

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle}. Demir Ibtissem et M^{lle}. Belarbi Sara

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie Fondamentale

THÈME

**Isolement et identification des
bactéries lactiques à partir des fruits
et légumes frais**

Déposé le : 01/09/2020

DEVANT LE JURY

Président	: Mr Bahri Fouad	Pr	U. Mostaganem
Promotrice	: Mme Kouadri Boudjelthia Nacima	MAA	U. Mostaganem
Examinatrice	: Mme Ait Chabane Ouiza	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire pédagogique de microbiologie (01) au niveau de
l'université de Mostaganem

L'année universitaire : 2019/2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۴۳۸

Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu tout puissant;
qui nous a donné la santé, la volonté, et la patience pour l'accomplissement de ce
travail.

Nous tenons en premier lieu, à exprimer notre profonde gratitude à notre
Promotrice:

KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima, pour la qualité de son encadrement;

Nous la remercions infiniment de nous avoir été d'une grande efficacité, par sa
disponibilité à tout moment, ses conseils constructives, ses orientations et ses
encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

Merci de votre patience Madame!

Nous tenons également à exprimer nos remerciements aux membres du jury :

Mr. BAHRI Fouadet Mme. AIT CHABANE Ouiza

Merci d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce modeste travail.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin et qui nous ont soutenus durant
notre cursus universitaire et nous ont encouragé afin de persévérer et d'avancer

Nous remercions aussi nos collègues de promotion

de Microbiologie Fondamental (2019-2020).



Dédicace

À mes très chers **parents;**

Papa, maman.....

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, je vous remercie pour toute la patience, le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance jusqu'à ce jour et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toute la vie.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut Puissant, vous accorder santé, bonheur et longévité et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A Mon petit frère «**Mostapha** » et mon unique sœur «**Lamia** » qui n'ont pas cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité dans la vie.

À ma chère copine **Hafida;** En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

À mon cher binôme **Ibtissem;**

Je te souhaite plein de bonheur, de joie et beaucoup d'autres succès dans ta vie.

À tous les membres de ma famille (petits et grands)

A l'homme, qui m'a soutenu, encouragé, et m'a accompagné depuis toujours :
Mr. BELAHOUAL.

A ma deuxième famille (**Association Rideau D'or**)

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

SARA



Dédicace

Je dédie ce modeste travail;

A Ma très chère mère qui a œuvré pour ma réussite, de part son amour, son soutien, son assistance et sa présence dans ma vie ainsi que tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils;

Maman, reçois à travers ce travail l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A Mon très cher Père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi, et rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon bien être, mon éducation le long de ces années de ma formation.

A tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus

A Mes sœurs:**Samira, Naima et Hakima**

A Mes frères:**Aymen, Houari, Mansour**

A mon cher binôme **Sara** ainsi que toute sa famille

A tous mes amis et collègues d'étude.

IBTISSEM



Résumé:

Recentement, un grand intérêt est consacré aux bactéries lactiques qui présentent de grandes propriétés bénéfiques, pour la santé de l'homme. Ce travail est mené pour évaluer l'intérêt des études scientifiques sur les bactéries lactiques (LAB) isolées de certains fruits et légumes frais locaux. Cinq échantillons de fruits et légumes (Fraise, orange, dattes, tomate et chou) ont été choisis pour l'isolement de souches lactiques. Des tests de caractérisation phénotypique préliminaire (Température de croissance, coloration de Gram, test catalase) sont étudiés. Ensuite, les différents tests biochimiques qui devaient être réalisés pour la purification et l'identification des isolats, sont détaillés. Au finale, une Analyse de quelques articles sélectionnés est établie afin de démontrer l'intérêt d'utilisation des bactéries lactiques autochtones des fruits et légumes.

Mot clés: Bactéries lactiques; fruits, légumes; isolement; caractérisation phénotypique.

Abstract:

Recently, great interest is consecrated to lactic acid bacteria who have great beneficial properties for human health. This work is carried out to assess scientific studies about lactic acid bacteria (LAB) isolated from some local fresh fruits and vegetables. Five samples of fruit and vegetable (Strawberry, orange, tomato and cabbage) were chosen to isolate lactic strains. Preliminary phenotypic characterization tests (Growth temperature, Gram stain, catalase test) were studied. Then, the various biochemical tests that should be carried out for the purification and identification of the isolates were detailed. Finally, some scientific articles were selected to be analysed in order to demonstrate the value of using indigenous lactic acid bacteria of fruits and vegetables.

Keywords: Lactic acid bacteria; fruits; vegetables; isolation; phenotypic characterization.

المخلص :

في السنوات الاخيرة، تم تكريس اهتمام كبير لبكتيريا حمض اللبن لأن لها خصائص مفيدة لصحة الإنسان . يتم تنفيذ هذا العمل لتقييم مدى الدراسات العلمية على بكتيريا حمض اللبن المعزولة من بعض الفواكه و الخضروات الطازجة. تم اختيار خمس عينات من الفاكهة و الخضروات (فراولة، برتقال، التمر، طماطم، ملفوف) لعزل سلالات اللبن، على أساس اختبارات التوصيف المظهرية الأولية (درجة حرارة النمو، صبغة الجرام ، اختبار الكاتالاز). بعد ذلك، يتم إجراء الاختبارات البيوكيميائية المختلفة لتنقية و تحديد العزلات . في النهاية، تم القيام بتحليل لبعض المقالات المختارة لإثبات الفائدة العلمية لاستخدام بكتيريا حمض اللبن الاصلية في الفواكه و الخضروات .

الكلمات المفتاحية : بكتيريا حمض اللبن؛ الفواكه و الخضر ؛ عزل؛ مقالات علمية؛ توصيف النمط الظاهري

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Critères différentiels des trois groupes de Lactobacilles	12
Tableau 02 : Liste des espèces du genre <i>leuconostoc</i>	15
Tableau 03 : principales caractéristiques physiologiques et biochimiques de quelques espèces de lactocoques	18
Tableau 04 : Principales espèces utilisées comme probiotique	23
Tableau 05 : Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaire	26
Tableau 06 : Bactéries lactiques isolées à partir de fruits	31
Tableau 07 : Bactéries lactiques isolées à partir de légumes	35
Tableau 08 : Exemples de produits végétaux fermentés consommés dans le Monde	39

LISTE DES FIGURE

Figure 01 : Transport et catabolisme du glucose par les bactéries lactiques	07
Figure 02 : Arbre phylogénétique consensus, basé sur la comparaison de séquence d'ARNr 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres <i>Bifidobacterium</i> et <i>Propionibacterium</i>	09
Figure 03 : Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de Lactobacilles	13
Figure 04 : <i>Leuconostoc lacis</i> observé microscope électronique à transmission (X 10000)	16
Figure 05 : <i>Lactococcus lactis subsp lactis</i> sous forme de cellules ovoïdes par paire (photo du haut), et en chaînette (photo du bas) selon la souche.....	17
Figure 06 : <i>Enterococcus faecalis</i> au microscope électronique	20
Figure 07 : <i>Streptococcus thermophilus</i> , au microscope électronique	21
Figure 08 : <i>Bifidobacterium sp</i>	22
Figure 09 : Coupe transversale d'orange.....	32
Figure 10 : Schéma datte et son noyau du palmier dattier	33
Figure 11 : Caractéristiques morphologiques de la fraise	34
Figure 12 : Chou-blanc.....	37
Figure 13 : Section transversale d'une tomate (A) Fruit de tomate (B)	38
Figure 14 : Le grand marché d'alimentation de la région de Mostaganem (<i>localisation par Google Maps</i>).....	40
Figure 15 : Préparation de la solution mère	42
Figure 16 : Schéma de la conservation longue durée des bactéries lactiques purifiées	44
Figure 17 : Schéma utilisé pour l'isolement et identification des bactéries lactiques.....	46
Figure 18 : Clé d'identification bactérienne par certains tests	47
Figure 19 : Test catalase	49
Figure 20 : Test de l'activité protéolytique par la méthode des spots	52

LISTE DES ABREVIATIONS

- **%** : pourcentage
- **°C** : Degré Celsius
- **°D** : Degré Dornic
- **ADH** : Arginine Dihydrolase
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ADP** : Adénosine diphosphate
- **AOC** : Appellation d'origine contrôlée
- **ARN** : Acide Ribonucléique
- **ARNr** : Acide Ribonucléique ribosomique
- **ATB** : Antibiotique
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **BL** : Bactéries lactiques
- **Cb** : *corynebactérium*
- **Cm** : Centimètre
- **CO2** : Oxyde de carbone
- **EPS** : Exopolysaccharides
- **FAO** : Food Agriculture Organization
- **FDP** : Fructose 1-6 diphosphatealdolase
- **FPC** : Fructose-6-phosphocétolese
- **g** : gramme
- **G+ C** : Guanine+ Cytosine
- **GAP** : glycéraldéhyde phosphate
- **GRAS** : (GenerallyRecognized As Safe).
- **h** : Heure
- **H2O2** : Peroxyde d'hydrogène
- **Hétéro** : hétérogène
- **Homo** : homogène
- **j** : Jours
- **JC** : Jésus-Christ

- **Kg** : Kilogramme
- **l** : litre
- **Lb** : *Lactobacillus*
- **Lc** : *Lactococcus*
- **Leuc** : *Leuconostoc*
- **m** : mètre
- **m/v** : mase /volume
- **mg** : milligramme
- **min** : minute
- **ml** : millilitre
- **mm** : millimètre
- **MRS** : Man-Rogosa et Sharp
- **Nacl** : Chlorure de sodium
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **OMS** : Organisation Mondial de la santé
- **pH** : potentiel Hydrogène
- **Pi** : phosphate inorganique
- **S** : Seconde
- **S** : *Streptococcus*
- **sp** : Espèce non précisé
- **ssp** : Sous espèce
- **t** : temps
- **T°** : Température
- **V** : Volume
- **V.P** : Voges-Proskauer
- **V/V** : Volume/Volume
- **W** : *Weissela*
- **µg** : microgramme
- **µm** : micromolaire

Sommaire

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction **01**

I : Synthèse bibliographique

I. Les bactéries lactiques

I.1. Historique **03**

I.2. Habitat **04**

I.3. Caractéristique **04**

I.4. Taxonomie des bactéries lactiques **08**

I.4. 1- Le genre *Lactobacillus sp* **10**

I.4. 2- Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*

I.4. 2.1- Le genre *Leuconostoc* **14**

I.4.2.2- Le genre *Weissella* **16**

I.4.2.3. Le genre *Oenococcus* **16**

I.4.3. Les genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* **17**

I.4.3.1. Le genre *Lactococcus* **17**

I.4.3.2. Le genre *Enterococcus* **19**

I.4.3.3. Le genre *Streptococcus* **20**

I.4.4- Le genre *Bifidobacterium* **21**

I.5. Application des bactéries lactiques **22**

- Dans le domaine thérapeutique : (Domaine Médicale) **23**

• Dans le domaine de l'agriculture.....	24
• Domaine alimentaire	24
II. Les bactéries lactiques des végétaux (Fruits et légumes)	29
II.1. Les Fruits	30
▪ Exemples des fruits étudiés :	
• Les oranges	32
• Les Dattes.....	33
• Les fraises.....	33
II. 2. Les Légumes.....	34
▪ Exemple des légumes étudiés:	
• Le chou blanc	36
• Tomate.....	37
II. 3. Intérêts de la Fermentation lactiques des fruits et légumes	38
II : Matériels et méthodes	
1. Lieu et objectif d'étude.....	40
2. Matériel	
2.1. Provenance des échantillons utilisés	40
2.2. Milieux de culture	41
2.3. Appareillages	41
2.4. La verrerie	41
3. Méthodes	
3.1. Isolement des bactéries lactiques	
• Préparation de la solution mère et des dilutions décimales	41
• Isolement des bactéries lactiques:	43
• Purification des isolats:	43
• Conservation des isolats :.....	43
▪ A court terme	43
▪ A long terme	43

3.2. Identification des souches	47
3.2.1. Caractérisation phénotypique :	
• Examen macroscopique.....	47
• Examen microscopique	47
3.2.2. Caractérisation physiologiques:	
• Croissance à différentes températures et thermorésistante	48
• La thermorésistance des bactéries	48
• Croissance à pH 4,4 / 4,9 et 9 / 9,6:.....	48
• La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl	48
3.2.3. Caractérisation biochimiques :	
• Test de la catalase	48
• Teste d'oxydase	49
• Type fermentaire	49
• Croissance sur le lait bleu de Sherman	49
• Hydrolyse d'arginine (ADH)	50
• Hydrolyse de l'esculine	50
• Test mannitol-mobilité.....	50
• Profil fermentaire.....	50
3.2.4. Caractérisation technologique :	
• Pouvoir acidifiant	51
• Pouvoir protéolytique:	51
• Pouvoir aromatisant.....	52
• Production de dextrane	53
III: Analyse d'article	54

Conclusion59

Références bibliographiques.....60

Annexes

A vibrant still life of various fruits and vegetables in a wicker basket. The basket is overflowing with fresh produce, including clusters of purple and red grapes, several large red and yellow apples, a bunch of green leafy vegetables, and several red cherry tomatoes. The background is a soft, bright yellow, creating a warm and inviting atmosphere. The word "Introduction" is overlaid in the center in a bold, black, serif font.

Introduction

Introduction:

Au-delà de la valeur nutritionnelle de base des aliments en termes de goût et de besoins nutritionnels immédiats, la nutrition est considérablement devenue un atout important en terme de capacité à fournir des avantages spécifiques pour la santé de l'homme (**Saarela, M., et al., 2002**), et elle est considérée comme un des facteurs de santé publique où les fruits et légumes sont particulièrement recommandés. (**Djerroud, 2010**).

En effet, Les fruits et légumes sont riches en nutriments, vitamines, fibres, carbohydrates et surtout riche en antioxydants, la présence de ces derniers dans les végétaux ont la capacité de piéger les espèces réactives nocives pour les cellules humaines et qui sont présentes en très grande quantité en conditions de stress oxydant (**Tamang, J.P et al., 2016**). Elles jouent également un rôle vital pour la santé et le bien-être de l'homme, en particulier pour leur capacité à prévenir les carences en vitamines C et A ; ils sont également conseillés pour réduire le risque de plusieurs maladies (**Kalia et al., (2006)**).

La surface des fruits et des légumes est caractérisée par une flore microbienne très diversifiée composée de bactéries appartenant à différents groupes bactériens, parmi lesquelles, on retrouve les bactéries lactiques qui appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, produisant de l'acide lactique connues pour son rôle dans la préparation des laitages fermentés, le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et d'autres produits fermentés (**El soda et al., 2000;Cherkroun et Bensoltane., 2007**).

Les atouts nutritionnels et thérapeutiques combinés des végétaux et des bactéries lactiques nous ont conduits à l'idée d'isoler et de caractériser les bactéries lactiques à partir de quelques fruits et légumes frais provenant de la région de Mostaganem.

Le présent travail visait à étudier l'isolement et l'identification des bactéries lactiques à partir des fruits et légumes frais, mais en raison de la crise sanitaire par laquelle passe notre pays, les expérimentations n'ont pas pu être réalisées complètement, par conséquent, nous rapportons la mise en évidence de la méthodologie à suivre pour isoler et identifier les bactéries lactiques à partir des fruits et légumes ainsi que l'analyse d'articles scientifiques sélectionnés dans le contexte de l'étude.

Le manuscrit est structuré en trois parties, la première consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour des bactéries lactiques, et des fruits et légumes. La seconde partie (Méthodologie) présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre pratique de ce travail. Dans la dernière partie, une analyse d'article de différentes études sélectionnées est établie.



Synthèse bibliographique

I. Les Bactéries lactiques :

I. 1. Historique :

Les bactéries lactiques seraient apparues sur terre il y a près de 3 milliards d'années selon des données de paléontologie, des données moléculaires basées sur les séquences des ADN ribosomiques et les séquences signatures de protéines conservées, ainsi que sur certaines caractéristiques du métabolisme carboné de ces bactéries (**Patrick Tailliez., 2001**).

Le terme de bactéries lactiques est intimement associé aux bactéries impliquées dans la fermentation des aliments pour l'homme et l'animal (**Klein et al ., 1998 ; Guiraud et al., 2003; Axelsson., 2004 ; Limsowtin et al., 2004**). L'utilisation de la fermentation par l'homme remonte à des temps très anciens. En effet, l'existence des produits laitiers fermentés remontent à 8000 ans avant JC dans le croissant fertile au Moyen Orient (plaines du Nil, du Jourdain, de l'Euphrate et du Tigre), et l'apparition de fermentation des végétaux et la production de levain remonte entre 2000 et 4000 ans avant JC chez les Egyptiens.

La fermentation est réalisée à partir de différents types d'alimentation, des végétaux (concombre, betteraves, dattes, jus de fruits, soja, etc...), des produits d'animaux (viande, lait) ou du poisson (**Fox et al., 2004 ; Herve-Jimenez et al., 2009**).

Cependant, Les travaux de Pasteur sur la fermentation en 1857 ont permis d'établir un lien entre la fermentation lactique et les bactéries lactiques (**Lister, 1873**). De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries. La première culture pure était des *Bacterium lactis* probablement des *Lactococcus lactis*, obtenue par Lister en 1873. Les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ont été les premiers à être décrits. (**Quiberoni et al., 2001**).

En 1890, Storch et al. (**Storch, 1980**) ont conclu que la présence debactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème. Metchnikoff (**Metchnikoff, 2004**) isole en 1904 le « bacille bulgare » (*Lactobacillus delbrueckiissp.bulgaricus*) présent dans le yaourt. Il étudie les propriétés acidifiantes des bactéries du yaourt et il développera l'idée que les bactéries contenues dans les laits fermentésont un effet bénéfique sur la santé (**Penaud, 2006, Ouadghiri, 2009**). Il plaidera en faveur de l'introduction de produits laitiers fermentés dans le régime alimentaire en 1905, lespremières entreprises fabricant du yaourt à partir des souches de l'Institut Pasteur voient le jour (**Bibel, 1988**).

I. 2. Habitat :

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, très répandues dans la nature, très exigeantes en éléments nutritives et peuvent se retrouver en association avec l'hôte (Homme et animal), dans un écosystème microbien complexe, tels que la cavité buccale ou les tractus gastro-intestinal et génital (**Klein et al., 1998**), ou à l'état libre dans l'environnement (sol, eau, eaux usées, fumier, ensilage...), et dans les divers produits alimentaires tels que les produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage...) (**Holzappel et al., 2001**), et même sur la surface des végétaux (plantes, fruits et légumes...) (**König et Frohlich, 2009 ; Di Cango et al., 2012**).

Les BL autochtones des légumes et fruits (**Buckenhüskes., 1997**), leur diversité dépend des paramètres intrinsèques et extrinsèques de la matrice végétale; elles sont responsables de la fermentation lactique spontanée des légumes crus et fruits lorsque des conditions favorables d'anaérobiose, d'activité de l'eau, la concentration de sel et la température sont réunies (**Harris, 1998 ; Karovicová et Kohajdová., 2003 ; Kim et Chun., 2005**). En effet, des espèces telles que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus sakei* ont été fréquemment isolées des fruits et légumes frais et secs (**Trias et al., 2008 ; Emerenini et al., 2013**).

I. 3. Caractéristiques:

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme (**Dortu et al., 2008**). Ce sont des cellules procaryotes hétérotrophes et chimio-organotrophes, ce qui signifie qu'elles utilisent comme source énergétique des substances hydrocarbonées telles que les sucres, les alcools et les acides organiques. Elles possèdent souvent des exigences nutritionnelles complexes en terme d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucre (**Dellaglio et al., 1994**). Elles sont Gram positifs (+) de forme sphérique allongées ou en bâtonnets, immobiles, asporulées, anaérobies ou aérobies, mais aérotolestants, dépourvues de cytochromes-oxydase, de catalase et de nitrate-réductase (**Luquet., 2005**).

Cependant, certaines souches pseudo-catalase (présentent une réaction) peuvent survivre en présence d'oxygène. L'absence de catalase est caractéristique (**Bourgeois et al, 1996 ; Larpent et al, 1997**). En outre, elles ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole, ni d'hydrogène sulfureux (**Dellaglio et al, 1994**). Elles sont pour la plupart

mésophiles ; certaines sont psychrotolérantes ou thermotolérantes. Elles se développent majoritairement à des pH compris entre 4 et 6,5 et certaines sont encore actives à pH 9,6 ou à pH 3,2. Elles ont des tolérances très variables vis-à-vis du sel (**Dogui et Koffi- Denis, 2010**). Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage de GC (**Muto et Osawa, 1987**).

Le groupe des bactéries lactiques a été défini et classifié par Orla-Jensen en 1919 sur la base de leur profil fermentaires, les BL peuvent être classées en deux grands groupes : les homofermentaires (voie d'Embden-Meyerhof) et les hétérofermentaires (voie Dickens-Horecker) (**Figure01**). Toutes les bactéries Homofermentaire (à l'exception des genres : *Leuconstoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certains membres du genre *Lactobacillus*) entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose). Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1-6 di-phosphate puis clivé en dihydroxyacétone phosphate et glycéraldéhyde phosphate (GAP), ces deux derniers sont convertis en pyruvate. Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique: c'est la fermentation homolactique. Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO₂ par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al., 2010**).



Le groupe de bactéries lactiques hétérofermentaire utilise la voie des pentoses phosphate (ou 6-phosphogluconate) qui consiste à une déshydrogénation du glucose, après sa phosphorylation, pour donner le 6-phosphogluconate qui subira une décarboxylation. Le pentose résultant est clivé en (GAP) qui suit la voie de la glycolyse donnant l'acide lactique et l'acétyle phosphate qui sera réduit en éthanol. En raison de la production de CO₂, d'éthanol ou de l'acétate en plus de l'acide lactique, cette fermentation est appelée hétérolactique (**Salminen et al., 2004**). Certaines bactéries homofermentaires sont aussi capables de faire la fermentation hétérolactique dans des conditions de croissance non optimales ou selon la nature du sucre utilisé (**Leveau et al.,1993**).



La différence entre ces deux groupes est détectable par dégagement de CO₂. Certaines bactéries lactiques homofermentaires, sous certaines conditions, c'est-à-dire dans les milieux pauvres en hexoses, peuvent fermenter les pentoses pour produire de l'acide lactique et de l'acide acétique comme produits finaux. Ces bactéries sont qualifiées d'hétérofermentaires facultatives (**Salminen et al., 2004, Doguiet Koffi- Denis, 2010**). Il existe d'autres bactéries produisant de l'acide lactique mais qui ne sont pas considérées comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques. C'est le cas, par exemple, de *Bacillus* et *Sporolactobacillus* qui sont des bactéries Gram (+) sporulées (**Axelsson., 2004**). Quant aux bifidobactéries, celles-ci sont considérées comme des bactéries lactiques en raison de leur propriétés physiologiques et biochimiques et à leur présence dans le même habitat écologique tel que le tube gastro-intestinal (**klein et al, 1998**).

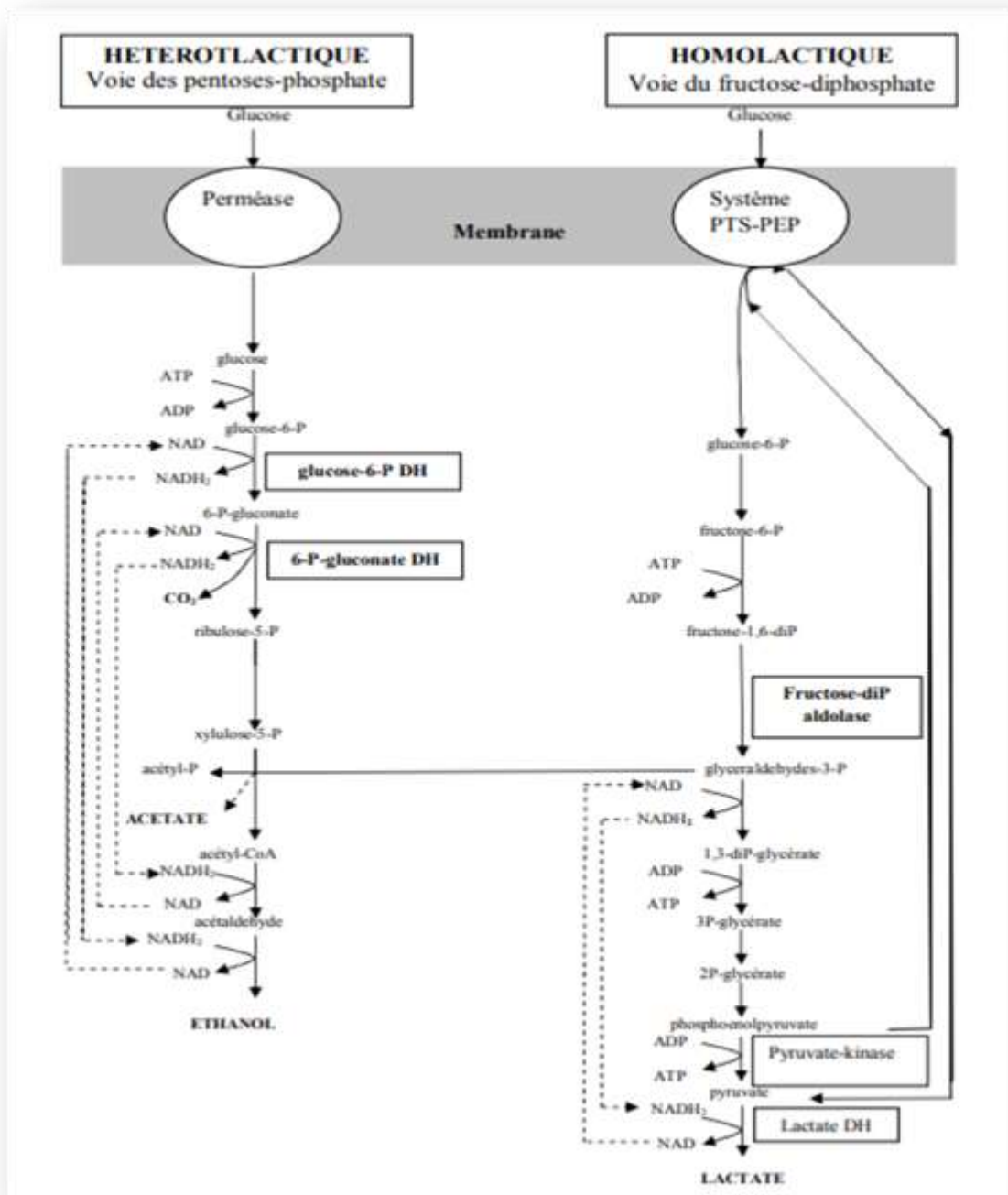


Figure 01: Transport et catabolisme du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart H et Luquet F.M (1994)). (A droite) la voie homolactique produit 2 moles d'ATP et de lactate par mole de glucose dégradé. (A gauche) la voie hétérolactique produit 1 mole d'ATP et de lactate et 1 mole de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate par mole de glucose dégradé.

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* caractérisés par une voie nommée « voie bifide » ou voie de la fructose-6-phosphocétolase (FPC), dans cette voie le fructose-6-P est scindé par la fructose-6-phosphocétolase en érythrose-4-phosphate et en acétyl-phosphate et

du glycéraldéhyde-3-phosphate pour former de l'acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate (Atlan et al, 2008).

I. 4. Taxonomie des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales (De Vos et al.2009). Cet ordre comporte 33 genres repartis entre six familles qui sont: Lactobacillaceae, Aeorococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Leuconostocaceae et Streptococcaceae classées en se basant sur les analyses phylogénétiques des séquences de l'ARNr16s (Ludwig et al, 2009).

Selon Stiles et Michael E., (Stiles et al., 1997) et Axelsson., (Axelsson, 2004), les bactéries lactiques englobent les genres suivants : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactosphaera*, *Vagococcus* et *Weisella*. Néanmoins, c'est surtout *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Weisella* et à grande échelle *Lactobacillus*, qui ont une certaine importance dans les aliments (Vandamme et al., 1996). La relation phylogénétique entre les différents genres des bactéries lactiques est représentée sur la **figure 2** et est basée sur la comparaison des séquences d'ARN 16S. *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Lactosphaera* sont étroitement apparentés les uns aux autres. *Lactococcus* et *Streptococcus* apparaissent comme relativement apparentés, alors que *Lactobacillus* est phylogénétiquement distinct. (Holzapfel et al., 2001).

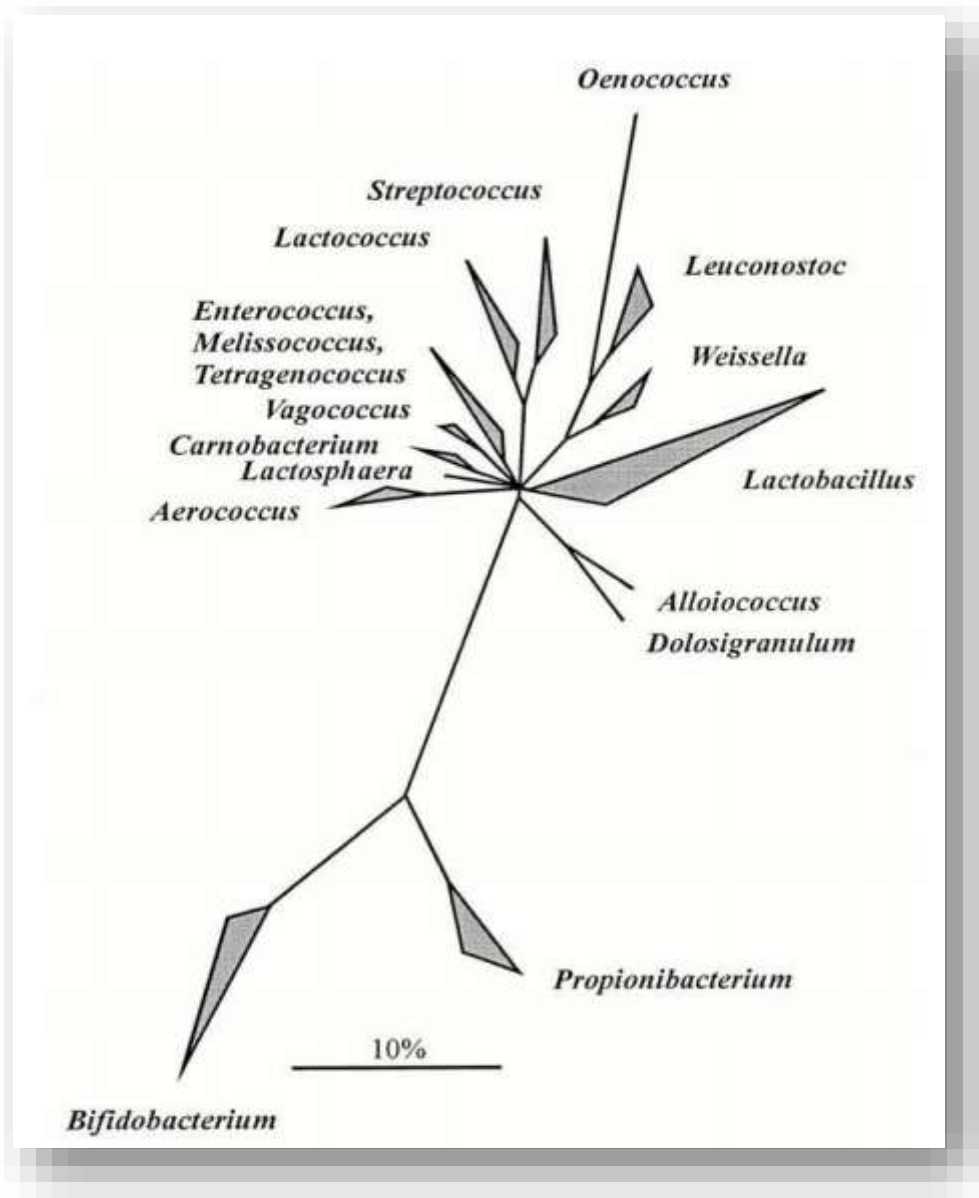


Figure 02: Arbre phylogénétique consensus, basé sur la comparaison de séquence d'ARNr 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*. (Holzapfel et al., 2001).

La première classification des bactéries lactiques, revient à Orla Jensen selon le profile fermentaire des différents sucre et dès 1974, selon le Bergey's manual (Holt et al., 1994), les BL se retrouvent dissociées en deux familles : celle des Streptococcacea et celle des Lactobacillacea. En 1985, Schleifer et al. ont proposé la division des streptocoques en 4 genres génétiquement distincts : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus* et *Lactococcus*, ces deux derniers regroupant les streptocoques lactiques (Dellaglio et al., 1994).

Certaines caractéristiques phénotypique / biochimique classique sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des EPS, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certains enzymes, demeurent pratiques dans l'identification préliminaire des microorganismes. Cependant, les critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires, la composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras sont également d'autres critères qui peuvent être étudié pour l'identification des espèces lactique (**Vandamme., 1996; Stiles et Holzopfel 1997 ; Ho et al., 2007**).

La morphologie cellulaire est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (**Collinet al., 1993 ; Ho et al., 2007**).

I. 4. 1- Le genre *Lactobacillus* sp:

En 1896, le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck, et l'espèce type était *Lactobacillus delbrueckii*. Le genre *Lactobacillus* est le genre principal et de loin le plus grand et le plus diversifié de la famille des Lactobacillaceae, il comprend actuellement 158 espèces, sept de ces espèces sont constituées de 18 sous-espèces, c'est un genre très hétérogène, englobant les espèces avec une grande variété phénotypique, biochimiques et physiologiques. L'hétérogénéité se traduit par la gamme du pourcentage GC de 32 à 55% de l'ADN des espèces incluses dans ce genre (**Zhang et Cai, 2014**).

On rencontre chez les lactobacilles une variabilité de forme (fins, incurvés, coccobacilles,...) et de longueur. La longueur des bacilles et le degré de courbure dépend de l'âge de la culture, la composition du milieu (par exemple, la disponibilité des esters d'acide oléique) et le taux d'oxygène. Cependant, les principales différences morphologiques entre les espèces restent habituellement clairement reconnaissables ; certaines espèces de lactobacilles produisant du gaz (Par exemple, *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus brevis*) présentent toujours un mélange de bacilles longs et courts (**De Vos et al, 2009**). La division cellulaire se produit seulement sur un seul plan. La tendance à former des chaînettes varie selon les espèces et même des souches, ceci dépend de la phase de croissance et le pH du milieu (**Zhang et Cai, 2014 ; De Vos et al, 2009**).

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et en sels minéraux. La température de croissance est comprise entre 2 et 53°C, avec un optimum entre 30 et 40°C (De Vos et al, 2009). Le pH de croissance est compris entre 3 et 8 avec un optimum habituellement allant de 5.5 à 6.2 (Zhang et Cai, 2014).

À l'origine, les espèces du genre *Lactobacillus* ont été classé en fonction de leur température de croissance et leurs capacité à fermenter les hexoses, et par la suite en fonction de leur potentiel homo ou hétérofermentaire, Cette classification est la seule reconnue, bien qu'elle soit imparfaite car le séquençage de l'ADNr16S a montré que des bactéries lactiques classées selon des caractères phénotypiques sont en réalité de parente phylogénique très éloignée. De plus, le contenu en GC% qui varie énormément d'une espèce à une autre (32 à 53%) et l'absence d'homologie ADN ADN significative entre beaucoup d'espèces, sont aussi le reflet d'une parente phylogénique éloignée (Haydersah, 2010).

Orla-Jensen (1919) a subdivisé ce groupe d'une manière similaire à celle des coques lactiques. Ainsi, les sous-genres de *Lactobacillus* ont été créés: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium*. Remarquablement, cette division est toujours valide à un degré considérable, bien que les désignations aient été abandonnées et quelques modifications dans les définitions des sous-groupes ont été faites (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004). Ces subdivisions étaient revisitées par Pot et ses collègues en 1994, mais la définition acceptée, est celle donnée par Hammes et Vogel en 1995 qui divise le genre en 3 Groupes sur la base du type des sucres fermentés et le processus de fermentation utilisé (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004).

Groupe I : formé des lactobacilles homofermentaires stricts qui regroupent les espèces de l'ancien sous-genre *Thermobacterium* ne produisant presque exclusivement que de l'acide lactique à partir de la fermentation des hexoses par glycolyse. Ils ne peuvent fermenter ni les pentoses ni les gluconates (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004 ; Bekhouche et Boulahrouf, 2005).

Groupe II : formé de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs qui regroupent les espèces de l'ancien sous genre *Streptobacterium* et qui fermentent les hexoses en acide lactique par glycolyse, et peuvent fermenter les pentoses en acide lactique et en acide acétique grâce à une phosphocetolase inductible. Ils ne produisent pas de CO₂ lors de la fermentation du glucose mais ils en produisent lors de la fermentation du gluconate. Les espèces les plus

fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakei* et *Lb. Plantarum* (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004 ; Bekhouche et Boulahrouf , 2005).

Groupe III: formé de lactobacilles hétérofermentaires stricts qui regroupent les espèces de l'ancien sous-genre *Bêtabacterium*, qui fermentent les hexoses en acide lactique, acide acétique (ou éthanol) et CO₂ (voie hétérofermentaire de la 6-phosphogluconate déshydrogénase/phosphocétolase), et qui fermentent les pentoses en acide lactique et acide acétique (voie hétérofermentative de la glycéraldéhyde-3- phosphate/pyruvate kinase/lactate déshydrogénase) (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004 ; Bekhouche et Boulahrouf , 2005).

Tableau01. Critères différentiels des trois groupes de Lactobacilles adapté de (Sharpe, 1981; Kandler et Weiss, 1986).

Caractéristique	Groupe I Homofermentaires Obligatoire	Groupe II Hétérofermentaire facultatifs	Groupe III Hétérofermentaire obligatoires
Fermentation des pentoses	-	+	-
CO ₂ à partir du glucose	-	-	+
CO ₂ à partir du glucose	-	+	+
FDP aldolase	+	+	-
Phosphokétolase	-	+	+
	<i>Lb.acidophilus</i> <i>Lb.delbrueckii</i> <i>Lb.helviticus</i> <i>Lb.salivarius</i>	<i>Lb.casei</i> <i>Lb.curvatus</i> <i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.sakei</i>	<i>Lb.brevis</i> <i>Lb.bachneri</i> <i>Lb.fermentum</i> <i>Lb.reuteri</i>

FDP : Fructose 1-6 diphosphatealdolase.

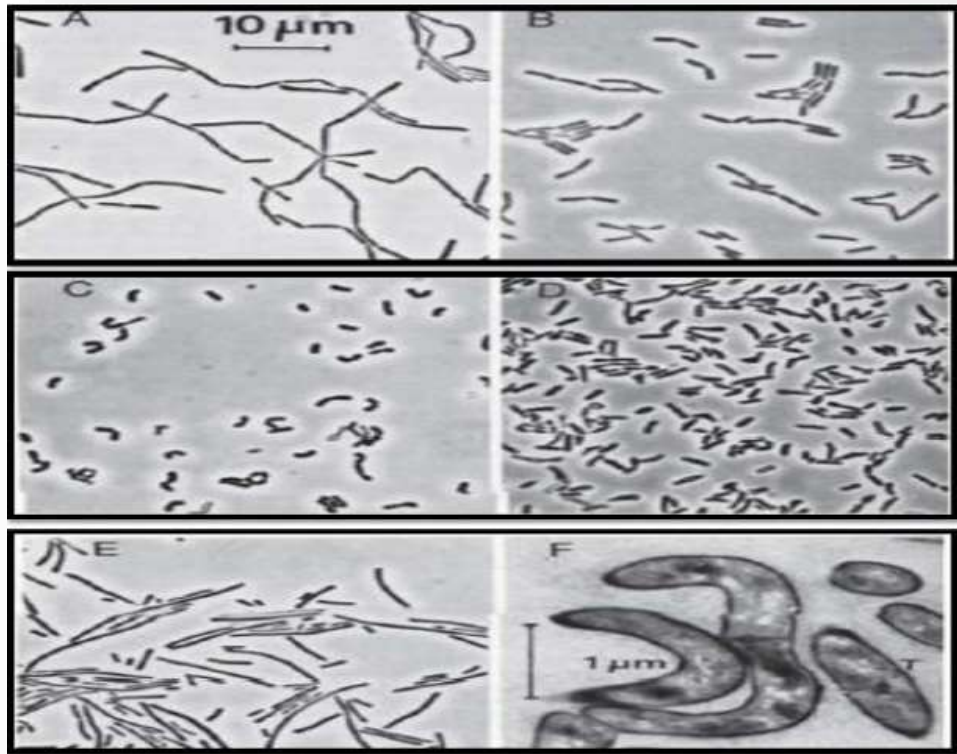


Figure 03 : Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de Lactobacilles. (De Vos et al, 2009): **A** : *Lactobacillus gasseri*; **B** : *Lactobacillus agilis*; **C** : *Lactobacillus curvatus*; **D** : *Lactobacillus mineur*; **E** : *Lactobacillus fermentum*; et **F** : la forme de l'involution de lactobacilles dans une lame mince d'un grain de kéfir.

I. 4. 2-Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*:

Ces trois genres appartiennent selon la dernière édition du Bergey's manuel à la taxonomie suivante:

Règne : Bacteria,

Division : Firmicutes,

Classe : Bacilli,

Ordre : Lactobacillales,

Famille : Leuconostocaceae,

Genre : *Leuconostocs*, *Oenococcus*, *Weissella*

Ils regroupent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acidelactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate. Les caractéristiques telles que hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et températures, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al, 1998 ; Ho et al, 2007).

I. 4.2.1- Le genre *Leuconostoc* :

Le terme *Leuconostoc* vient du mot « Nostoc » qui est une algue bleue mucilagineuse et « Leuco » veut dire blanc (Säde, 2011). La première description du genre *Leuconostoc* a été rapportée par Van Tieghem en 1878, ces bactéries lactiques sont apparues à l'origine, sous forme de chaînes, d'aspect mucilagineux, non pigmentés, plusieurs espèces ont été reclassées à l'intérieur du genre *Leuconostoc* et de nouvelles espèces y ont été ajoutées (Zhang et Cai, 2014). En 1984, trois espèces de *Leuc. mesenteroides* (*Leuc. mesenteroide* *ssubsp. mesenteroides*, *Leuc. mesenteroides subsp. dextranicum* et *Leuc. mesenteroides subsp. cremoris*) ont été reclassés en sous-espèces de *Leuc. mesenteroides* (Zhang et Cai, 2014).

Ce sont des bactéries à Gram positif, immobiles, asporulées, anaérobies facultatives avec une forme ovoïde, associées en paires ou en chaînes courtes (Lahtinen et al, 2012). Les espèces du genre *Leuconostoc* sont semblables aux Lactobacilles hétérofermentaires, surtout *Lb. confusus* et *Lb. viridescens*. *Leuconostoc* et *Lactobacillus* sont souvent isolés du même habitat et partagent de nombreuses caractéristiques. Hucker et Pederson (1931) ont suggéré que les *Leuconostoc spp.* sont des formes intermédiaires entre les lactobacilles et les streptocoques (Zhang et Cai, 2014). Leur utilisation en association avec des lactocoques est très répandue en industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyl et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hadeif, 2012).

Selon Zhang et Cai (2014), le genre *Leuconostoc* comprend actuellement 13 espèces (Tab.3) reconnues et qui sont : *Leuc. mesenteroides*, *Leuc. carnosum*, *Leuc. citreum*, *Leuc. fallax*, *Leuc. gasicomitatum*, *Leuc. gelidum*, *Leuc. inhae*, *Leuc. kimchii*, *Leuc. lactis*, *Leuc. holzapfelii*, *Leuc. pseudomesenteroides*, *Leuc. palmae* et *Leuc. miyukkimchii* (Zhang et Cai, 2014).

Tableau 02 : Liste des espèces du genre *Leuconostoc* (Zhang et Cai, 2014).

Espèces	Année	Origine
<i>Leuc. fallax</i>	1992	Choucrout
<i>Leuc. carnosum</i>	1989	Viande stockée à froid
<i>Leuc. gelidum</i>	1989	Viande stockée à froid
<i>Leuc. mesenteroides</i>	1878	Inconnu
<i>Leuc. mesenteroides ssp. cremoris</i>	1929	Inconnu
<i>Leuc. mesenteroidesssp. dextranicum</i>	1912	Inconnu
<i>Leuc. mesenteroidesssp. suionicum</i>	2012	Inconnu
<i>Leuc. miyukkimchii</i>	2012	Kimchi
<i>Leuc. pseudomesenteroides</i>	1967	Inconnu
<i>Leuc. citreum</i>	1989	Source humaine
<i>Leuc. lactis</i>	1960	Inconnu
<i>Leuc. inhae</i>	2003	Inconnu
<i>Leuc. kimchii</i>	2000	kimchi
<i>Leuc. gasicomitatum</i>	2001	kimchi
<i>Leuc. holzapfelii</i>	2007	Inconnu
<i>Leuc. Palmae</i>	2009	Café Fermenté Vin de palme

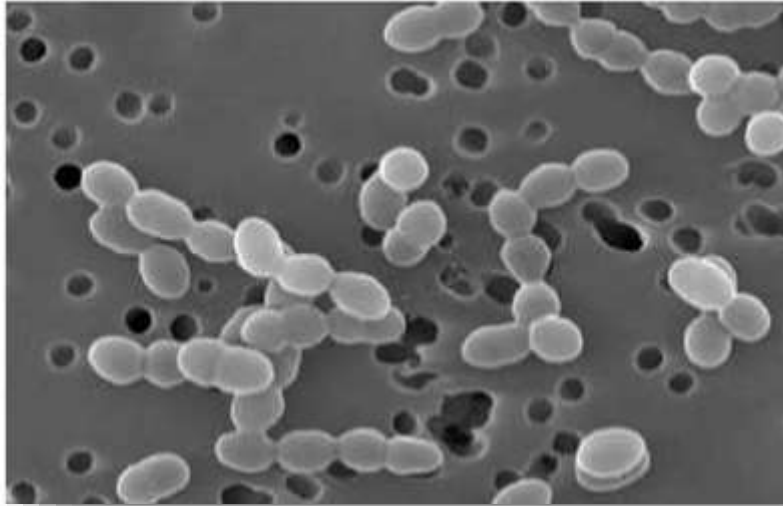


Figure 04 : *Leuconostoc lactis* observé microscope électronique à transmission (x 10000). (Bendimerad, 2013).

I. 4.2.2- Le genre *Weissella*:

Le genre *weissella* comprend dix-huit espèces, qui sont *W. thailandensis*, *W. cibaria*, *W. hellenica*, *W. mineur*, *W. viridescens*, *W. paramesenteroides*, *W. confusa*, *W. soli*, *W. koreensis*, *W. kandleri*, *W. ghanensis*, *W. beninensis*, *W. fabaria*, *W. halotolerans*, *W. oryzae*, *W. diestrammenae*, *W. ceti* et *W. fabalis* (Zhang et Cai, 2014). *Weissella beninensis*, a récemment été décrite par Padonou et al en 2010.

Ces espèces sont connues pour produire divers EPS (Lahtinem et al, 2012). Leur formes cellulaires sont ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités arrondies qui s'associent en paires ou en courtes chaînes. Elles sont hétérofermentaires et sont généralement immobiles. La température optimale de croissance est de 15°C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C (Lahtinem et al, 2012 ; Bjorkroth et Holzapfel, 2009). Certaines souches comme *W. beninensis*, *W. cibaria* et *W. thailandensis* peuvent pousser à 10% de NaCl (Zhang et Cai, 2014).

I. 4.2.3. Le genre *Oenococcus* :

Ce sont des bactéries immobiles, asporulées de forme ellipsoïdale à sphérique, avec un arrangement en paires ou en chaînes, non hémolytiques et généralement non protéolytiques, exigent un milieu riche en acides aminés et en facteurs de croissance. Leur température

optimale est de 20°C à 30°C, acidophiles poussant à un pH initial de 4,8. Elles ont pour habitat le vin ; par conséquence, elles tolèrent l'éthanol et se développent dans des milieux contenant 10% d'éthanol (Bjorkroth et Holzapfel, 2009 ; Zhang et Cai, 2014).

I. 4.3. Les genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* :

Ils étaient anciennement groupés en un seul genre *Streptococcus*. Ils sont très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminant et surtout comme agents de fermentation homolactique (avec production d'acide lactique de type dextrogyre). Ils sont très exigeants sur le plan nutritionnel (Salminen et al, 2004).

I. 4.3.1. Le genre *Lactococcus* :

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits «lactique», car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucune caractéristique pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al, 2005). Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable (Fig.5).

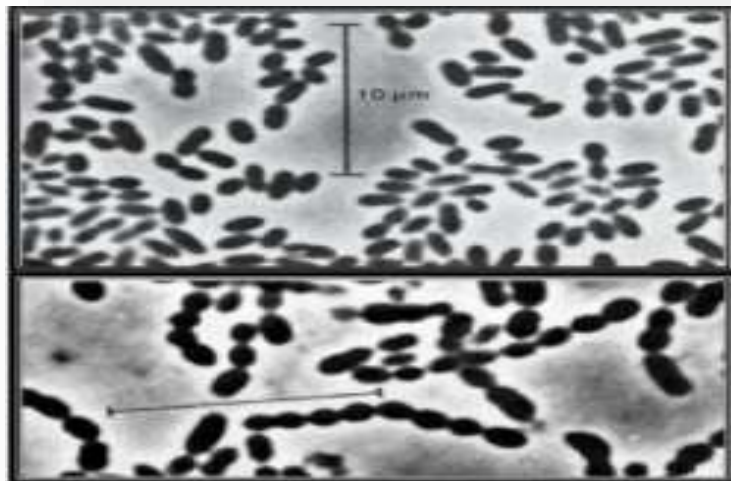


Figure 05: *Lactococcus lactis subsp lactis* sous forme de cellules ovoïdes par paire (photo du haut), et en chaînette (photo du bas) selon la souche (Teuber et Geis, 2006).

Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, homofermentaires, ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar. diacetylactis* produit le

diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C ; certaines espèces peuvent pousser à des températures aussi basses que 7°C lors d'une incubation prolongée de 10 à 14 jours. Les cultures se développent typiquement dans 4,0% de NaCl; Toutefois, *Lc. Lactis subsp. cremoris* ne tolère que 2,0% de NaCl, qui se trouve être la seule exception connue. Les Lactocoques poussent mieux à des valeurs de pH quasi-neutre et cessent de croître à un pH d'environ 4,5. (Zhang et Cai, 2014 ; Salminen et al, 2004 ; Teuber et Geis, 2006 ; Lahtinen et al, 2012 ; Schleifer et al, 1987). Elles ne poussent pas au pH 9,6 ou en présence de 6,5% de NaCl. Excepté l'espèce *Lactococcus garvieae*, elles ne sont pas hémolytiques (Alomar, 2007). Quelques espèces produisent des EPS et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

Tableau03 : principales caractéristiques physiologiques et biochimiques de quelques espèces de lactocoques (Dellaglio et al., 1994).

Espèces	Croissance dans /à					Gaz à partir du glucose	Isomère de l'acide lactique	Production de :			VP
	NaCl 2%	NaCl 4%	10°C	40°C	45°C			Arginine dihydrolase	A galactosidase	β galactosidase	
<i>Lc.garviae</i>		+	+	+	-	-	L(+)	+	-	-	+
<i>Lc.lactis ssp. Cremoris</i>	+	-	+	-	-	-	L(+)	-	-	-	+
<i>Lc.lactis ssp .hordniae</i>	+	-	+	-		-	L(+)	+	-	-	+
<i>Lc.lactisssp. lactis</i>		+	+	+	-	-	L(+)	+	-	-	V
<i>Lc.plantarum</i>		+	+	V	-	-	L(+)	-	V	-	+
<i>Lc. Raffinolactis</i>		-	+	-		-	L(+)	V	+	-	+

+ : plus de 90% de réaction positives ; - moins de 10% de réaction positives ; V : plus de 10% et moins de 90% de réaction positives.

I. 4.3.2. Le genre *Enterococcus* :

Les entérocoques, étaient classés dans le genre *Streptococcus*, dont la création fut proposée par Thiercelin et Jouhaud en 1903 (**Klein, 2003**). Andrewes et Horder en 1906, les avaient classés en tant que *Streptococcus faecalis* et ont été considérés comme micro-organismes potentiellement pathogènes, puisqu'ils ont été isolés de patients avec des endocardites (**Kaysers, 2003 ; Klein, 2003**).

Le nom spécifique «faecalis » est dû au fait qu'ils présentaient de nombreuses similitudes avec des souches isolées de l'intestin humain. Des années plus tard, Rebecalancefield (1933) développa un système de typage sérologique qui a permis de séparer divers groupes de streptocoques, dans lequel ceux « d'origine fécale » constituaient le groupe antigénique D, correspondant à la présence de glucose dans les chaînes latérales de l'acide téichoïque de la paroi cellulaire (**Achemchem, 2001**).

Enterococcus est un genre qui a une large distribution environnementale et occupe une grande variété de niches écologiques depuis les divers aliments fermentés jusqu'au tractus intestinal humain et animal dans lesquels il joue un rôle bénéfique ; en effet, diverses souches de *Enterococcus* sont employées comme probiotiques et beaucoup d'autres encore sont impliquées dans des fermentations naturelles, comme des olives de table, des produits carnés, et des produits laitiers, en particulier des fromages (**Fuller, 1998 ; Franz et al., 2004 ; Giraffa, 1997**). Par contre, certaines espèces comme: *Entérocooccus faecalis* et *Entérocooccus faecium* ont été soupçonnés d'être des agents causals de maladies transmises par les aliments ; aussi, *E. faecalis* est supposé être le plus important en microbiologie clinique comme agent des infections nosocomiales, et tant *faecalis* que *faecium* ont développé la résistance à un grand nombre d'antibiotiques glycopeptidiques, la vancomycine et la téicoplanine (**Sephard et Gilmore, 2002**).

Selon leurs caractéristiques culturelles et génétiques, ce sont des coques Gram-positifs disposés en paires ou en courtes chaînes, ayant un faible contenu en G+C (<50%), exemptes de l'enzyme catalase et de cytochromes, ont un métabolisme exclusivement fermentaire (homo-fermentaires), produisent l'acide lactique comme métabolite final et de très petites quantités d'acide acétiques, d'acide formique et d'éthanol, mais sans production de gaz. Ils sont anaérobies facultatifs, chimio-organotrophes (**Klein, 2003**).



Figure 06 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace et al., 2003).

I. 4.3.3. Le genre *Streptococcus* :

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *S. salivarius*, *S. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987). La seule espèce de streptocoque qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzapfel, 1997).

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *S. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (Haddie, 1986 ; Pilet et al, 2005). C'est la seule espèce non pathogène du genre *Streptococcus*, appartenant au groupe des bactéries ayant un intérêt industriel et nutritionnel reconnu sous le nom GRAS (Dellaglio et al, 1994; Hols et al, 2005).

Des études moléculaires portant sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont démontré que *S. thermophilus* est une espèce très distincte des *S. salivarius* et des entérocoques (Delorme, 2008).

S. thermophilus appartient au groupe des « streptocoques viridans » et toutes les espèces de ce groupe sont commensales, on les retrouve dans les cavités buccales, gastro-intestinales et dans les muqueuses génitales des mammifères (Facklam, 2002).

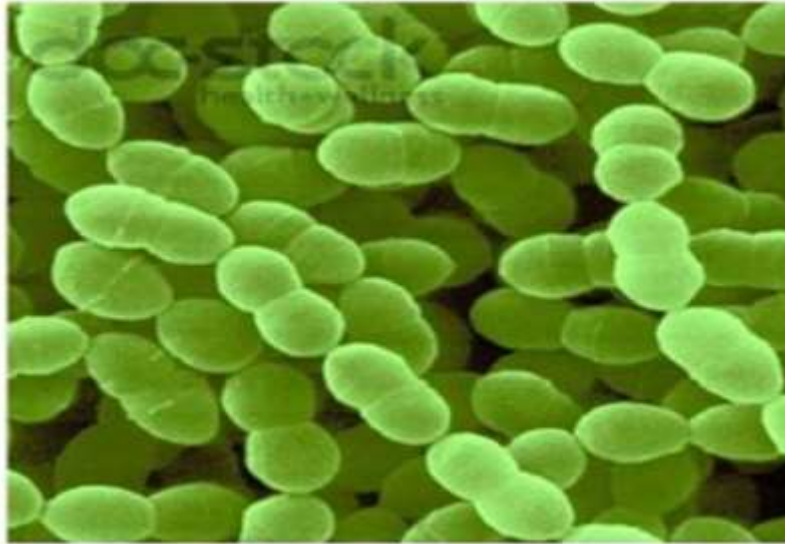


Figure 07 : *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique (Corrieu et Luqu et, 2008).

I. 4.4- Le genre *Bifidobacterium* :

Phylum: Actinobacteria

Classe : Actinobacteridae

Ordre : Bifidobacteriales

Famille : Bifidobacteriaceae

Genre : *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* (l'ancien nom étant *Lactobacillus bifidus*) est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal (flore intestinale des nouveau-nés). Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum Actinobacteria (anciennement Actinomycètes) (Zhang et Cai ., 2014).

Les bifidobactéries ont été découverts pour la première fois dans les fèces de bébés nourris au lait maternel par Tissier (1900), qui a isolé une bactérie avec une forme étrange et caractéristique en « Y » (**Zhang et Cai., 2014**). Ce sont des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage en G +C (46-67%). Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière en forme de V, X ou Y ressemblant à des branches mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leurs permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (**Axelsson, 2004 ; Pilet et al ., 2005**).

A l'heure actuelle, ils sont utilisés dans la fabrication du yaourt et produits laitiers fermentés (probiotiques). Leur présence entraînerait une protection contre les agents infectieux au niveau intestinal grâce à la présence d'un facteur bifidogène (**Søndergaard, 2005**).

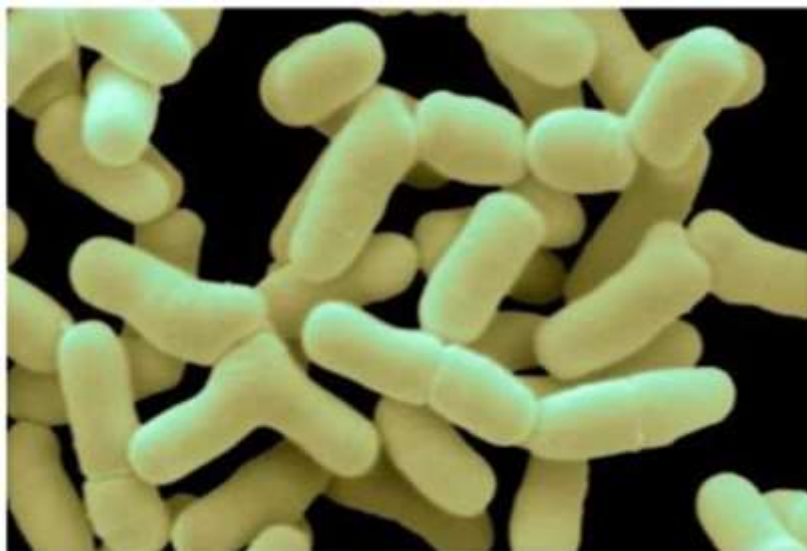


Figure 8: *Bifidobacterium sp* (**Wallace et al., 2003**).

I. 5. Application des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications (**streit et al, 2008**).

- **Dans le domaine thérapeutique : (Domaine Médicale) :**

Les bactéries lactiques présentent des effets nutritionnels et thérapeutiques car elles enrichissent le milieu ou elles se trouvent en vitamines (B et K), acides aminés, composé organiques (acide lactique et acétique), enzyme (lactase) et bactériocines responsable de l'inhibition des bactéries pathogènes (**Soomro et al., 2002**).

Ils ont des effets santé inclus dans le cadre d'effet probiotique comme l'amélioration de la digestion de lactose, la réduction du cholestérol sérique et dé-conjugaison des sels biliaires, la réduction du niveau de substances carcinogènes, utilisation dans l'élaboration des vaccins (**Clavez et al .,2009**), et inactivation de composés toxiques ainsi que la stimulation du système immunitaire donc ces micro-organismes sont bénéfiques pour la santé de l'hôte (**Ninane et al.,2009**). Ce sont Metchnikoff et Tissier qui furent les premiers à déterminé dans leurs travaux des propositions scientifiques au sujet de l'utilisation probiotique des bactéries lactiques (**Lilly et Stillwell, 1965**).

L'expression < probiotique> dérivé de deux mots grecs ; <pro> et <bios> qui signifient en faveur de la vie, ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale (**Larpent, 1977**). Les principales espèces incorporées dans les produits probiotiques sont représentées dans le tableau 04.

Tableau 04: Principales espèces utilisées comme probiotiques (**Robinson, 2002**).

Lactobacilli	Bifidobacteria	Enterococci	Autres
<i>Lb. Acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. Plantarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>
<i>Lb. Casei</i>	<i>B. adolescentis</i>		<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>
<i>Lb. Rhmnosus</i>	<i>B. longum</i>		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	<i>B. breve</i>		<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Lb. Fermentum</i>	<i>B. lactis</i>		<i>Pediococcus acidilactis</i>
<i>Lb. Johnsonii</i>			<i>Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus</i>
<i>Lb. gasseri</i>			<i>Echerichia coli</i>

*Lb. Salivarius**Lb. Reuteri*

D'autres études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan et al., 2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El-Ghaish et al., 2011). Uehara et al., (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie (Uehara et al., 2006).

- **Dans le domaine de l'agriculture :**

Les bactéries lactiques sont utilisées comme agents biologiques de conservation du fourrage par fermentation acidifiante. L'utilisation des bactéries lactiques dans les ensilages, permet de limiter ou d'inhiber certaines voies métaboliques indésirables telles que l'acétogénèse et la protéolyse, conduisant à l'amélioration de la qualité nutritive du fourrage. Ainsi, on a pu observer chez le bétail une augmentation de 5 à 11 % des performances zootechniques telles que la digestibilité, le gain de poids ou la production laitière (salawu et al, 2001 ; khuntia et chaudhary, 2002).

L'étiologie des effets bénéfiques engendrés par les souches lactiques dans les ensilages reste encore très peu élucidée mais des équipes suggèrent un effet probiotique affectant favorablement l'écosystème et le pH ruminal (Weinberg et al, 2004 ; Gollop et al, 2005).

- **Domaine alimentaire :**

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conservation d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : saucissons, les laits, fermentés et les fromages représentent des produits fabriqués à partir de matières premières d'origine animale, tandis que la choucroute, les olives et certains vins (fermentation malolactique) sont des exemples de transformation de matière première d'origine végétale. L'industrie laitière est sans doute, le plus grand consommateur de ferments lactique commerciaux, pour la production de laits fermentés, fromages, crèmes et beurres (Daly et al ,1998 ; Hugenholtz et al, 2002 ; Axelsson, 2004 ; Streit et al, 2008).

Pour les laits fermentés, l'acidification provoque la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la formation du caillé. Selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé : kéfir) pour obtenir une consistance déterminée ; l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides et de mannitol (**Satura et Federighi, 1998**).

La production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que l'acétoïne, le diacétyl et l'acétaldéhyde ou l'éthanol sont responsables des saveurs caractéristiques (**Boudjema, 2008**). L'immense variété des fromages est en partie relative à une grande variété de souches employées dans leurs fabrications, modifiant ainsi le goût et la texture de ces produits. En effet les bactéries lactiques sont responsables de l'apparition de qualités organoleptiques souhaitables de ce produit transformé, en plus de sa protection et sa conservation (**Van de Gudite et al, 2002**).

En fromagerie, les lactobacilles sont aussi utilisés pour la préparation de pâtes dures ou semi-dures typiques des fromages suisses et italiens (**Alice et Sanchez-Rivas, 1997**). Ces espèces participent dans l'affinage des fromages par leur activité protéolytique, et la formation d'arômes qui en résulte (**Lane et al, 1996 ; Lynch et al, 1996**).

Les bactéries lactiques constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments, du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles (**Caridi et al., 2003**). En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes comme des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du dioxyde de carbone, de la reutéline, du diacétyl et des bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009**).

Le peroxyde d'hydrogène, produit en présence d'oxygène, s'accumule en l'absence de catalase ; son pouvoir oxydatif provoque l'oxydation des lipides et la libération des acides nucléiques (**Bloch, 1991**). Le dioxyde de carbone, formé au cours de la fermentation hétérolactique, crée un environnement anaérobie qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies (**Eklund, 1984**). Les acides organiques élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber les levures, des moisissures et des bactéries. En diffusant à travers les couches lipidiques de la membrane bactérienne, ils provoquent un abaissement du PH interne par libération de protons, déstabilisant ainsi le fonctionnement de la cellule bactérienne (**Booth, 1985**).

Certaines souches de bactéries lactiques produisent des bactériocines à spectre d'action plus ou moins large comme la nisine et la lactostrepcine produites par *Lc. lactis*, la diplosine par *Lc. cremoris*, la plantaricine par *Lc. plantarum*, la mesentérocine et la leucocine produites par *Lc. mesenteroides* (Piard et Desmazeaud, 1992 ; Piard et al., 1992 ; Vandenberg, 1993 ; Corbier et al., 2001). La production de ces peptides biocides peut présenter un intérêt dans la lutte contre des bactéries à Gram positif d'altération ou pathogènes (Edima, 2007).

Tableau 05 : Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaire (Caplice et Fitzgerald, 1999).

Produits	Pays	Microorganismes	Substrats
Pain			
Pain	International	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , autres levures, et <i>BL</i>	Blé, riz et autres céréales
	San Francisco	<i>Lb. Sanfrancisco</i>	Farine de blé
Produits laitiers			
fromages	International	<i>Lc.lactis</i> , <i>sc.thermophilus</i> , <i>Lb.shermanii</i> et <i>Lb.bulgaricus</i> , <i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Penicillium spp.</i>	Lait de vache, chèvre, ou brebis
Lait fermenté		<i>Lb.acidophilus</i>	Lait de vache
Cheddar		<i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i>	Lait
Suisse		<i>Lb (delbrueckii, bulgaricus</i> <i>, helveticus)</i>	Lait
Yoghourt	Internationale	<i>Sc. thermophilus</i> , <i>Lb,</i> <i>bulgaricus</i>	Lait
Kéfir		<i>Lactococcus</i> , Levure, <i>Lb. Kéfir</i>	Lait de vache de jument ou de chèvre
Produit végétaux			
Bongkrek	Indonésie	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Noix de coco
Gari	Afrique de	<i>Corynebactérium</i> <i>manihot</i> ,	Racines de manioc

	l'ouest	autres levure, et <i>BL</i> (<i>Lb.plantarum</i> , <i>Streptococcus spp.</i>)	
Idli	Sud de l'inde	<i>BL</i> ,	Riz et black gram dhal
Kenkey	Ghana	Inconnu	Maïs
Kimchi	Corée	<i>BL</i>	Chou, noix
Mahewu	Afrique du sud	<i>BL</i>	Maïs
Ogi	Nigeria	<i>BL</i> , <i>Cephalosporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium spp</i> , <i>saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida mycoderma</i> , <i>C.valida</i> , ou <i>C.vini</i>	Maïs
Sauce de soja	Japon, chine, Philippines	<i>Aspergillus oryzae</i> ou <i>A.soyae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Soja et blé
Tempch	Indonésie	<i>Rhizopus oligosorus</i>	Soja
Nan	Inde	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>BL</i>	Farine
Olives	Méditerranée	<i>Lb.plantarum</i> , <i>Mesenteroides</i>	<i>Leuc.</i> Olives vertes
Choucroute	Europe	<i>Lc. lactis</i> , <i>Leuc.mesenteroide</i> . <i>Lb.</i> (<i>brevis</i> , <i>plantarum</i> , <i>curvatus</i> , <i>sakei</i>)	Choux
Produits carnés et de la pêche			
Viandes et saucisses	Europe (sud et centre, U.S.A)	<i>BL</i> (<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i>)	Viandes de bœuf et volailles
Fermentées		<i>Staphylococcus</i> , <i>autre BL</i>	
Poissons		<i>Lb.</i> (<i>plantarum</i> , <i>casie</i>), <i>Cb.</i> (<i>piscicola</i> , et <i>divergens</i>)	Poisson
Izushi	Asie	<i>Leuc. mesenteroïdes</i> , <i>Lb.</i> <i>Plantarum</i>	Poisson, riz, légumes

II. Les bactéries lactiques des végétaux (Fruits et légumes) :

Les aliments d'origine végétale occupent une place importante de notre alimentation. Ils sont riches en nutriments essentiels tel que les minéraux, les vitamines, les fibres et les composés phénoliques (**Desalme et al., 2004**). Aussi, un grand nombre de microorganismes différents peuplent les surfaces des fruits et des légumes, incluant des bactéries à Gram positif et négatif, des levures et des moisissures dominants, et des bactéries lactiques qui ne représentent qu'une toute petite partie de la flore microbienne mais qui constituent le pilier de la fermentation spontanée (fermentation lactique) lorsque les conditions (température, nutriments, eau) deviennent favorables (**Di cagno et al., 2013**). En effet, elles sont caractérisées par une croissance et une acidification rapide, inhibant la croissance des bactéries à Gram négatif et les levures, ce qui permet d'allonger la durée de conservation des aliments. De plus, avec la production de composés antimicrobiens, les bactéries lactiques constituent également de potentiels candidats pour la bio préservation de fruits et de légumes (**Fessard., 2017**).

La fermentation lactique est utilisée par l'homme depuis l'antiquité dans le but de conserver les aliments facilement périssables mais aussi d'apporter de nouveaux goûts, des arômes et de la texture. Les premiers aliments végétaux fermentés étaient à base de céréales et de fruits. La fermentation alcoolique de l'orge en bière et des raisins en vin remonterait entre 6000 et 1700 ans avant JC en Mésopotamie et en Egypte (**Paul Ross et al., 2002**). A l'époque, les aliments fermentaient naturellement, sans aucune maîtrise du processus de fermentation ni la connaissance des microorganismes impliqués dans le processus de fermentation, mais l'apparition plus tard de la connaissance de ces microorganismes, a permis une croissance exponentielle dans la production et la commercialisation d'aliments fermentés. Ainsi, différents types d'aliments fermentés ont vu le jour et restent aujourd'hui encore, largement consommés et très appréciés par le consommateur qui est toujours à la recherche de nouveaux aliments et boissons à haute valeur nutritionnelle, faciles et rapides à consommer. Pour répondre à ces attentes, la fermentation lactique de végétaux, plus précisément de fruits et légumes est en pleine voie d'expansion. Les effets bénéfiques sur la santé des aliments fermentés sont de plus en plus étudiés ; une partie de ces effets résulte de l'action des microorganismes responsables de la fermentation sur notre organisme, l'autre partie résulte des métabolites produits pendant la fermentation. (**Gest., 2004; Fessard., 2017**).

La caractérisation des espèces de bactéries lactiques présentes à la surface des fruits et des légumes représente une étape importante, d'une part pour la recherche de starters pour la fermentation de fruits et de légumes et d'autre part pour la recherche de cultures pour la biopréservation d'aliments à base de végétaux. En effet, L'utilisation de starter autochtone pour la fermentation de fruits et de légumes s'est intensifiée ces dernières années car les souches autochtones seraient génétiquement plus adaptées à la matrice que des souches allochtones. Cette hypothèse n'est pas encore confirmée pour toutes les espèces de bactérie lactique. De plus, cet effet peut être contrebalancé par l'état physiologique de la souche au moment de l'inoculation dans la matrice (culture liquide, culture lyophilisée) (**Fessard., 2017**).

Les bactéries choisies doivent ainsi répondre à plusieurs critères technologiques, organoleptiques, sanitaires et nutritionnels (**Fessard., 2017**). Parmi les bactéries lactiques utilisées, *Lb. plantarum* et *Lb. pentosus* sont les principales espèces commercialisées en tant que starter pour la fermentation de fruits et de légumes (**Tamang et al., 2016**).

II. 1. Les Fruits :

Selon l'AOC (2016), la définition commune du fruit, c'est un aliment végétal plus ou moins sucré, généralement consommé en dessert. Cette définition est à distinguer de la définition botanique car bien que certains fruits dans le sens courant soient effectivement des fruits dans le sens botanique, ce n'est pas toujours le cas et vice-versa. Ainsi, du point de vue botanique, les fruits sont les organes comestibles des plantes à fleurs, contient les graines et succèdes aux fleurs (pomme, poires, mangues immatures, citrons, banane) (**Keopaseuth et al, 2008**).

La composition principale des fruits est représentée par une teneur élevée en glucides, le plus souvent du fructose mais aussi de saccharose ou de glucose et plus rarement d'amidon. Un fruit apporte également de l'eau, des vitamines (vitamine C dans les fruits acides : agrumes, groseilles, cassis, fraises, et le bêta carotène dans les fruits colorés : abricots, pêches, myrtilles, cassis), peu d'oligo-éléments dans les fruits (riche en potassium et pauvre en sodium), et des fibres représentées à part égale par la cellulose, lignine, hémicellulose et sont riches en matières pectiques (**Dupin et al., 1992**).

Les fruits ont récemment suscité un grand intérêt, dans l'isolement de bactéries lactiques à effet probiotique, ayant aussi un rôle industriel dans la fermentation des végétaux et des jus de fruits. Les exemples des travaux de recherches concernant les différentes souches lactiques caractérisées sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau 06: Bactéries lactiques isolées à partir de fruits.

Bactéries lactiques impliquées	Type de fruit	Références
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Tomate, Câpres, Ananas, Prunes, Kiwi, Cerise, papayes.	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Plenghvidhya et al., 2007 ; Di Cagno et al., 2008a, 2008b, 2010a, 2011a, 2011b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus paraplantarum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Tomate, Agrumes, Banane	(Emerenini, et al., 2013)
<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>	Pêches	(Chen Y-S et al., 2013)
<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Lc. Lactis</i>	Olive	(Montet D et al., 2014)
<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb curvatus</i> , <i>Lc.citreum</i> , <i>Pc. Pentosaceus</i> .	Pousses de bambou	(Tamang JP et al., 2016)

➤ Exemples des fruits étudiés:

- **Les oranges** (*Citrus sinensis*, orange douce), sont de forme et couleur variables, oblongue à sphérique, du jaune verdâtre terne à l'orange foncé brillant, à maturité. Leur taille est également très variable, de quelques dizaines de g à plusieurs kg selon les espèces et les variétés (Praloran, 1971). Sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées (Duan et al., 2014).

Les oranges sont les plus consommées en raison de leur bonne saveur, leur valeur nutritive élevée et leur composition riche en molécules bioactives (plus de 170 composés phytochimiques sont décrits). Elles sont consommées comme dessert (fruit frais ou cuit), confiture ou jus (Lagha-Benamrouche et al., 2018). L'orange est riche en eau (plus de 85%). Cette eau de constitution contient, sous forme dissoute, la plupart des éléments nutritifs ; Elle contient 23 éléments nutritifs essentiels, y compris le sucre de fruits, fer, phosphore, et la vitamine B1, B2, B3, contient également des protéines, de l'acide citrique et du calcium. La richesse de l'orange en vitamine C la met en tête des aliments protectifs et guérissant car elle aide à fixer le calcium sur les os, et évite l'apparition de maladies tel que le « Scorbut » et le « Barlow » (Sabri, 1980).

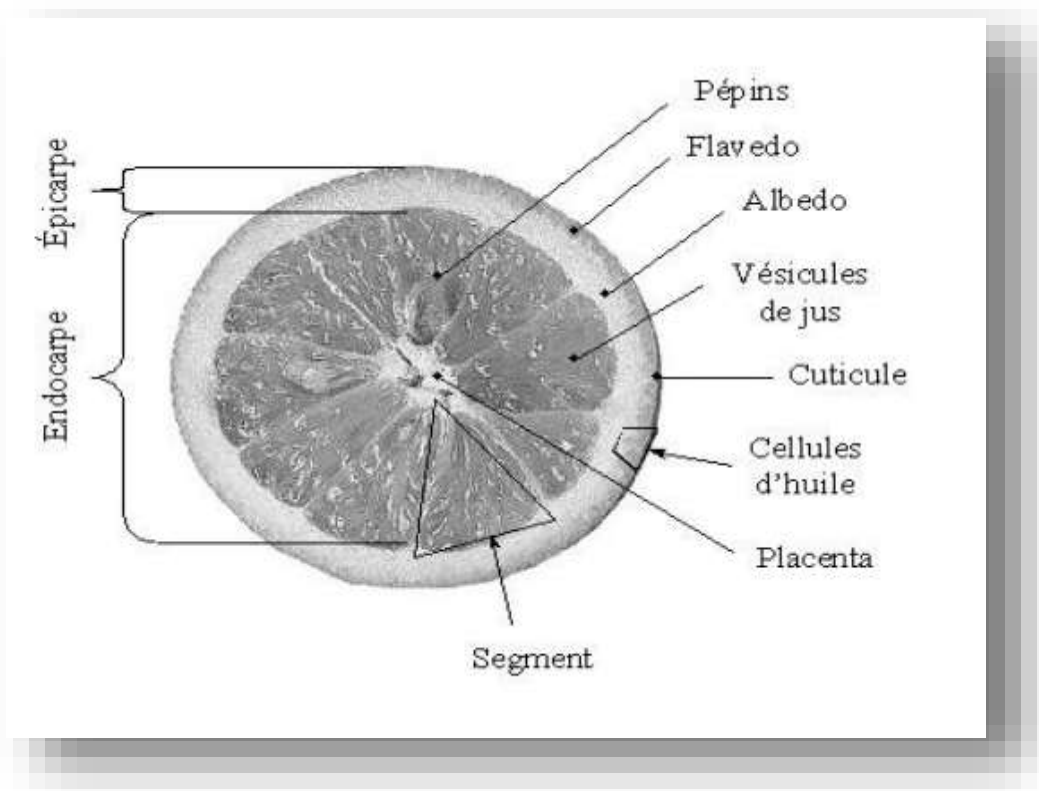


Figure 09 : coupe transversale d'orange (Bâches, 2011).

• **Les Dattes:** la datte fruit du palmier dattier, c'est une baie, de forme généralement allongée. Sa dimension varie de 1,5 à 8 cm de longueur et son poids varie de 2 à 20 g. Sa couleur va du blanc jaunâtre au sombre très foncé presque noir, en passant par les ambres, rouges et bruns. La datte contient une seule graine dite "noyau", la partie comestible de la datte, est dite "chair" ou "pulpe", (Bessas, 2008). La datte constitue un excellent aliment, de grande valeur nutritive et énergétique possède aussi quelques propriétés médicinales par exemple étant riche en fibres ce qui facilitent le transit intestinal et exerce un rôle préventif des cancers colorectaux, des appendicites, de la diverticulose, des varices et des hémorroïdes. Elle a également un effet hypocholestérolémiant (Albert, 1998).

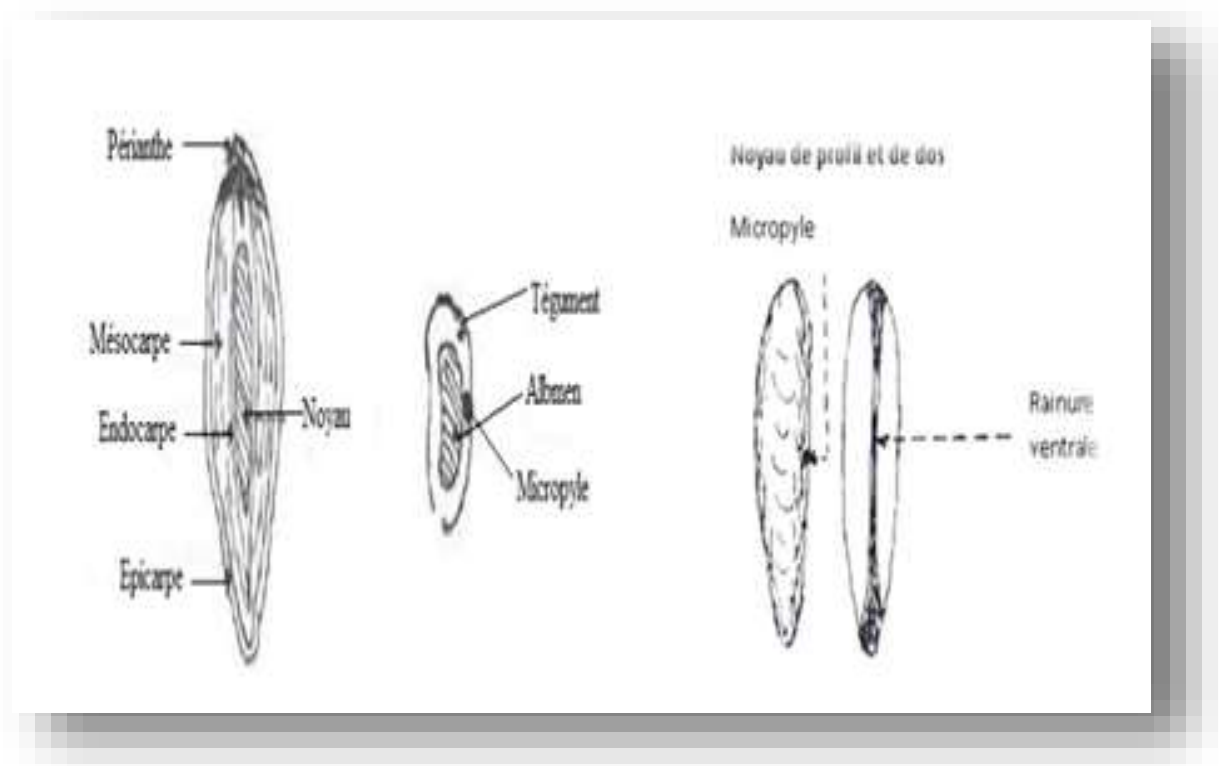


Figure10: Schéma datte et son noyau du palmier dattier d'après (Belguedj, 2001).

- **Les fraises :** (*Fragaria x ananassa*), sont des plantes herbacées appartient à la famille des Rosacées (da Silva Pinto et al., 2008). Elle est considérée comme un fruit mous périssables présentant une durée de conservation post-récolte extrêmement courte, en raison de la faible résistance mécanique et de la sensibilité élevée à l'attaque des

pathogènes. Ce fruit est très saisonnier et sa disponibilité est très étroite dans l'année (Giampieri et al., 2012).

La structure de la fraise comporte de nombreux petits carpelles individuels (akène), portés sur un réceptacle hémisphérique ou conique qui s'accroît jusqu'à devenir à la maturité une masse pulpeuse, juteuse, délicieuse au goût (Hebbache et al., 2013). Elle est très riche en eau 90% et relativement peu chargée en glucide (Garcia et al., 2002). De plus, elle est peu calorique, aussi riche en vitamine, la plus intéressante est la vitamine C qui intervient dans les grandes fonctions de l'organisme, ainsi que les vitamines de classe B (B8 biotine qui joue un rôle contre la chute des cheveux, B9 acide folique qui agit sur la croissance et la division cellulaire) de plus un apport en oligo-éléments et macronutriments, (Souci et al., 1981). Elle figure parmi les fruits les plus riches en fibres ses petits grains étant composés de pectine et de cellulose ces fibres bénéfiques pour le transit et le fonctionnement du système digestif (Souci et al., 1981). Elle est également une bonne source de composés antioxydants, tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques (Rebeaud et al., 2017).

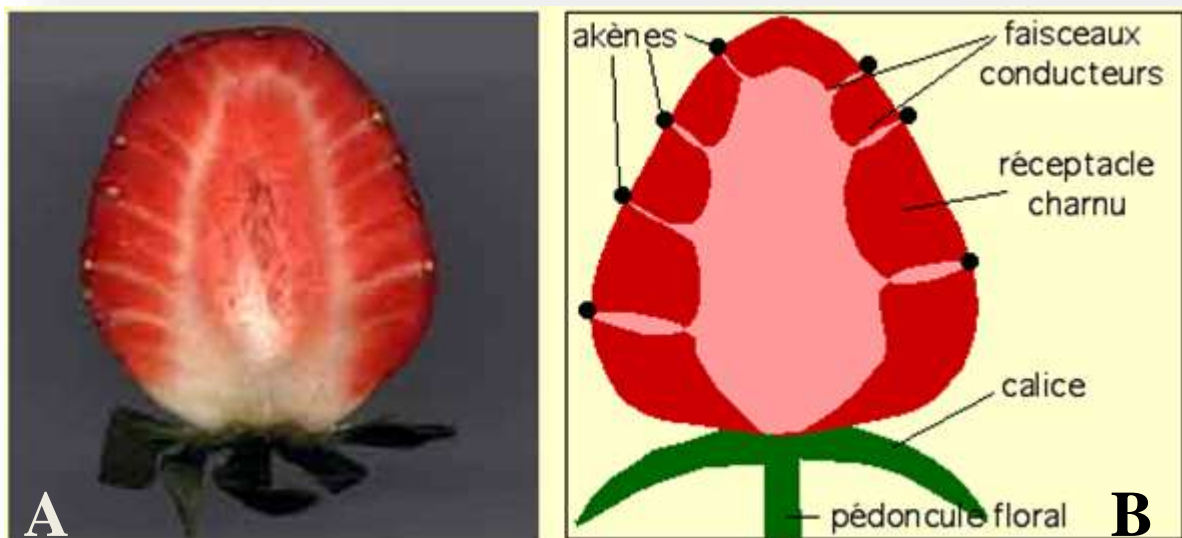


Figure 11 : (A) vue générale d'une coupe longitudinale de fraise ;(B) schéma explicatif.
(Anonyme I, 2018).

II. 2. Les Légumes :

Dans le langage courant, le légume est la partie d'une plante herbacée qui se consomme, cette partie peut être les graines, les feuilles, les fruits, les tiges ou les racines pour l'OAC. En botanique le terme légume désigne le fruit des légumineuses, c'est-à-dire la gousse (**Keopaseuth et al., 2008**). Or, les légumes peuvent être classés en différentes catégories: Les légumes-racines (carottes, navets, betterave, radis, céleri, patate douce, pousses de bambou); Les légumes-fruits (concombres, olives, tomates, poivrons, gombo, les pois verts), et Les légumes-feuilles (chou, chou-fleur, brocoli, feuilles de moutarde, épinard, laitue) (**Keopaseuth et al., 2008**). Les légumes se caractérisent par une teneur très importante en eau (90%). La teneur en glucides est modérée de 1 à 6% pour les parties aériennes des plantes (salades, épinards, courgettes, tomates) et 9% pour les racines (carottes, céleri) (**Martin, 2001**). Un apport important d'oligoéléments: le potassium et le calcium (surtout dans les choux), du magnésium, du fer et du cuivre (légumes à feuilles type épinard), du soufre (choux, oignons, ail, poireaux, navets, radis) et de nombreuses autres matières minérales. Les légumes sont riches en vitamines hydrosolubles : vitamine C (choux, légumes à feuilles, tomates), provitamine A ou bêta-carotène (partie colorée des plantes : légumes à feuilles vertes, carottes) et vitamines du groupe B (**Ciquel, 1995**). Les fibres des plantes se composent surtout de cellulose, d'hémicellulose et de matières pectiques. La pomme de terre se distingue par un apport plus important en amidon (20%) et une teneur en vitamine C assez faible surtout après quelques mois de conservation (**Ciquel, 1995**).

Le tableau suivant détermine les différentes souches de bactéries lactiques ayant été isolées à partir de différents types de légumes par différents chercheurs:

Tableau07 : Bactéries lactiques isolées à partir de légumes.

Bactéries impliquées	lactiques	Type de légume	Référence
<i>Lactobacillus plantarum</i>		Courges, Carottes, Concombres, Abergines, Betteraves rouges, Fenouils, Choux.	(Sánchez et al., 2000 ; Tamminen et al., 2004 ; Plenghvidhya et al., 2007 ; Di Cagno et al., 2008b, 2008a, 2010a, 2011a, 2011b ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus pentosus</i>		Aubergines, Concombre	(Sánchez et al., 2000; Tamminen et al., 2004 ;)

		Di Cagno et al., 2011a ; Pulido et al., 2012)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Haricot vert, Betteraves rouge, Aubergine.	(Offonry et Achi, 1998 ; Sánchez et al., 2000 ; Seseña et Palop, 2007 ; Di Cagno et al., 2008 ; Pulido et al., 2012)
<i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Pc. cerevisiae</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. Buchneri</i>	Oignon rouge	(Tamang JP et al., 2016)
<i>Lb. brevis</i> , <i>Pc. pentosaceus</i> , <i>Lb. plantarum</i> ,	Chou, radis, moutarde, chou-fleur	(Tamang B, Tamang JP, 2010)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Jus de (carotte, haricots verts, courgette)	(Di Cagno R et al., 2008)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		
<i>Pediococcus pentosaceus</i>		
<i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i>	Aubergines	(Sánchez I et al., 2000)
<i>Leuconostoc citreum</i> , <i>Lc. carnosum</i> , <i>Lc.gasicomitatum</i> , <i>Lc. gelidum</i> , <i>Lc. inhae</i> , <i>Lc. kimchii</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> , <i>W. koreensis</i> , <i>Lb.curvatus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb.sakei</i>	Chou chinois, radis, gingembre etc.	(Cho J et al., 2006)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Jus de concombre	(Z Lu et al., 2001)

➤ Exemple des légumes étudiés:

- **Le chou blanc:** (*Brassica oleracea*): appartenant au groupe des légumes-feuilles plante comestible de la famille des Brassicacées, sont une importante famille de plantes dicotylédones et essentiellement herbacées. Il s'agit d'une plante crucifère dont les feuilles formant une tête compacte ou (pomme), Ce sont des plantes représentées dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. (Adjélé Eli Wilson, 2011). Les choux sont pour l'essentiel commercialisés à l'état frais et entier, pour

être consommé crus ou cuits. Une partie de la production (20 à 25 %) est destinée à des transformations industrielles, la plus courante est la production de choucroute (**Pitrat, 2003**).



Figure12 : chou-blanc (**anonyme II, 2017**).

- **Tomate**: La tomate est issue d'une une plante annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes, appartenant au groupe des légumes-fruits. Elle est aromatique lorsqu'on la froisse. Cette plante potagère herbacée voit sa taille varier de 40 cm à plus 5 m selon les variétés et le mode de culture (**Dumortier ,2010**). La tomate en tant que fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés (**Shankara et al., 2005**). Elle appartient à la famille des Solanaceae, cette famille regroupe d'autres espèces qui sont également bien connues, telles que la pomme de terre, le tabac, le poivron et l'aubergine (**Shankara et al., 2005**). La classification de la tomate se base essentiellement sur le type de croissance, la nature génétique, la forme et la grosseur des fruits, le nombre moyen de loges par fruits, la résistance aux maladies et la qualité

commerciale et industrielle de la variété (Kolev, 1976). La consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré, ils sont riches en minéraux, en vitamines, en acides aminés, en sucre ainsi qu'en fibres alimentaires. Les tomates rouges contiennent du lycopène, un anti-oxydant qui contribue possiblement à la protection vis-à-vis des substances carcinogènes et que l'on retrouve à raison de 30 mg dans 200 ml de sauce tomate. Les tomates se consomment fraîches en salade, cuites dans des sauces, dans des soupes ou dans des plats de viande ou de poisson. Il est possible aussi de les transformer en purée, en jus et en ketchup (Naika et al., 2005).

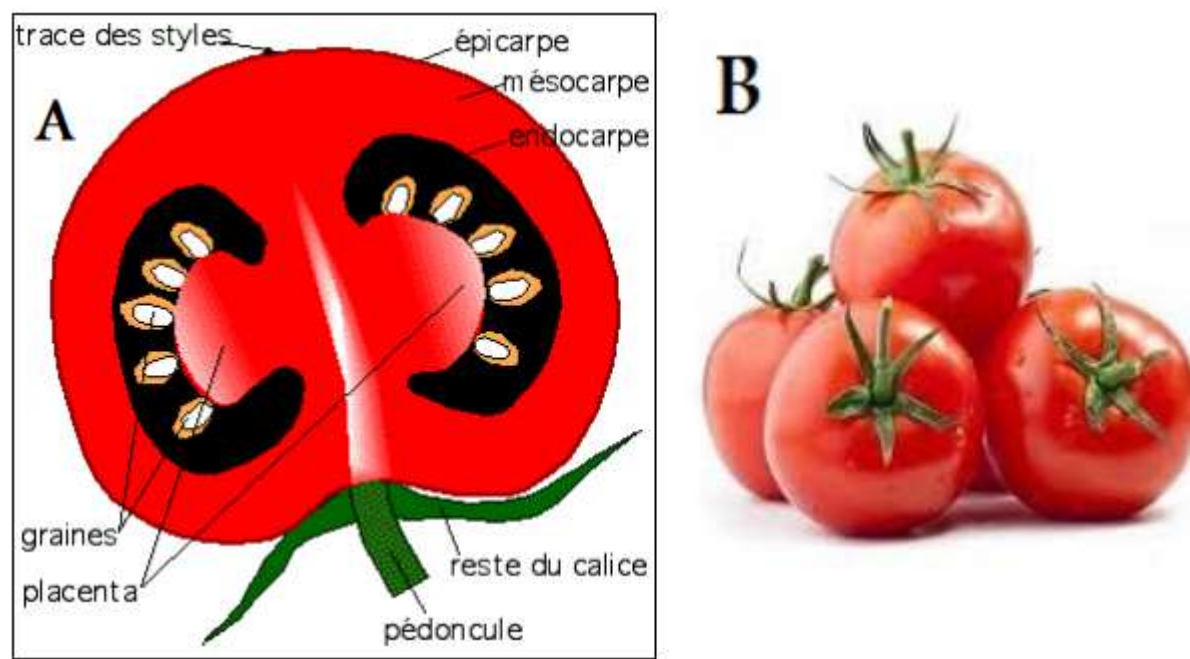


Figure 13 : section transversale d'une tomate (A) Fruit de tomate (B), (Doré et Varoqaux, 2006).

II. 3. Intérêts de la Fermentation lactiques des fruits et légumes :

Les fruits et les légumes se décomposent très rapidement, ils perdent ainsi plusieurs de leurs propriétés (couleur, odeur, apparence, texture). Pendant et après récolte, les végétaux peuvent subir différents types d'altération : physique, chimique, biochimique et microbiologique (De Bruyne, K et al. ,2008). A cause de leur faible durée de conservation, les fruits et les légumes sont, dans la plupart des cas, transformés afin de réduire les pertes de production. Les fruits et les légumes peuvent être transformés sous forme de jus, de confiture,

de purée, de concentré, de soupe, de salade, préparés en morceaux, hachés, en conserves ou séchés. Ces procédés ont pour but d'allonger la durée de conservation des fruits et des légumes et de les rendre disponibles à la consommation sur une période étendue (**Tiwari .U et al., 2013**).

La fermentation lactique, un procédé non thermique permettant de réduire les pertes nutritionnelles, mérite d'être exploité pour l'obtention d'aliments végétaux à haute valeur nutritionnelle. La fermentation lactique est un processus métabolique réalisé par les bactéries lactiques permettant de convertir les glucides de l'aliment en acide lactique ou un mélange d'acide lactique, d'acide acétique, d'éthanol et de CO₂. La production de ces composés permet d'allonger la durée de conservation en limitant la croissance des microorganismes contaminants et pathogènes. La fermentation lactique permet de mieux préserver les minéraux, les vitamines et les composés phénoliques, préservant ainsi les propriétés antioxydantes de l'aliment (**Dueñas M et al., 2005**).

Il a été démontré que la fermentation lactique d'une légumineuse (*Vignasinensis*) permettait d'augmenter la concentration de plusieurs composés phénoliques (acide gallique, acide vanillique, quercétine, acide férulique, acide hydroxybenzoïque) (**Björkroth, K.J et al., 2002**). La fermentation lactique permet aussi de mieux préserver la teneur en vitamine C, en glutathion, en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante de smoothies et de jus de tomate, de jus de grenade (**Osimani, A et al., 2015**), de jus de carotte, d'haricot et de courgette (**Magnusson, Jet al., 2002**) et de lait de soja (**Cho, J et al., 2006**).

Les aliments fermentés à base de végétaux sont consommés partout dans le monde, d'une part grâce à leur saveur et goûts uniques et d'autre part grâce à leurs effets bénéfiques pour notre organisme. Ils peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de leur composition.

Tableau 08 : Exemples de produits végétaux fermentés consommés dans le Monde.

Produit fermenté	Pays	Fruit/légume/légumineuse/végétal
Almargo	Espagne	Aubergine
Choucroute	Monde entier	Chou
Concombres	Europe, Etats-Unis	Concombre
Dhamuoi	Vietnam	Chou et autres légumes
Fu-tsai	Taiwan	Moutarde

Fufu	Nigéria	Manioc
Gari	Afrique de l'Ouest	Manioc
Gundruk	Népal, Inde	Chou, Radis, Moutarde, Chou-fleur
Jiang-gua	Taiwan	Concombre
Khalpi	Népal	Concombre
Kanji (boisson)	Inde	Racines de betterave
Kombucha (boisson)	Chine	Thé
Kocho	Ethiopie	False banana
Lafun	Nigéria	Manioc
Olive	Monde entier	Olives
Ogi	Nigéria	Mais, sorgo, millet
Sinki	Inde, Népal	Radis
Suan-tsai	Taiwan	Chou chinois, chou, Feuilles de moutarde
Tempoyak	Malaisie	Durian
Yan-taozih	Chine, Taiwan	Pêches
Yan-tsai-chin	Taiwan	Brocoli
Tursu	Turquie	Concombre, chou, tomates vertes, Poivrons verts et autres légumes

Méthodologie



1. Lieu et objectif d'étude:

La réalisation de cette étude a été faite au niveau du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abd Al-Hamid Ibn Badis (Mostaganem). Dans cette partie, les titres suivants vont être développés selon les différents travaux de recherches sélectionnés pour la réalisation de notre étude:

- Isolement des bactéries lactiques à partir de différents échantillons (légumes et fruits) (cette partie nous avant pu la réaliser du 20/02/2020 au 10/03/2020).
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques des isolats.
- L'identification phénotypique, physiologique, et biochimique des bactéries lactiques thermophiles et mésophiles

2. Matériel :

2-1. Provenance des échantillons utilisés :

Echantillons	Dattes; Orange; Fraise	Tomate; Chou blanc
Type	Fruits	Légumes
Provenance	Le Grand marché d'alimentation de la région Mostaganem	
Date d'achat	25/02/2020	



Figure 14: le Grand marché d'alimentation de la région de Mostaganem (*localisation par Google Maps*).

2.2. Milieux de cultures :

-Milieux **M17** (gélose et bouillon) préconisé par Terzani et sandine (1975) est employé pour la recherche des lactocoques.

-Milieu **MRS** (gélose et bouillon) de Man Rogosa et Sharpe est le plus connu pour la recherche et l'isolement des lactobacilles.

2.3. Appareillages :

Étuve ; PH mètre ; Bain marie ; Autoclave ; Réfrigérateur (-4°C) ; Congélateur (-20°C et -45°C) ; Vortex ; Balance de précision ; Centrifugeuse ; Agitateur et barreau magnétique ; Microscope optique (objectif à immersion) ;

2.4. La verrerie :

Tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon; lames; lamelle;

3. Méthode :

3.1. Isolement des bactéries lactiques :

- **Préparation de la solution mère et des dilutions décimales** : 25 g d'échantillon a été mélangé à 25 g d'eau peptonée tamponnée dans un sac de congélation stérile pendant 1 min. Des dilutions décimales jusqu'à 10^{-5} ont été préparées à partir de la solution mère : par une pipette Pasteur stérile, un volume de 1 ml de la phase aqueuse est pris et additionné aseptiquement à 9 ml d'eau peptonée tamponnée pour l'obtention de la dilution 10^{-1} . Ensuite, 1 ml de cette dernière est repris et additionné à 9 ml d'eau peptonée tamponnée pour réaliser la dilution 10^{-2} , et le processus a été répété ainsi jusqu'à l'obtention de la dernière dilution. (**Amandine fessard et al., 2016. identification, stress tolerance and antioxydant activity of lactic acid bacteria isolated from tropically-grown fruits and leaves**). Le protocole réalisé est représenté par la (**Figure15**).

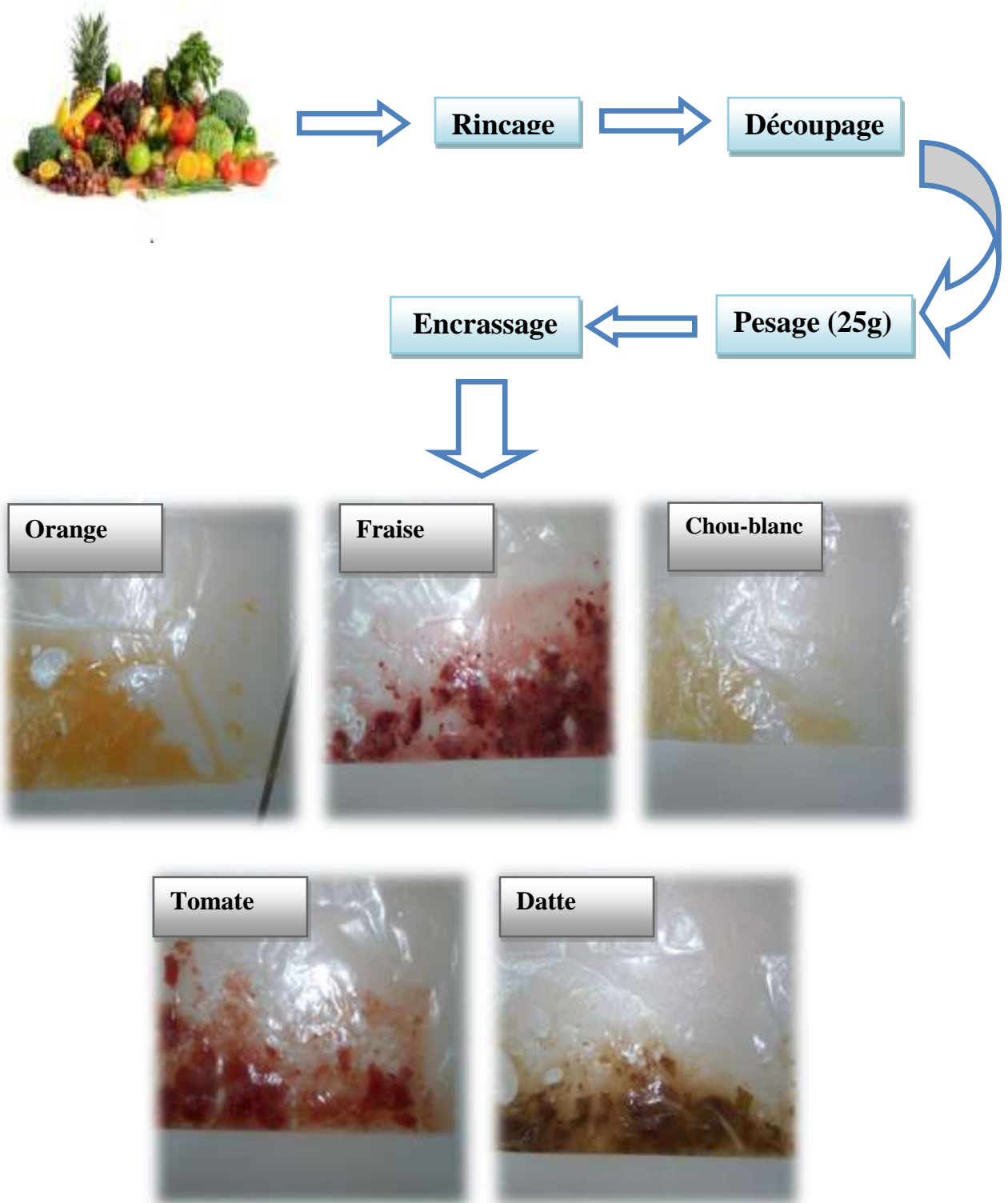


Figure 15: Préparation de la solution mère

- **Isolement des bactéries lactiques:** L'isolement a été réalisé sur gélose MRS, M17 préalablement coulées et solidifiées dans des boîtes de Pétri, en portant quelques gouttes des dilutions (0.1 ml) à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h en condition d'anaérobies ; après incubation, les colonies obtenues ont été sélectionnées après analyse macroscopique, coloration de Gram et test de catalase. Seules les colonies qui présentent un aspect typique des colonies de bactéries lactiques, et qui sont Gram + et catalase -, ont été prises en considération et ont servi pour le repiquage des tubes contenant le bouillon MRS ou M17 afin d'entamer leur purification par la suite. (Nehal et al., 2007).
- **Purification des isolats:** La purification des souches isolées a été réalisée par repiquages alternés et successifs sur milieux MRS et M17 (bouillon /gélose) jusqu'à l'obtention de colonies bien séparées. La pureté des souches est révélée par la présence sur gélose de colonies homogènes ayant le même aspect, la même couleur, la même taille et la même forme (Heleni et al., 2006; Guiraud., 2004). La pureté des isolats est estimée par observation microscopique après coloration de Gram et l'aspect caractéristique de la culture des bactéries lactiques en bouillon.
- **Conservation des isolats :**
 - **court terme :** la conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à +4°C, Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines (Saidi et al., 2004).
 - **A long terme :** A partir des cultures jeunes (18-48 h) sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation sur le culot. Le milieu de conservation contient du lait écrémé, 0,2% d'extrait de levure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes eppendorf à -20°C. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans le lait écrémé à 0,5% d'extrait de levure, avant utilisation (Saidi et al., 2004). Le protocole réalisé est représenté par la (Figure 16).

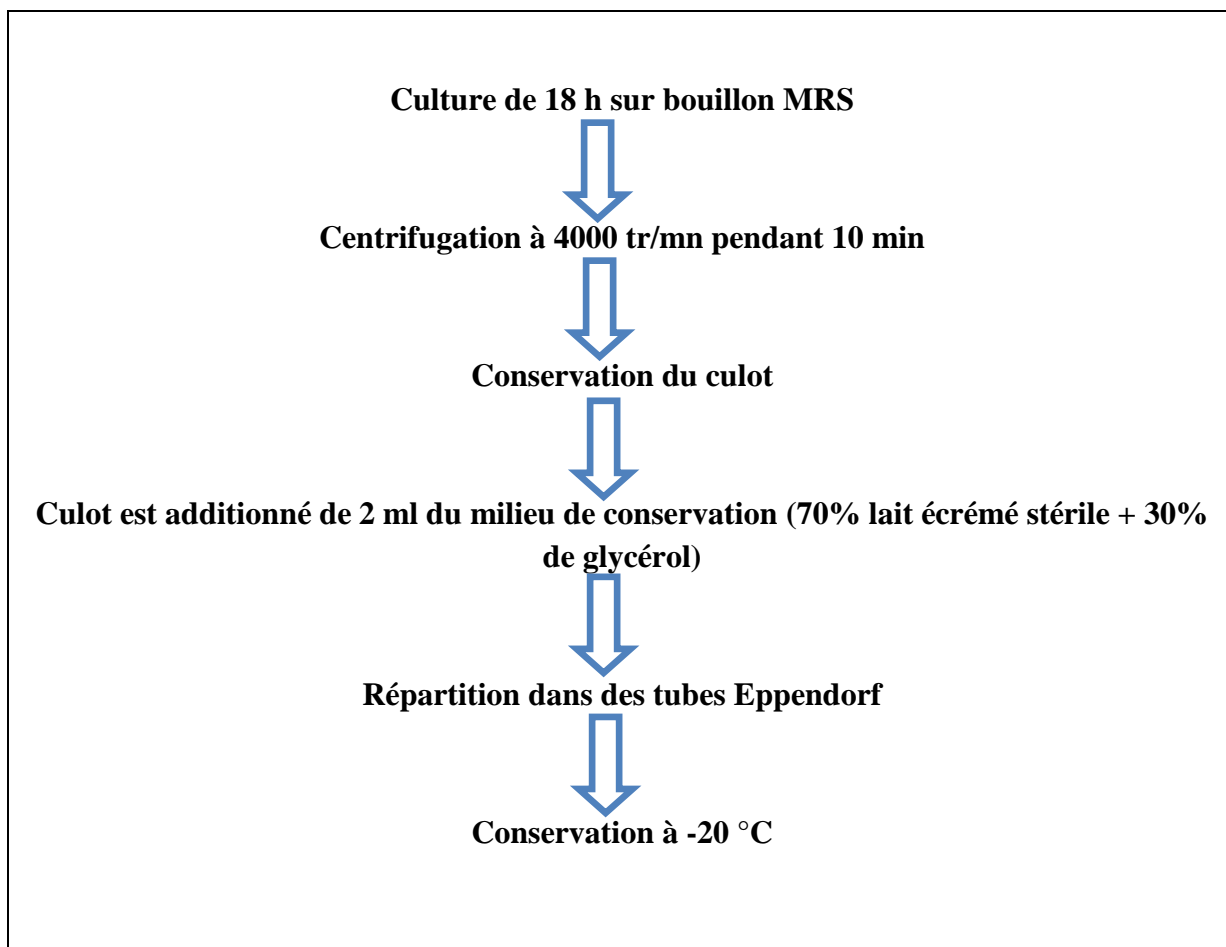
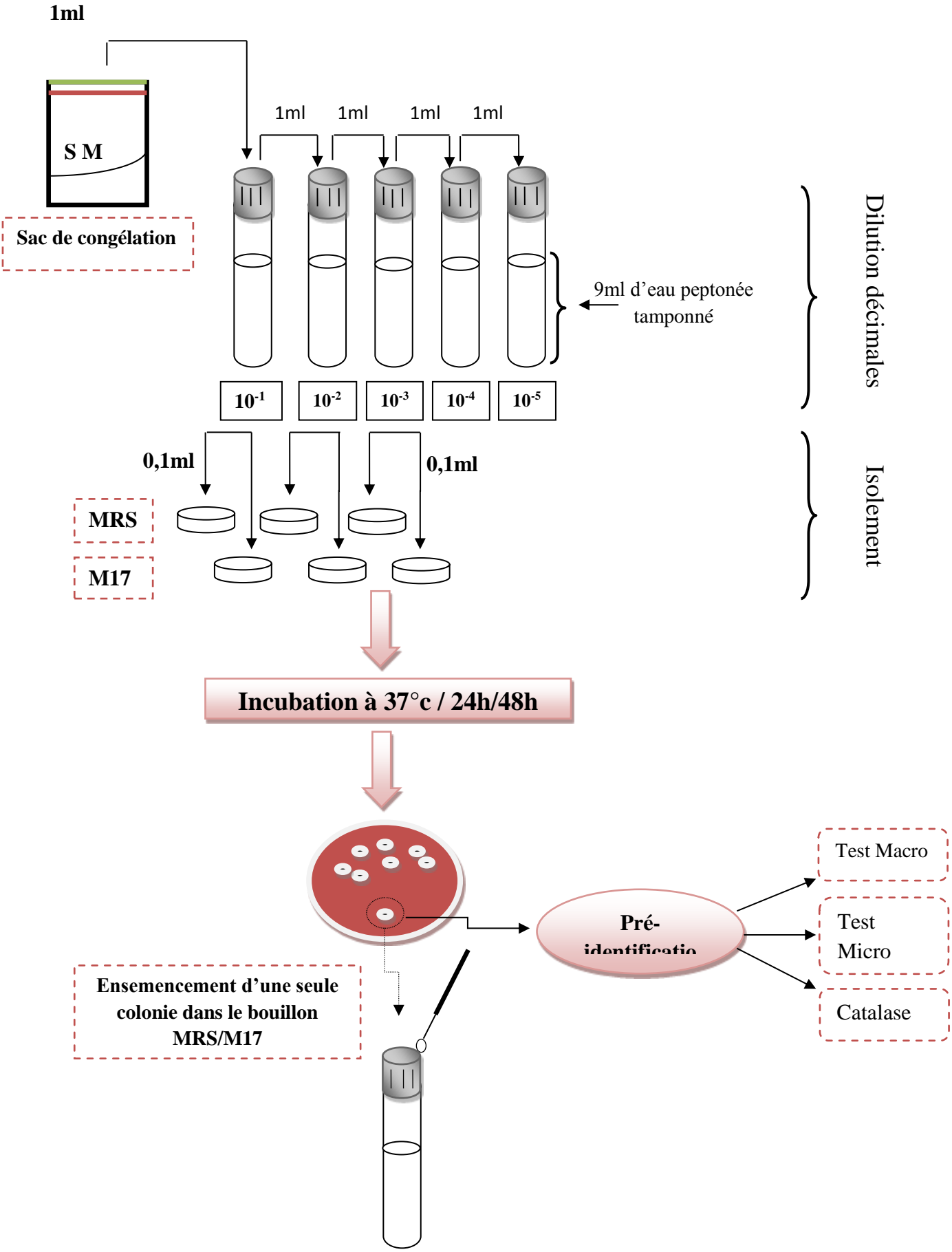


Figure 16 : schéma de conservation longue durée des bactéries lactiques purifiées (Saidi et al, 2002).



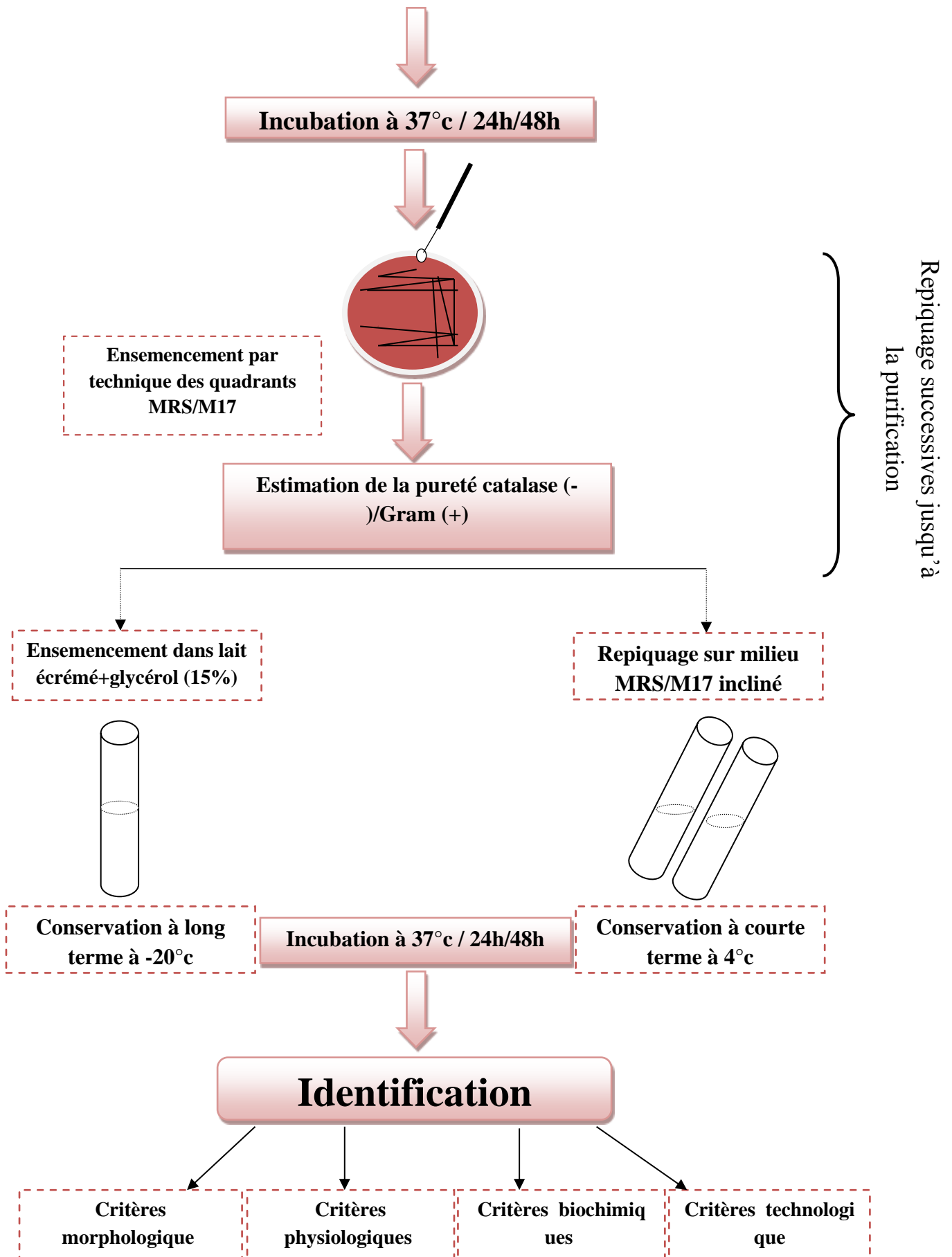


Figure 17 : schéma utilisé pour l'isolement et identification des bactéries lactiques.

3.2. Identification des souches

L'identification des souches sera basée sur la détermination des caractères phénotypique, physiologique, biochimique et technologique. La clé d'identification bactérienne par certains tests est représentée dans la (Figure17).

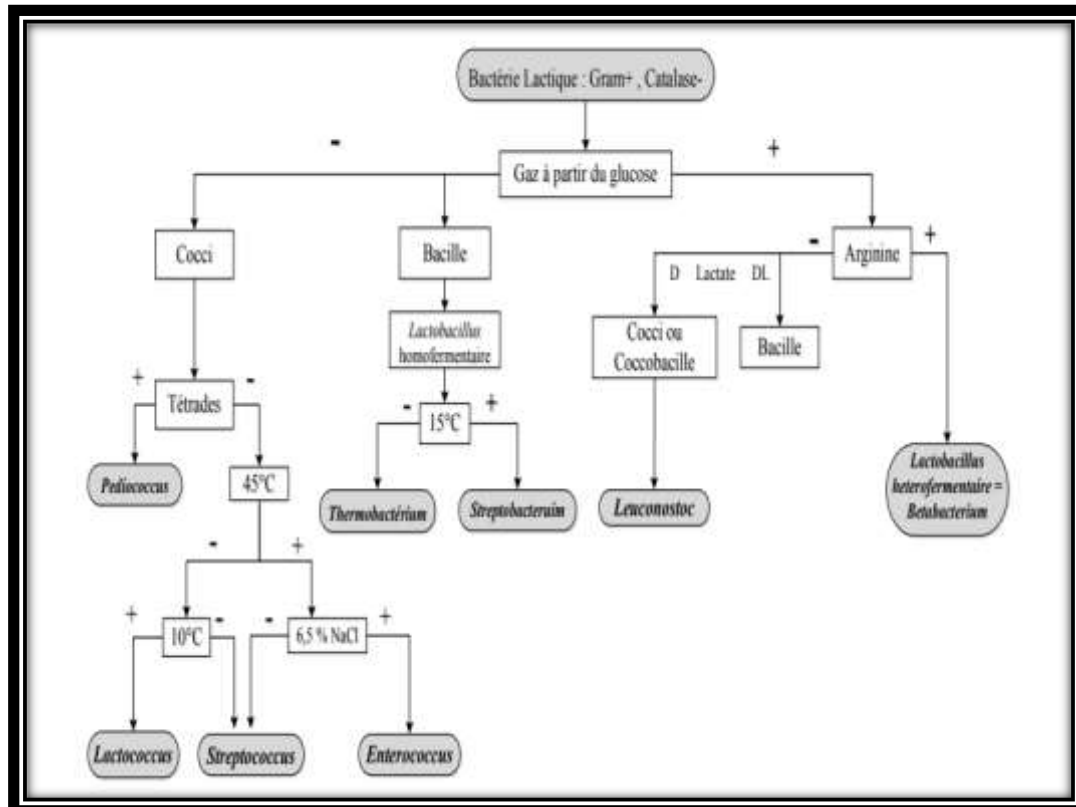


Figure 18: Clé d'identification bactérienne par certains tests (Carr et al., 2002).

3.2.1. Caractérisation phénotypique :

- **Examen macroscopique:** Cet examen permet l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu (MRS, M17) solide et liquide ; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies sur milieu solide et le trouble dans le milieu liquide (Badis et al., 2005).
- **Examen microscopique :** Ce test est effectué sur des frottis auparavant colorés par une coloration différentielle (coloration de Gram), qui permet de sélectionner les bactéries Gram+ et Gram-, et d'apprécier la forme et le mode de regroupement des cellules. La

coloration est faite selon la méthode classique (Annexe II), L'observation des cellules bactériennes est réalisée au microscope optique (G x100) (Guiraud et Galzy, 1980).

3.2.2. Caractérisation physiologiques:

- **Croissance à différentes températures et thermorésistante:** cette étape permet la mise en évidence de la croissance des isolats à différentes températures (04, 30, 37 et 45°C). dans des bouillons MRS (pH 6,8) et Le développement des souches était apprécié après une semaine d'incubation pour les cultures à 04°C et après 24 à 72 h pour les autres cultures, par comparaison avec un tube de milieu MRS liquide non ensemencé. L'apparition de trouble indique la croissance des souches (examen de la turbidité) (Larpent, 1996).
- **La thermorésistante des bactéries :** se fait après exposition des isolats au bain-marie à 63.5°C pendant 30 min puis ré-incubée à 30°C/24h à 48h (Guiraud., 2003).
- **Croissance à pH 4,4 / 4,9 et 9 / 9,6:** Ce test se fait par ensemencement des bouillons MRS et, dont le pH est ajusté au différents pH 4,4 /4,9 et 9/9,6, la croissance des bactéries est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes (Guessas et Kihal ,2006; Rouisset et Bensoltane, 2006).
- **La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl :**Généralement, les bactéries lactiques ne poussent pas dans des bouillons hyper salés, pour cela quatre milieux (MRS /M17) liquides contenant différentes concentration de NaCl : 1% de NaCl (1 g de NaCl par 100 ml de milieu), 2%, 3% et 6,5%, avec un pH de 6,5 sont généralement ensemencer par les souches tests(Carr et al., 2002).Le développement des cultures est apprécié par comparaison avec un tube témoin non ensemencé, après incubation à 37°C pendant 24 à 72 heures(Badis et al., 2005).

3.2.3. Caractérisation biochimiques :

- **Test de la catalase :** La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage. Sur une lame propre, déposer une goutte d'eau

oxygénée (10 volumes) puis ajouter une colonie bactérienne, une catalase positif est indiqué par le dégagement de bulles de gaz (Delarras. 2014).



Figure 19: Test catalase

- **Teste d'oxydase:** Ce test détecte un type particulier de chaîne respiratoire qui comporte enfin de chaîne un Cytochrome C et l'oxydase associée (Singleton, 1994). Placer sur une lame un disque oxydase commercialisé, imbiber le avec une goutte d'eau physiologique. Prélever une colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur, l'étaler sur le disque, Dans le cas de bactéries oxydase-positives, la coloration violet foncé apparaît immédiatement (Marchal et al., 1991).
- **Type fermentaire:** Ce test permet de discriminer les isolats lactiques homofermentaires des hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO₂) à partir du glucose. La culture des isolats est faite sur bouillon MRS modifié par suppression de citrate d'ammonium et d'extrait de viande et supplémenté de glucose et de la cloche de Durham. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, la production de CO₂ se traduit par une présence de gaz dans la cloche (Holzapfel et Gerber, 1983 ; Müller, 1990 ; Carr et al., 2002).
- **Croissance sur le lait bleu de Sherman:** Cette épreuve a pour but d'étudier l'aptitude des bactéries lactiques à pousser en présence de 0,1% et 0,3% du bleu de méthylène ainsi que leur capacité à le réduire. Seules certaines espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus* sont capables de se développer (Bekhouche, 2006).

- **Hydrolyse d'arginine (ADH):** Cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'arginine. Pour réaliser ce test, des tubes de bouillon Möeller avec arginine et sur un autre sans arginine (tube contrôle) sont inoculés par les isolats. Les tubes sont recouverts avec de l'huile de vaseline stérile. L'incubation est faite à 30°C pendant au moins 4 jours. Les souches possédant l'ADH vont acidifier le milieu en fermentant le glucose (virage au jaune). Cette acidification favorise l'activité de l'arginine dihydrolase qui va dégrader l'arginine et libérer l'ammoniac d'où virage de la couleur au violet (**Gelman et al., 2000**).
- **Hydrolyse de l'esculine:** L'hydrolyse de cet hétéroside est mise en évidence sur le milieu gélosé à l'esculine. le test consiste à inoculer le milieu à partir d'une culture de 24 h. après une incubation à 30°C pendant 24 h à 48h, une réaction positive se traduit par un noircissement du milieu due aux sels ferriques solubles et l'esculetine. Pour les bactéries négatives, le milieu reste inchangé mais il ya croissance (**Devoyod et Poullain, 1988 ; Larpent-Gourgaud et al., 1997**).
- **Test mannitol-mobilité:** La mobilité des bactéries repose sur l'ensemencement de la souche par piqure centrale d'un milieu semi-solide. L'incubation est réalisée durant 24h à 30°C. La gélose semi solide mannitol mobilité permet de vérifier la mobilité des souches (**Guiraud., 2003**). La fermentation du mannitol se traduit par virage de la couleur du milieu du rouge au jaune. Les bactéries mobiles se déplacent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble dans le milieu, alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement (**Gerhardt et al., 1994**).
- **Profil fermentaire (fermentation des sucres):** Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers substrats carbonés en particulier les sucres. Ce test est réalisé en ensemençant des galeries classiques de tubes de bouillon MRS/M17 (2ml) sans extrait de viande et sans citrate (**Leveau et al., 1991**), additionné d'un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol à 0.04 g/l), le glucose du milieu MRS est remplacé par le sucre à tester avec une concentration finale de 1%. (les solutions de sucres stériles : maltose, galactose, inositol, rhamnose, glucose, adonitol, cellulbiose, mannose, mellibiose) par 0.1ml de cultures et l'ajout d'une couche mince d'huile de paraffine

(V/V) stérilisé pour assurer l'anaérobiose (Samelis et al., 1994). Après incubation pendant 48h à 72h, le développement de la culture et le virage au jaune de l'indicateur coloré dû à l'acidification du milieu traduit la fermentation du sucre à tester (Guessas et Kihal, 2004).

3.2.4. Caractérisation technologique :

- **Pouvoir acidifiant** : La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du PH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude. Il s'agit de préparer le lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250 ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon devra êtreensemencé par une culture lactique (V/100V). après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 6h et 24h ; 10ml du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 S (Larpent, 1997). L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V \text{ NaOH} \times 10$$

V NaOH : volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 ml de lait. la mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique

- **Pouvoir protéolytique**: L'activité protéolytique est une autre propriété technologiquement importante des bactéries lactiques (Cogan et al., 1994). L'activité protéolytique des bactéries lactiques est mise en évidence sur milieu MRS/M17 additionné de lait écrémé à raison de 10% (m/v) en utilisant la méthode des spots. Un volume de 5µl d'une culture fraîche dans du bouillon MRS de chaque souche est déposé en spot puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h à 48h. La protéolyse se manifeste par une zone claire autour des spots. Le diamètre est mesuré en mm (Franciosi et al., 2009). Le protocole décrit est représenté par la (Figure19).

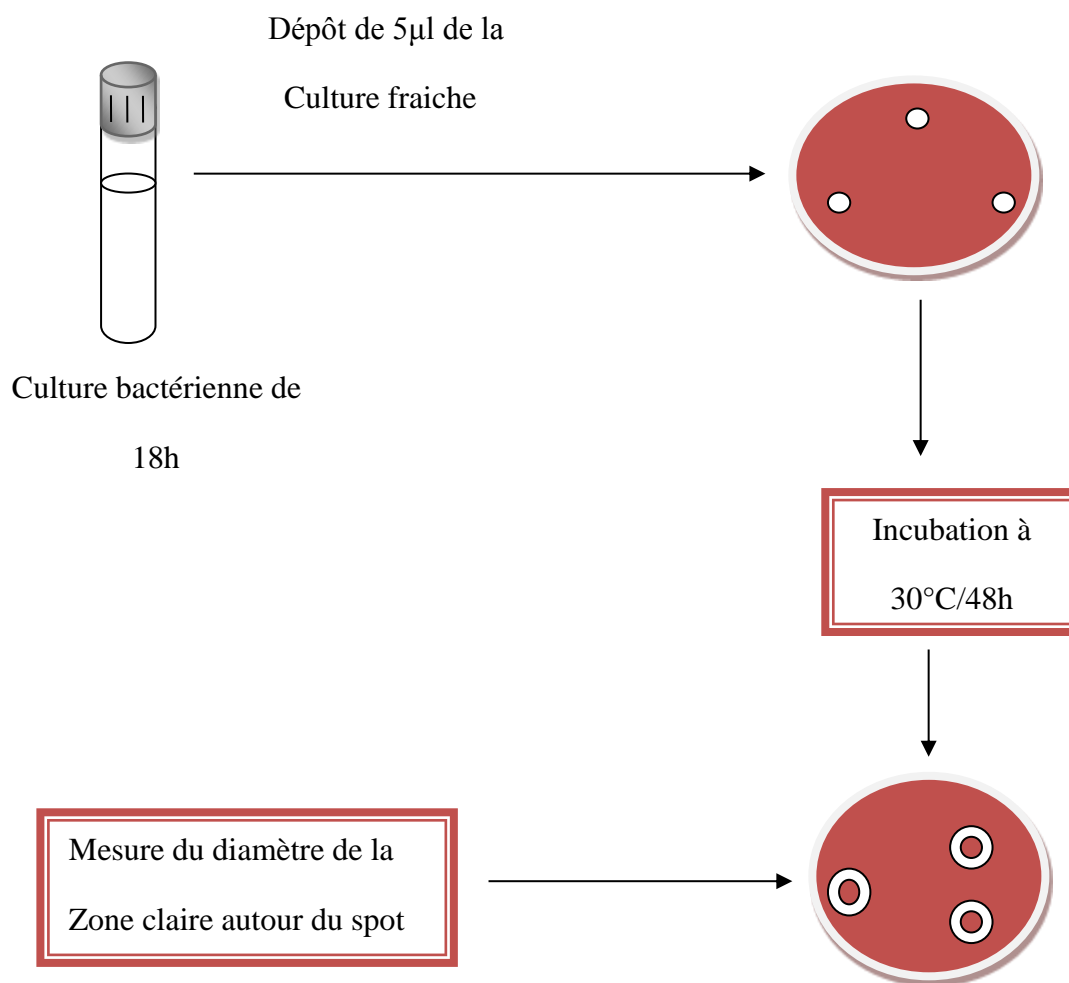


Figure 20 : Test de l'activité protéolytique par la méthode des spots.

- 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 α -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).

- **Production de dextrane :** Les dextrane sont des homopolysaccharides synthétisés par certaines espèces. Mettez la avec la caractérisation technologique des genres *Streptococcus* et *Leuconostoc* cultivées sur un milieu hypersaccharosé (**Devoyod et Poullain, 1988**). La mise en évidence de la production se fait dans le milieu MRS solide modifié par l'addition de 10% (m/v) de saccharose. Elle se traduit par la formation de colonies larges et gluantes sur les boîtes de Pétri après une incubation d'une semaine (**Milliere et al., 1989**).

A stack of several old, worn books with yellowed pages and dark covers. A magnifying glass with a black handle and a red pen are resting on the books. The magnifying glass is positioned over the middle of the stack, and the red pen is lying horizontally across the bottom two books. The entire scene is set against a plain white background.

Analyse d'article

Liste des articles sélectionnés :

- 1- Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables Amandine Fessard, Fabienne Remize, International Journal of Food Microbiology 301 (2019) 61–72.
- 2- Efficacy of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Fruits and Vegetable, Feriala A A. Abu Saif, Egypt. J. Microbiol. 51 (2016).
- 3- Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco, J. Ennadir, R. Hassikou, G. Al Askari, M. Arahou, F. Bouazza, L. Amallah, S. A. amine, K. Khedid .J. Mater. Environ. Sci. 5 (4) (2014) 1125-1132.
- 4- Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green Algerian olives, Kacem Mourad, Zadi-Karam Halima and Karam Nour-Eddine. Grasas y Aceites, Vol. 55. Fasc. 4 (2004), 385-393.

Discussion des travaux :

La recherche de Feriala A A. Abu Saif (**Efficacy of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Fruits and Vegetable**) a été conçue pour isoler les bactéries lactiques à partir de 50 échantillons de fruits et légumes, obtenus sur différents marchés du Caire. Les échantillons se composaient de deux groupes: groupe I, 10 types de fruits frais (pêche, pashmala, abricot, raisin, banane, pomme jaune et rouge, kiwi, goyave et orange) (33 échantillons); groupe II, 3 types de légumes crus entiers (concombre, tomate et fraise) (17 échantillons).

Les cultures pures des isolats obtenues ont été identifiées selon leur caractère morphologique (aspect, la taille, la forme, la couleur et la texture des colonies ont été enregistrées), biochimiques et physiologiques permettant l'identification phénotypique (préliminaire) des isolats et la méthodologie suivies pour l'isolement d'après la méthode de **Dal Bello & Hertel (2006)**, consiste à prélever dix grammes de chacun, des échantillons de fruits ou légumes frais dans 10 ml d'eau distillée stérile et bien homogénéiser par vortex. Par la suite, les dilutions décimales des homogénats ont été préparées dans une solution saline stérile à 0,85%, et étalé sur gélose MRS (**De Man et al., 1960**) contenant du vert de bromocrésol

(25 mg / l). Les boîtes de Pétri ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 48 h dans des conditions aérobies. Les Colonies bien isolées ont ensuite été purifiées par repiquage alterné entre gélose et bouillon et les isolats purs avec les caractéristiques morphologiques bien déterminées ont été caractérisés par la coloration de Gram; test de production de catalase et d'activité du cytochrome oxydase; croissance à 10°C, 37 et 45°C et l'évaluation du profil de fermentation des sucres (1% p /v) lactose, glucose, arabinose, fructose, saccharose et raffinose (Aslam et Qazi, 2010).

Au total, trente-huit (38) isolats à Gram positif et catalase négatif ont été obtenus dont 20 isolats appartiennent au genre *Lactobacillus* et 18 appartiennent à *Lactococcus sp.* Selon les réactions biochimiques, 13 isolats sur 38 ont été identifiés comme 5 appartenant à *L. plantarum*, 2 isolats à *L. brevis*, 3 à *Pediococcus sp* et 3 à *Leuconostoc sp.*

L'étude d'Amandine Fessard et Fabienne Remize (**Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables**) consiste à identifier et caractériser des BL isolées à partir de fruits et légumes de la Réunion Island. La papaye, les tomates et le chou mariné « Chou mariné, appelé «Achards» à la Réunion, est un mélange de légumes (chou blanc, carottes, haricots verts, piment) avec vinaigre, sel, curcuma et gingembre », qui arbore des niveaux élevés de BL (Fessard et al., 2016) ont été utilisés comme échantillons pour l'isolement des bactéries lactiques tandis que l'identification a été réalisée par des méthodes moléculaires à savoir; l'ARNr 16S, le séquençage des gènes pheS et recA et la prise d'empreintes digitales (GTG) 5 ont été utilisées pour identifier et classer les BL.

Les Bactéries Lactiques de différents groupes génétiques ont été davantage caractérisées phénotypiquement, avec l'examen de la production d'EPS, l'influence de température de croissance et tolérance à l'acide, au sel, aux sels biliaires ou peroxyde d'hydrogène en vue d'une utilisation possible dans l'industrie alimentaire.

Au total 77 isolats, étaient obtenus lors de cette étude et une grande diversité d'espèces a été observée: (03) isolats appartenant à *Lactobacillus plantarum* , d'autres isolats appartenant à d'autres espèces de *Lactobacillus* (03) , *Lactococcus lactis* (13), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (25), *Leuconostoc lactis* (1), *Leuconostoc mesenteroides* (7), *Leuconostoc citreum* (14), *Weissella cibaria* (4), *Weissella confusa* (4), d'autres espèces de *Weissella* (2) et *Fructobacillus tropaeoli* (1).

J. Ennadir et al (**Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco**) dont l'étude concerne les bactéries lactiques naturellement présentes dans les farines. Pour ce faire, une caractérisation phénotypiques et génotypiques des bactéries lactiques isolées était nécessaire afin d'atteindre l'objectif de ce travail.

Soixante bactéries lactiques ont été isolées à partir d'un lot de 60 échantillons de farine de blé provenant de différentes régions du Maroc par la méthode d'ensemencement en profondeur, selon la méthode de (mettez la référence de la méthode suivis qui consiste à introduire aseptiquement 10 g de chaque échantillon de farine dans des flacons contenant 90 ml d'eau physiologique stérile (0,85 % m/v). Des dilutions décimales allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-4} ont été préparées et ensuite ensemencées dans différents milieux de culture MRS (pour l'isolement des Lactobacilles et Pediocoques à une température 30°C), M17 (pour l'isolement des Streptocoques et Enterocoques, T 45°C) et Elikar (pour les Lactocoques, T 30°C) pendant 48 h sous aérobiose. Par la suite, seulement 30 souches ont été sélectionnées et retenues pour identification. Dans un premier temps, une caractérisation phénotypique basée sur des critères morphologiques et biochimiques a été effectuée suivie d'une caractérisation génotypique par la méthode PCR et séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S, avec des techniques moléculaires de pointe et des logiciels bioinformatiques à larges bases de données.

Les résultats obtenus ont montré que les bactéries lactiques isolées des farines marocaines appartiennent aux genres *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Weissella* avec une dominance du genre *Pediococcus* (63%) par rapport au nombre total des souches identifiées suivi du genre *Enterococcus* avec une fréquence de 27% et enfin des genres *Weissella*, *Lactococcus* et *Lactobacillus* avec une fréquence de 10%.

Le travail de Kacem Mourad et al (**Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green algerian olives**) a été entreprise dans le but d'obtenir des bactéries lactiques ayant la capacité de fermenter les olives pour une utilisation éventuelle comme démarreur des cultures.

La méthodologie suivie, selon le protocole de (Kacem Mourad et al., 2004) consiste à homogénéiser cinquante grammes d'olives par broyage avec 10 ml d'eau peptoné stérile à 1% (p / v). Ensuite une série de dilutions décimales (10^{-2} à 10^{-5}) est préparée et étalée sur des géloses MRS /M17 en double couche. L'incubation des isolats lactobacilles sous conditions

d'anaérobies à 30°C pendant 3 jours. Les lactocoques ont été comptés dans du milieu gélose M17 après incubation pendant 2 jours à 30°C.

Les résultats obtenus, 32 isolats de bactéries lactiques isolés de la fermentation spontanée des olives vertes ont été caractérisés et identifiés sur la base de critères morphologiques dont 14 isolats étaient identifiés comme *Lctococcus lactis*, 11 isolats comme *Lactobacillus plantaum* et 7 isolats comme *Enterococcus sp.*

Discussion générale :

Selon les différents travaux analysés, on conclue que les bactéries lactiques sont ubiquistes et occupent la surface de plusieurs végétaux, à savoir; les fruits et légumes; les céréales (farine de blé), ce qui permet d'ouvrir une voie prometteuse pour la valorisation de ces ressources naturelles par le biais de la recherche de propriétés biotechnologiques de souches probiotique.

Aussi les produits laitiers représentent un habitat naturel pour les bactéries lactiques, et plusieurs travaux de recherche se sont pencher vers cet axe , comme l'étude de Badis et al , (2005) qui ont entrepris un travail portant sur la détermination et la distribution des bactéries lactiques de lait cru de chèvre de deux populations principales algériennes (Kabyle et Arabia) et dont l'identification des isolats de bactéries lactiques a été réalisée en deux étapes. La première consiste à tester tous les isolats par la coloration de Gram, la production de catalase et la formation de spores. La deuxième est basée sur l'étude morphologique (macroscopique et microscopique). Ils ont obtenus 567 isolats, seuls 240 isolats représentatifs de la flore dominante ont été identifiés de manière complète par les méthodes phénotypiques.

D'autres travaux d'études préliminaire concernant les nouvelles ressources végétales sont en train de naitre ici en Algérie, dont on peut citer le travail réalisées par **M^{elle} kacherAmina** et **M^{elle} Tiboune Fatima zahra** au niveau d'Université de Khemis Miliana (Master 2) dans le but d'isoler et 'identifier des bactéries lactiques à partir de carotte et concombre préparé traditionnellement, provenant de la grande marchés d'alimentation de la région Ain defla. Différentes méthodes basées sur les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques ont été utilisées. Ils ont pu obtenir 20 isolats apparentés à six genres *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Wiessella* dont le genre *Leuconostoc* est la plus dominant par 25%.

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons dire que l'identification par la caractérisation morphologique, physiologique, biochimique est très importante et c'est même l'étape clé de l'isolement et la pré-identification, mais; il serait intéressant de faire une identification plus poussé en utilisant des méthodes technologiques et moléculaires par PCR (**Kacem Mourad et al., 2004**) qui permettent de mieux révéler et identifier la flore bactérienne présente dans le différent biotope. En effet, Le travail de **Rim El Jeni et al., 2015**) a prouvé que les espèces bactériennes peuvent être très bien discriminées par l'identification protéomique en utilisant la technique MALDI-TOF MS avec un intérêt d'application dans le contrôle des aliments et dans le secteur biomédical.

Ces techniques biomoléculaires permettent des gains de temps significatifs et n'ont besoin que d'une petite quantité de matériel biologique pour réaliser avec succès (en quelques minutes et à un coût modéré) l'identification bactérienne en plus d'une grande précision par rapport à l'analyse biochimique de routine.



Conclusion

Conclusion:

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme. Au total, 16 isolats bactériens (catalase négative et Gram+) ont pu être obtenus dont 12 isolats apparentés aux formes coques et 04 isolats aux formes bacilles, selon les caractéristiques phénotypiques : observations macroscopiques des cultures en gélose et microscopiques après coloration de Gram.

Malheureusement les autres caractéristiques physiologiques et biochimiques des souches isolées n'ont pas pu être étudiées vu la situation sanitaire du covid19, pour pouvoir mettre en évidence la diversité importante des souches lactiques qui peuvent exister dans les fruits et les légumes locaux; mais d'après les résultats des articles analysés lors de cette étude, nous pouvons conclure que les fruits et légumes disposent d'une grande biodiversité, riche en bactéries lactiques avec plusieurs Genres et Espèces différentes.

En perspective, il faut une meilleure caractérisation biochimique, suivi d'une caractérisation des propriétés technologiques et l'étude moléculaire (PCR/ADNr 16s) pour une identification efficace. Aussi l'enjeu final à long terme, surtout pour l'agro-industrie est de trouver un moyen naturel (Bactéries lactiques) pour diminuer l'utilisation des conservateurs lors de la conservation de certains aliments ; donc il serait intéressant de tester in vitro l'utilisation de ces isolats une fois identifiés, dans la préparation d'aliments fermentés (jus de fruits, légumes fermentés...etc.), ce qui équivaut leur utilisation en tant que starter de fermentation alimentaire.



Références bibliographiques

A

- 1- **A. Badis, Laouabdia-Sellami N, D.Getarni, M.Kihal, R.Ouzrout, (2005)**
Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chevre de deux populations caprines « Arabia et Kabyle ». Sciences & Technologie C – N°23, juin (2005), pp. 30-37.
- 2- **Achemchem F, Martinez-Bueno, M, Abrini, J, Valdivia, E, Maqueda, M.**
Enterococcus faecium F58, a bacteriocinogenic strain naturally occurring in Jben, a soft, farmhouse goat's cheese made in Morocco. J Appl Microbiol. **2005**;99:141-150
- 3- **Adjélé Eli Wilson .2011.** Recherche d'isothiocyanates à intérêt fonctionnel technologique chez les Brassicacées. Thèse de doctorat. Université strasbourg.
- 4- **Albert L. (1998).** La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. P:44-74.
- 5- **Alice A.F. and Sanchez-Rivas C., 1997.**DNA supercoiling and osmoresistance in *Bacillus subtilis* 168 .Curr .Microbiol.35:309-315.
- 6- **Alomrar J. 2007.** Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique De Lorraine.
- 7- **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.
- 8- **Aslam, S. and Qazi, J.I. (2010)** Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. Pakistan J. Zool. 42 (5), 567–73.

- 9- **Atlan D., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn-Bousquet M., Deghorai M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., Guzzo J., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., Monnet V., Rul F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M., 2008.** Métabolisme et ingénierie métabolique .In :Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271-477.
- 10- **Avril D. and Denis M. 1992.** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie leeuwenhoek. J.* 70: 331-345.
- 11- **Axelsson L; 2004.** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology In *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A. 3rd Edition ., Marcel Dekker Inc ; New York : 1-66

B

- 12- **Bâches B., (2011)** cité par Ghazzaz .R et Toumi. H. étude de comportement de variété Washington navel : 22 'Thèse' 2007-2008.
- 13- **Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Tech.*, 23:30-37.
- 14- **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 polygalacturona) thèse de doctorat. Université de Mentouri Constantine.p 149.

- 15- **Bekhouché F. et Boulahrouf A., 2005.** Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie.*, 23: 38-45
- 16- **Belguedj M. 2001.** Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérien, N° 11, INRAA. El-Harrach, Alger. 289 p.
- 17- **Bendimerad N., (2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P 05.
- 18- **Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M. 2008.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. mémoire d'ingénieur d'état en contrôle de qualité et analyse. Université Djillali liabes, Sidi Bel Abbes pp 120.
- 19- **Bibel, D. J. (1988).** Elie Metchnikoff's *bacillus* of long life. *ASM News* ,54: 661-665.
- 20- **Bjorkroth J.A., Holzapfel W.H. and Dicks L.M.2009** .Genus *Leuconostoc*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The firmicutes. Second Edition.* Volume Three. Springer.
- 21- **Björkroth, K.J.; Schillinger, U.; Geisen, R.; Weiss, N.; Hoste, B.; Holzapfel, W.H.; Korkeala, H.J.; Vandamme, P.** Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov.; detected in food and clinical samples. *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.* **2002**, 52, 141–148. [CrossRef] [PubMed].

- 22- **Block S.S., 1991.** Peroxygen compound. In: disinfection, sterilization and preservation. ed. Lea and Feabiger, Philadelphia. pp 169-180.
- 23- **Booth J.R., 1985.** Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiological Reviews. 49, 359-364.
- 24- **Boudjema K., 2008.** Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *streptococcus thermophilus* .Mémoire de magister .Université M'Hamed Bougara Boumerdès.
- 25- **Bourgeois C.M et Larpent J.P, 1996.** Microbiologie alimentaire. T.2 Aliments fermentés et fermentation alimentaires. Ed. Tec et DOC, Lavoisier (Paris), 523 P.
- 26- **Buckenhüskes H.J. (1997).** Fermented vegetables. In: Doyle, P.D., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, seconded. ASM Press, Washington, DC, pp. 595-609.

C

- 27- **Calvez. S; Belguesmia. Y; Kergourley. G. (2009).** in bactériocines : de la synthèse aux applications in bacteries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica .2009. p 100-122.
- 28- **Camille Delarras. (2007);** microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. 476 pages. PP320-359.

- 29- **Caplice E. et Fitzgerald G.F. 1999.** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50: 131-149.
- 30- **Caridi A., Micari P., Caparra P, Cufari A.and Sarullo V., 2003.** Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal* 13, 191-200.
- 31- **Carr Frank J, Chill Don and Maida Nino (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, Vol .28(4): 281-370.
- 32- **Chekroun, A., and Bensoltane, A. (2007).** Nutritional characterization of fermented cow's milk at 45°C by *Lactobacillus acidophilus* and *bifidobacteria*. *Egypt. J.App.Sci.*22: (12A), 188-202.
- 33- **Chen Y-S, Wu HC, Pan SF, Lin BG, Lin YH, Tung WC.** Isolation and characterization of lactic acid bacteria from yan-taozih (pickled peaches) in Taiwan. *Ann Microbiol* 2013; 63:607–14. doi:10.1007/s13213-012-0510-z
- 34- **Cho J, Lee D, Yang C, Jeon J, Kim J, Han H.** Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 257:262–7. doi:10.1111/j.1574-6968.2006.00186.x
- 35- **Ciqual. (1995).** Répertoire général des aliments, INRA, 1. Table de composition des corps gras (1987), 2. Table de composition des produits laitiers (1987) 3. Table de Composition Générale, 2e éd.,. Éditions Lavoisier- Tec & Doc, Paris
- 36- **Cogan T.M. and Jorda K.N., 1994.** Metabolism of *Leuconostoc* bacteria. *Journal of Dairy Science*, 77, 2704–2717.
- 37- **Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J. et Wallbanks S. 1993.** Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* 75 : 595-603.
- 38- **Corrieu, G. & Luquet, F. M. (2008)** Bactéries lactiques : De la génétique au ferment. Paris: Édition Tec et Doc p. 849.

- 39- **Corbier C., Krier F., Mulliert G., Vitoux B .and Revol-Junelles A.M., 2001.** Biological activities and structural properties of the atypical bacteriocins mesenterocin 52b and leucocin b-ta33a. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 4, 1418-22.

D

- 40- **Dal Bello, F. and Hertel, C. (2006).** Oral cavity as natural reservoir for intestinal lactobacilli. *Syst. Appl. Microbiol.* 29, 69–7
- 41- **Daly C., Fitzgerald G.F., O’connor L. and Davis R. 1998.** Technological and health benefits of dairy starter cultures. *International Dairy Journal* 8,195-205.
- 42- **Da Silva Pinto, M., Lajolo, F.M., Genovese, M.I., (2008).** Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry* 107, 1629-1635.
- 43- **De Bruyne, K.; Camu, N.; Lefebvre, K.; De Vuyst, L.; Vandamme, P.** *Weissella ghanensis* sp. nov. isolated from a Ghanaian cocoa fermentation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, 58, 2721–2725. [CrossRef] [PubMed].
- 44- **Dellaglio F, 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Ed. Loriga Lavoisier, Paris, 1-37.
- 45- **Dellaglio, F., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. C. and Janssens, D.(1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In *Bactéries Lactiques*, pp. 25-116. Edited by H. de Roissart & F. M. Luquet. Paris: Lavoisier.
- 46- **Delarras, Camille. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire ? recherche de bactéries et de levures-Moisissures. Editions Lavoisier, pp : 65-66-67-111-113-114.
- 47- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., Janssens, D., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : *Bactéries Lactiques (Tome I)*, Loriga (ed), 25-70.
- 48- **Delorme C., 2008:** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology* 126: 274–277.
- 49- **De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960).** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J Appl Bacteriol.* 23, 130–135

- 50- **De Roissart H., Luquet F.M. (1994).** Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et appliqués, Vol 1. Lorica (ed). Uriage/ France.
- 51- **Desmazeaud M. J. 1983.** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le Lait*, 63, 629-630: 267 - 316.
- 52- **DeVos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. and Whiteman W. B. 2009.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes. Second Edition. Volume Three.* Springer.
- 53- **Devoyod, J.J. et Poullain, F. (1988).** Les Leuconostocs. Propriétés: leur rôle en technologie laitière. *Le Lait*, 68: (3) 249- 280.
- 54- **Di Cagno F., Coda R., De Angelis M., Gobbetti, M., 2012.** Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation, *Food Microbiology*, 33: 1-10.
- 55- **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.
- 56- **Di Cagno R, Coda R, De Angelis M, Gobbetti M.** Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol* 2013;33:1–10 doi:10.1016/j.fm.2012.09.003.
- 57- **Di Cagno R., Minervini G., Rizzello C.G., De Angelis M., Gobbetti M., 2011a.** Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28: 1062-1071.
- 58- **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.
- 59- **Di Cagno R., Surico R.F., Siragusa S., De Angelis M., Paradiso A., Minervini F., De Gara L., Gobbetti M., 2008a.** Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *International Journal of Food Microbiology*, 127: 220-228.
- 60- **Di Cagno R., Surico R.F., Paradiso A., De Angelis M., Salmon J.C., Buchin S., De Gara L., Gobbetti M., 2008b.** Effect of autochthonous lactic acid bacteria

starters on healthpromoting and sensory properties of tomato juices. International Journal of Food Microbiology, 128: 473-483.

- 61- **Di Cagno R, Surico RF, Siragusa S, De Angelis M, Paradiso A, Minervini F, et al.** Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. Int J Food Microbiol **2008**; 127:220–8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.010.
- 62- **Djerroud, D. (2010).** Modélisation markovienne du séchage continu par contact avec agitation. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- 63- **Doré C. ; Varoquaux F ; (2006).** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées ; 812p.
- 64- **Dortu C .et Thonart P., 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Env. 13(1) : 143-154.
- 65- **Dortu C., Huch M.,Holzapfel W.H.,Fran C.M.A.P., Thonart P.,2008.** Antilisterial Activity Of Bacteriocin-Producing *Lactobacillus Curvatus* CWBI-B28 And *Lactobacillus Sakei* CWBI-B1365 On Raw Beef And Poultry Meat .Letters In Applied Microbiology,47(6) :P.581-586.
- 66- **Duan, L., Guo, L., Liu, K., Liu, E.-H., & Li, P. (2014).** Characterization and classification of seven Citrus herbs by liquid chromatography–quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. Journal of Chromatography A, 1339, 118-127.
- 67- **Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Muñoz 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.
- 68- **Dupin H., Cuq J. L., Malewiak M. I., Leynaud-Rouaoud C. et Berthier A.M. (1992).** Alimentation et nutrition humaines. Paris : ESF éditeur. pp 1533

E

- 69- **Edima H.c., 2007.** *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de doctorat. INPL et PHD. Université de Ngaoundéré.165p.

- 70- **Eklund T., 1984.**The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in bacterial membrane vesicles. *International Journal of Food Microbiology*.1, 4, 179-185.
- 71- **El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji- Sfaxi I ., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesonah., Sitohy M., Popov Y.G., A.Kuliev A., Mozzi F ., Chobert J.M et Haertle T., 2011.**Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre. Food Sci. Technol.* 1-8.
- 72- **El Soda M, Madkor. S.A and Tong. P.S, 2000 :** Adjunct Culture : recent developments and encoded determinants for bacteriocin production and immunity a *Lactococcus Lactis* strain and enrichment procedure enhances the performance of bacteriocinogenic *Lactococcus Lactis* meat fermented. *Food Microbiol. Res .* 154 : 4,321-331.
- 73- **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.

F

- 74- **Facklam R. 2002.** What Happened to the Streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews.* 15: 613-630.
- 75- **Fessard, A., Bourdon, E., Payet, B., Remize, F., (2016).** Identification, stress tolerance, and antioxidant activity of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and leaves. *Can. J. Microbiol.* 62, 550–561.<https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0624>
- 76- **Fessard, A.; Kapoor, A.; Patche, J.; Assemat, S.; Hoarau, M.; Bourdon, E.; Bahorun, T.; Remize, F.** Lactic Fermentation as an Efficient Tool to Enhance the Antioxidant Activity of Tropical Fruit Juices and Teas. *Microorganisms* **2017**, 5, 23. [CrossRef] [PubMed].
- 77- **Fox P.F., Mcsweeney P.L. H; 2004.** Cheese: an overview. In: p.l.h.m.t.m.c. atrick f. Fox & timothy p.g. (eds.) *Cheese: chemistry, physics and microbiology.* Academicpress.

- 78- **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.
- 79- **Franz Charles M.A.P et Holzapfel Wilhelm.H (2004).**The Genus *Enterococcus*: Biotechnological and Safety Issues In Lactic Acid Bacteria Microbiological and# Functional Aspects. Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A. 3e Ed., Marcel Dekker: 199-230.
- 80- **Fuller R., 1998.** Probiotics in man and animals.*J.Appl.Microbiol.*66:365-378.
- 81- **Garcia, M., Ontivero, M., Diaz Ricci, J., Castagnaro, A., (2002).** Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argentina. *Plant Breeding* 121, 76-80.

G

- 82- **Gelman, Drabkin V., Glatman L.2000.** Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products starter cultures for new fish6 based food products. *Emerg. Technol*, vol. 1, p. 219-622.
- 83- **Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A. & Krieg, N. R. (1994).** Method for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology. 518P.
- 84- **Gest H.** The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of The Royal Society. *Notes Rec R Soc* **2004**; 58:187–201. doi:10.1098/rsnr.2004.0055.
- 85- **Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M., (2012).**The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* 28, 9-19.
- 86- **Giraffa G, Carminati D and Neviani E (1997).**Enterococci isolated from dairy products: a#review of risks and potential technological use. *J. Food Prot.*, 60: 732-737.

- 87- **Gollop N., Zakin V et Weinberg Z.G, 2005.**Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silage treated with these inoculants. *Journal of applied Microbiology* 98, 662-666.
- 88- **Guessas B et Kihal M (2004).**Characterization of lactic acid bacteria isolated from# Algerian arid zone raw goat's milk .*African .Journal of Biotechnology* 3(6): 339-342
- 89- **Guessas B., Hadadji M., Saidi N. and Kihal M., 2006.**Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. *Dirasat, Agricultural Sci.* 32: 3, 304-312.
- 90- **Guiraud G et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition: l'Usine nouvelle. Paris: 240p.
- 91- **Guiraud J P ; 2003.** Microbiologie Alimentaire. Tec &Doc, Dunod. Paris.90-292.
- 92- **Guiraud J.P., Rosec J.P ; 2004.**Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. Saint-Denis la plaine, Paris. 300 p.

H

- 93- **Hadef S. 2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et Probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 94- **Haddie J.M. 1986.**Other streptococci. *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.
- 95- **Hagen B.F., Naes H., Holck A.L, 2000.**Meat starters have individual requirements for Mn²⁺. *Meat Science.* Vol 55, 161-168.
- 96- **Harris L. (1998).**The microbiology of vegetable fermentations. In: Wood, B.J.B. (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, second ed. Blackie Academic and Professional, London,pp. 46-72.

- 97- **Haydersah J. 2010.** Étude de la fermentation lactique de plantes amylacées tropicales Potentiel des bacteries lactiques amylolytiques. Thèse de doctorat .Université des Antilles et de la Guyane.
- 98- **Hebbache, I., Sebkhi, S., Ouchemoukh, S.E., (2013).** Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes de quelques variétés de confitures industrielles.
- 99- **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.Vol.59, no3, pp.200-208.
- 100- **Herve-Jimenez L., Guillouard I., Guedon E., Boudebbouze S., Hols P., Monnet V., Maguin E., Rul, F., 2009.** Postgenomic analysis of *streptococcus thermophilus* cocultivated in milk with *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*: involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism. Appl environ microbiol., 75 (7): p. 2062-2073.
- 101- **Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D., Leblond-Bourget N., Decaris B., Blotin A., Delorme C., Dusko Ehrlich S., Guedon E., Monnet V., Renault P. and Kleerebezem M.2005 .** new insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. FEMS Microbiology Reviews. 29 :435-463.
- 102- **Holt G.J., Krieg N.R. Sneath P.H.A., staley J.T.and Williams S.T., 1994.** Gram positive cocci. In Bergey's manual of determinative bacteriology (9th ed., pp. 527). Baltimore: Williams &Wilkins. Hurst A., 1981. Nisin. Adv. A.
- 103- **Holzappel W.H., Gerber E.S.1983.***Lactobacillus* heterofermentative species producing l(+) lactate. Syst. Appl. Microbiol, vol. 4, p. 522-534.
- 104- **Holzappel W.H., Habeer P., Geisen R., Bjorkroth A, Schillinger U., 2001.**Taxonomy and important features of probiotic microorganism in food and nutrition. American Journal of clinical Nutrition, 73: 365 -373.
- 105- **Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. and Caubert R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Work shop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.
- 106- **Hugenholtz J., Sybesma W.,Groot M.N., Wisselink W., Ladero V., Burgess K., van sinderen D., Piard J.C., Eggink G., Smid E.J., Savoy G., Sesma F., Jansen**

T., Hols P. and Kleerebezeml M..2002. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of neutraceuticals. *Antonie van Leeuwenhoek* 82.P 217-235.

K

- 107-** **Kalia, A., Gupta, R.P. (2006).** Fruit Microbiology, in Hui Y.H, J., Cano, M.P., Gusek, W., Sidhu, J.W., Sinha, N.K. Handbook of Fruit and Fruit processing. 1st Edition, Blackwell publishing., pp3-28.
- 108-** **Kandler, O. & Weiss, N. (1986).** Genus *Lactobacillus* .In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ed. P.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt pp. 1208 1234. Baltimore: Williams & Wilkins.
- 109-** **Karovicová J., Kohajdová Z., 2003.** Lactic acid fermented vegetable juices. *Horticultural Science*, 30, 152-158.
- 110-** **Kayser F., 2003.**Safety aspects of enterococci from themedical point of view. *Int. J. Food Microbiol.*, 88, 255-262.
- 111-** **Keopaseuth L. ; Mahendran N. ; Panel K. ; Rouille P. ; Rubin C. (2008) :** la filière fruit et légumes, rapport d'étude ; 36p.
- 112-** **Khuntia A et Chaudhary L.C, 2002.** Performance of male crossbred calves as influenced by substitution of grain by wheat bran and the addition of lactic acid bacteria to diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15. 188-194.
- 113-** **Kim M., Chun, J., 2005.** Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 91-96.
- 114-** **Klein, G .2003.** «Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-ntestinal tract. », *International journal of food microbiology* 88,123-131.
- 115-** **Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., 1998.**Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of food Microbiology*, 41, 103-125.

- 116- **Kolev N. (1976).** Les cultures maraichères en Algérie. Tome1. Légumes fruits. Ed. Ministère de l'agriculture et des reformes Agricoles : 52p.
- 117- **Konig H. et Frohlich J. (2009).** "Lactic acid bacteria," Biology of Microorganisms on grapes, in Must and in Wine, editions König H., Unden G., Fröhlich J. editeur: Verlag Berlin Heidelberg: Springer. 3-30.

L

- 118- **Lagha-Benamrouche, S., Addar, L., Boudershem, H., Tani, S., & Madani, K. (2017).** Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles. *Nature & Technology*(18), 28-35
- 119- **Lahtinen S ;Ouwehand A.C ; Salminen S ; Wright A.V ;2012.** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects Fourth edition Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York.
- 120- **Lane C.N.and Fox P.F.1996.**Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening.*Int.Dairy J.*6:715-728.
- 121- **Larpent J-P., 1996.** Les bactéries lactiques In *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaires.*
- 122- **Larpent J.P, 1997.** *Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire.* Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 10-72.
- 123- **Larpent j-p.,Copin M-P., Germonville A.,Jaquet M.,Thétas J-L.,1997.** *Microbiologie du lait et des produits laitiers In Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire.*
- 124- **Leveau J.Y.,Bouix.,1993.***Microbiologie industrielle : Les micro-organismes D'intérêt industriel.*ED.Coll.Sciences et Techniques Agroalimentaires,ED.Vol. :Tec & Doc ,Lavoisier.
- 125- **Leveau J-Y, Bouix Mrielle et De Roissart H (1991).** La flore lactique In *Technique# d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire.* Bourgeois C.M., Leveau JY. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 152-186.
- 126- **Lilly D.M.et Stillwell R.H.1965.** Probiotics.Growth promoting factors produced by micro-organisms.*science.*147 :747-748.

- 127- **Lister, 1873**, the Genera of lactic acid Bacteria pp 173-234.
- 128- **Lmosowtin G.K .Y ;Broom M.C et Powell L.B ;2004**.Lactic acid bacteria, taxonomy.In encyclopedia of dairy science. Roginski H. Oxford, elsevier, 1470-1478.
- 129- **LudwingW, Schleifer K-H et Whitman X B. (2009)**. Order: Lactobacillales.
- 130- **Luquet F M., 1986**. Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .Technique et Documentation. Paris : pp 343-442.
- 131- **Luquet F.M. (1990)**. Laits et produits laitiers: vache, brebis, chèvre. volumes2, transformation et technologie (2ed). , technique et documentation, Lavoisier. Paris, pp664.
- 132- **Luquet F.M. et Corrieu G., 2005**.Bactéries lactiques et probiotiques. Santé et Nutrition. France.
- 133- **Lynch, C.M., Mesweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M., Drinan, F.D.1996**.Manufacture of cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions.*Int. Dairy J.*6:851-867.

M

- 134- **Magnusson, J.; Jonsson, H.; Schnurer, J.; Roos, S.** Weissella soli sp. Nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2002**, 52, 831–834. [CrossRef] [PubMed].
- 135- **Marchal N, Bourdon J L, Richard C I. (1982)**. Les milieux de culture pour l'isolement et identification biochimique des bactéries. Edition : DION. Paris. pp.77.
- 136- **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.
- 137- **Martin A. (2001)**. Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3e éd., Tec & Doc, Lavoisier, Paris, pp660.
- 138- **Melle kacher Amina et Melle Tiboune Fatima Zahra ., 2019**. Isolement des bactéries lactiques à partir des produits fermentés .Mémoire de master. L'Université de Khemis Miliana

- 139- **Metchnikoff I.I., 2004.** The prolongation of life: Optimistic Studies.Ed. Vol.: Springer publishing company.
- 140- **Milliere, J.B., Mathot, A. G., Schmitt, P., Divie, C. (1989).** Phenotypic characterization of *Leuconostoc* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 67: 529-542.
- 141- **Mkrtchyan H., Gibbons s., Heidelberger S., Zloh M. and Limaki H.K., 2010.** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, 35: 255-260.
- 142- **Montet D, Ray R, Zakhia-Rozis N.** Lactic acid fermentation of vegetables and fruits. *Ferment.* 2014.
- 143- **Mozi F., Raya R.R.et Vignolo G.M.2010.** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications.Blackwell.Publishing.13.
- 144- **Muller T.1990.**Comparison of methods for differentiation between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Zentralbl. Mikrobiol*, vol.145, p. 363–366.
- 145- **Muto, A. and Osawa, S. (1987).**The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacterial evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 84, 166-169.

N

- 146- **Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A. 2005.** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation, cinquième édition révisée, Agromisa Foundation, coll. « Agrodok », Wageningen, 2005, 105 p.
- 147- **Nehal F. 2007 :** isolement et caractérisation de souches de *Lactococcus lactis* à partir de différents laits dans le périmètre du moyen cheliff. Thème de Magistère. Université Chlef.18-30 p.
- 148- **Ninane V., Mukandayambaje R. et Berben G., 2009.** Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation réglementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 13(3) : 459-466.

O

- 149- **Offonry S.U., Achi O.K., 1998.** Microbial populations associated with the retting of melon pods (*Colocynthiscitrullus* L.) during seed recovery. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52, 37- 47.
- 150- **Osimani, A.; Garofalo, C.; Aquilanti, L.; Milanović, V.; Clementi, F.** Unpasteurised commercial boza as a source of microbial diversity. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, 194, 62–70. [CrossRef] [PubMed].
- 151- **Ouadghiri M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat de Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V. Rabat, faculté des sciences. 132p.

P

- 152- **Paul Ross R, Morgan S, Hill C.** Preservation and fermentation: Past, present and future. *Int J Food Microbiol* **2002**;79:3–16. doi:10.1016/S0168-1605(02)00174-5
- 153- **Penaud S. 2006.** Analyse de la sequence genomique et etude de l'adaptation l'acidite de *Lb.delbrueckii ssp. Bulgaricus* ATCC 11842. Thèse de Doctorat. Istitut National Agronomique de Paris-Grignon, 125.
- 154- **Piard J. C. and Desmazeaud M.J., 1992.**Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. bacteriocins and other antimicrobial substances. *Le Lait.* 72, 113-142.
- 155- **Piard J.C., Muriana P.M., Desmazeaud M.J .and Klaenhammer T.R ., 1992.** Purification and Partial Characterization of Lacticin 481, A Lanthionine-Containing Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis subsp. Lactis* CNRZ 481.*Applied Environemental Microbiology.*58, 1, 279-284.
- 156- **Pilet M.F., Magras C. et Federighi M. 1998.** Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Feederighi M., Jouve J.L.). Polytechnica. Paris. 235-260.
- 157- **Pilet M.F., Magras C. et Federigh M ; 2005.** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris.219-240.
- 158- **Pitrat. M., Foury. C.** Histoires de légumes: des origines à l'orée du XXIe siècle; Editions Quae, **2003.**

- 159- **Plenghvidhya V., Breidt F., Lu Z., Fleming H.P., 2007.** DNA fingerprinting of lactic acid bacteria in sauerkraut fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7697-7702.
- 160- **Praloran, j. C.(1971).** Botanique des agrumes dans Les agrumes. G.P. Maisonneuve & Larose Editions, Paris : p. 34-87.
- 161- **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, pp: 201-208.

Q

- 162- **Quiberoni A ;Rezaiki L., El karoui M ;Biswas I ; Tailliez P . and Gruss A ; 2001.** Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. 152:131-139.

R

- 163- **Rebeaud, S.G., Perrier, G., Cotter, P.-Y., Ançay, A., Vuong, L., Christen, D., (2017).** Traitement à l'ozone des fraises et des framboises. *Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture* 49, 180-186.
- 164- **Rim El Jeni, Karola Bohme, Jorges Velasquez, Monia El Bour, Balkiss Bouhaouala-Zahar, (2015).** Analyse comparative de spectres protéomiques et phylogénétique de 18 souches de bactéries lactiques à potentiel probiotique isolées à partir de poisson. *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, Vol. 42, 2015 (Numéro Spécial).
- 165- **Robinson, R. K. (2002).** *Dairy Microbiology handbook: the Microbiology of milk and milk products.* John Wiley and Sons, Inc., New York.
- 166- **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.

S

- 167- **Saarela, M., L. Lahteenmaki., R. Crittenden., S. Salminen., T.mattila-Sandholm.** Gut bacteria and health foods - the European perspective. *Int. J. Food Microbiol.*, **2002.** 78: p. 99-117.
- 168- **Sabri K., 1980.**El Ghidaala el Dawae .ed dar El Ilme li el Malayine.
- 169- **Säde E. (2011).** *Leuconostoc* Spoilage of refrigerated, packaged foods. doctoral thesis. University of Helsinki Finland.
- 170- **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.
- 171- **Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Previst H. et Kihal M., M. 2002.**Caractérisation des bactéries lactiques isolées su lait cru de chèvre des régions arides d'Algérie. *Journal Algerien des Régions Arides.*01 :01-14.
- 172- **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 treated xith two microbial inoculants, formica cid or quebracho tannins. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture* 81, 1263-1268
- 173- **Salminen S., et Von Wright A. 2004.** *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Third Edition.* ED., ED .Vol. : CRC Press
- 174- **Salminen S., Ouwehand A. et von Wright A. 2004.** *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3rd ed.* Marcel Dekker. New York. 375-395.
- 175- **Samelis J, Maurogenakis F et Metaxopoulos J (1994).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami, *Inter. J. Food. Microbiol.*, 23: 179-196.
- 176- **Sánchez I., Palop L., Ballesteros C., 2000.** Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of “Almagro” egg plants. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 9-17.
- 177- **Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* 46 : 201-203.

- 178- **Seseña S., Palop M.L.I., 2007.**An ecological study of lactic acid bacteria from Almagro eggplant fermentation brines. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1553-1561.
- 179- **Shankara N., Van lidt de jeud J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B. et Florijin. A. (2005).** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation. 5eme (ed).foundation agromisa et CTA, Wageningen.
- 180- **Sharpe, M.E. (1981).** The genus *Lactobacillus*. In *The Procaryotes*, Vol II. ed. M.P. Stan, H. Stolp, H.G. Truper, J.A. Balonis and H.G. Schleger pp. 1614 1630. New York: Springer-Verlag.
- 181- **Shepard, B. D., & Gilmore, M. S. (2002).** Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes and Infection*, 4(2), 215–224.
- 182- **Singleton P., 1994.** Bactériologie. Masson, 2eme édition, 231p.
- 183- **Soomro A.H Masud T .and Anwaar K. 2002.** Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.
- 184- **Sondergaard A.K.**Application of probiotics in food. In *Bacteries lactiques et probiotiques*. Francois-Marie Luquet G.C. Lavoisier, Tec & Doc - Paris. **2005**, 195-209.
- 185- **Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H., (1981).** Composition des aliments. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- 186- **Stiles M.E. et Holzapfel W.H. 1997.**Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.
- 187- **Storch V., 1980.** Nogle Undersogelser Over Flodens. Eighteenth report from the Royal Veterinary And Agricultural University, Laboratory for agricultural experiments, copenhagen., 18p.
- 188- **Streit F., Corrieu G.and Béal C., 2008.** Acidification improves cryo tolerance of *Lactobacillus delbruechii subsp. bulgaricus* CF11.*J.Biotechnol.*128 :659-667.
- 189- **Sutra L.et Federighi M. (1998).**Manuel de bactériologie alimentaire, Polytechnica

T

- 190- **Tailliez Patrick (2001)**. Mini-revue : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait.*, 81: 1-11
- 191- **Tamang B, Tamang JP**. In situ fermentation dynamics during production of gundruk and khalpi, ethnic fermented vegetable products of the Himalayas. *Indian J Microbiol* **2010**;50:93–8. doi:10.1007/s12088-010-0058-1.
- 192- **Tamang JP, Shin D-H, Jung S-J, Chae S-W**. Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. *Front Microbiol* **2016**;7:578. doi:10.3389/fmicb.2016.00578.
- 193- **Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH**. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Front Microbiol* **2016**;7:377. doi:10.3389/fmicb.2016.00377.
- 194- **Tamime A.Y. 2002**. Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
- 195- **Tamminen M., Joutsjoki T., Sjöblom M., Joutsen M., Palva A., Ryhäne, E.L., 2004**. Screening of lactic acid bacteria from fermented vegetables by carbohydrate profiling and PCRELISA. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 439-444.
- 196- **Teuber Michael, Geis Arnold, 2006**. The Genus *Lactococcus*. *Prokaryotes4*: 205-228.
- 197- **Tiwari U, Cummins E**. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Res Int* 2013;50:497–506. doi:10.1016/j.foodres.2011.09.007
- 198- **Trias R., Bañeras L., Montesinos E., Badosa E., 2008**. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*, 11, 231-236.

U

- 199- **Uehara S., Monden k., Nomoto K., Seno y., Kariyama R and Kumon H. 2006**. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 28: 30-34.

V

- 200- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. and Swings J. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60: 407.
- 201- **Vandenbergh P.A., 1993.** Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews.* 12, 1-3, 221-237.
- 202- **Van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich SD and Maguin E. (2002).** Stress responses in lactic acid bacteria. *Anatomie Van Leeuwenhoek* 82.187-216.

W

- 203- **Weinberg Z.G., Muck R.E., Weimer P.J., Chen Y et Gamburg M, 2004.** Lactic acid bacteria used in inoculants for silage probiotics for ruminants. *Applies Biochemistry and Biotechnology* 118, 1-9.

Z

- 204- **Zarour K.. 2010.** Contribution à l' étude microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées de différents écosystèmes. Mémoire de Magister. Université D'Oran Es-Senia.
- 205- **Zhang H. et Cai Y. 2014.** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York London P: 535.
- 206- **Z Lu, HP Fleming, RF Mcfeeters.** Differential Glucose and Fructose Utilization During Cucumber Juice Fermentation. *J Food Sci* 2001;66:162–6. doi:10.1111/j.1365- 2621.2001.tb15600.x.
- 207- **Zourari A., Accolas J. P. and Desmazeaud M.J. 1992.** Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *Areview. Lait.* 72: 1-34.

Anonyme I:

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Fruits/fraise.htm>

Anonyme II:

<https://www.istockphoto.com/fr/photos/chou-blanc>

A vibrant still life arrangement of various fruits and vegetables. The composition includes a large bunch of dark purple grapes at the top, several red and yellow apples, clusters of red and yellow cherry tomatoes, a head of green broccoli, a yellow bell pepper, and various leafy greens. The items are arranged in a dense, overlapping manner, creating a rich and colorful display. The word "Annexes" is overlaid in the center in a bold, black, serif font.

Annexes

Annexe I

a. Milieux de culture

Bouillon M17 de Terzaghi

Peptone de caséine	2.5 g
Peptone de viande	2.5 g
Peptone de soja	5 g
Extrait de levure	2.5 g
Extrait de viande	5 g
Glycérophosphate de sodium	19
Sulfate de magnésium	0.25 g
Lactose	5 g
Acide Ascorbique	0.5g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7.2 Autoclavage 120° C, 15 min	
(Guiraud, 2003)	

Gélose M17 de Terzaghi

Peptone de caséine	2.5 g
Peptone de viande	2.5 g
Peptone de soja	5 g
Extrait de levure	2.5 g
Extrait de viande	5 g
Glycérophosphate de sodium	19 g
Sulfate de magnésium	0.25 g
Lactose	5 g
Acide Ascorbique	0.5g
Agar-Agar	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7.2 Autoclavage 120° C, 15 min	
(Guiraud, 2003)	

Gélose MRS de ManRogosa et sharpe

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Tween 80	1 ml
Phosphate dipotassique	2 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate triammonique	2 g
Sulfate de magnésium	200 g
Sulfate de manganèse	50 g
Agar-Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH=6.5
Autoclavage 120°C pendant 20 min

Guiraud, 2003

bouillon MRS de Man Rogosa et sharpe

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Tween 80	1 ml
Phosphate dipotassique	2 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate triammonique	2 g
Sulfate de magnésium	200 g
Sulfate de manganèse	50 g
Eau distillée	1000 ml

pH=6.5
Autoclavage 120°C pendant 20 min

(Guiraud, 2003)

Eau peptonée tamponnée

Peptone	20.0 g
Chlorure de sodium	5.0 g
Phosphate dipotassique	9.0 g
Phosphate monopotassique	1.5 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7.2

Autoclavage 115°C pendant 30 min

(Guiraud, 2003)

Milieu Möeller à l'arginine

Peptone	5 g
Extrait de viande	5 g
Glucose	0.5 g
Pourpre de bromocrésol	0.1 g
Rouge de crésol	5 mg
Pyridoxal	5mg
Eau distillée	1000 ml

pH=6.5

Autoclavage 120°C pendant 20 min

On ajoute à chaque tube de milieu de base 1 ml d'acide aminé (arginine) à 10% stérilisé par filtration

(Guiraud, 2003)

Milieu de Clark et Lubs

Peptone	10 g
Phosphate dipotassique	2g
Glucose	5 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7.0

Autoclavage 120°C pendant 20 min

(Guiraud, 2003)

Bouillon hypersalé

Peptone	15 g
Extrait de viande	5 g
Glucose	5 g
NaCl	(65-180) g
Eau distillée	1000 ml

pH=7.5
Autoclavage 120°C pendant 20 min

(Sherman, 1937)

Mannitol-mobilité

Peptonetrypsique de viande	20 g
Agar	4 g
Mannitol	2 g
Rouge de phénol à 1%	4 ml
KNO ₃	1 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7.6-7.8
Autoclavage 120°C pendant 20 min

(Marchal, 1982)

Lait écrémé

Poudre de lait (0% MG)	120,0g
Eau distillé	1000 ml

Stérilisation : 110°C pendant 10 min

b. Réactifs et Colorants:

-Colorants de la réaction de Gram:

- Solution de violet de Gentiane : 1g de violet de gentiane, 10mL d'alcool éthylique à 95%, 2g de phénol ajoutés à 100mL d'eau distillée.
- Solution de Lugol : 1g d'iodure de potassium, 1g d'iode ajoutés à 300mL d'eau distillée.
- Alcool éthylique : à 95%.
- Solution de Fuschine de ziehl : 1g de Fuschine, 10mL d'alcool éthylique à 95%, 5g de phénol ajoutés à 100mL d'eau distillée.

-Bleu de méthylène, pourpre de bromocrésol, phénolphtaléine, Réactifs Vogues-Proskauer VPI et VPIL.

Annexe II

Protocoles :

Coloration de Gram :

- Préparer et fixer sur une lame un frottis bactérien à la flamme d'un bec bunsen;
- Recouvrir au violet de Gentiane pendant 1 minute. Rincer à l'eau distillé;
- Ajouter du Lugol pendant 1 minute, puis rinçage à l'eau distillé;
- Traiter à l'alcool pendant 30 secondes, rincer à l'eau;
- Recolorer à la Fuschine pendant 1 minute, rinçage à l'eau puis séchage;

Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le violet de Gentiane. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui n'en possèdent pas une enveloppe externe vont tenir le colorant (Gram+) (**Camille, 2007**).

Annexe III



L'eau péptonée tamponnée

Milieu M17

Milieu MRS

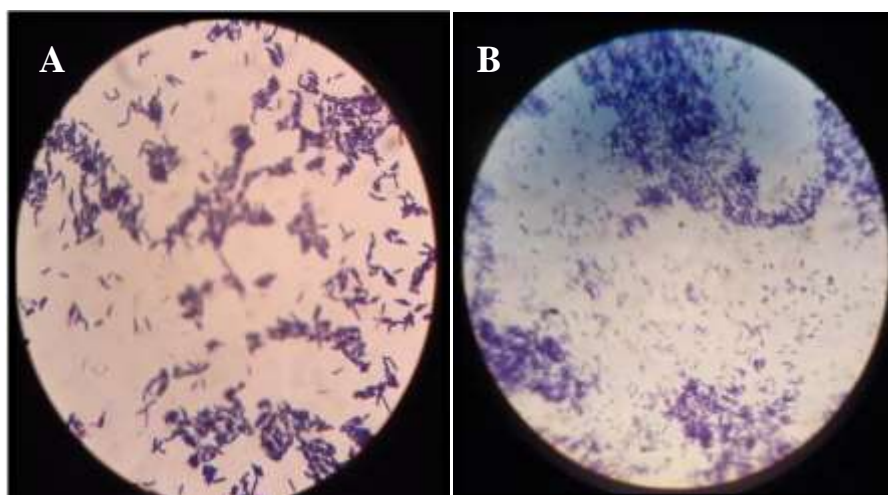


Photo d'Observation Microscopique d'une bactérie lactique. (A) : des bâtonnets, (B) : des coques