (Marchal *et al.*, 1991).

### 2.2.3.3. Test de croissance sur le lait bleu de Sherman :

Ce test étudie la capacité des bactéries lactiques à pousser en présence de bleu de méthylène qui est coloré en bleu en milieu très oxydant et décoloré par les germes possédant une activité réductasique (**Benreguieg, 2014**). Ce test se fait dans deux séries de tubes à essai contenant 9 ml de lait écrémé stérile additionné à 0,1% de bleu de méthylène pour la première série et à 0,3% de bleu de méthylène pour la deuxième série. Ensuite, un ensemencement par les souches bactériennes et incubation à 37°C pendant 24 à 48h (**Figure 12**). Cette étape est utilisée pour estimer la charge microbienne du lait particulièrement pour caractériser les espèces appartenant aux genres *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Streptococcus* (**Bekhouche, 2006**).



**Figure 12** : Test de croissance sur le lait bleu de Sherman (**Prise personnelle**).

### 2.2.3.4. Test Mannitol-Mobilité :

La gélose semi solide Mannitol-Mobilité permet de vérifier la mobilité des souches bactériennes (**Guiraud, 2003**). Ce test a été fait par ensemencement des souches par piqure centrale (**Figure 13**). Le changement de la couleur du milieu du rouge au jaune traduit la fermentation du mannitol, et quand les bactéries se déplacent à partir de la zone d'ensemencement en créant un voile cela veut dire qu'elles sont mobiles. Une croissance dans la zone d'ensemencement seulement montre que les bactéries sont immobiles (**Gerhardt et al., 1994**).



**Figure 13 : Test Mannitol-Mobilité (Prise personnelle).**

## **2.2.4. Identification technologique :**

### **2.2.4.1. Pouvoir protéolytique :**

Les bactéries lactiques disposent de systèmes enzymatiques permettant d'hydrolyser les caséines (**Chamba, 2008**). 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 5 $\mu$ l 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**).

***RÉSULTATS  
ET  
DISCUSSION***

## **1. Isolement des bactéries lactiques :**

Lors de cette étude nous avons isolé les souches à partir des fruits frais (Fraise, orange et datte), achetés le 29 Mai 2023 dans le commerce, ville de Skikda. Nous avons procédé à l'étude des caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques.

### **1.1. Caractères macroscopiques :**

Après ensemencement des différentes dilutions préparées à partir de la solution mère ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ ), nous avons sélectionné 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.

Après incubation, nous avons pu observer plusieurs types de colonies :

- Certaines colonies de contour irrégulier et d'une couleur blanchâtre observé à la surface de la gélose MRS.
- Des colonies de petite taille, rondes de couleur blanchâtres, crèmes, jaunes et rosâtres, lenticulaire ou circulaire de contour régulier, lisse et légèrement bombé, d'autres sont plus claires, aspect opaque ou muqueux apparaissent à la surface de la gélose M17 (**Figure 14**).



**Figure 14 :** Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir de la fraise sur milieu M17 (**Prise personnelle**).

### **1.2. Caractères microscopiques :**

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

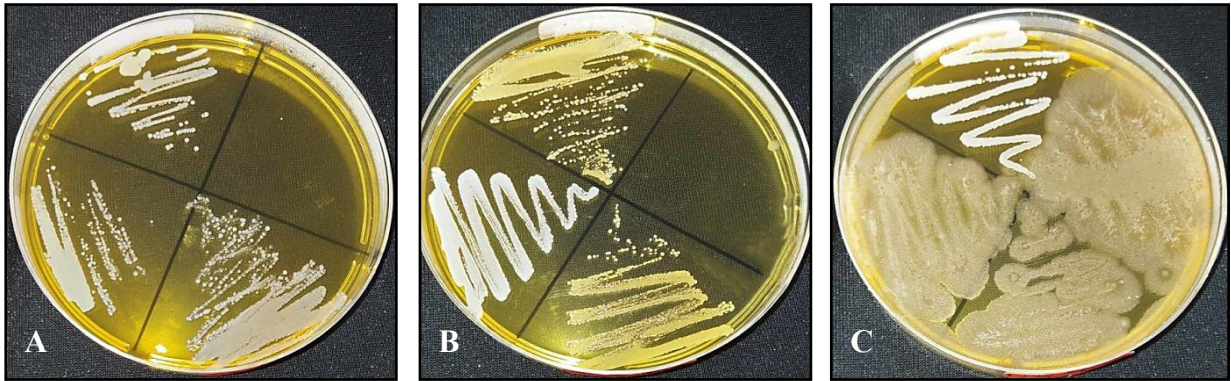
La coloration de Gram montre qu'on a des souches bactériennes à Gram positif et des souches à Gram négatif, coques et bacilles avec différents modes de regroupements (monocoque, diplocoque ou chaînette). Les souches isolées visées par notre étude sont en forme coque (cocci) (**Figure 15**).



**Figure 15 :** Résultat de l'observation microscopique d'un isolat à partir d'une orange après coloration de Gram (X100) (**prise personnelle**).

### **2. Purification des bactéries lactiques :**

Après plusieurs repiquages successifs des isolats sur les milieux M17 (bouillon/gélose), nous avons obtenu des colonies pures (**Figure 16**).



**Figure 16** : Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 à partir de : **A)** Fraise, **B)** Orange, **C)** Datte (**Prise personnelle**).

### **3. Conservation des bactéries lactiques :**

Après purification des différentes colonies obtenues, nous avons conservé nos bactéries sur milieu solide M17 incliné le temps de procéder à l'identification de ces dernières. Après incubation à 30°C pendant 18h, les tubes ont été conservés à 4°C (**Figure 17**).



**Figure 17** : Résultats de la conservation des isolats sur milieu M17 incliné (**Prise personnelle**).

**4. Identification des bactéries lactiques :**

**4.1. Identification physiologique :**

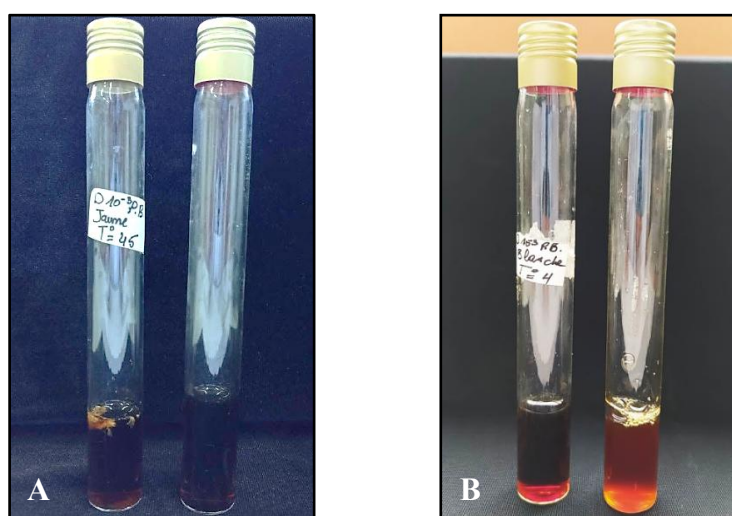
**4.1.1. Croissance à différentes températures et la thermorésistance :**

**a. Croissance à différentes températures :**

La croissance est mise en évidence par la présence des troubles dans les tubes contenant le bouillon M17. Les souches qui ont été testées ont montré une croissance à différentes températures : 30°C, 37°C et 45°C. Aucune croissance notée des différentes souches à température 4°C (**Tableau 2**) (**Figure 18**).

**Tableau 2 :** Résultats du test de croissance à différentes températures.

Fruits	Souches testées	Croissance à différentes températures			
		4°C	30°C	37°C	45°C
Fraise	S1	-	+	+	+
	S2	-	+	+	+
	S3	-	+	+	+
Orange	S4	-	+	+	+
	S5	-	+	+	+
	S6	-	+	+	+
Datte	S7	-	+	+	+
	S8	-	+	+	-
	S9	-	+	+	+



**Figure 18 :** Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries testées

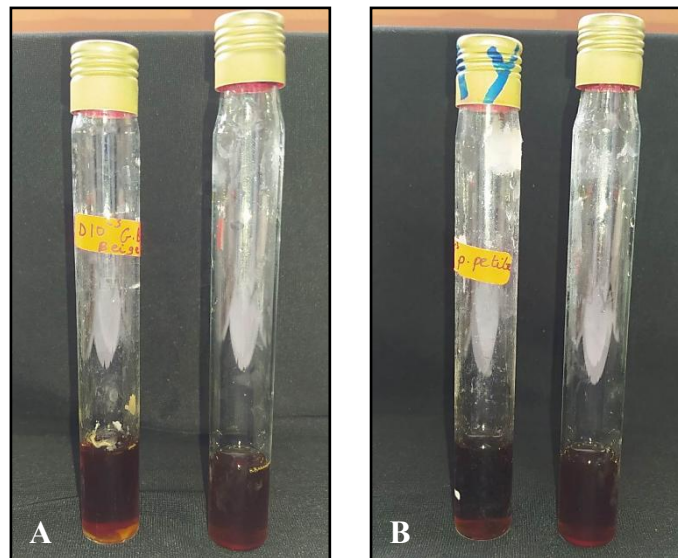
**A) à T = 45°C, B) à T = 4°C (Prise personnelle).**

**b. Thermorésistance des bactéries :**

La résistance à température égale à 60°C est mise en évidence par la présence des troubles sur milieu liquide M17. Toutes les souches testées ont résisté à cette température 60°C durant 30 minutes, mise à part la souche S8 isolée à partir des dattes (**Tableau 3**) (**Figure 19**).

**Tableau 3 :** Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.

Fruits	Souches testées	Thermorésistance
Fraise	S1	+
	S2	+
	S3	+
Orange	S4	+
	S5	+
	S6	+
Datte	S7	+
	S8	-
	S9	+



**Figure 19 :** Résultats du test de thermorésistance des bactéries testées

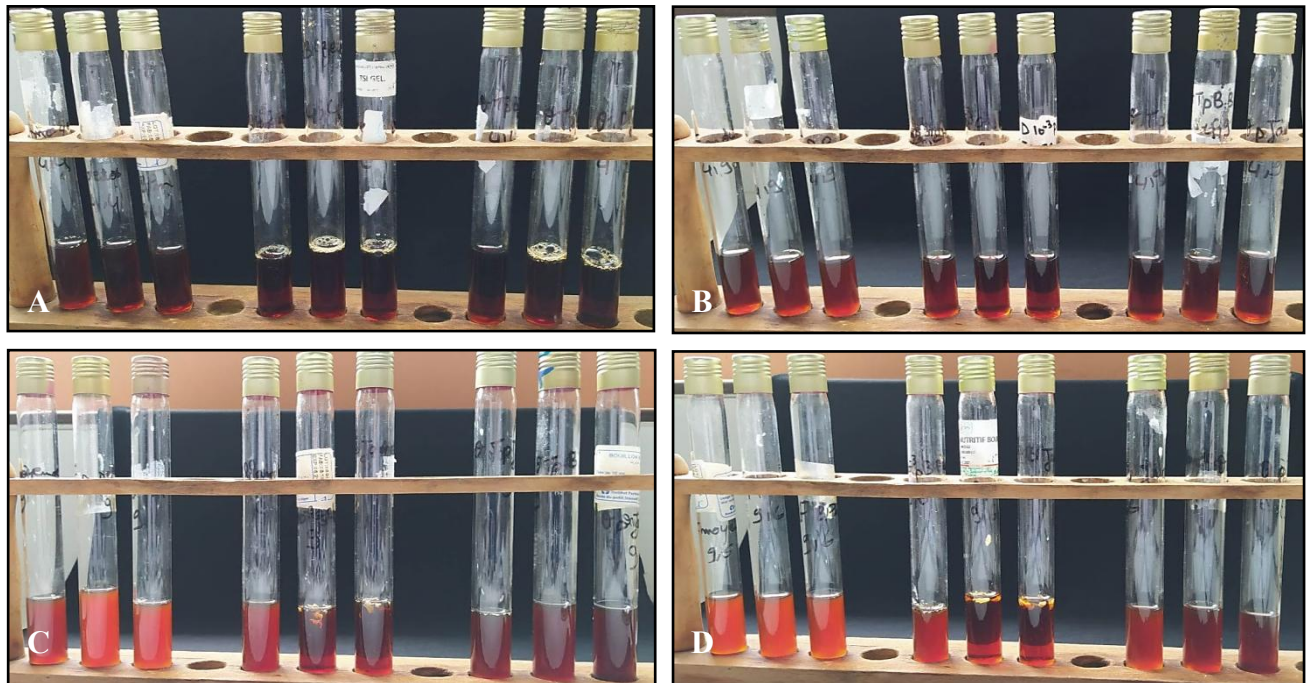
**A)** Résultat positif, **B)** Résultat négatif (**Prise personnelle**).

**4.1.2. Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6 :**

La majorité des souches croient à un pH égal à 9,6 contrairement à la croissance au pH égal à 4,4. Pour les deux autres pH testées, à savoir 4,9 et 9, les résultats dépendent des souches bactériennes testées (**Tableau 4**) (**Figure 20**).

**Tableau 4 :** 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
Fraise	S1	-	-	-	+
	S2	+	+	+	+
	S3	-	-	+	+
Orange	S4	-	+	+	+
	S5	-	-	+	+
	S6	-	-	-	-
Datte	S7	-	-	+	+
	S8	+	+	+	-
	S9	-	+	+	+



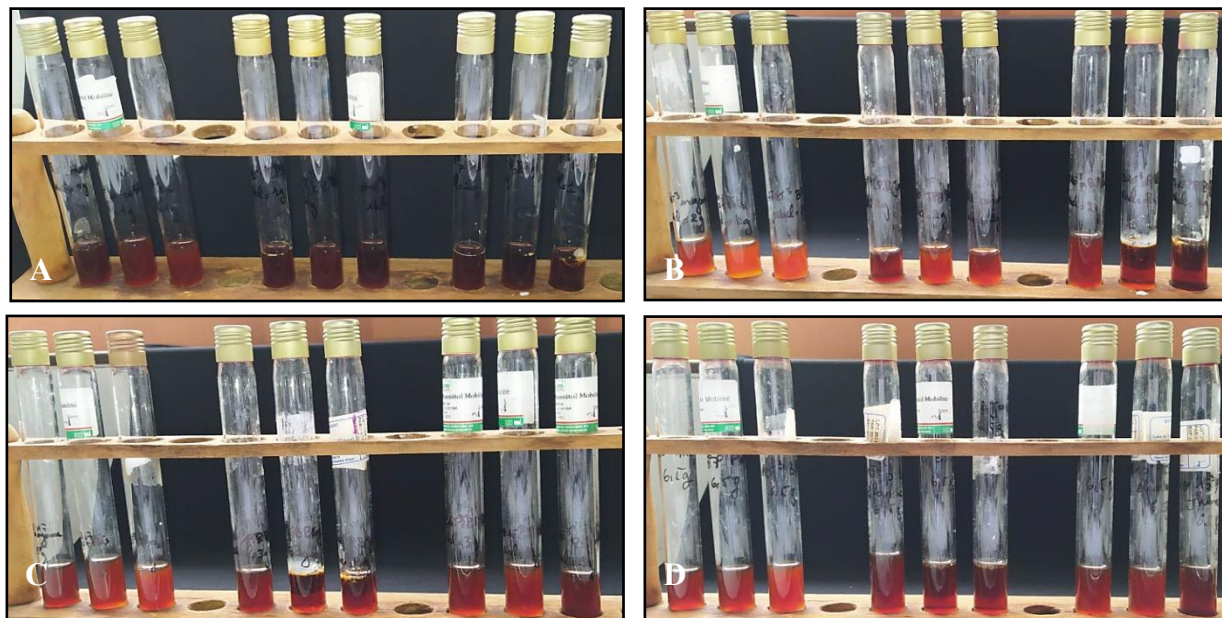
**Figure 20 :** Résultats du test de croissance à différents pH : **A)** pH = 4,4 ; **B)** pH = 4,9 ; **C)** pH = 9 ; **D)** pH = 9,6 (**Prise personnelle**).

**4.1.3. Croissance en milieu hyper salé NaCl :**

Un résultat positif a été obtenu pour la majorité des souches testées en milieu hyper salé contenant 1%, 2%, 3% et 6,5% de NaCl (**Tableau 5**) (**Figure 21**).

**Tableau 5 :** Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl.

Fruits	Souches testées	Croissance à différents NaCl			
		1%	2%	3%	6.5%
Fraise	S1	-	-	+	-
	S2	+	+	+	+
	S3	+	+	+	+
Orange	S4	+	+	+	+
	S5	-	-	-	-
	S6	+	+	+	+
Datte	S7	-	+	+	+
	S8	+	+	+	-
	S9	+	+	+	+



**Figure 21 :** Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : **A)** 1% ; **B)** 2% ; **C)** 3% ; **D)** 6.5% (**Prise personnelle**).

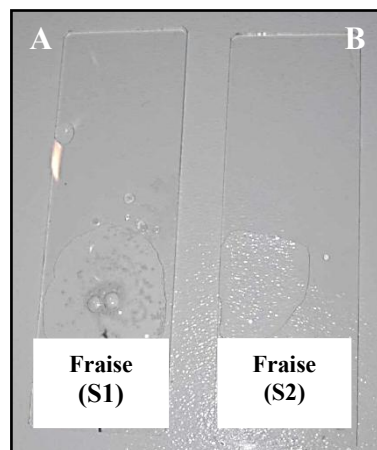
**4.2. Identification biochimique :**

**4.2.1. Résultats du test catalase :**

D'après ce test, la majorité des souches purifiées présentent une catalase négative, car aucun dégagement gazeux n'a été observé après le traitement des colonies par l'eau oxygénée (**Tableau 6**) (**Figure 22**).

**Tableau 6 :** Résultats du test catalase.

Fruits	Souches testées	Test catalase
Fraise	S1	+
	S2	-
	S3	+
Orange	S4	-
	S5	-
	S6	+
Datte	S7	-
	S8	-
	S9	-



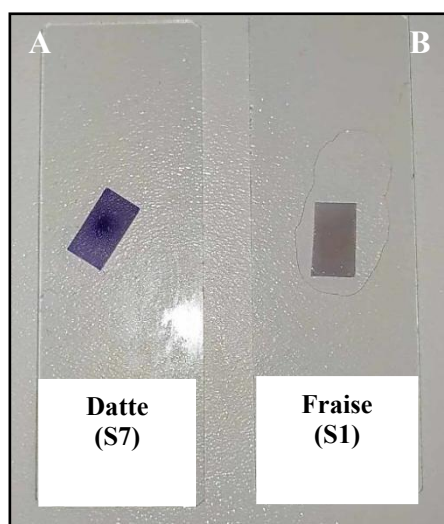
**Figure 22 :** Résultats du test catalase de S1 et S2 isolées à partir de la fraise  
A) Résultat positif, B) Résultat négatif (**Prise personnelle**).

**4.2.2. Résultats du test oxydase :**

Selon ce test, la plupart des souches purifiées présentent une oxydase négative, car aucun changement de la couleur de disque au violet foncé n'a été observé lors des premières 30 sec. Seules deux souches isolées à partir des dattes ont présenté une oxydase positive (**Tableau 7**) (**Figure 23**).

**Tableau 7 : Résultats du test oxydase.**

Fruits	Souches testées	Test oxydase
Fraise	S1	-
	S2	-
	S3	-
Orange	S4	-
	S5	-
	S6	-
Datte	S7	+
	S8	-
	S9	+



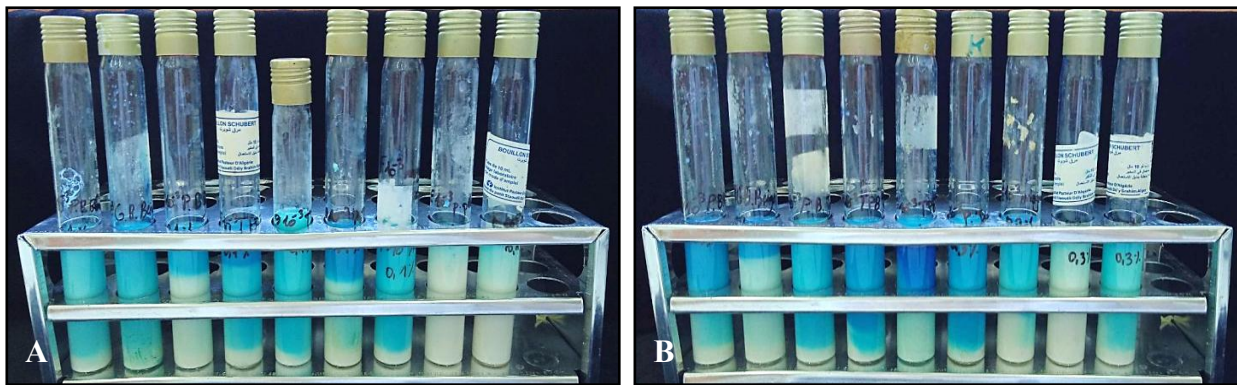
**Figure 23 :** Résultats du test oxydase de S7 et S1 isolées à partir de la datte et la fraise **A)** Résultat positif, **B)** Résultat négatif (**Prise personnelle**).

#### 4.2.3. Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman :

La croissance sur le lait bleu de Sherman aux des concentrations de bleu de méthylène 1% et 3% a donné des résultats positifs pour toutes les souches. 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. L'obtention d'un caillé blanc s'explique par l'augmentation de la charge bactérienne (**Tableau 8**) (**Figures 24, 25**).

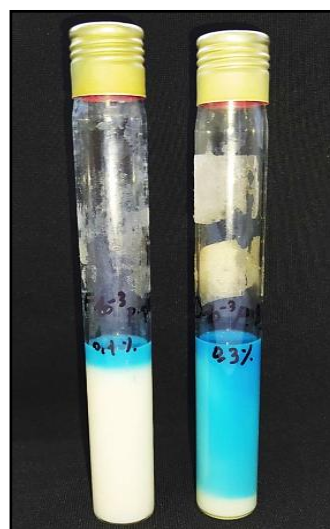
**Tableau 8 :** Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman.

Fruits	Souches testées	Croissance sur le lait bleu de Sherman	
		1%	3%
Fraise	S1	+	+
	S2	+	+
	S3	+	+
Orange	S4	+	+
	S5	+	+
	S6	+	+
Datte	S7	+	+
	S8	+	+
	S9	+	+



**Figure 24 :** 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**).



**Figure 25 :** Résultat comparatif de test de croissance sur lait de Sherman à 0.1% et 0.3% de bleu de méthylène de S2 isolée à partir de la fraise (**Prise personnelle**).

4.2.4. Résultats du test Mannitol-Mobilité :

Toutes les souches testées ont montré un résultat négatif par rapport à la mobilité. La majorité des souches possèdent la capacité de fermenter le mannitol. (Tableau 9) (Figure 26).

Tableau 9 : Résultats du test Mannitol-Mobilité.

Fruits	Souches testées	Mannitol-Mobilité	
		Mannitol	Mobilité
Fraise	S1	+	-
	S2	+	-
	S3	+	-
Orange	S4	+	-
	S5	+	-
	S6	-	-
Datte	S7	+	-
	S8	-	-
	S9	+	-



Figure 26 : Résultats du test Mannitol-Mobilité (Prise personnelle).

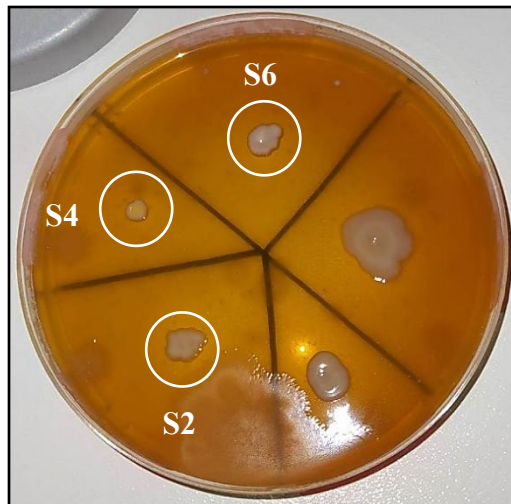
4.3. Identification technologique :

4.3.1. Pouvoir protéolytique :

Quelques souches testées ont montré une activité protéolytique dont la protéolyse se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des souches ensemencées dû à la dégradation de la caséine. La mesure du diamètre de la zone claire permet de quantifier l'activité protéolytique de la souche (Tableau 10) (Figure 27).

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

Fruits	Souches testées	Activité protéolytique	Diamètres
Fraise	S1	-	/
	S2	++	6 mm
	S3	-	/
Orange	S4	+	5 mm
	S5	+	7 mm
	S6	+	4 mm
Datte	S7	-	/
	S8	-	/
	S9	-	/



**Figure 27** : Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées (Prise personnelle).

**5. Identification des bactéries isolées :**

Le tableau 11 englobe un récapitulatif de tous les tests effectués afin de caractériser l'ensemble des souches isolées dans le but de les identifier.

**Tableau 11 :** Caractères physiologiques, biochimiques et technologiques des bactéries isolées à partir des fruits.

Fruits	Souches testées	Caractères																			
		T°				Thermo-résistance	pH				NaCl				Test catalase	Test oxydase	Lait bleu de Sherman		Mannitol-Mobilité		Activité protéolytique
		4°C	30°C	37°C	45°C		pH 4,4	pH 4,9	pH 9	pH 9,6	1%	2%	3%	6.5%			1%	3%	Mannitol	Mobilité	
Fraise	S1	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
	S2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	++
	S3	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Orange	S4	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	
	S5	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	
	S6	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Datte	S7	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
	S8	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
	S9	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-

A partir des fruits sélectionnés, à savoir la fraise, l'orange et les dattes on a pu isoler 9 souches cocci à Gram positif sur milieu M17, et 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 9 souches précédemment citées. Sur ces 9 souches, seules 6 souches se sont révélées catalase négative (S2 fraise), (S4 et S5 orange) ainsi que les trois souches isolées à partir de la datte (S7, S8 et S9), sauf que les souches S7 et S9 sont 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, S4, S5 et S8) concernées par l'identification sont immobiles.

La souche S8 (datte) est une souche mésophile capable de croître à 37°C et non pas à 45°C et elle est en même temps non thermorésistante, c'est-à-dire incapable de croître après exposition à 60°C pendant 30 min. Cette même souche ne présente pas de croissance à pH 9,6 et à 6,5% de NaCl mais peut tolérer une concentration de 3%. Selon des études faites par **(Guiraud, 2003 ; Mofredj et al., 2007)** les bactéries présentant ces caractéristiques appartiennent au *Lactococcus lactis*.subsp *lactis*.

La souche S5 (orange) présente des caractéristiques similaires à la précédente (S8) avec une différence par rapport à la capacité à croître à 45°C et non pas à une concentration de NaCl égale à 3% et 6,5%, en plus de sa capacité à fermenter le mannitol, pourrai appartenir au groupe de bactéries *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* **(Guessas et al., 2012 ; Idoui et al., 2009)**.

La souche S2 isolée à partir de la fraise et la souche S4 isolée à partir de l'orange présentent des caractéristiques identiques, à savoir : la tolérance aux différentes températures, la thermorésistance, la tolérance aux différents pH et concentration en NaCl avec un faible pouvoir protéolytique. Ces caractéristiques correspondent au genre *Pediococcus* spp., considéré comme bactérie lactique probiotique **(Li et al., 2023)**.

Les résultats que nous avons obtenus restent des résultats préliminaires qui doivent être confirmés par d'autres tests biochimiques (fermentation des sucres, caractérisation des voies de fermentations, la galerie biochimique API 50 ...).

***CONCLUSION***

La société d'aujourd'hui est une société de consommation fortement touchée par des maladies métaboliques, telles que le diabète, l'obésité ou les maladies cardiovasculaires. Ces maladies résultent de l'exposition au stress oxydant, au tabac, à la sédentarité, à la malnutrition. Pour réduire l'incidence de ces maladies, la consommation des fruits et légumes et des végétaux riches en antioxydants, est recommandée. Les végétaux constituent une part essentielle d'un régime alimentaire sain : ils sont riches en minéraux, vitamines, fibres, carbohydrates et surtout en antioxydants en plus de tout ça on y trouve des bactéries lactiques très bénéfiques pour la digestion et pour l'organisme d'une façon générale.

Les bactéries lactiques sont de plus en plus étudiées depuis plusieurs années, du fait qu'elles se caractérisent par la production de métabolites fonctionnels, dont des antioxydants, les acides organiques et des composés antibactériens et sont largement utilisées dans l'industrie de la fermentation et dans la production animale pour leurs propriétés acidifiantes, aromatisantes et texturantes.

Dans ce travail nous avons isolé un total de 9 souches bactériennes ayant la forme de cocci à partir de deux fruits locaux de la wilaya de Skikda en plus de la datte.

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, le test catalase et oxydase, le test de croissance sur le lait bleu de Sherman, le test Mannitol-Mobilité et la propriété protéolytique).

Quatre (4) souches ont présentées des caractéristiques qui correspondent à celles des bactéries lactiques. Deux souches (S2 : Fraise et S4 ; orange) ont été identifiées comme étant des *Pediococcus* spp, bactéries probiotiques. La souche S5 (orange) est un *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*. Et la dernière souche S8 (datte) correspond au *lactococcus lactis*.subsp *lactis*.

### **En perspective :**

- Ces résultats préliminaires nécessitent d'être confirmé par une meilleure caractérisation biochimique, 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, par exemple la fermentation.

***RÉFÉRENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

**A**

**Abou-Zeid A.A., Baeshin N.A., Baghlaf A.O., (1991).** The formation of oxytetracycline in a date-coat medium. *Bioresource Technology*, 37. 84-179.

**Amandine Fessard, Emmanuel Bourdon, Bertrand Payet, Fabienne Remize., (2016).** Identification, stress tolerance and antioxydant activity of lactic acid bacteria isolated from tropically-grown fruits and leaves.

**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**

**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.

**Benreguieg M., (2014).** Propriétés antibactériennes et probiotiques de bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache, de chèvre et de brebis dans la region de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem.

**Beton J.C, Brochard., (1993).** L'aventure de l'orange. Paris. 19-45.

**Bigret M., (1989).** Probiotics from Empirism to Science. Biofutur. 62-64.

**Boulal A., (2017).** Contribution à l'étude de la microflore des dattes conservées par des méthodes traditionnelles (Btana), et valorisation des dattes de faible valeur marchande. Thèse de Doctorat : spécialité de Microbiologie fondamentale et appliquée. Algérie : Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 12.

**Brul S et Coote P., (1999).** Preservative agents in foods - Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology* 50. 1-17.

**Buckenhüskes H.J., (1993).** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol Rev*, 12: 1574-6976.

## C

**Carr Frank J, Chill Don and Maida Nino., (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281-370.

**Chamba F.J., (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In Corrieu, G. et Luquet, F.M. *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 787-815.

**Chen Y-S, Wu HC, Pan SF, Lin BG, Lin YH, Tung WC, et al., (2013).** Isolation and characterization of lactic acid bacteria from yan-taozih (pickled peaches) in Taiwan. *Ann Microbiol*, 63: 14-607.

**Chougrani F., (2008).** Utilisation de souches lactiques isolées à partir du lait de brebis algérien dans la fabrication d'un yaourt nature. Thèse de doctorat, Université d'Oran.

## D

**Delarras C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.

**Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques* (De Roissard H. et Luquet F.M.). Ed : *Lorica, Uriage*. 1 : 25-116.

**Devos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H., Whiteman W.B., (2009).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes*. Second Edition. Volume Three. Springer.

**Devriese L. A., Collin M.D. and Wirth R., (1991).** The genus *Enterococcus*. *In A. Balows et al.* (eds) *The Prokaryotes*. Springer-Verlag, New York, USA. 1465-1481.

**Di Cagno R., Cardinali G., Minervini G., Antonielli L., Rizzello C.G., Ricciuti P., Gobbetti M., (2010a).** Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. *Food Microbiology*, 27: 381-389.

**Di Cagno R., Coda R., De Angelis M., Gobbetti M., (2013).** Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol*, 33: 1-10.

**Di Cagno R., Minervini G., Rizzello C.G., Lovino R., Servili M., Taticchi A., Urbani S., Gobbetti M., (2011b).** Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 28: 900-909.

**Dueñas M., Fernández D., Hernández T., Estrella I., Muñoz R., (2005).** Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J Sci Food Agric* 185, 85: 297-304.

## E

**Elarem A.G., Flamini G., Emna B.S., Issaoui M., Zeyene N., Ferchichi A., Hammami M., Helal Ahmed N., Achour L., (2011).** Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. *Food Chemistry*, 127. 1744-1754.

**Elleuch M., Besbes S., Roiseux O., Blecker C., Deroanne C., Drira N., & Attia H., (2008).** Date flesh Chemical composition and characteristics. *Food Chemistry*. 111: 676-682.

**Emerenini E.C., Afolabi O.R., Okolie P. I., Akintokun A. K., (2013).** Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fresh Fruits and Vegetables Using Nested PCRL Analysis. *British Microbiology Research Journal*, 3368-377.

**Espiard E., (2002).** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Edition Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 1-267.

**F**

**Fajardo P., L. Pastrana, J. Mendez, I. Rodriguez, C. Fucinos, and N.P. Guerra., (2012).** Effects of feeding of two potentially probiotic preparations from lactic acid bacteria on the performance and faecal microflora of broiler chickens. *Scientific World Journal*. 562635 : 1-10.

**Faria-oliveira F., Diniz RHS, Godoy-santos F, Pilo FB, Mezdri H, Catro IM, et al., (2015).** The Role of Yeast and Lactic Acid Bacteria in the Production of Fermented Beverages in South America. *Food Prod Ind*, 194.

**Fessard A., (2017).** Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxdante. Thèse de Doctorat. Discipline : Agroalimentaire, Biotechnologie alimentaires et Sciences des aliments. Université de La Réunion. 23-24.

**Franciosi E, Settanni L, Cavazza A, and Poznanski E., (2009).** Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*. 19 (1): 3-11.

**G**

**Gallien A., (2006).** Expérience de Nitch en 1950. Role des akènes. 1.

**Garvie E.I., (1986a).** Genus *Leuconostoc* In P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.2. Williams and Wilkins, Baltimore. 1071-1075.

**George F., Daniel C., Thomas M., Singer E., Guilbaud, A., Tessier F., et al., (2018).** Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. *Front. Microbiol*. 9 : 2899.

**Gerhardt P., Murray R. G. E., Wood W. A. & Krieg N. R., (1994).** Method for general and molecular bacteriology. *American Society for Microbiology*. 518.

**Gollop N., Zakin V et Weinberg Z.G., (2005).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silages treated with these inoculants. *Journal of Applied Microbiology* 98. 662-666.

**Guessas B., Hadadji M., Saidi N. and Kihal M., (2006).** Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. *Dirasat, Agrucultural Sci.* 32(3) : 304-312.

**Guillaume P.Y., (2004).** La microbiologie : les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques, (en ligne).Lyon, France. Disponible sur :

[http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm).

**Guiraud J.P., (1998).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie. Série agro-alimentaire, Eds. Dunod. Paris. 652.

**Guiraud J.P., (2003).** Microbiologie alimentaire. Tec &Doc, Dunod. Paris. 90-292.

**Guiraud J.P., Rosec J.P., (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. Saint-Denis la plaine, Paris. 300.

**Guessas B., (2007).** Les potentialités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le bio-contrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Oran.Algérie.

## H

**Hammes W.P., Weiss N. and Holzapfel W.P., (1992).** The genera *Lactobacillus* and *Carbobacterium*. In: A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder & K.H. Schleifer (Eds.), *The prokaryotes. A hand-book on the biology of bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification and Application.* Springer-Verlag, NewYork. 1535-1594.

**Hassaine O., (2013).** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien, thèse : Microbiologie appliqué, Université d'Oran, Algérie, 11. 06-07.

**Heleni S., Lefki P., Nikolaos T et Evanthia L.T., (2006).** Population, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories. *Int.J.Dairy technol.*..59(3): 200-208.

**Hogg T., (2005).** Essential microbiology. *John Wiley & Sons.* 188-190.

**Holzappel W., (1997).** Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control*, 8: 241-58.

**Holzappel W. H. and Schillinger U., (1991).** The Genus *Leuconostoc* In A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.H. Schleifer (Eds.), *The prokaryotes. A hand-book on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification and application.* Springer Verlag, NewYork. 1508-1534.

## I

**Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., Karam N.E., (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.

**Ikeda D.M., Weinert E., Chang K.C.S., McGinn J.M., Miller S.A., (2013).** Natural Farming: Lactic Acid Bacteria. College of Tropical Agriculture and Human Resources. SA-8 : 1-4.

## K

**Kandler O. and Weiss N., (1986b).** Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL In P.H.A. Sneath N.S. Mair M.E. Sharpe and J.G. Holt (eds.), *Bergey’s manual of systematic bacteriology*, Vol2. The Williams &Wilkins Co., Baltimore. 1209-1234.

**Klein G., Pack A., Bonaparte C. and Reuter G., (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 103-125.

**Kothe H., (2007).** 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres Editions, 99.

**L**

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

**Leonard L., (2013).** Evaluation du Potentiel Bioprotecteur des Bactéries Lactiques Confinées dans une Matrice Polymérique. Thèse de Doctorat. Discipline : Sciences de l'Alimentation : Université de Bourgogne. 8-18.

**Leveau J.Y. et Bouix M., (1993).** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.

**Li C., Wang S., Chen S., Wang X., Deng X., Liu G., Chang W., Beckers Y., Cai H., (2023).** Screening and Characterization of *Pediococcus acidilactici* LC-9-1 toward Selection as a Potential Probiotic for Poultry with Antibacterial and Antioxidative Properties. *Antioxidants*. 12, 215-234.

**M**

**Madigan M ., Martinko J., (2007).** Biologie des microorganismes, édition Pearson Education, France, 11 édition, 1019.

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

**Mofredj A., Bahloul H., Chanut C., (2007).** *Lactococcus lactis* : un pathogène opportuniste ?. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 37(4) : 200-207.

**Mokoena, M., (2017).** Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules* 22: 1255.

**Monnet C., Latrille E., Béal C., Corrieu G., (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 511-593.

**Montet D, Ray R, Zakhia-Rozis N., (2014).** Lactic acid fermentation of vegetables and fruits. Ferment...

**N**

**Novel G., (1993).** Les bactéries lactiques. In J.Y. Leveau & M. Bouix (eds) Microbiologie Industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel. Technique & Documentation, Lavoisier, APRIA, Paris. 169-374.

**O**

**Orla-Jensen S., (1919).** The lactic acid bacteria. Host & Son, Copenhagen.

**P**

**Paul Ross R, Morgan S, Hill C., (2002).** Preservation and fermentation: Past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 3-16.

**Peyron G., (2000).** Cultiver le palmier dattier, *G.R.I.D.A.O.*, Montpellier. 109-129.

**Pilet M.F., Magras C., Federighi M., (2005).** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., *Economica*. Paris. 219-240.

**Ponce A., Moreira M., Del Valle C. et Roura S., (2008).** Preliminary Characterization of Bacteriocin-Like Substances from Lactic Acid Bacteria Isolated from Organic Leafy Vegetables. *LWT-Food Science and Technology*. 41(3): 432-441.

**Pulido R.P., Benomar N., Cañamero M.M., Abriouel H., Gálve, A., (2012).** Fermentation of caper products. In: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of Plant-based Fermented Food and Beverage Technology*, second ed. CRC Press, Boca Raton, USA. 201-208.

**R**

**Rouissat L. and Bensoltane A., (2006).** Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of algerian two breeds (Oules Djellal and El hamra). *Egypt.J.App.Sci.* 21: (2b). 567-582.

**Ruiz Rodríguez, L., Bleckwedel, J., Eugenia Ortiz, M., Pescuma, M., and Mozzi, F., (2017a).** "Lactic acid bacteria," in *Industrial Biotechnology: Microorganisms*, eds C. Wittmann, and J. C. Liao (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA). 395-451.

**S**

**Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K., Benno Y., (2004).** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In: *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 515-530.

**Salawu M.B., Warren E.H et Adesogan A.T. (2001).** Fermentation characteristics, aerobic stability and ruminal degradation of ensiled pea/wheat bi-crop forages

**Salminen S., Gorbach S., Yuan-Kun L et Benno Y., (2004).** Human studies on probiotics: What is scientifically proven today? In *Lactic Acid bacteria: Microbiological and functional Aspects*. Eds salimen, S., von Wright, A. and Ouwerhand A., New york Dekker M. 515-530.

**Schleifer K. H. and Kilpper-Bälz R., (1984).** Transfer of *Streptococcus faecium* and *Streptococcus faecalis* to the genus of *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb.nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int J. Syst. Bacteriol* : 34. 31-34.

**Schleifer K. H. and Kilpper-Bälz R., (1987).** Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of *Streptococci*, *Enterococci* and *Lactococci*: a review. *Syst. Appl. Microbiol.* 10: 1-19.

**Schleifer K.H., Kraus J., Dvorak C., Kilpper-Balz R., Collins M.D. and Fischer W., (1985).** Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *System. Appl. Microbiol.* 6: 183-195.

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

**T**

**Teuber M., (1995).** The genus *Lactococcus* In: B.J.B Wood and W.H. Holzapfel (ed.) The lactic Acid Bacteria Vol. 2. The Genera of Lactic Acid Bacteria. Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, London, UK. 173-234.

**Tonelli N., Gallouin F., (2013).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 05-553.

**V**

**Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P. Kersters K and Swings J., (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60, pp 407-438.

**Vayalil P. K., (2012).** Antioxidant and Antimutagenic Properties of Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L. *Areaceae*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3): 610-617.

**Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg N, Ludwig W., (2011).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes, 3.

**Z**

**Zamojska D., Nowak A., Nowak I., Macierzyńska-Piotrowska E., (2021).** Probiotics and Postbiotics as Substitutes of Antibiotics in Farm Animals: A Review. *Animals (Basel)*, 11(12) : 3431.

**Zhang H. et Cai Y., (2014).** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg. New York, London. 535.