

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 exotiques cultivés en Algérie :  
Le fruit du dragon, le kiwi, la banane.**

Présenté Par :

- Chekkat Amel
- Debbache Mayar

**Membre de Jury:**

Dr. LAIB Imen (MCA)	Présidente	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. BECHEKER Imène (MCA)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. BOUHADDOUDA Nabila (MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

 **REMERCIEMENT**

D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir permis d'arriver à ce Jour, de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à notre encadrante **Mme. Becheker Imène**, docteur à l'université de 20 août 1955 SKIKDA pour avoir dirigé notre travail. Nous la remercions pour sa disponibilité, sa gentillesse, ses critiques constructives et ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il nous a témoigné tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury :

**Dr. LAIB Imen** Maître de conférences A à l'université de 20 août 195 SKIKDA  
Pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury.

**Dr. Bouhaddouda Nabila** Maître assistante B à l'Université de 20 août 1955  
Skikda, pour avoir bien voulu examiner notre travail.

Comme, nous tenons à remercier également l'ensemble des enseignants qui ont veillé sur notre bonne formation durant le cursus universitaire.

Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



## *Dédicace*

Tout d'abord, je remercie **Dieu** qui ma donner la force et la patience pour terminer cette étude.

Ce mémoire est dédié à :

Ceux qui m'ont appris à gravir les échelons de la vie avec sagesse et patience,  
à ceux à qui Dieu m'a accordé la grâce de leur présence dans ma vie,  
***Mon cher père et Ma chère mère.***

Ma chère sœur : ***Asma***

Mon seul frère, mon soutien dans la vie : ***Imad Eddine***

Madame ***Becheker Imène***, qui m'a donné le meilleur de lui-même pour la réalisation de ce travail en qualité d'encadreur.

Tous mes amis également à mes enseignants qui m'ont donné le meilleur d'eux même me permettant d'achever avec succès.

Toute ma famille sans aucune exception.

Mon chère et meilleur amis : ***Asma.***

Celle qui a partagé ce travail avec moi : ***Debbache Mayar.***

À ***moi-même***, à ces jours et à ces années, aux difficultés que j'ai rencontrées  
, aux nuits tardives que j'ai passées, à toutes les déceptions que j'ai endurées  
Le voyage n'était pas court et le rêve n'était pas proche, donc loué soit Allah  
qui a facilité les débuts pour moi et m'a permis d'atteindre la fin.

***Amel***



## *Dédicace*

### *Je dédie ce modeste travail à ...*

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A ma chère sœur *Meryem*, et ma cousine *chourouk* pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mon encadrant Dr. *Becheker Imène* pour leur soutien et leur directions.

A mon collègue et mon binôme *Chekkat Amel*

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Merci d'être toujours là pour moi.

*Mayar*

## Sommaire :

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction .....01

### Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Les bactéries lactiques ..... 03

I.1 Définition ..... 03

I.2 Caractéristiques générales..... 03

I.3 Habitat..... 03

I.4 Classification..... 04

I.4.1 Caractéristiques phénotypiques et biochimiques ..... 05

I.4.2 Caractéristiques morphologiques ..... 05

I.5 Principaux genres ..... 05

I.5.1. Le genre *Lactococcus*.....05

I.5.2. Le genre *lactobacillus*..... 06

I.5.3. Le genre *streptococcus*.....07

I.5.4. Le genre *leuconostoc* .....07

I.6. Métabolisme fermentaire des bactéries lactiques.....08

I.6.1 Processus homofermentaire ..... 08

I.6.2 Processus hétérofermentaire ..... 08

I.7. Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaires..... 09

II. Les fruits lacto fermentés .....10

II.1. Les fruits étudiés. .... 10

II.1.1. Fruit du dragon ... 10

II.1.2. Les bananes. .... 12

II.1.3. Le kiwi. .... 12

### Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Présentation du site d'accueil.....14

1. Matériel .....15

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
2.2.1.2. Examen microscopique.....	20
2.2.2.1. Croissance à différentes températures et la thermorésistance.....	21
2.2.2.2 Croissance à différent pH : 4.4 ; 4.9 ; 9 ; 9.6.....	21
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.....	22
2.2.3.4. Test de Mannitol-Mobilité.....	23
2.2.4. Identification technologique.....	24
2.2.4.1. Pouvoir protéolytique.....	24
2.2.4.2. Pouvoir aromatisant.....	24
2.2.5. Étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques.....	25
2.2.5.1. Souches utilisées.....	25

### **Chapitre 3 : Résultats et discussion**

1. Isolement des bactéries lactiques...	28
2. Purification des bactéries lactiques...	28
3. Conservation des bactéries lactiques...	28
4. Identification des souches lactiques...	29
4.1. Identification phénotypique.....	29
4.1.1. Examen macroscopique.....	29
4.1.2. Examen microscopique.....	29
4.2. Identification physiologique.....	30
4.2.A. Croissance à différentes températures.....	30
4.2.B. Thermorésistance des bactéries.....	31
4.2.2. Croissance à différentes pH : 4.4 ; 4.9 ; 9 ; 9.6.....	32

<b>4.2.3. Croissance en milieu hyper salé NaCL</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3. Identification biochimique</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3.1. Résultats du test catalase</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3.2. Résultats du test oxydase</b> .....	<b>35</b>
<b>4.3.3. Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.4. Résultats du test Mannitol-Mobilité</b> .....	<b>37</b>
<b>4.4. Identification technologique</b> .....	<b>38</b>
<b>4.4.1. Pouvoir protéolytique</b> .....	<b>38</b>
<b>4.4.2. Pouvoir aromatisant</b> .....	<b>39</b>
<b>5. Activité antibactérienne</b> .....	<b>41</b>
<b>6. Identification des bactéries isolées</b> .....	<b>43</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>46</b>

## **Résumé :**

Au cours de cette étude, nous avons isolé des bactéries lactiques à partir de 3 différents fruits exotiques cultivés en Algérie collectés de 3 wilayas (Skikda, Alger et Jijel). Ils s'agit de : le fruit du dragon, le kiwi et la banane.

Des caractérisations phénotypiques ainsi que des tests biochimiques et technologiques ont été réalisés sur 7 souches isolées pendant une période de deux mois. Les résultats obtenus montrent de nombreuses caractéristiques qui diffèrent d'une souche à l'autre, alors qu'il existe des souches dont les caractéristiques sont similaires. Ces résultats nous ont permis d'identifier 2 genres distincts : *Lactococcus* (*Lactococcus lactis subsp cremoris*), *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*).

Une activité antibactérienne a été testée vis-à-vis *S. aureus* et *E. coli*, montre une inhibition plus forte vis-à-vis *S. aureus* par 16 mm de diamètre.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, *S. aureus*, *E. coli*, activité antibactérienne, tests biochimiques, caractérisation phénotypique, tests technologiques, fruits.



## **Abstract :**

During this study, we isolated lactic acid bacteria from 3 different exotic fruits grown in Algeria collected from 3 wilayas (Skikda, Algiers and Jijel). They are: dragon fruit, kiwi and banana.

Phenotypic characterizations as well as biochemical and technological tests were carried out on 7 strains isolated over a period of two months. The results obtained show many characteristics that differ from one strain to another, although there are strains with similar characteristics. These results allowed us to identify 2 distinct genera: *Lactococcus* (*Lactococcus lactis subsp cremoris*), *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*).

Antibacterial activity was tested against *S. aureus* and *E. coli*, showing stronger inhibition against *S. aureus* per 16 mm diameter.

**Keywords :** lactic acid bacteria, *S. aureus*, *E. coli*, antibacterial activity, biochemical tests, phenotypic characterization, technological testing, fruit.

## ملخص:

خلال هذه الدراسة، قمنا بعزل بكتيريا حمض اللاكتيك من 3 فواكه غريبة مختلفة مزروعة في الجزائر تم جمعها من 3 ولايات (سكيكدة والجزائر العاصمة وجيجل) هم: فاكهة التين، الكيوي والموز.

تم إجراء التوصيف المظهري بالإضافة إلى الاختبارات البيوكيميائية والتكنولوجية على 7 سلالات معزولة خلال فترة شهرين. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها العديد من الخصائص التي تختلف من سلالة إلى أخرى. على الرغم من وجود سلالات ذات خصائص مماثلة. سمحت لنا

هذه النتائج بتحديد جنسين متميزين: *Lactococcus (Lactococcus lactis subsp cremoris)* ،

*Lactobacillus (Lactobacillus acidophilus)*

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا ضد *S. aureus* و *E. coli*، مما أظهر تثبيطاً أقوى ضد *S. aureus* بقطر 16 مم.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك، *S aureus* ، و *E. coli*، النشاط المضاد للبكتيريا، اختبارات الكيمياء الحيوية، التوصيف الظاهري، اختبارات التكنولوجيا، الفواكه.

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
<b>GRAS</b>	Generally recognized as safe
<b>BL</b>	Bactérie lactique
<b>EPS</b>	Extracellular polymeric substance
<b>ADN</b>	Acid désoxyribonucléique
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>EMP</b>	Embden-Meyerhof-Parnas
<b><i>LB</i></b>	<i>Lactobacille</i>
<b>CO2</b>	Dioxyde de carbone
<b><i>Ln</i></b>	<i>Leuconostoc</i>
<b>Pi</b>	Phosphate inorganique
<b>ADP</b>	Adénosine diphosphate
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>g</b>	Gramme
<b>cm</b>	centimètre
<b>%</b>	Pourcentage
<b>P</b>	Phosphates
<b>K</b>	Potassium
<b>Ca</b>	Calcium
<b>Mg</b>	Magnésium
<b>Na</b>	Sodium
<b>Fe</b>	Fer
<b>Zn</b>	Zinc
<b>mg</b>	milligramme
<b>ml</b>	millilitre
<b>mm</b>	millimètre
<b>min</b>	minute
<b>Sec</b>	Second
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>h</b>	Heure
<b>T</b>	Température
<b>MRS</b>	Man, Rogosa et Sharpe

<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Monoxyde de dihydrogène
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>µl</b>	Microlitre
<b>VP</b>	Voges-Proskauer
<b>S</b>	Souche
<b>E. coli</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>S. aureus</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>ATCC</b>	American type culture collection

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>1</b>	Schéma montrant l'arbre phylogénique des bactéries lactiques.	5
<b>2</b>	<i>Lactococcus lactis subsp lactis</i> sous microscope électronique.	6
<b>3</b>	<i>Streptococcus thermophilus</i> sous microscope électronique.	7
<b>4</b>	<i>Leuconostoc lactis</i> sous microscope électronique à transmission (x 10000).	7
<b>5</b>	Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques.	8
<b>6</b>	Image descriptive des ingrédients de fruit du dragon.	11
<b>7</b>	Schéma descriptif des ingrédients de la banane.	12
<b>8</b>	Schéma descriptif des ingrédients du kiwi	13
<b>9</b>	Vue globale du laboratoire de microbiologie de l'université 20 août 1955-Skikda.	14
<b>10</b>	Fruits achetés : A) Dragon ; B) Kiwi ; C) Banane.	15
<b>11</b>	Préparation de la solution mère.	16
<b>12</b>	Protocole d'isolement et identification des bactéries lactiques.	18
<b>13</b>	Clé d'identification bactérienne par quelques tests.	20
<b>14</b>	Test de thermorésistance des bactéries.	21
<b>15</b>	Test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	23
<b>16</b>	Test Mannitol-Mobilité.	24
<b>17</b>	Test de Clark et Lubs.	25
<b>18</b>	Souches utilisées : A) <i>S. aureus</i> , B) <i>E. coli</i> .	25
<b>19</b>	Protocole de l'activité antibactérienne par la méthode des spots.	27
<b>20</b>	Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 et MRS à partir de : A) Dragon / B) Banane / C) Kiwi.	28
<b>21</b>	Résultats de la conservation des isolats	28
<b>22</b>	Observation macroscopique des colonies obtenues à partir de l'ensemencement des dilutions ( $10^{-3}$ , $10^{-4}$ , $10^{-5}$ ) sur les milieux M17 (A) et MRS (B)	29
<b>23</b>	Observation microscopique d'une souche isolée à partir de fruit du dragon après coloration de gram ( <b>x100</b> ).	29

<b>24</b>	Observation microscopique d'une souche isolée à partir de kiwi après coloration de gram ( <b>x100</b> ).	29
<b>25</b>	Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries testées <b>A) T= 4°C ; B) T= 30°C ; C) T= 37°C.</b>	30
<b>26</b>	Résultats comparatifs avec témoin du test de croissance des bactéries testées à différentes températures : <b>A) T= 4°C ; B) T= 30°C ; C) T= 37°.</b>	31
<b>27</b>	Résultats du test de thermo-résistance des bactéries testées.	32
<b>28</b>	Résultats du test de croissance à différents pH : <b>A) pH= 4.4 ; B) pH= 4.9 ; C) pH= 9 ; D) pH= 9.6.</b>	33
<b>29</b>	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : <b>A) 3.5 % ; B) 6.5 %.</b>	34
<b>30</b>	Résultats du test catalase positif de S1 (A) et négatif de S3 (B).	35
<b>31</b>	Résultats du test oxydase positif du S3 (A) et négatif du S1(B).	36
<b>32</b>	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman. <b>A) à 0.1 % de bleu de méthylène ; B) à 0.3 % de bleu de méthylène.</b>	37
<b>33</b>	Résultats du test Mannitol- Mobilité.	38
<b>34</b>	Résultats de l'activité protéolytique des souches testées.	39
<b>35</b>	Résultats du test Clark et Lubs après l'addition de VP1 et VP2.	40
<b>36</b>	Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>S.aureus</i> .	41
<b>37</b>	Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis <i>E. coli</i> .	42

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Milieux d'isolement de quelques espèces de bactéries lactiques.	4
<b>2</b>	Résultats du test de croissance à différentes températures.	30
<b>3</b>	Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.	31
<b>4</b>	Résultats du test de croissance à différents pH.	32
<b>5</b>	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl.	34
<b>6</b>	Résultats du test catalase.	35
<b>7</b>	Résultats du test oxydase.	36
<b>8</b>	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	37
<b>9</b>	Résultats du test Mannitol- Mobilité.	38
<b>10</b>	Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur les milieux M17 et MRS additionné de lait écrémé à 10%.	39
<b>11</b>	Résultats du test Clark et Lubs des souches testées.	40
<b>12</b>	Résultats de l'activité antibactérienne.	41
<b>13</b>	Caractères physiologiques, biochimiques, technologiques et l'activité antibactérienne des bactéries isolées à partir des fruits.	43

# **Introduction**



Les bactéries lactiques représentent un ensemble de bactéries utiles pour l'être humain. Ce sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles qui peuvent se trouver dans tous les types d'habitats. Selon **(Benkerroum et Tamime 2004)**, ce groupe se distingue par la production d'acide lactique, ce qui leur permet d'être utilisés depuis longtemps dans la fermentation des produits alimentaires comme les produits laitiers fermentés (fromage, yaourts) et les produits carnés fermentés. Améliorant ainsi sa conservation par l'abaissement du PH **(Piard & Desmazeaud, 1991 ; Dortu & Thonart, 2009 ; Moraes et al., 2010)**.

Le consommateur est à la recherche de nouveaux aliments à haute valeur nutritionnelle, faciles et rapides à consommer. La fermentation lactique de végétaux, en particulier de fruits, est en plein essor pour répondre à ces attentes, même si elle est très ancienne **(Alegria et al., 2013)**. Les aliments fermentés sont de plus en plus étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé ; ces effets sont dus en partie à l'action des microorganismes responsables de la fermentation et aux résultats des métabolites produits par l'organisme **(Bautista Gallego et al., 2020)**.

Les bactéries lactiques jouent de multiples rôles dans la production de produits fermentés. Premièrement, elles contribuent à modifier la saveur et la texture des aliments. Ces changements sont provoqués notamment par l'acide lactique produit lors de la croissance. Les bactéries lactiques, quant à elles, produisent des peptides et des molécules telles que l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétate ou l'éthanol, qui sont importants pour la flaveur des produits alimentaires **(Alegria et al. 2013 ; Morandi et al. 2013)**.

En 1907, le Russe Metchnikoff a proposé l'intérêt des bactéries lactiques dans le domaine de la santé humaine, démontrant que certaines souches de *Lactobacillus* pouvaient diminuer la putréfaction intestinale en améliorant les caractéristiques de sa propre flore. De plus, l'utilisation de certaines bactéries lactiques spécifiques en tant que probiotiques a été prouvée par de nombreuses études au cours des dernières décennies, démontrant ainsi leurs avantages pour la santé globale.

Les bactéries lactiques produisent un grand nombre de métabolites aux propriétés antibactériennes, tels que des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène. Dioxyde de carbone, reutéline, diacétyle et bactériocines. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens qui inhibent la croissance de bactéries nocives ou pathogènes. Les souches qui

les produits peuvent donc également être utilisées comme cultures protectrices dans des produits non fermentés. Les cultures protectrices sont des cultures antagonistes ajoutées aux aliments pour inhiber les bactéries pathogènes et/ou détériorantes, prolongeant ainsi leur durée de conservation en altérant le moins possible leurs propriétés organoleptiques (**Rodgers, 2001 : 2003 : Vermeiren et al., 2004**).

L'intérêt de ce travail est l'isolement et l'identification de bactéries lactiques à partir de fruits exotiques cultivés en Algérie, représentés par le fruit du dragon, la banane et le kiwi qui sont riches en vitamines et glucides. Par la suite, les caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques ainsi que l'activité antibactérienne des isolats ont été déterminés.

# **Chapitre 1**

## **Synthèse bibliographique**

## **I. Les bactéries lactiques :**

### **I.1 Définition :**

Les bactéries lactiques constituent un grand groupe des micro-organismes procaryotes, ces bactéries regroupent une catégorie hétérogène d'espèces, dont le point commun est la production d'acide lactique à partir des glucides (**Labioui et al; 2005**).

### **I.2 Caractéristiques générales :**

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes gram-positifs, non sporulés, catalase-négatifs, tolérants à l'oxygène et à l'acide. Ayant des besoins spécifiques et effectuant exclusivement une fermentation pour produit de l'acide lactique (**El. Ghaish et al. 2010 , Pringsulaka et al. 2012**).

Les bactéries lactiques ont été tout d'abord détachées du lait (**Carr et al, 2002**) puis il a été découvert dans une variété de denrées alimentaires et de produits fermentés, y compris la viande, les produits laitiers, les légumes, les boissons et les produits de boulangerie (**Liu 2003**).

Elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (**Stiies et al; 1997**), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe) (**Kiaenhammer et al; 2005**).

### **I.3 Habitat :**

Les bactéries lactiques vivent dans de nombreux environnements naturels. Ils sont souvent associés à des aliments riches en sucres simples. On les retrouve dans le lait et les produits laitiers, les fruits, les produits carnés frais et cuits, le poisson salé, les plantes et les céréales, sur la peau, dans le tube digestif des humains et des animaux, dans la bouche et sur la muqueuse vaginale, remplissant diverses fonctions. (**Roméo et al., 2001**) (**Tableau 1**).

**Tableau 1 :** Milieux d'isolement de quelques espèces de bactéries lactiques.

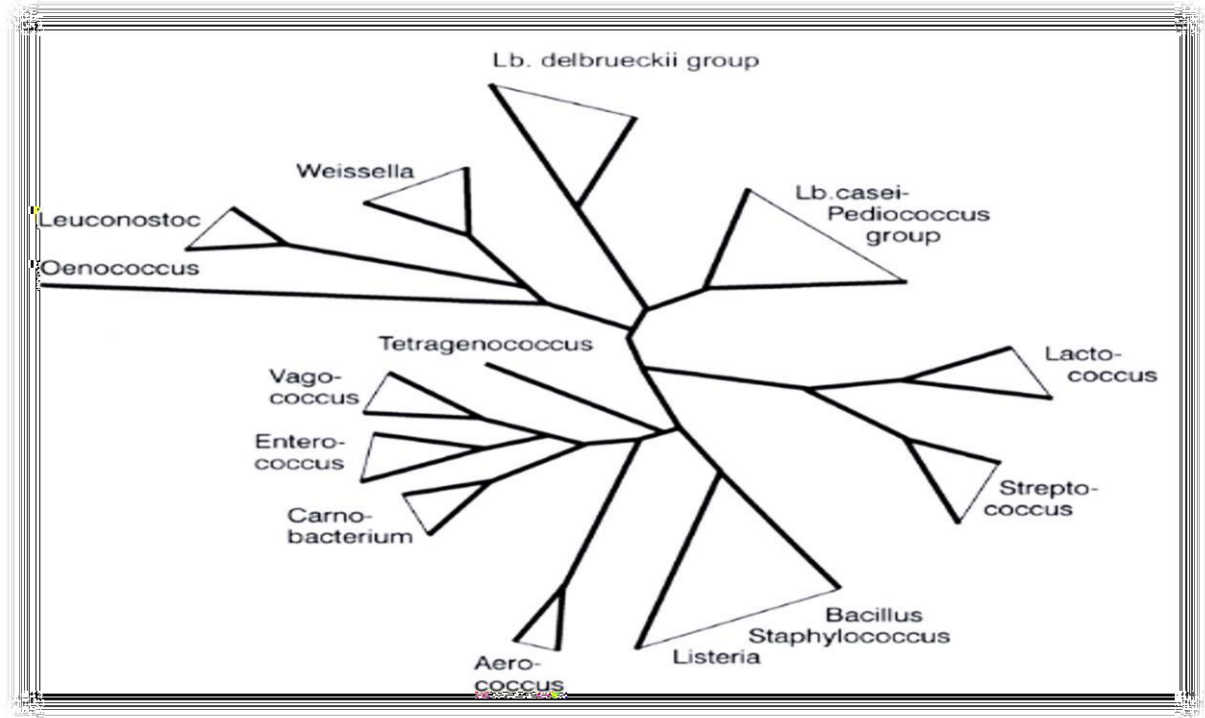
(Hassaine, 2013).

<b>BACTERIES LACTIQUES.</b>	<b>HABITAT OU MILIEU D'ISOLEMENT.</b>
<b>LACTOBACILLUS</b>	
<i>Lb. delbrueckii subsp. delbrueckii</i> <i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>Lb. delbrueckii subsp. lactis</i> <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. gasserii</i> <i>Lb. helveticus.</i> <i>Lb. casei subsp. casei</i> <i>Lb. casei subsp. Pseudoplantarum</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. viridescens</i> <i>Lb. sanfrancisco</i>	Végétaux. Yaourt, fromage. Lait, fromage. Bouche, tractus intestinal. Bouche, tractus intestinal. Fromage. Rumen. Fromage, fourrage. Kéfir. Produits carnés. Pain.
<b>LACTOCOCCUS</b>	
<i>Lc. lactis sussp. Lactis.</i> <i>Lc. lactis subsp cremoris.</i> <i>Lc. Raffinolactis.</i> <i>Lc. graviae.</i>	Lait crus, laits fermentés, végétaux. Lait. Lait caillé. Lait de mammite.
<b>LEUCONOSTOC</b>	
<i>Ln. oenos</i>	Lait, produit laitiers, fruit légumes, végétaux en fermentation (choucroute) produit de panification, solution visqueuses de sucres Vin (absent dans le lait)
<b>PEDIOCOCCUS</b>	
<i>Pc. Pentosaceus , Pc. acidilactici.</i> <i>Pc. halophilus</i>	végétaux, boissons (bière, cidre et vin). lait et produit laitiers. Produit de pêche, anchois salé.
<b>STREPTOCOCCUS</b>	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lait, produit laitiers, yaourt, levains artisanaux.

#### **I.4 Classification :**

De nombreux genres bactériens appartenant à l'embranchement des firmicutes composent des bactéries lactiques. Les *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Carnobacterium*, les plus fréquents utilisés comme cultures de départ dans les processus de fermentation du lait, de la viande et des produits végétaux.

La classification des BL repose souvent sur des caractéristiques phénotypiques et biochimiques. L'examen de la morphologie bactérienne est une étape clé de l'identification préliminaire (Woese, 1987). Elle à été fondée par Orla-Jensen en 1919. (Ludwig et al., 2008). (Figure1).



**Figure 1** : Schéma montrant l'arbre phylogénétique des bactéries lactiques.

(Axelon, 2004).

#### **I.4.1 Caractéristiques phénotypiques et biochimiques :**

- La capacité à fermenter les glucides, à tolérer différentes concentrations de bile, à produire des EPS.
- Produire de l'acétoïne et synthétiser certain enzymes pratiques pour l'identification initiale des micro-organismes.
- La composition ADN-G+C , la composition en acides gras. (Vandamme., 1996 ;Stiles et Holzopfel 1997 ; Ho et al., 2007)

#### **I.4.2 Caractéristiques morphologiques :**

Les BL peuvent être des bacilles (*Lactobacillus* , *Carnobacterium*) ou des coques ( les autres genres).

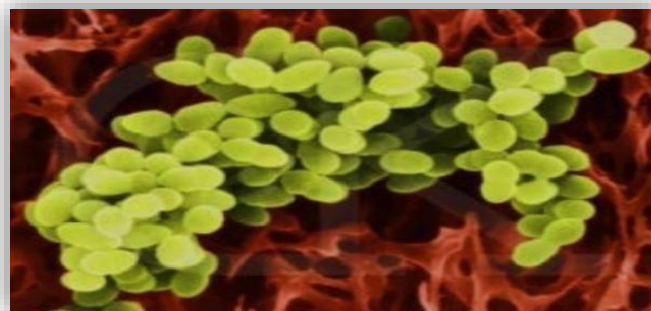
*Weissella* est le seule genre qui contient des bacilles et des coques en même temps. (Collin et al., 1993 ; Ho et al., 2007).

## **I.5 Principaux genres :**

### **I.5.1 Le genre *Lactococcus* :**

Connus sous le nom de *streptocoques* lactiques, ils sont étroitement liés à divers processus de fermentation alimentaire et ne sont pas pathogènes. (Pilet et al, 2005).

Les lactocoques sont des bactéries gram-positives, immobiles qui vont de 0,5 à 1,5 µm en paires ou en chaînes courtes. Ce sont des mésophiles avec une croissance optimale à 37°C qui peuvent fermenter des hexoses par homofermentation. (Mahamedi, 2015).



**Figure2 :** *Lactococcus lactis subsp lactis* sous microscope électronique.  
(Teuber et Geis, 2006).

### **I.5.2 Le genre *Lactobacillus* :**

Sont de longues cellules régulières en forme de bâtonnets, de coccobacilles isolés ou de chaînes de taille variable. Leurs températures de croissance varient de 2 à 53°C, mais elles sont toutes acidophiles avec un PH optimal de 5,5 à 6,2.

Leurs méthode de fermentation donne lieu à une classification divisée en trois groupes :

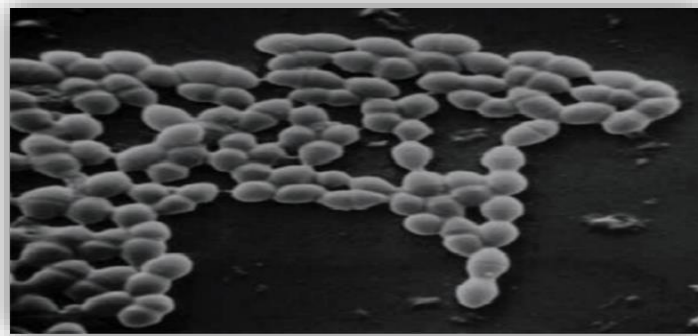
- **Groupe I :** Composé de lactobacilles thermophiles qui ne ferment que des hexoses en acide lactique par la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP ou glycolyse). Il est principalement connu sous : *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* et *Lb. acidophilus*, et couramment utilisé dans l'industrie laitière.
- **Groupe II :** Concerne les lactobacilles homo-hétérofermentaires, y compris les souches facultatives et mésophiles. Ce groupe comprend notamment des espèces telles que *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus*. Se trouvent dans les légumes fermentés et les produits laitiers. Elles se distinguent par leur capacité à fermenter les hexoses en acide lactique via la voie EMP et à dégrader les pentoses et les gluconates via la voie du pentose phosphate.

- **Groupe III** : Composé de lactobacilles hétérofermentaires stricts ; Ces bactéries convertissent exclusivement les hexoses et les pentoses en acide lactique, en éthanol et en CO<sub>2</sub> par le chemin du phosphogluconate.

Cette catégorie comprend des espèces à faible capacité d'acidification (0,5 % d'acide lactique), telles que *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum*. (**Privat et Thonart, 2011**).

### **I.5.3 Le genre *Streptococcus* :**

Les membres du genre *Streptococcus* ont une forme sphérique ou ovoïde d'un diamètre inférieur à 2 µm, dont la seule espèce utilisée dans l'industrie laitière est *Streptococcus thermophilus* en raison de son rôle dans la fermentation du lait et de sa non pathogénicité. homofermentaire, thermophile ayant la capacité de croître jusqu'à 52 °C. Utilisé avec *Lactobacillus bulgaricus* dans la production de yaourt. (**Mahamedi, 2015**).



**Figure 3 :** *Streptococcus thermophilus* sous microscope électronique.

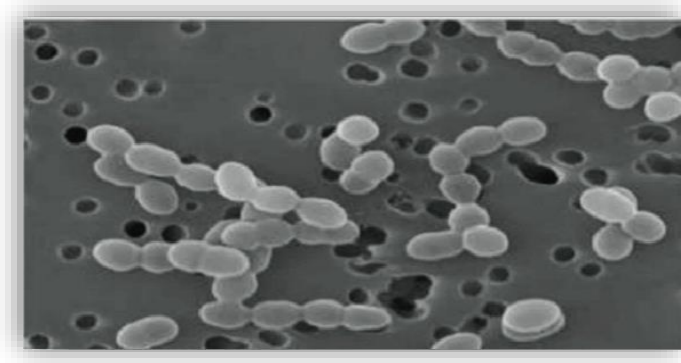
(**Liebefeld, 2002**).

### **I.5.4 Le genre *Leuconostoc* :**

Sont des coques hétérofermentaires qui produisent l'acide lactique, le CO<sub>2</sub> et l'éthanol. Ils s'assemblent en paires ou en chaînes mésophiliques.

La capacité de différencier entre les espèces *Leuconostoc* et *Weissella* est rendue possible par les conditions de croissance, la capacité à résister aux variations de PH et de température, et l'assimilation du citrate et/ou du malate. Ce groupe comprend : *Ln. lactis*, *Ln. mesenteroides*, *Ln. pseudomesenteroides* et *Ln. paramesenteroides*. (**Collins et al., 1993**).





**Figure 4** : *Leuconostoc lactis* sous microscope électronique à transmission(x 10000).  
(Bendimerad, 2003)

### **I.6 Métabolisme fermentaire des bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques disposent de deux mécanismes distincts pour métaboliser les sacharides.

**I.6.1 / Processus homofermentaire** : implique la fermentation des hexoses et du lactose dans des conditions anaérobies, entraînant la production prédominante d'acide lactique.



**I.6.2 / Processus hétérofermentaire** : Au cours duquel les hexoses et le lactose sont fermentés, conduisant à la production d'acide lactique et d'une gamme d'autres substances, notamment le dioxyde de carbone, l'éthanol, le glycérol et divers acides, notamment l'acide acétique (Liebefeld, 2002).



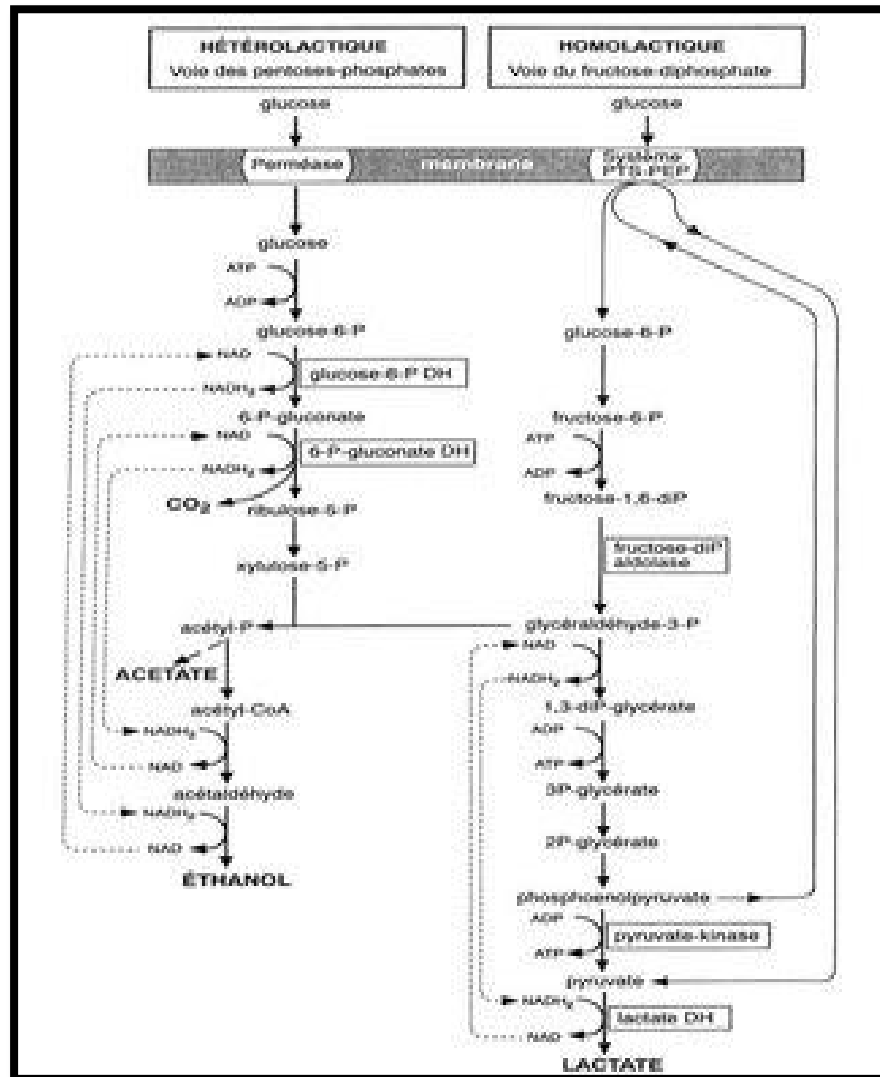


Figure 5 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Desmazeud et de roissart, 1994) .

### 1.7 Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaires :

L'utilisation des BL dans l'industrie alimentaire est déterminée par leurs propriétés comprenant l'acidification et les activités enzymatiques (protéolyse, peptidase et lipolyse), ainsi que la génération de métabolites importants tels que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines. (Belyagoub., 2014).

Des caractéristiques supplémentaires telles qu'une augmentation de la valeur nutritive des aliments, une diminution de la production de produits toxiques et une qualité probiotique, ont été liées aux lactobacilles dans les produits alimentaires (Ennadir et al., 2014). Ces micro-organismes permettent de convertir une large gamme de matières premières dans l'industrie alimentaire, produisant une multitude de produits. (Axelsson., 2004 ; Streit et al., 2007).

## **II. Les fruits lacto fermentés :**

Les principales sources de substances bioactives telles que les vitamines et les métabolites secondaires (polyphénols, caroténoïdes, stérols, glucosinolates et saponines) sont contenues dans les herbes, les fruits et les légumes. (Alothman *et al.*, 2009, Cassileth, 2008, Xu *et al.*, 2004, Yang *et al.*, 2007, Yuka *et al.*, 2003). Les fruits et les légumes sont sous-consommés dans le monde entier et devraient être encouragés. Il peut être utile d'augmenter la concentration de vitamines et de métabolites secondaires dans les fruits par des approches génétiques et/ou environnementales. (Poiroux-Gonord *et al.*, 2010).

La recherche montre que les personnes qui consomment cinq portions ou plus de fruits et légumes par jour ont environ la moitié du risque de développer divers cancers, en particulier ceux du tractus gastro-intestinal. (Gescher, Pastorino, Plummer, & Manson, 1998).

Les fruits frais favorisent la croissance des micro-organismes sur leur surface, ce qui peut également entraîner une intoxication alimentaire par des bactéries pathogènes, telles que les bactéries Gram-positives et négatives et les bactéries lactiques. Ces derniers constituent l'un des groupes les plus populaires des micro-organismes utilisés dans la fermentation lactique. (Di cagno *et al.*, 2013).

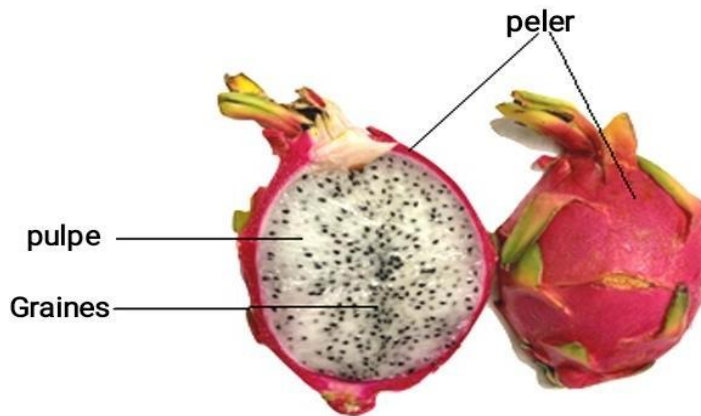
Depuis les temps anciens, les aliments ont été conservés et transformés par le processus de fermentation lactique. On pense qu'il s'agit d'une fermentation incontrôlée, spontanée et imprévisible (Buckenhüskes, 1993 ; Holzappel, 1997). Selon Paul Ross *et coll.* (2002), Elle est essentielle pour déterminer les qualités nutritionnelles des aliments, en particulier des fruits, qui apportent de nouvelles saveurs, arômes et textures. Tout au long de ce processus, les bactéries lactiques synthétisent un large éventail de molécules, y compris les acides organiques (alcools), le dioxyde de carbone et les bactéries, dans un effort pour empêcher la croissance de micro-organismes pathogènes et de contaminants (Montet *et al.*, 2014) ainsi que pour préserver les vitamines et les minéraux (Dueñas *et al.*, 2005).

### **1. Les fruits étudiés :**

#### **1.1. Fruit du dragon :**

Connu sous le nom de pitaya ou belle de nuit, fraise poire (Perween *et al.* 2018). Il est considéré comme un fruit tropical exotique. Appartient au genre *Hylocereus* de la famille des Cactaceae et de l'ordre des cactales. Il est originaire des forêts tropicales et sub-tropicales d'Amérique du Sud et d'Amérique centrale, ainsi que du Mexique. (Britton *et Rose*, 1963 ; Barthlott *et Hunt*, 1993).

Il a une forme ovale, pèse environ 150-600 g, mesure 6 à 12 cm de long et a un diamètre de 4 à 9 cm. Elles ont des couleurs attrayantes (peler rose et pulpe blanche, peler rose et pulpe rouge, peler rouge et pulpe rouge-pourpre) et contiennent de nombreuses petites graines noires riches en acides gras essentiels. (Arrifin et al., 2009).



**Figure 6 :** Image descriptive des parties du fruit du dragon.

(Damle Joshi, Monica & Prabhakar, Bala.2020).

Elles sont consommées fraîches ou utilisées pour fabriquer divers produits savoureux tels que des confitures, des jus et des nectars. Sa pulpe est également utilisée pour fabriquer des boissons rafraîchissantes. (Patel et Ishnava, 2019).

Selon l'espèce et l'origine, 100 g de fruit du dragon frais contiennent plus de 80 % d'humidité, 0,4 à 2,2 g de protéines, 8,5 à 13,0 g d'hydrates de carbone et 6,0 g de sucre total et 8 à 9 mg de vitamine C. (Rahmat ,2014 & Jerônimo et al. 2015). Une autre partie de la pitaya, la jeune tige, contient également des valeurs nutritionnelles élevées telles que des protéines brutes (10,0 à 12,1 g), des fibres brutes (7,8 à 8,1 g) et plusieurs minéraux tels que P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, dont le Fe représente 7,5 à 28,8 mg de poids sec. (Ortiz.Hernández & Carrillo-Salazar 2012).

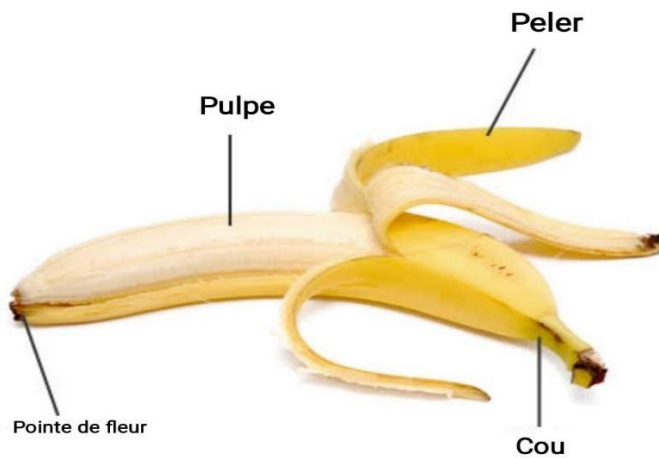
En raison de sa capacité à s'adapter à l'intensité lumineuse, aux températures élevées et à la sécheresse, il est actuellement cultivé dans la plupart des régions du monde pour son importance commerciale. (Nobel et La barrera.2004 ; Nic et al.2015 ; Crane et al.2020). Les philippines, la malaisie, la colombie , le mexique, la chine du sud...en font partie. (Mercado. Silva.2020).

En Algérie, dans la région sud de Skikda, commune de Beni Béchir , le fruit du dragon a été cultivé en partenariat entre la Chine et l'Algérie (en 2019). Cette opération a connu un grand succès et des résultats impressionnants. (Rima A, 2022).

## 1.2. Les Bananes :

Les bananes sont généralement perçues comme des fruits bénéfiques pour la santé humaine et sont généralement consommées fraîches. D'après (**Lassoudière 2007**), ces produits agricoles occupent la quatrième place en termes de production mondiale, après le riz, le blé et le maïs.

Une banane fraîche contient environ 56 g, dont 35 g de pulpe (**Boussingault , 1844**) La teneur en eau de 74% celle des sucres (GLUCOSE, FRUCTOSE...) de 21% et celle des GLUCIDES.



**Figure 7 :** Image descriptive des parties du fruit de la banane (**Kuroki, N., 2010**).

Dans certains pays, les bananes jouent un rôle crucial en tant que source d'énergie. On utilise le fruit pour fabriquer différentes boissons énergisantes ainsi que des bananes séchées. En outre, le fruit aide également à prévenir les crampes musculaires en raison de sa richesse en vitamines et minéraux.

La banane est le fruit le plus produit, cultivé dans plus de 120 pays à travers les 5 continents (**Bakry et al., 1997**), avec une production annuelle en dessous de légèrement les 106 millions de tonnes à travers le monde.

Récemment, elle a été cultivée en Algérie, notamment dans la wilaya de Jijel, grâce à leur climat humide qui se caractérise par, selon Yacine Zeddami, la production s'annonce plutôt satisfaisante. (**Amine Ait., 2020**).

## 1.3. Le Kiwi :

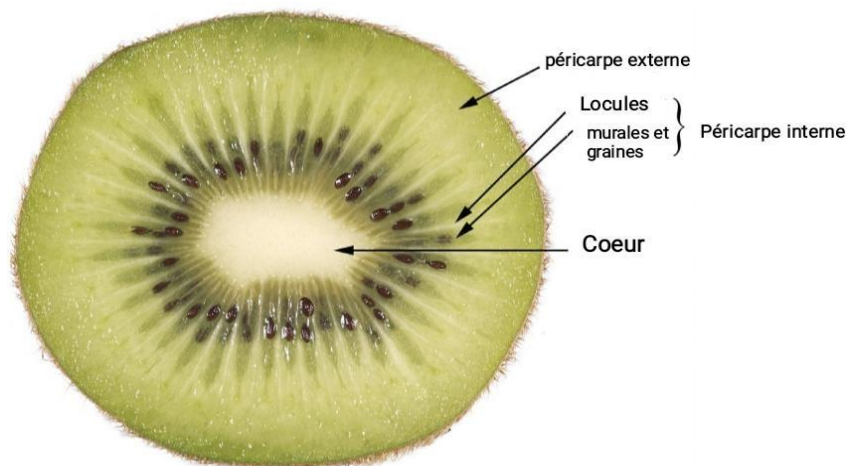
Le kiwi est l'un des fruits les plus connus et sa consommation est ancienne. Appartenant au genre Actinidia, il existe plus de 70 espèces dans le monde et constitue un important pilier économique

des produits agricoles dans de nombreux pays. (X.W.YI *et al.*, 2021). Il est originaire de la vallée de Chang Kiang (Yang Tao) dans le nord de la chine. (Shirosaki, 2008).

En raison de l'accumulation de pigments chlorophylles, caroténoïdes (principalement du bêta-carotène et de la lutéine) ou anthocyanes, le kiwi présente une variété de couleurs (Ampomah-Dwamena, 2019). Souvent, la chair est d'un jaune ou d'un vert à maturité, mais certains peuvent présenter un cœur plus ou moins rouge. (Wang, 2003 ; Montefiori, 2005 ; Fergusson, 2011).

Le kiwi est parfait pour un dessert et peut être consommé en plein air, ajouté à une salade de fruits ou même en smoothie (Léa Zubiria, 2021). Il est également l'un des fruits utilisés comme agrément dans un gâteau ou, plus rarement, en jus. (Carisey & consorts, 2016).

Composé de nombreux phytonutriments ainsi que des vitamines et des minéraux bien connus qui favorisent la santé (Keith Singletary, 2012). Il contient beaucoup de glucose et de fructose et une petite quantité de saccharose, très riche en vitamine A, E, et K (Maillar, C.1998) et d'antioxydants flavonoïdes tels que le bêta-carotène, la lutéine et la xanthine (Chaurasia *et al.*, 2014).



**Figure 8 :** Image descriptive des parties de fruit du kiwi (Schröder & Atkinson.,1998).

En Algérie, le kiwi fait partie des fruits exotiques qui ont été cultivés avec beaucoup de succès dans de nombreux wilayas du pays, y compris : Mascara, Naama, El Bayadh, Laghouat, Djelfa, Msila, Tiaret. (Nawel.D, 2020).

# **Chapitre 2**

## **Matériel et méthodes**

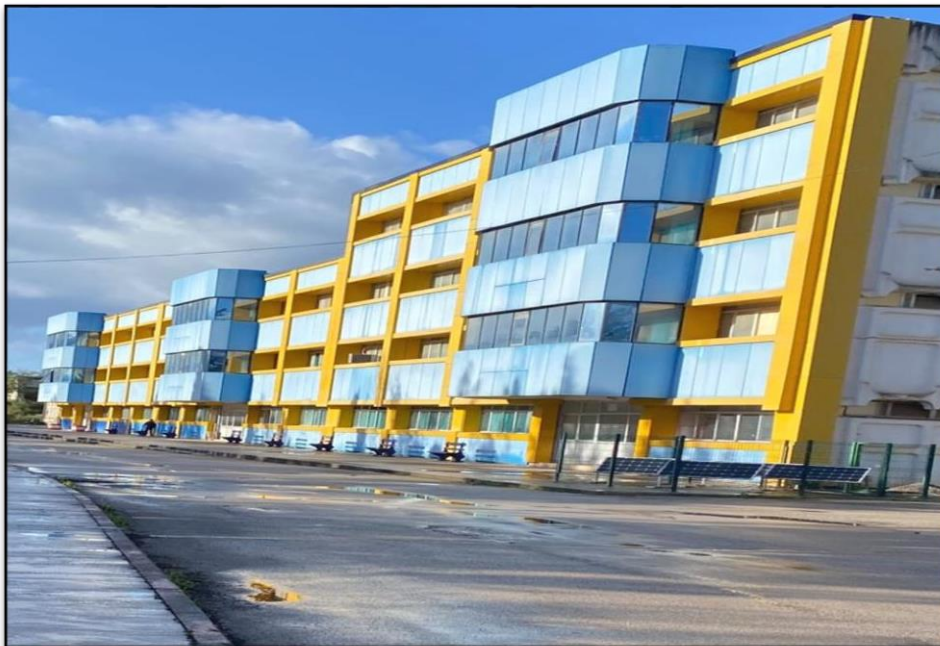
Nous avons effectué notre travail pratique dans le laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 à Skikda (**Figure 9**), pendant 2 mois, du 25 février au 03 Mai 2024.

Le laboratoire de microbiologie est situé dans le hall technologique de l'université de Skikda exactement au troisième étage. À côté se trouve un laboratoire de biochimie.

Ce laboratoire contient de nombreux outils de laboratoire et des appareils qui nous ont aidés dans notre travail.

Le but est :

- L'isolement, la purification et l'identification des bactéries lactiques à partir de fruits frais (fruits du dragon, la banane, le kiwi).
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques des isolats.



**Figure 9:** Vue globale du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda  
(Prise personnelle).



## 1. Matériel :

### 1.1. Provenance des échantillons utilisés :

Pour la partie expérimentale, nous avons utilisé des fruits locaux en achetant trois échantillons : Fruit du dragon, et le kiwi de la wilaya de Skikda et la banane de la wilaya de Jijel (**Figure 10**).



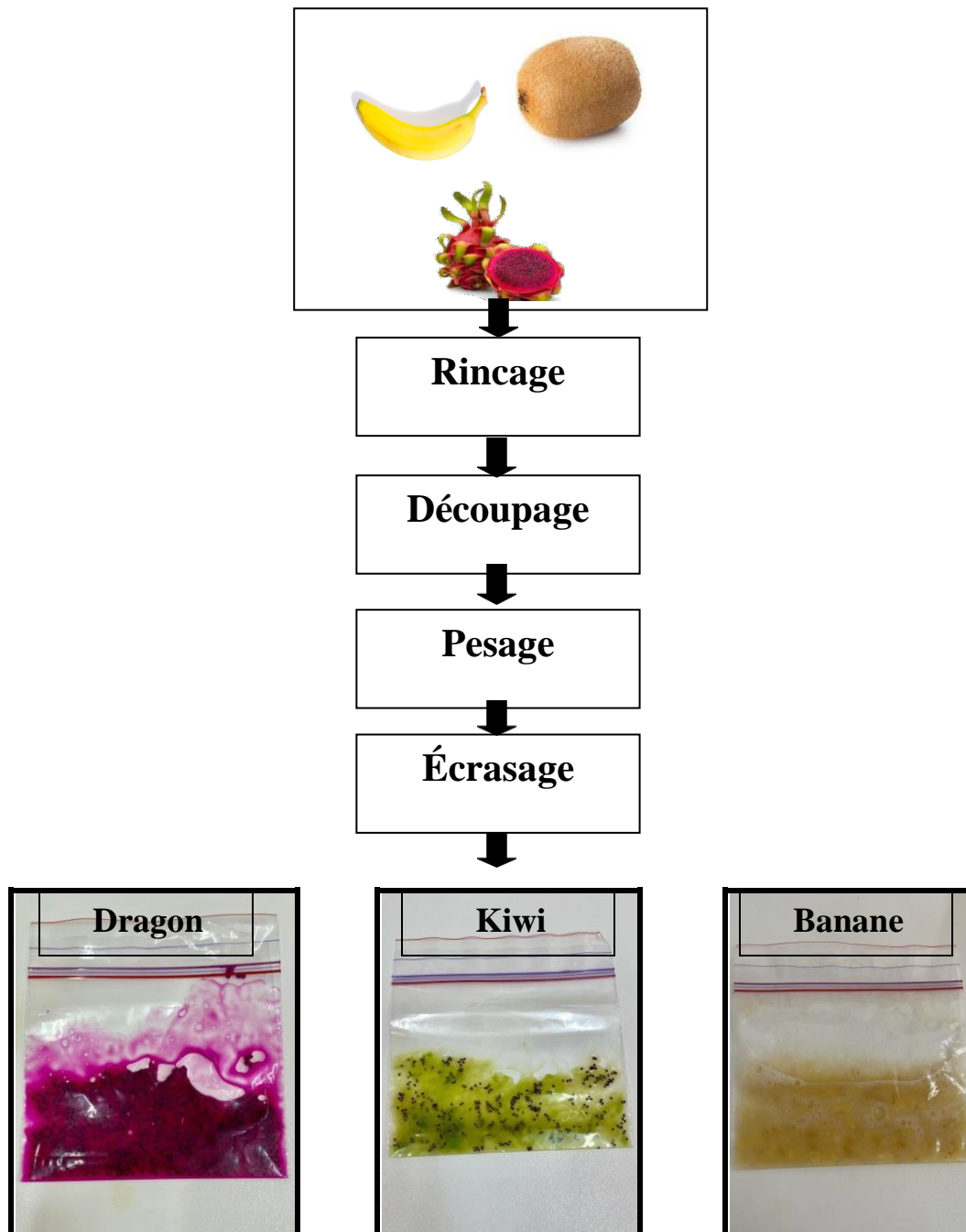
**Figure 10** : Fruits achetées : **A)** Dragon ; **B)** kiwi ; **C)** Banane. (**Prise personnelle**).

## 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 11 : Préparation de la solution mère (Prise personnelle).**

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

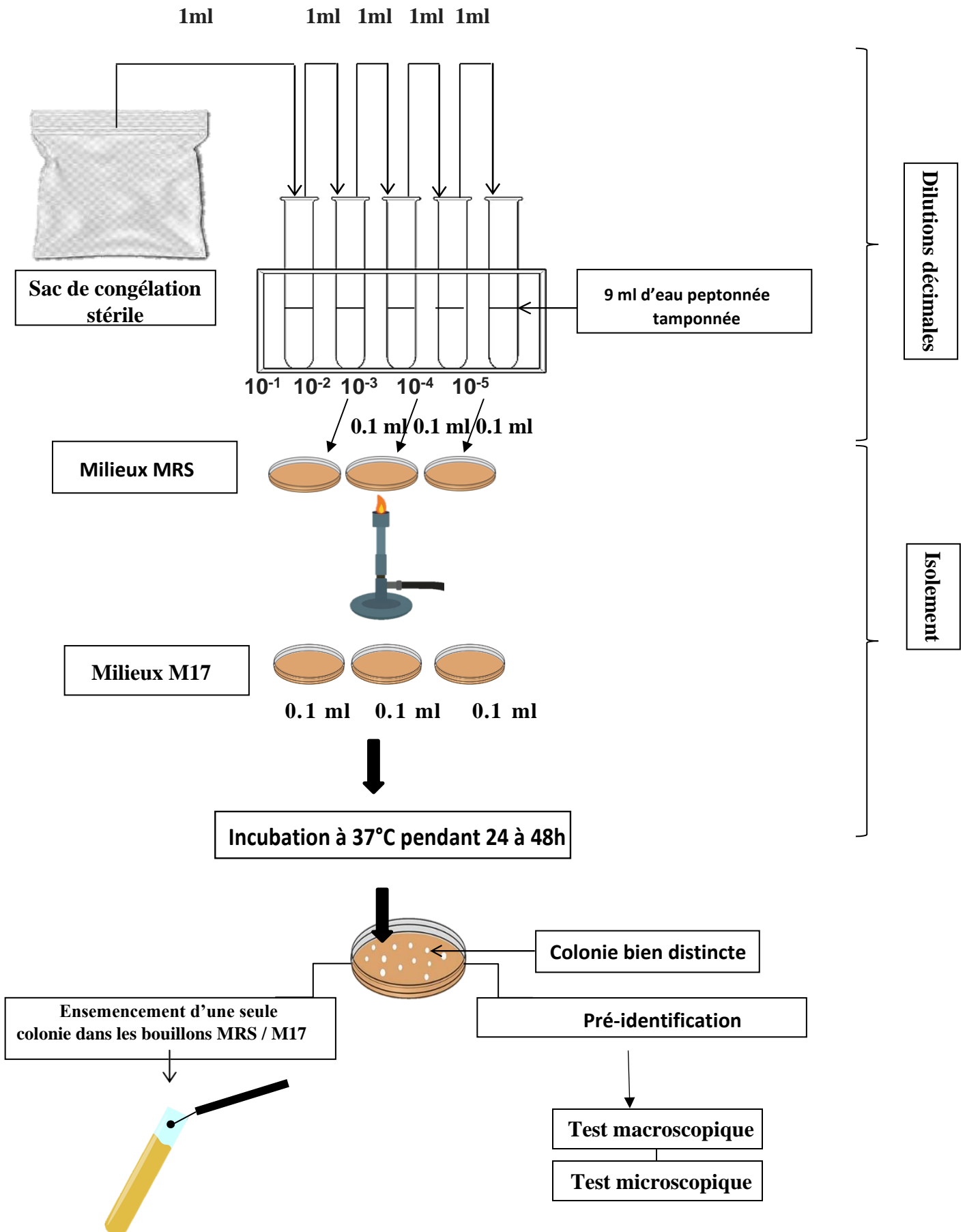
L'isolement a été fait sur les milieux gélosés MRS et M17 coulés et solidifiés dans des boîtes de Pétri inoculées à partir des trois dernières dilutions ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ ) ; en déposant 0,1 ml de ces dilutions à la surface des milieux suivi d'un étalement, puis l'incubation à 37°C 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 12).

### **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 12).

### **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 étéensemencé 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 12).



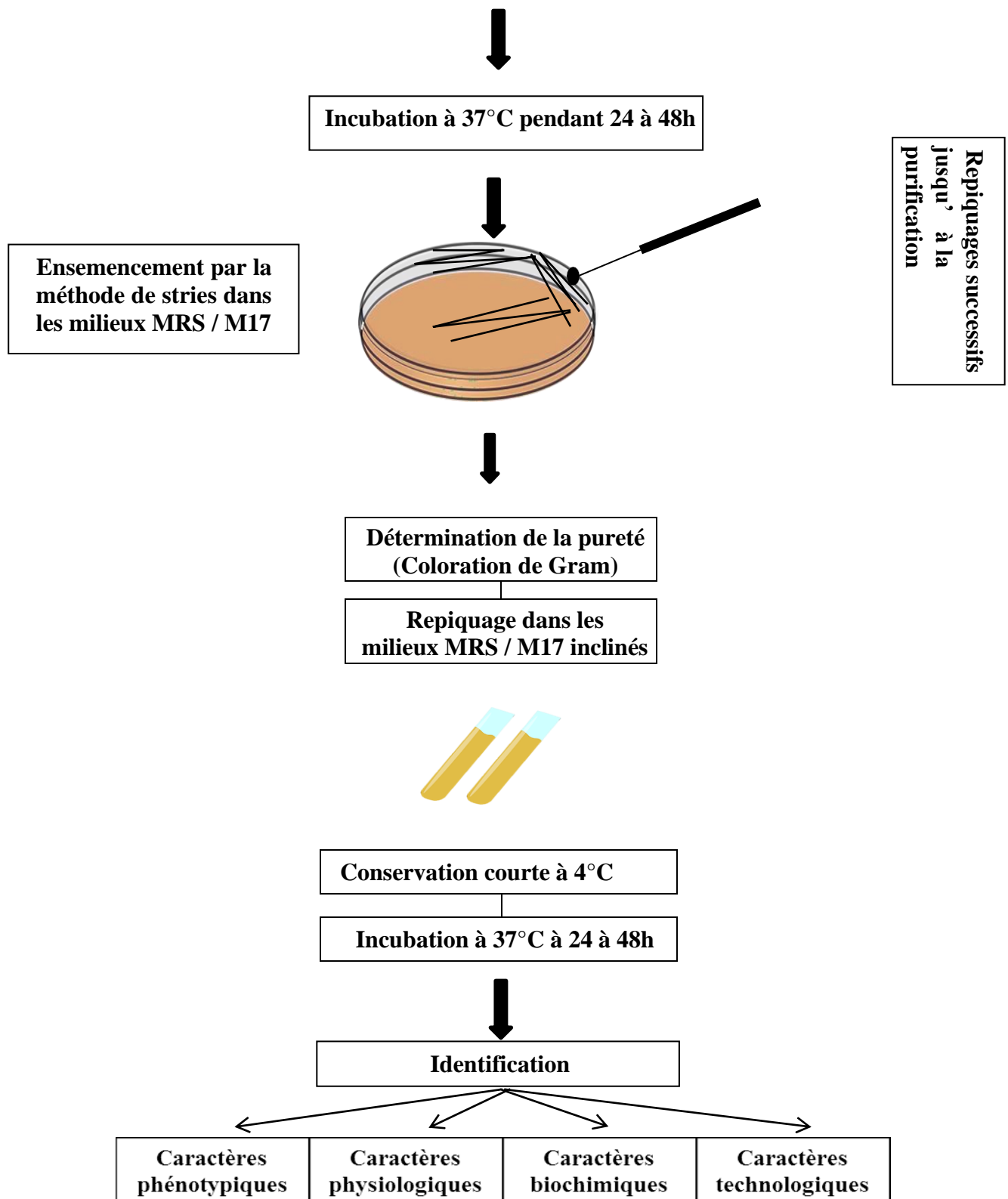


Figure 12 : Protocole d'isolement et identification des bactéries lactiques.

## 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 13).

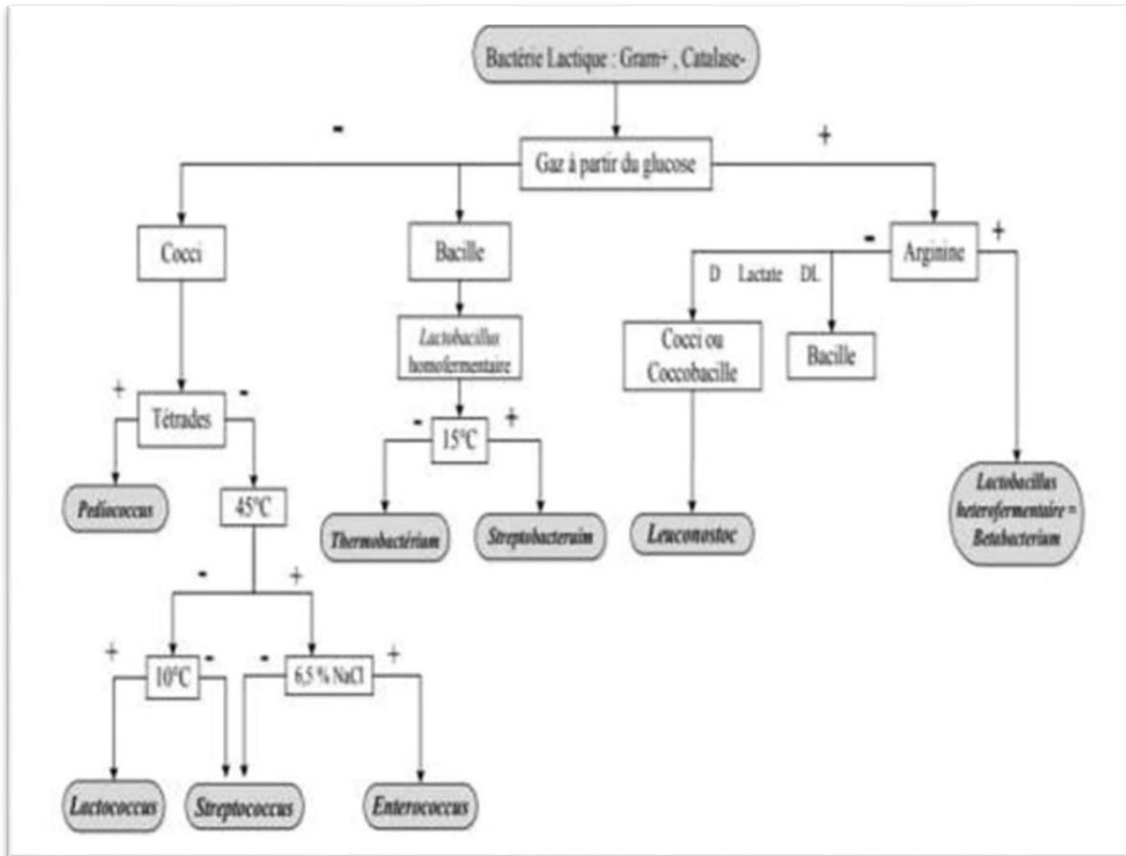


Figure 13 : Clé d'identification bactérienne par quelques tests (Carr *et al.*, 2002).

### 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 :**

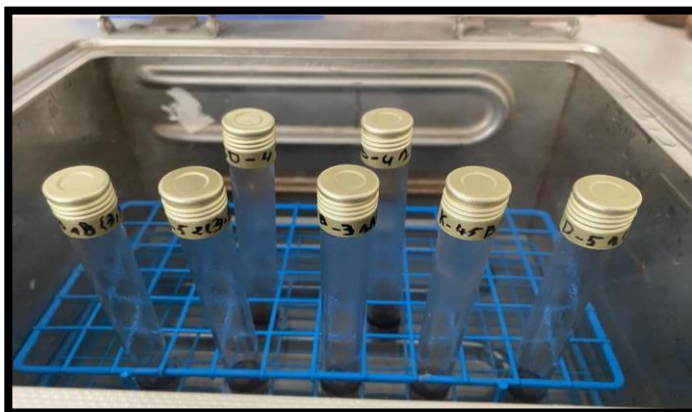
### **2.2.2.1. Croissance à différentes températures et la thermo-résistance :**

#### **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 14).



**Figure 14 :** Test de thermo-résistance 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**).

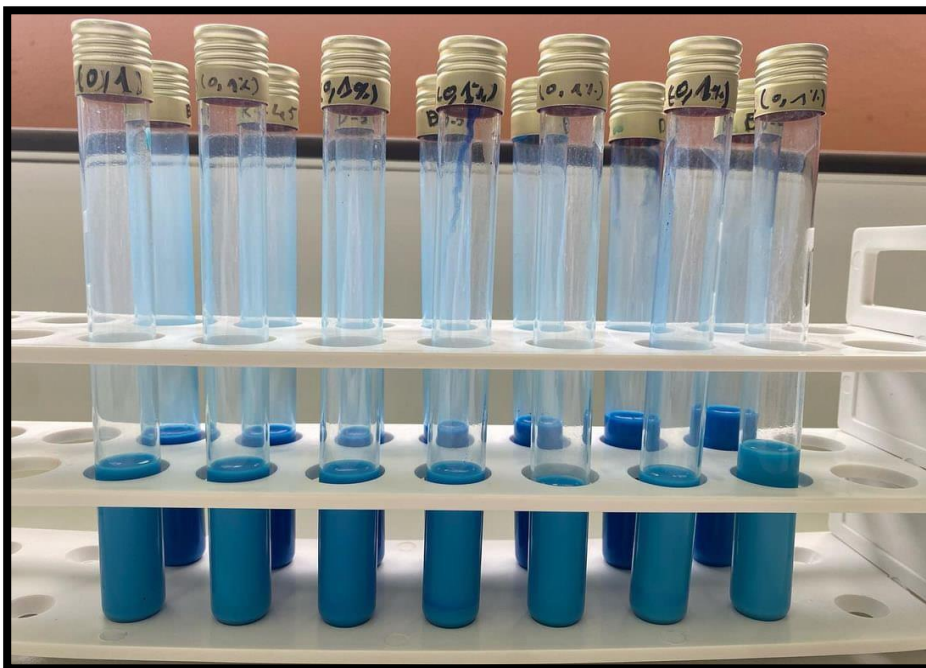
### **2.2.3.2. Test oxydase :**

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 (**Benreguiég, 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* (**Bekhouché, 2006**). (Figure 15).



**Figure 15 :** 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 pique 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 16).



**Figure 16 : 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**).

##### **2.2.4.2 Pouvoir aromatisant :**

La production d'acétoïne (acétylméthylcarbinol) est testée sur milieu Clark et Lubs. Les souches sont cultivées sur ce milieu ; Après 24 h d'incubation, on test par la réaction de Voges-Proskauer dite réaction de V.P (**Avril *et al.*, 1992**). Dans un tube à hémolyse, 2ml de cette culture sont transvasés, 0.5ml d'une solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillée (VP1) et 0.5 ml de réactif a-naphtol à 6% dans l'alcool absolu (VP2). On agite soigneusement les tubes et on laisse au repos 5 à 10 min à température ambiante. La production d'acétoïne 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 17**).



Figure 17 : Test de Clark et Lubs (Prise personnelle).

## 2.2.5. Étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques :

### 2.2.5.1. Souche utilisées :

**Souches pathogènes :** nous avons choisi deux Bactéries pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ces bactéries sont des souches de références de la collection du laboratoire d'analyses médicales de clinique ABU AL QASSiM de Skikda. (Figure 18).

ATCC: American Type Culture Collection.

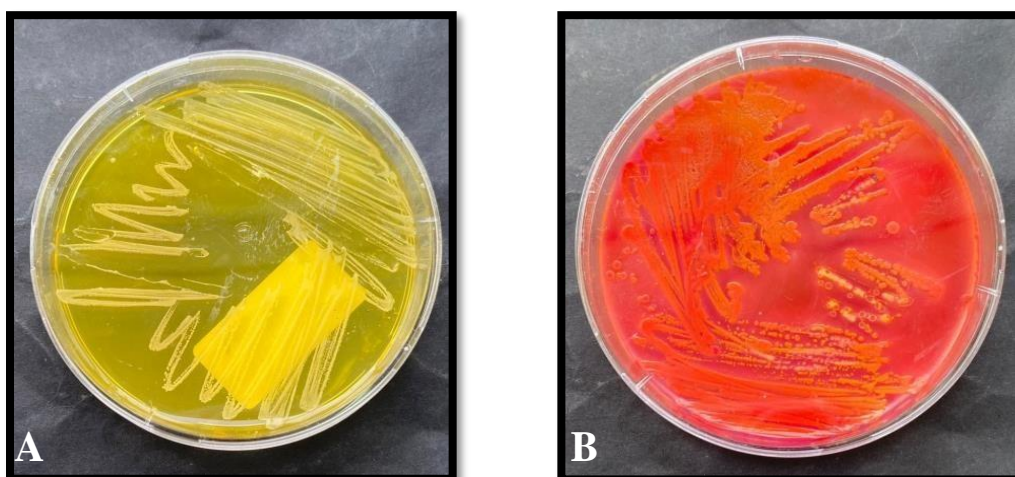


Figure 18 : Souches utilisées : A) *S. aureus* B) *E. coli*. (Prise personnelle).

Les bactéries lactiques isolées sont testées pour leur pouvoir antibactérien suivant la méthode des spots, Elle consiste à déposer les bactéries lactiques, à la surface des boîtes de pétri préalablement inoculées par les souches cibles. Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'inhibition se manifeste par la présence de zones claires autour d'un trouble formé par la croissance des souches cibles.

Le diamètre de la zone d'inhibition est calculé à partir des bordures de la zone comprenant le diamètre du disque (6mm). L'inhibition est considérée positive lorsque le diamètre de la zone est supérieur à 1mm selon **Schillinger et Lucke, 1989 (Allouche *et al.*, 2010). (Figure 19).**

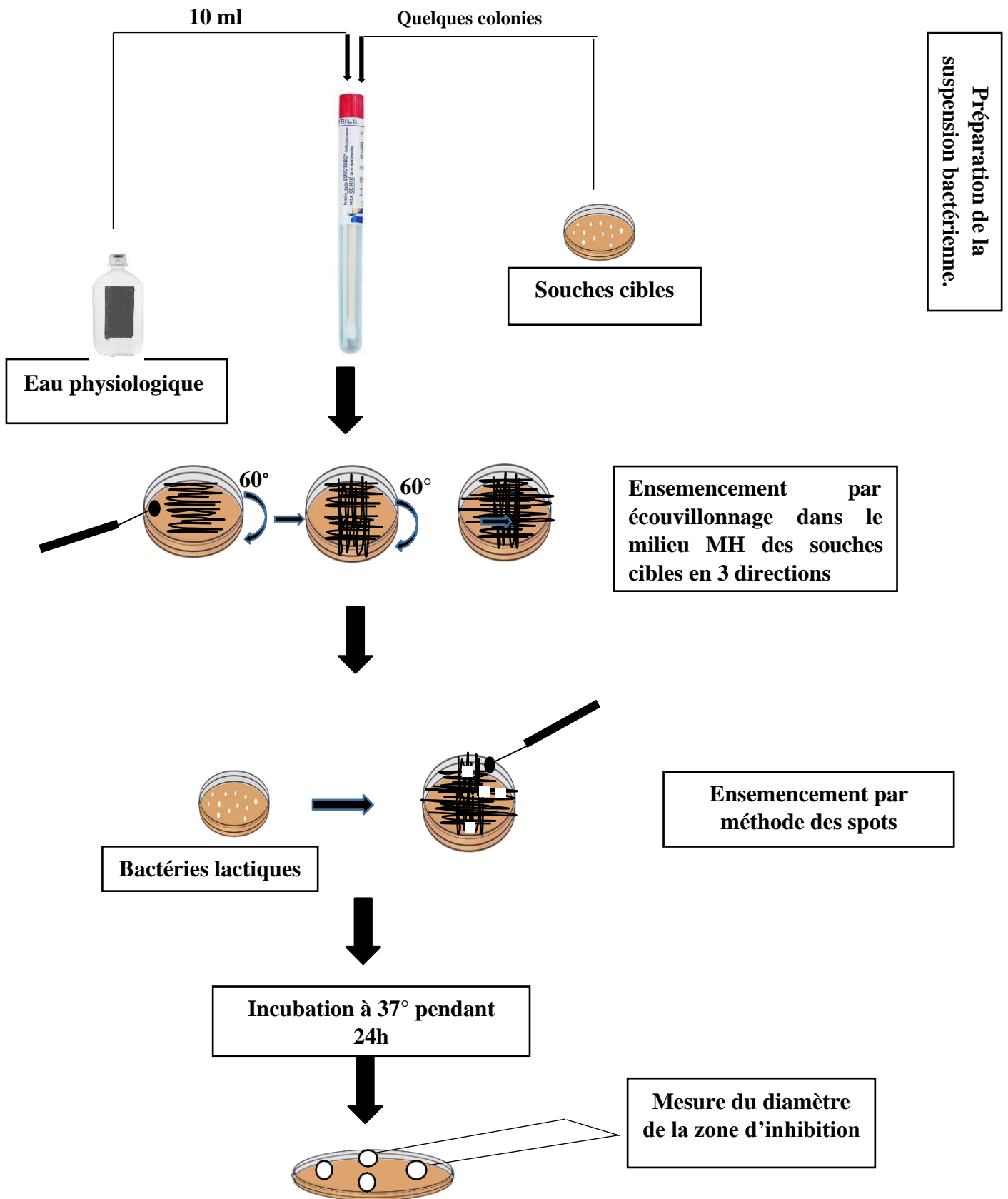


Figure 19 : Protocole de l'activité antibactérienne par la méthode des spots.

# **Chapitre 3**

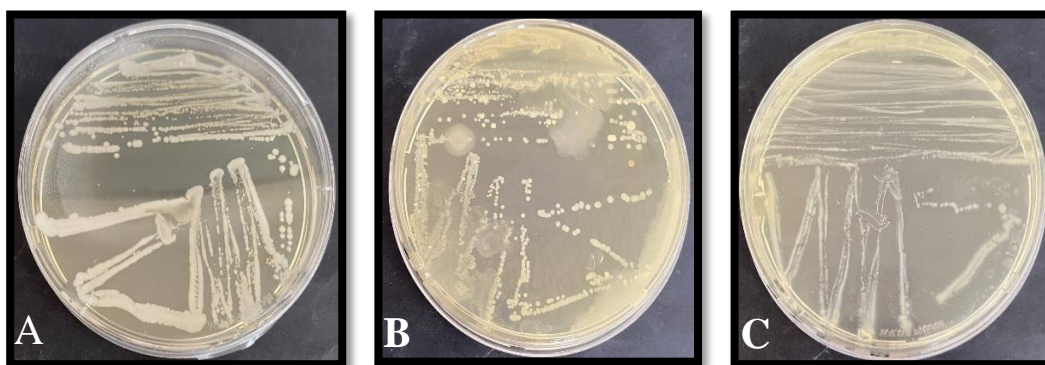
## **Résultats et discussion**

### 1. Isolement des bactéries lactiques :

Les 7 souches de bactéries lactiques (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7) sont obtenues à partir du fruits en utilisant des milieux sélectifs. 06 isolats sont obtenus à partir de cultures sur M17 (S1, S2, S3, S5, S6, S7) (coccis), tandis que 01 obtenu sur milieu MRS (S4) (bacilles).

### 2. Purification des bactéries lactiques :

Après plusieurs repiquages successifs des isolats sur les milieux MRS et M17, nous avons obtenu des colonies pures. (**Figure 24**).



**Figure 20** : Résultats de la purification des isolats sur gélose M17 et MRS à partir de :  
A) Dragon / B) Banane / C) Kiwi. (**Prise personnelle**).

### 3. Conservation des bactéries lactiques :

Une fois les différentes colonies purifiées, nous les avons conservées sur milieu solide MRS et M17 incliné en attendant leur identification. Après une incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes ont été placés à 4°C pour le stockage ultérieur (**Figure 25**).



**Figure 21** : Résultats de la conservation des isolats (**prise personnelle**).

#### 4. Identification des souches lactiques :

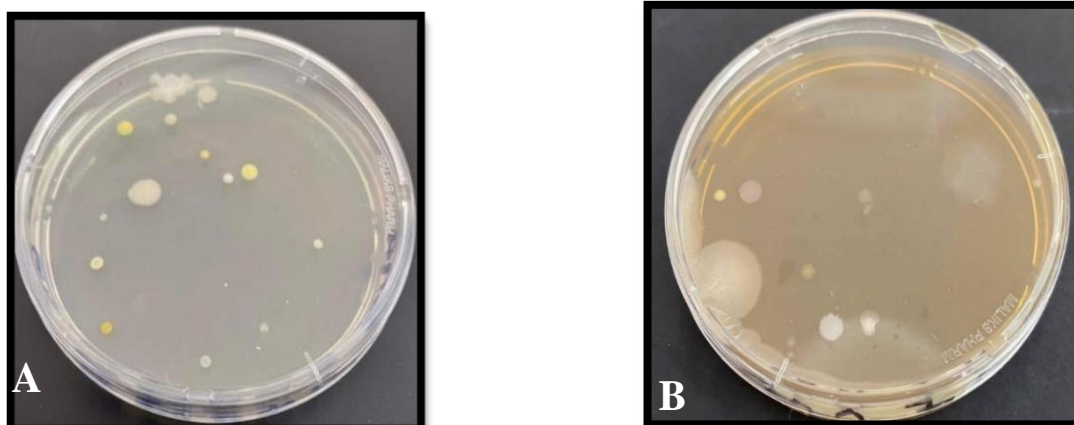
Les 07 isolats ont été caractérisés en examinant leurs caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques.

##### 4.1. Identification phénotypique :

##### 4.1.1. Examen macroscopique :

Les colonies développées sur le milieu M17 présentent une couleur allant du blanc crème au jaune, avec une forme circulaire ou lenticulaire et des contours réguliers ou irréguliers .

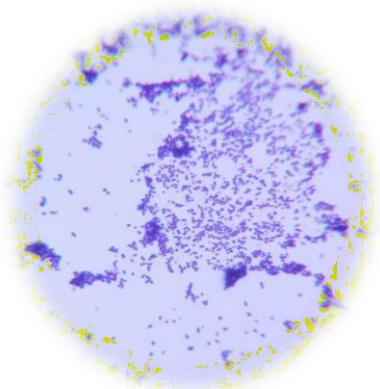
Quant aux colonies cultivées sur gélose MRS, elles se distinguent par leur couleur blanchâtre, leur forme ronde et leurs contours réguliers. (**Figure 20**).



**Figure 22** : Observation macroscopique des colonies obtenues à partir de l'ensemencement des dilutions ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) sur les milieux M17 (A) et MRS (B) (**prise personnelle**).

##### 4.1.2. Examen microscopique :

La coloration de Gram révèle la présence de souches bactériennes immobiles à Gram positif et à Gram négatif, coques et bacilles avec différents modes de regroupements (monocoque, diplocoque, en amas ou en chaînette) (**Figure 23, 24**).



**Figure 23** : Observation microscopique d'une souche isolée à partir de fruit du dragon après coloration de gram (**x100**).



**Figure 24** : Observation microscopique d'une souche isolée à partir de la banane après coloration de gram (**x100**).



## 4.2 Identification physiologique :

### 4.2. A / Croissance à différentes températures :

La croissance est détectée par l'apparition de turbidité dans les tubes contenant le bouillon

MRS et M17. Les souches testées ont manifesté une croissance à diverses températures :

30°C, 37°C et 4°C. Aucune croissance n'a été observée pour les différentes souches à 4°C.

(Tableau 2) (Figure 25, 26).

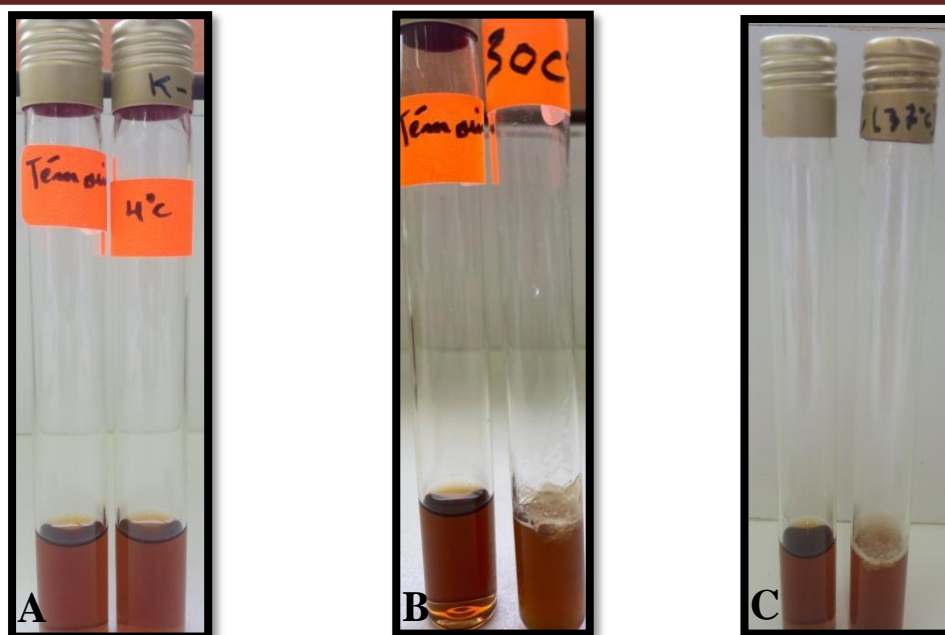
**Tableau 2** : Résultats du test de croissance à différentes températures.

Fruits	Souches Testées	Croissance à différentes températures		
		4°C	30°C	37°C
Dragon	S1	-	+	+
	S2	-	+	+
	S3	-	+	+
Banane	S4	-	+	+
	S5	-	+	+
	S6	-	-	+
Kiwi	S7	-	+	+



**Figure 25** : Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries

Testées A) T= 4°C ; B) T= 30°C ; C) T= 37°C. (Prise personnelle).



**Figure 26 :** Résultats comparatif avec témoin du test de croissance des bactéries testées à différentes températures : A) T= 4°C ; B) T= 30°C ; C) T= 37°. (Prise personnelle).

#### 4.2. B / Thermorésistance des bactéries :

La capacité de résistance à une température de 60°C est confirmée par l'apparition de turbidité dans le milieu liquide MRS et M17. Toutes les souches examinées ont démontré leur résistance à cette température pendant 30 minutes (**Tableau 3**) (**Figure 27**).

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

Fruits	Souches testées	Thermorésistance
Dragon	S1	+
	S2	+
	S3	+
Banane	S4	-
	S5	+
	S6	+
kiwi	S7	+



**Figure 27 :** Résultats du test de thermo-résistance des bactéries testées.

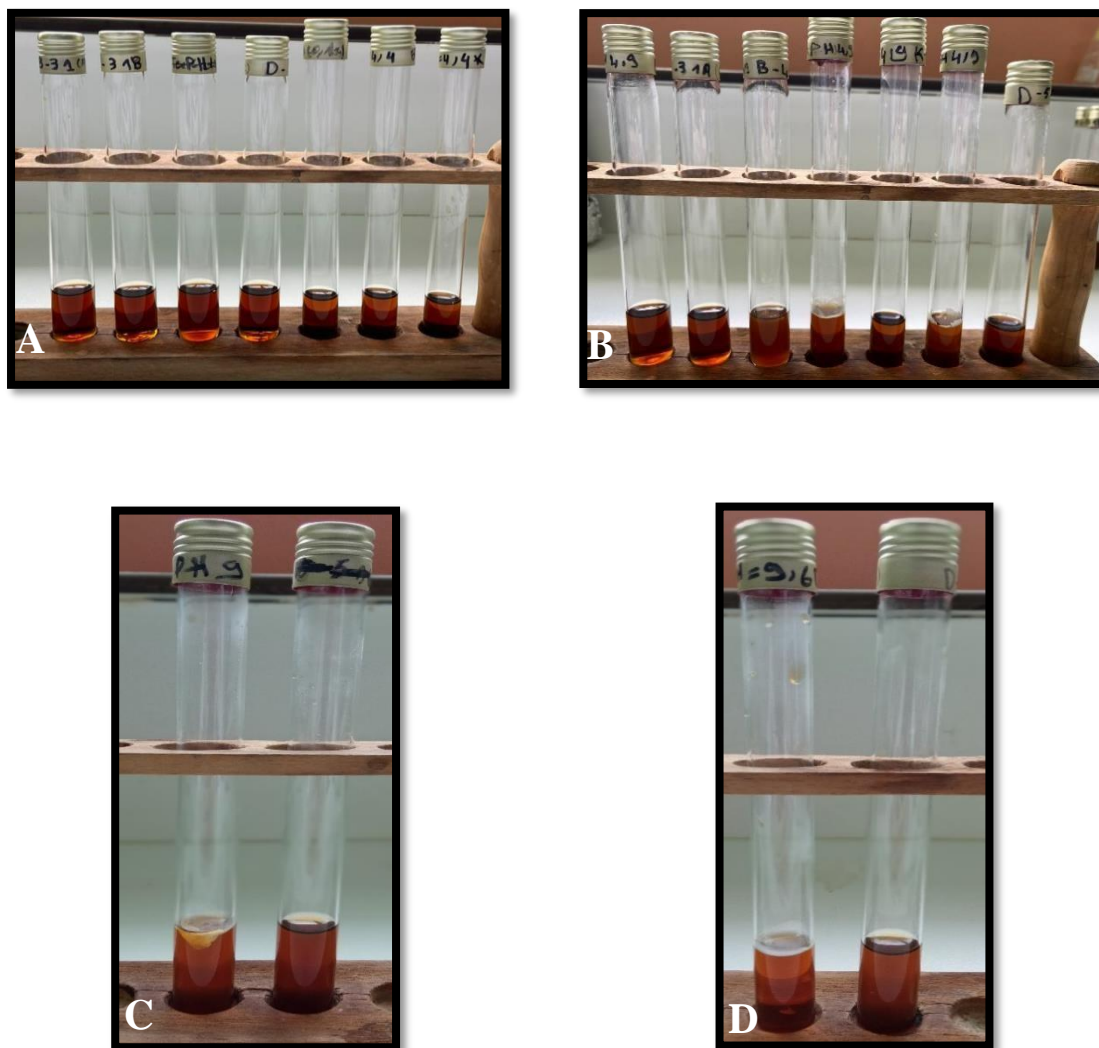
(Prise personnelle).

#### 4.2. 2 / Croissance à différent pH : 4.4 ; 4.9 ; 9 ; 9.6 :

La plupart des souches montrent une croissance optimale à un pH de 9,6, tandis que la croissance est inhibée à un pH de 4,9. Pour les deux autres valeurs de pH testées, soit 4,4 et 9, les résultats varient en fonction des souches bactériennes testées (**Tableau 4**) (**Figure 28**).

**Tableau 4 :** Résultats du test de croissance à différents pH.

Fruits	Souches testées	Croissance à différent pH			
		pH=4,4	pH=4,9	pH=9	pH=9,6
Dragon	S1	-	-	-	+
	S2	-	-	-	+
	S3	+	+	+	+
Banane	S4	+	-	-	-
	S5	-	-	-	+
	S6	+	+	+	+
kiwi	S7	-	-	+	+



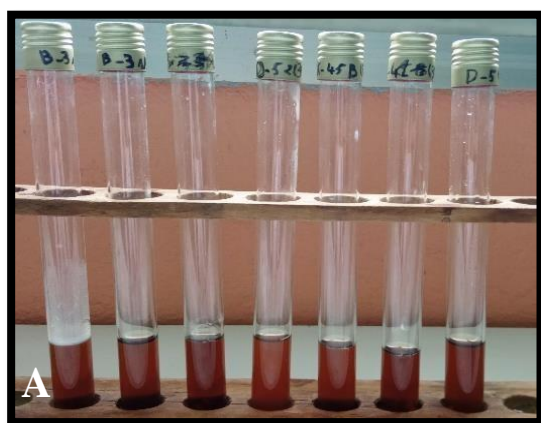
**Figure 28 :** Résultats du test de croissance à différents pH : **A) pH= 4.4 ; B) pH= 4.9 ; C) pH= 9 ; D) pH= 9.6. (Prise personnelle).**

#### **4.2.3 / Croissance en milieu hyper salé NaCl :**

Toutes les souches ont donné un résultat positif lorsqu'elles ont été testées dans des milieux hypersalés contenant respectivement 3,5 % et 6,5 % de NaCl (**Tableau5**) (**Figure 29**).

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

Fruits	Souches testées	Croissance à différent NaCl	
		3,5%	6,5%
Dragon	S1	+	+
	S2	+	+
	S3	+	+
Banane	S4	-	+
	S5	+	+
	S6	+	+
kiwi	S7	+	+



**Figure 29** : Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl :

A) 3.5 % ; B) 6.5 %. (Prise personnelle).

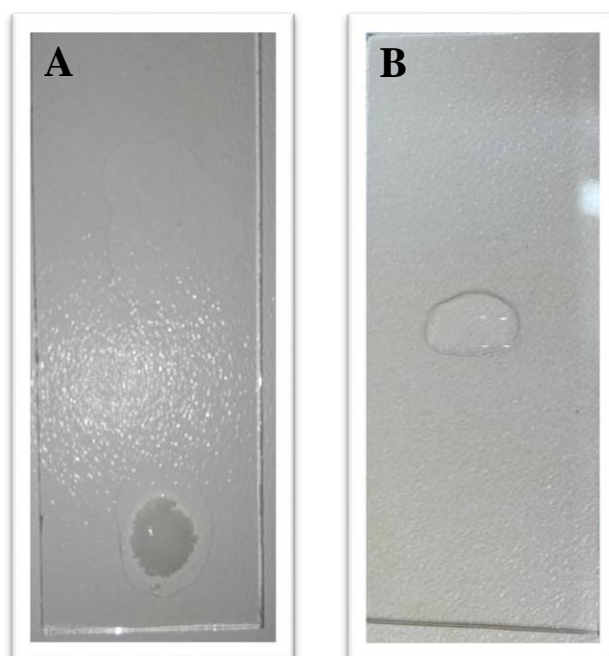
### 4.3 Identification biochimique :

#### 4.3.1 / Résultats du test catalase :

Selon ce test, la plupart des souches purifiées montrent une réaction négative à la catalase, car aucun dégagement gazeux n'a été observé après le traitement des colonies avec de l'eau oxygénée (Tableau 6) (Figure 30).

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

<b>Fruits</b>	<b>Souches testées</b>	<b>Test catalase</b>
<b>Dragon</b>	<b>S1</b>	-
	<b>S2</b>	-
	<b>S3</b>	-
<b>Banane</b>	<b>S4</b>	-
	<b>S5</b>	-
	<b>S6</b>	-
<b>Kiwi</b>	<b>S7</b>	-



**Figure 30 : Résultats du test catalase positif de S1 (A) et négatif de S3 (B).**

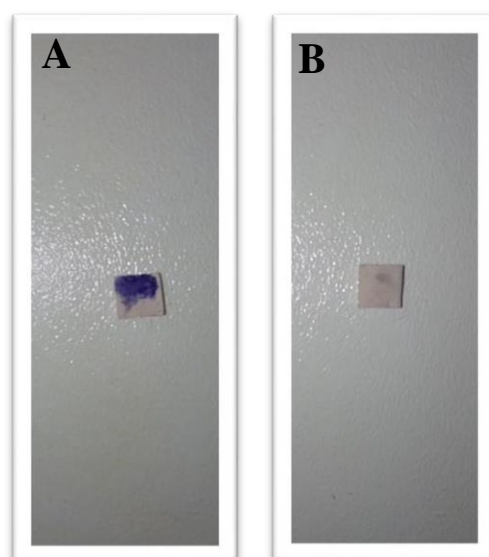
**(Prise personnelle).**

#### **4 .3.2 / Résultats du test oxydase :**

D'après ce test, toutes les souches purifiées affichent une réaction négative à l'oxydase, car aucun changement de couleur du disque en violet foncé n'a été observé dans les 30 premières secondes (**Tableau 7**) (**Figure 31**).

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

<b>Fruits</b>	<b>Souches testées</b>	<b>Test oxydase</b>
<b>Dragon</b>	<b>S1</b>	-
	<b>S2</b>	-
	<b>S3</b>	+
<b>Banane</b>	<b>S4</b>	-
	<b>S5</b>	-
	<b>S6</b>	+
<b>kiwi</b>	<b>S7</b>	-



**Figure 31 : Résultats du test oxydase positif du S3 (A) et négatif du S1(B).**

**(Prise personnelle).**

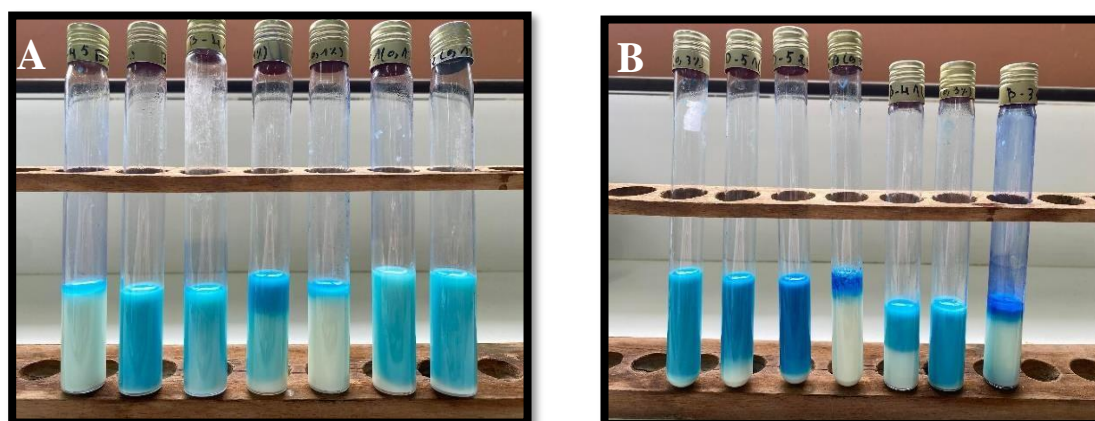
#### **4.3.3 / Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman :**

La majorité des souches ont montré une croissance positive sur le lait bleu de Sherman, même aux concentrations de bleu de méthylène de 1 % et 3 %. Ce test a démontré l'aptitude des bactéries à se développer en utilisant l'oxygène du bleu de méthylène, entraînant la

décoloration de ce dernier. La formation d'un caillé blanc peut être attribuée à l'augmentation de la charge bactérienne (**Tableau 8**) (**Figure 32**).

**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%
Dragon	S1	+	+
	S2	+	-
	S3	+	+
Banane	S4	+	+
	S5	+	+
	S6	+	+
kiwi	S7	+	+



**Figure 32** : 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).

#### 4.3.4 / Résultats du test Mannitol – Mobilité :

Aucune des souches testées n'a révélé de mobilité, tandis que la plupart ont démontré la capacité à fermenter le mannitol. (**Tableau 9**) (**Figure 33**).

**Tableau 9** : Résultats du test Mannitol- Mobilité.



Fruits	Souches testées	Mannitol- Mobilité	
		Mannitol	Mobilité
Dragon	S1	+	-
	S2	+	-
	S3	+	-
Banane	S4	-	-
	S5	+	-
	S6	+	-
kiwi	S7	+	-



Figure 33 : Résultats du test Mannitol- Mobilité. (Prise personnelle).

#### 4.4. Identification technologique :

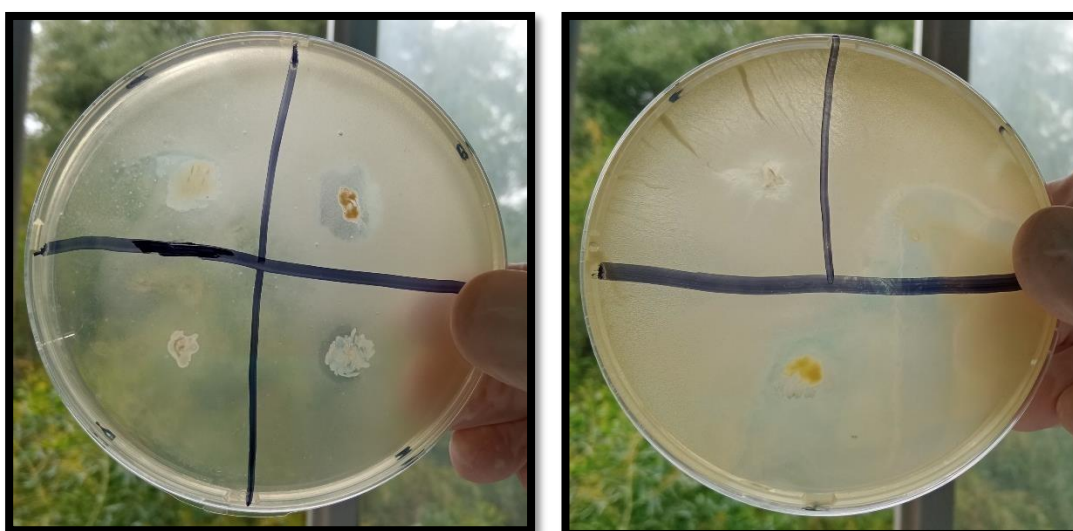
##### 4.4.1 / Pouvoir protéolytique :

Toutes les souches testées ont montré une activité protéolytique, se manifestant par la formation d'un halo clair autour des colonies ensemencées, résultant de la dégradation de la caséine. La mesure de diamètre de cette zone claire permet de quantifier l'activité protéolytique de chaque souche .(Tableau 10) (Figure 34).

**Tableau 10** : Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur les milieux M17 et MRS

additionné de lait écrémé à 10%.

Fruits	Souches Testées	Activité protéolytique	Diamètres
Dragon	S1	-	
	S2	+	13 mm
	S3	+	15 mm
Banane	S4	+	12 mm
	S5	+	13 mm
	S6	+	08 mm
Kiwi	S7	+	15 mm



**Figure 34** : Résultats de l'activité protéolytique des souches testées.

(Prise personnelle).

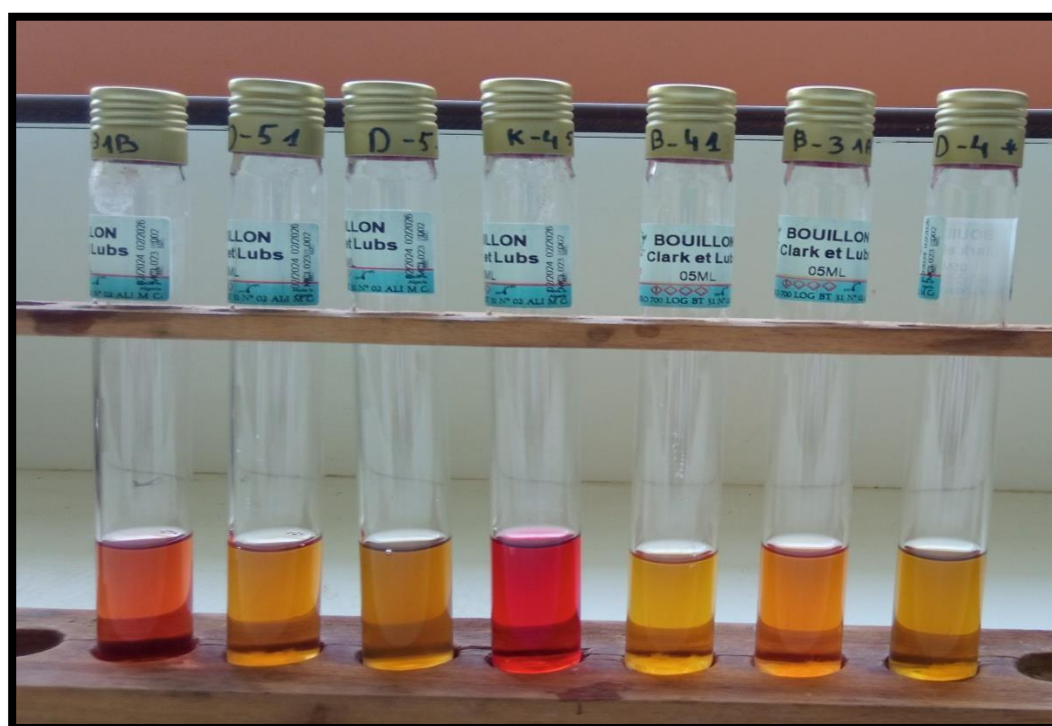
#### 4.4.2 / Pouvoir aromatisant :

Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 11**. D'après les résultats nous remarquons que 03 souches sont capables de produire l'acétoïne ou un anneau rouge clair a apparu dans le milieu Clark et Lubs, Cela indique leurs capacités à produire des substances aromatisantes (l'acétoïne).

Les autres souches sont incapables de produire l'acétoïne ce qui est traduit par l'absence de formation de l'anneau rouge dans le milieu. (Tableau 11) (Figure 35).

**Tableau 11** : Résultats du test Clark et Lubs des souches testées.

Fruits	Souches testées	Pouvoir aromatisant
		Clark et Lubs
Dragon	S1	+
	S2	-
	S3	-
Banane	S4	-
	S5	+
	S6	-
Kiwi	S7	+



**Figure 35** : Résultats du test Clark et Lubs après l'addition de VP (Prise personnelle).

### 5. Résultats de l'activité antibactérienne :

L'évaluation du pouvoir antibactérien des isolats lactiques a été étudié vis-à-vis de deux

souches cliniques, à savoir *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'inhibition se traduit par la formation de zones claires autour des souches ensemencées par spot. Les diamètres des zones d'inhibitions ( $Z_i$ ) sont représentés dans le **tableau 12** et les **figures 36/38**.

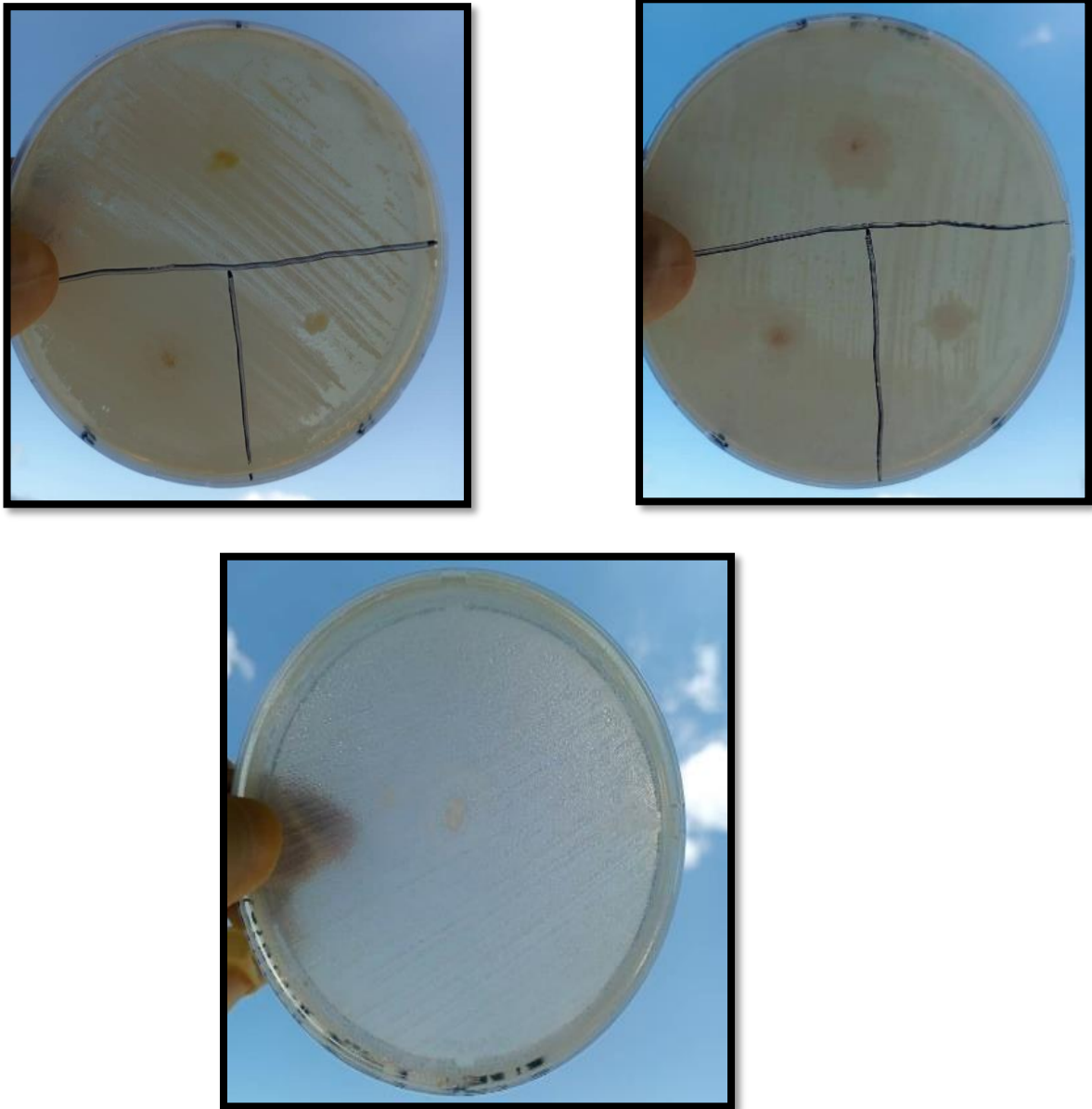
L'activité antibactérienne la plus forte est notée chez S5 vis-à-vis *S. aureus* par 16mm de diamètre.

**Tableau 12** : Résultats de l'activité antibactérienne.

Fruits	Souches testées	Activité antibactériennes			
		<i>S. aureus</i>	Diamètre	<i>E. coli</i>	Diamètre
Dragon	S1	-		+	05 mm
	S2	+	15 mm	+	09 mm
	S3	+	10 mm	+	10 mm
Banane	S4	+		+	03 mm
	S5	-	16 mm	+	04 mm
	S6	+	12 mm	+	02 mm
kiwi	S7	-	12 mm	-	



**Figure 37** : Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *S.aureus* (Prise personnelle).



**Figure 38** : Résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques vis-à-vis *E. coli*.  
(Prise personnel)

## 6. Identification des bactéries isolées :

Le tableau ci-dessous récapitule l'ensemble des tests réalisés pour identifier les souches isolées.

**Tableau 13 :** Caractères physiologiques, biochimiques, technologiques et l'activité antibactérienne des bactéries isolées à partir des fruits.

Fruits	Souches testées	Caractères																							
		Températures			Thermorésistance	pH				NaCl		Test catalase	Test oxydase	Lait bleu de Sherman		Mannitol-Mobilité		Activité protéolytique		Pouvoir Aromatisant		Activité antibactérienne			
		4° C	30° C	37° C		4.4	4.9	9	9.6	3%	6.5%			1%	3%	Mannitol	Mobilité	Activité protéolytique	D (mm)	Clark et Lubs	VP	<i>S. aureus</i>	D (mm)	<i>E. coli</i>	D (mm)
Dragon	S1	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	/	+	+	-	/	+	05 mm
	S2	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	13 mm	+	-	+	15 mm	+	09 mm
	S3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	15 mm	+	-	+	10 mm	+	10 mm
Banane	S4	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	12 mm	-	-	+	/	+	03 mm
	S5	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	13 mm	+	+	-	16 mm	+	04 mm
	S6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	08 mm	+	-	+	12 mm	+	02 mm
Kiwi	S7	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	15 mm	-	+	-	/	-	/

Depuis le début de nos travaux, 36 souches bactériennes ont été obtenues, 34 à partir du milieu M17 et 2 à partir du milieu MRS.

Notre étude a été axée sur 7 souches de bactéries lactiques qui répondaient aux exigences (gram +), 6 provenant du milieu M17 et 1 du milieu MRS.

En examinant les caractéristiques culturelles, biochimiques et physiologiques des 7 souches sélectionnées, nous avons pu déterminer 2 genres distincts : *Lactococcus*, *Lactobacillus*.

- Les souches S1, S2, S5, et S7 isolées à partir du dragon, banane et kiwi par ordre, présentent des caractéristiques identiques. Capable de croître à 30° et 37°, capable de fermenter le mannitol et de produire l'acétoïne. Elles appartiennent au genre *Lactococcus lactis subsp cremoris*. (Guessas *et al.*, 2012 ; Idoui *et al.*, 2009).
- La souche S4 de la banane présente des caractéristiques diverses : il peut croître à T=30 °C ainsi qu'à T=37 °C et non pas à T=60°C pendant 30 min, donc il est mésophile, ainsi qu'à pH acide (4.4), ne fermente pas le mannitol (Mannitol-) et ne produit pas d'acétoïne (VP -). Ces caractéristiques correspondent au genre *Lactobacillus acidophilus*. (Bergey *D et al.*, 2009).

# **Conclusion**



Les fruits sont des aliments qui offrent divers avantages à l'homme. Ils contribuent à maintenir l'équilibre de la santé grâce à leurs propriétés variées telles que les vitamines, les minéraux, les sucres ainsi que les antioxydants. Ils peuvent être consommés comme repas complet par les personnes au régime, favorisant ainsi l'atteinte d'un poids optimal. Les médecins recommandent également aux personnes atteintes de diabète d'en consommer pour stabiliser leur taux de sucre sanguin. De plus, les fruits peuvent être une importante source de bactéries lactiques bénéfiques qui jouent un rôle dans leur fermentation lactique.

L'objectif principal de cette étude consiste à isoler et identifier les bactéries lactiques à partir de 3 différents fruits exotiques cultivés en Algérie. Ils s'agissent de : le fruit du dragon, le kiwi et la banane, collecté à partir de trois wilayas distinctes, ainsi qu'à évaluer leur activité antagoniste vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes.

L'isolement des souches lactiques a été fait en utilisant les milieux MRS et M17. Ceci nous a permis d'obtenir sept isolats distincts appartenant aux genres *Lactococcus lactis subsp cremoris* et *Lactobacillus acidophilus*. Ces souches ont montré des caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques variées, reflétant leur adaptation aux conditions spécifiques dans différents fruits.

Le test d'activité antibactérienne des souches lactiques isolées a révélé que certaines souches possèdent un pouvoir inhibiteur significatif contre des pathogènes tels que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Cette propriété antagoniste est cruciale pour envisager l'utilisation de ces souches comme agents de biocontrôle dans les produits alimentaires, contribuant ainsi à la sécurité et à la prolongation de la durée de conservation des aliments.

En somme, ces observations offrent des opportunités à venir pour :

- Vérifier l'identité réelle et précise de nos isolats lactiques à l'aide d'autres tests biochimiques et de techniques génomiques et moléculaires.
- Mettre en place des recherches approfondies pour identifier les agents inhibiteurs produits par nos bactéries lactiques.
- Applications technologiques des bactéries lactiques isolées.

# **Références bibliographiques**

- **Ait, A. (2020b, December 15).** Agriculture : la banane Made In Jijel à la conquête du marché national. *Algerie360*. <https://www.algerie360.com/20201215-agriculture-la-banane-made-in-jijel-a-la-conquete-du-marche-national/>.
- **Alegría, Á., Delgado, S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2013).** Identification, typing, and functional characterization of *Leuconostoc* spp. strains from traditional, starter-free cheeses. *Dairy Science & Technology*, 93(6): 657-673.
- **Ariffin, A.; Bakar, J.; Tan, C.; et al . 2009.** Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food chemistry* 114: 561-564.
- **Axelsson L. (2004).** Classification and physiology. In: *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (Salminen S, Wright AV et Ouwehand A). 3e Ed : Marcel Dekker, Inc. NewYork. 1-66.
- **Axelsson, L. (2004).** Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food science and technology*. New York. Marcel dekker, 139, 1-66.
- **Barthlott, W. and Hunt, D.R. 1993.** Cactaceae. In: Kubitzki, K., Rohwer, J.G. and Bittrich, V. (eds.). *The families and genera of vascular plants. Vol 2.* Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 161-197.
- **Bautista-Gallego J, Medina E, Sánchez B, Benítez-Cabello A, Arroyo-López FN. (2020).** Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables. *Grasasaceites*, 71(2): 358.
- **Belyagoubi L., 2014.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de doctorat en biologie.université aboubakrbelkaid-tlemcen. 170p..
- **Britton, N.L. and Rose, J.N. 1963.** *The Cactaceae: Descriptions and illustrations of plants of the Cactus family.* Vol. I, Dover publications, New York, USA. pp. 183-212.
- **Buckenhüskes H.J.** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol Rev* (1993) ; 12 :253-72. Doi :10.1111/j.1574-6976.1993.tb00022x.
- **Carr, FJ, Hill, D & Maida, N, 2002,** ‘The lactic acid bacteria: A literature survey’, *Critical Reviews Microbiology*, vol.28, pp.281-370.

- **Collins Md, Samelis J, Metaxopoulos J et Wallbanks S. (1993).** Taxonomic studies of some Leuconostoc-like organisms from fermented sausages, description of a new genus Weissella for the Leuconostoc paramesenteroides group of species .J. Appl. Bacteriolvol. 75, 595-603.
- **De-la-Peña C, Nic-Can GI, Galaz-Ávalos RM, AvilezMontalvo R, Loyola-Vargas VM.** The role of chromatin modifications in somatic embryogenesis in plants. *Frontiers in Plant Science*. 2015 Aug 18;6:635.
- **Desmazeaud, M.** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. (1983) *Le lait*, 63(629-630), 267-316.
- **Di Cagno R, Coda R, De Angelis M, Gobbetti M.** Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbial* (2013) ; 33 ;1-10 doi :10.1016/j.fm.2012.09.003.
- **Dortu, C, and P Thonart.** Les bactériocines des bactéries lactiques caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires (2009) *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 13:143-154.
- **Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Munoz R,** 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 (2005) ;85 :297-304. Doi :10.1002/jsfa.1924.
- **El-Ghaish, S, Dalgalarrrondo, M, Choiset, Y, Sitohy, M, Ivanova, I, Haertle, T & Chobert, JM 2010,** 'Characterization of a new isolate of *Lactobacillus fermentum* IFO 3956 from Egyptian Rass cheese with proteolytic activity' *European Food Research and Technology*, vol.230, pp.635-643.
- **EnnadirJ ., Hassikou R., Al Askari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah L., amine S. A., Khedid k., (2014).** Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria).
- **Ferguson AR.** Kiwifruit : evolution of a crop. *Acta Horticulturae*. 2011 ;913 :31-42.
- **Hassaine O, (2013).** Caractéristique d'intérêts technologique des souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. (En ligne).Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. oran –Algérie:université d'Esenia ,p 104. Disponible sur : <http://ebiblio.univmosta.dz/bitstream/handle/123456789/2790/M%C3%A9moire%20finale.pdf?sequence=1&isAllowed=y> .
- **Ho TNT, N Tuan N, Deschamps A et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.

- Int. J. Food Microbiol., 96(2), 149-164.
- **Joshi, M., & Prabhakar, B. (2020).** Phytoconstituents and pharmaco-therapeutic benefits of pitaya : Awonder fruit. Journal of Food Biochemistry, 44(7). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13260>
- **Kuroki, N.,** « Why is Banana Skin Slippery », Suiseisya, Tokyo, 2010, 28-32 (in Japanese).
- **Labioui . H , Laaroussi . E , Yachioui . M , ouhssine . M .** Sélection de souche de bactéries lactiques antibactériennes. Bull . Soc . Pharm . Bordeaux , 2005 , 144 , 237- 250.
- **Liebefeld, 2002.** Microbiologie des cultures. Disponible sur le site : [www.db-alp.ddmin.ch/publikationen/docs/pub-Hni JP \\_2002\\_16039-pdf](http://www.db-alp.ddmin.ch/publikationen/docs/pub-Hni JP _2002_16039-pdf).
- **Liu, S Q 2003.** Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fennentationsInt.J.Food MicrobioL83 (2), 115-131.
- **Mahamedi A. E, (2015).** Etude des qualités hygiénique, physico-chimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. (En ligne). Mémoire de magister : Microbiologie fondamentale et appliquée. Oran-Algérie : université d'Esenia, p89. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH4507.pdf>.
- **Montefiori M., McGhie TK, Costa G, Ferguson AR.** Pigments in the fruit of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*).. J Agric Food Chem. 2005 Nov 30 ;52 :293-324.
- **Montet D, Ray R, Zakhia-Rozis N.** Lactic acid fermentation of vegetables and fruits. Ferment...(2014).
- **Morandi, S., Cremonesi, P., Silvetti, T. & Brasca, M. (2013).** Technological characterisation, antibiotic susceptibility and antimicrobial activity of wild-type *Leuconostoc* strains isolated from north Italian traditional cheeses. J Dairy Research, 80: 457-466.
- **Mores, M.P, L.M Perin, M.B.T Ortolani, A.K Yamazi, G.N Vicoso, and LA Nero.** Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic. (2010) Food Sci.Technol 43: 1320-1324.
- **Nawel.D. (2020b, Decembre 22).** Fruit exotiques : mangues, kiwis et pistaches : premières belles poussées en Algerie360. <https://www.algerie360.com/fruits-exotiques-mangues-kiwis-et-pistaches-premieres-belles-poussees-en-algerie/>.
- **Nobel PS, De La Barrera E.** CO<sub>2</sub> uptake by the cultivated hemi epiphytic cactus, *Hylocereus undatus*. Annals of Applied Biology. 2004 Feb;144(1):1-8.

- **Noreen, N, Hooi, WY, Baradaran, A, Rosfarizan, M, Sieo, CC, Rosli, MI, Yusoff, K & Raha, AR 2011**, ‘Lactococcus lactis M4, a potential host for the expression of heterologous proteins’, *Microbial Cell Factories*, vol.10:28.
- **Ortiz-hernández, Y. D. and Carrillo-salazar, J. A. 2012**. Pitahaya (*Hylocereus* spp): a short review. *Communicata Scientiae* 3(October):220–237.
- **Paul Ross R, Morgan S, Hill C**. Preservation and fermentation : Past, Present and future. *International Journal of Food Microbiology* (2002) ; 79 :3-16. Doi :10.10016/S0168-1605(02)00174-5.
- **Perween, T., Mandal, K.K. and Hasan, M.A. 2018**. Dragon fruit: An exotic super future fruit of India. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2): 1022-1026.
- **Piard. J.C, et M Desmazeaud**. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. *Lair* 71 (1991): 525 - 541.
- **Pilet M.F., Magras C., Federigh M., 2005**. Bactéries lactiques. In : *bactériologie alimentaire* (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240
- **Pringsulaka, O, Thangnagam, N, Suwannasai, N, Atthakor, W, Pothivejkul, K & Rangsiruji, K 2012**, ‘Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Their fermented meat and fish products., *Food Control*, vol.23, pp.547-551.
- **Rima.A. (2022b, March 29)**. Fruit du dragon, une première expérience réussie en Algérie. *Algeria360*. <https://www.algerie360.com/fruit-du-dragon-une-premiere-experience-reussie-en-algerie/>
- **Rodgers S.2001**. Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures: a review, *Trends Food Sci. Technol.*, 12, 276-284.
- **Rodgers S.2003**. Potential applications of protective cultures in cook chill catering. *Food Control*, 14(1), 35-49.
- **Romeo, Y., Bouvier, J., & Gutierrez, C. (2001)**. La réponse au stress osmotique des bactéries lactiques *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus plantarum* (2<sup>e</sup> mini-revue). *Le lait*, 81(1-2), 49-55.
- **Schröder, R. ; Atkinson, RG. ; Langenkamper, G. ; Redgwell, R.J. 1998** : Biochemical and molecular characterisation of xyloglucan endotransglycosylase from ripe kiwifruit. *Planta* 204 : 242-251.
- **Shirosaki M, Koyama T, Yazawa K**. Anti-hyperglycemic activity of kiwifruit leaf (*Actinidia deliciosa*) in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*.2008 ;72(4) :1099-102.

- **Stiles ME et Holzapfel WH. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36, 1-29.
- **Streit F, Corrieu G et Béal C. (2007).** Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. J. Biotechnol. 128, 659-667.
- **Vandamme P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K et Swings J. (1996)** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. 60: 407.
- **Vermeiren L., Devlieghere F. & Debevere J., 2004.** Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products.
- **Wang M, Li M, and Meng A.** Selection of new red-fleshed kiwifruit cultivar `Hongyang`. Acta hort. 2003 ;610 :115-117.
- **Woese, C. R. (1987).** Bacterial evolution. microbiological reviews, 51(2), 221-271.
- **Zubiria, L.(2021a, April 13).** Kiwi. [https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=kiwi\\_nu](https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=kiwi_nu).