



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique.



Université de Larbi Tebessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des sciences de la Nature et de la Vie.

Département de : **Biologie Appliquée.**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Microbiologie appliquée

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Thème :**

**Evaluation des propriétés probiotiques des  
bactéries lactiques : isolées à partir d'un fromage  
artisanal produit localement « *Jben* ».**

**Présenté par : MOKDAD Asma, LALMI Aziza et MESSAI Latifa.**

**Devant le jury composé de :**

<b>Promoteur</b>	<b>Dr. MECHAI Abdelbasset</b>	<b>-M.C.A. Univ. Larbi Tebessi (Tébessa)</b>
<b>Co-promoteur</b>	<b>Dr. MECHAI-DEBABZA Manel</b>	<b>-M.C.A. Univ. Larbi Tebessi (Tébessa)</b>
<b>Président</b>	<b>Dr. BELBEL Zineb</b>	<b>-M.C.B. Univ. Larbi Tebessi (Tébessa)</b>
<b>Examineur</b>	<b>Dr. AZIZI Nassima</b>	<b>-M.A.A. Univ. Larbi Tebessi (Tébessa)</b>

Date de soutenance : 21juin 2020

Note :..... Mention :.....

Année universitaire 2019/2020

# *Dédicace :*

*A ma famille et belle famille.*



*Asma ....*

# *Dédicace :*

*Je dédie ce modeste travail:*

*A mes chères parents **lalmi Tayeb** et **Aouine Khemissa**, que dieu les garde, pour leur soutien durant mes années d'étude et ses encouragements, avec mes meilleures vœux de santé et de bonheur.*

*Je suis très fière de vous.*

*A mes chères frères **Aymen** et **Omar** et mes petites sœurs **Bouthaina** et **Hiba**.*

*A mes chères binômes **Latifa** et **Asma**, je leur souhaite la réussite et le bonheur dans leur vie.*

*A mes amies intimes : **Chaima**, **Narimane**, **Khaoula**, **Lamia**, **Saida**, **Houda**, **Laila**, **Nacira**, **Dounia**, **Oumaima**, **Imen** et **Wafa**.*

*Avec toute ma tendresse à tous mes amies sans exception.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit réalisé je vous dis merci.*

*Aziza....*

## *Dédicace :*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mon très chère papa "Messai Mohamed", que Dieu le protège et le garde pour moi.*

*A celle qui m'a donné l'amour, la compréhension, la tendresse, la politesse, ma plus chère Mère "Messai Tefaha, qui a veillé sur mon éducation, qui m'a encouragé durant tous mon cursus universitaire. Je souhaite qu'elle soit heureuse et en bonne santé pendant toute sa vie.*

*A mes chers frères : Charef Eddine, Aoubaid, et mes adorables sœurs : Soumia et Khaoula, qui son m'a toujours encouragé.*

*A ma frère Mounir avec son mariée Rachida .A mon neveu : Mortadha.*

*A ma très chère collègue, ma sœur Aziza avec qui j'ai partagé ce travail, je lui souhaite la réussite et le bonheur dans sa vie.*

*A mon trinôme Asma à qui je présente mes sincères remerciements de nos avoir supporté durant tout ce travail.*

*A mes très chère amies : chaima R, Imen I, Lamia, Khaoula, Laila, Saidia, Houda, Sara, Imen H, Wafa, Nacira et Dounia.*

*A toute ma familles plus élargie, mes amies .A ceux qui m'ont aidé, encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles et ceux à qui je dois tant.*

*Latifa....*

# Remerciements :

*Avant tout je dois remercier le bon dieu qui m'a donné le courage, la volonté et l'énergie pour continuer mes études après des années ...*

*A mon encadreur et conseillé de mémoire, **Monsieur MECHAI ABDELBASSET**, Je tiens à vous remercier d'avoir accepté d'être mon directeur de mémoire et de m'avoir aidé au choix du sujet. Merci également pour vos conseils, votre aide et votre patience pour l'élaboration de ce travail. Merci parce que vous étiez mon encadreur de **DES en 2007**, d'être présent aujourd'hui à mes côtés dans ma mémoire de master, et pourquoi pas vous serez inchallah mon encadreur de doctorat.*

*A mon co-encadreur de mémoire, **Madame MECHAI – DEBABZA**, Je tiens à vous remercier sincèrement pour avoir collaboré à la réalisation de ce travail.*

*A Mme **BELBEL ZINEB**, Je tiens à vous remercier sincèrement pour avoir accepté de juger ce travail et de présider mon jury de mémoire aujourd'hui.*

*A Madame **AZIZI NASSIMA**, Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de faire partie de mon jury de mémoire.*

*Je tiens à remercier vivement madame **CHADI HAFIDHA** pour ses précieux cours de **SRS** qui ont été très utiles pour la rédaction de ce travail.*

*Un grand merci à ma famille de m'avoir toujours soutenue  
notamment lors des périodes de révisions, je suis heureuse de vous  
présenter ce mémoire aujourd'hui.*

*Un grand merci pour mes binômes de mémoire ; Azouza, Latoufa, merci  
pour vos aides, je suis fière de vous, et bon courage pour le reste de votre  
vie.*

*Asma...* 

# Remerciement :

*Avant tout, nous tiens à remercier « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.*

*Nos adresse nous plus vifs remerciements à **Dr. MECHAI ABDELBASSET**, maître de conférences A à l'université de Tébessa, d'avoir bien voulu accepter d'être notre encadreur, pour nous avoir proposé ce sujet, de nous avoir aidé et dirigé pour la réalisation de ce travail, ainsi que pour tous les efforts que vous nous avez octroyez. Nous vous exprimons nos sincères reconnaissances.*

*Nous tenons aussi à remercier très chaleureusement **Dr. MECHAI-DEBABZA MANEL** maître de conférences A à l'Université de Tébessa, pour son aide et collaboration.*

*Nous sommes particulièrement reconnaissantes à **Dr. BELBEL ZINEB** maître de conférences B l'Université de Tébessa, d'avoir accepté de juger notre travail en tant que présidente ainsi que **Dr. AZIZI NASSIMA** maître-assistante A à l'Université de Tébessa, de bien vouloir évaluer et examiner ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nous remerciements à **Dr. CHADI HAFIDHA** maître-assistante à l'Université de Tébessa, pour ses précieux cours de SRS, qui nous ont grandement aidés lors de la rédaction de ce travail.*

*Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.*

*A vous tous, un grand Merci.*

*Aziza ET Latifa....*



## Résumé

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" (Generally Recognized As Safe) et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme cultures ajoutées sous des conditions contrôlées. Elles sont également impliquées dans de nouveaux types de produits en tant que «probiotiques».

Dans le présent travail, une collection de souches lactiques a été établie, elle comprend 21 souches isolées à partir d'un produit laitier fermenté de façon artisanale et identifiées sur la base d'un certain nombre de caractères phénotypiques.

Les résultats de l'évaluation des aptitudes probiotiques indiquent que les souches lactiques présentent de bonnes aptitudes probiotiques. Les activités antimicrobiennes produites par les souches sélectionnées possèdent de larges spectres d'activité dirigée contre les bactéries Gram positifs (*Staphylococcus aureus*) et les bactéries pathogènes Gram négatifs englobant les espèces suivantes (*Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella spp*). Les tests de l'adhésion au tissu épithélial sont aussi révélées intéressants.

D'une autre part, la comparaison des critères probiotiques de nos souches avec ceux d'une souche commercialisée a donnée des résultats satisfaisants et encourageants dans ce domaine.

**Mots clés :** bactéries lactiques, pouvoir antimicrobien, *Jben*, probiotiques, pouvoir d'adhésion.

## *Abstract*

Lactic acid bacteria have acquired the (GRAS) status (Generally Recognized As Safe), play an important role in the fermentation and conservation of aliments, as well as in the microflora of natural or community cultures as well as in controlled conditions. In this work, a collection of lactic strains has been established, it includes 21 strains isolated from traditional fermented milk products and identified on the basis of a number of phenotypic characters.

The results of probiotic ability have shown that our stains have an interesting properties. LAB strains were screened for their inhibitory effect have a broad antimicrobial spectrum on both Gram positive (*Staphylococcus aureus*) and pathogenics Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella spp*). Epithelial tissue adhesion tests have also been shown to be interesting.

On the other hand, the comparison of the probiotic criteria of our strains with those of a commercialized strain have shown satisfactory and encouraging results in this area.

**Keywords:** lactic acid bacteria, antimicrobial activity, Jben, probiotics, adhesion property.

## ملخص

تعرف البكتيريا اللبنية بأنها آمنة (*GRAS*) (معتزف بها عموماً بأنها آمنة) وتلعب دور هام في تخمر وحفظ الأغذية، سواء كانت موجودة بصورة طبيعية او مضافة وفق شروط محددة. كما أنها تدخل في تحضير مركبات جديدة تعرف باسم البر وبيوتيك.

أثناء العمل التطبيقي لبحث التخرج قمنا بعزل 21 سلالة من البكتيريا اللبنية من جبن محضر على الطريقة التقليدية لضواحي ولاية تبسة. والتي قمنا فيما بعد بتحديد لها وفق عدد معين من الخواص الظاهرية.

نتائج تقييم الخصائص البروبيوتكية لهذه السلالات أثبتت نتائج جيدة المستوى. فيما يخص فعالية التضاد

الميكروبيولوجي أثبتت أن لديها قدرات واسعة النطاق ضد البكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus*

*aureus*) و سلبيه الغرام (*Escherichia coli, P. aeruginosa, Salmonella typhi, Klebsiella*

*spp*). أما بالنسبة لخاصية الالتصاق بالنسيج المعوي أثبتت كذلك نتائج مهمة.

من جهة اخرى حصيلة مقارنة الخصائص البروبيوتكية للسلالات المعزولة مع سلالة مسوقة صيدلانيا أثبتت نتائج مرضية ومشجعة في هذا المجال.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا اللبنية، فعالية التضاد الميكروبيولوجي، جبن، خاصية الالتصاق.

### *Liste des tableaux :*

<b>Numéro du tableau</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Milieux d'isolement de quelques espèces de bactéries lactiques.	<b>4/5</b>
<b>Tableau 2</b>	Les principales espèces de bactéries lactiques à activité probiotique.	<b>15/16</b>
<b>Tableau 3</b>	Principaux critères utilisés pour la sélection des probiotiques.	<b>19</b>
<b>Tableau 4</b>	Effets positifs des probiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés).	<b>21/22</b>
<b>Tableau 5</b>	Description des souches microbiennes révélatrices utilisées dans la méthode des puits.	<b>37</b>
<b>Tableau 6</b>	Caractérisation des souches lactiques.	<b>45</b>
<b>Tableau 7</b>	Diamètres des zones d'inhibition des germes pathogènes exprimés en mm.	<b>52/53</b>
<b>Tableau 8</b>	Résultats d'adhésion des souches lactiques isolées et la souche de comparaison <i>Lb. plantarum</i> au tissu intestinal d'un poulet.	<b>60/61</b>

## *Liste des figures :*

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
<b>Figure 1</b>	Schéma montrant l'arbre phylogénique basée sur la comparaison du gène de l'ARN 16 S, en groupant les bactéries lactiques à faible pourcentage CG et la relation lointaine avec les germes à gram positif de haut pourcentage CG du genre <i>Bifidobacterium</i> et <i>propionibacterium</i> .	<b>6</b>
<b>Figure 2</b>	Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose	<b>11</b>
<b>Figure 3</b>	Caillette du jeune agneau salé et séché puis conservée.	<b>33</b>
<b>Figure 4</b>	L'égouttage du caillé dans une fromagère.	<b>33</b>
<b>Figure 5</b>	La pesée d'un gramme de <i>JBEN</i> .	<b>34</b>
<b>Figure 6</b>	Préparation de la solution mère à partir de la souche lactique commercialisée <i>lactobacillus plantarum 299V</i> .	<b>35</b>
<b>Figure 7</b>	Schéma représentant la réalisation des dilutions décimales.	<b>35</b>
<b>Figure 8</b>	Schéma représentant les méthodes de détection de l'antagonisme bactérien.	<b>38</b>
<b>Figure 9</b>	Schéma représentant les étapes de préparation des cellules intestinales.	<b>40</b>
<b>Figure 10</b>	Aspects macroscopiques des colonies de bactéries lactiques de la dilution $10^{-3}$ cultivées sur le milieu MRS.	<b>41</b>
<b>Figure 11</b>	Aspect des colonies cultivées sur milieux MRS sous microscope binoculaire, agrandissement.	<b>42</b>
<b>Figure 12</b>	Isolement des colonies suspectes par des stries.	<b>42</b>
<b>Figure 13</b>	Bactérie Gram positif de forme, diplo-coccobacille, agrandissement x100.	<b>43</b>
<b>Figure 14</b>	Bactérie Gram positif de forme bacille, agrandissement x 100.	<b>43</b>

<b>Figure 15</b>	Bactérie Gram positif de forme bacille allongée, agrandissement x 100.	<b>44</b>
<b>Figure 16</b>	Bactérie Gram positif de forme bacille épais, agrandissement x 100.	<b>44</b>
<b>Figure 17</b>	Représentation graphique en pourcentage des lactobacilles isolés.	<b>46</b>
<b>Figure 18</b>	Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche <i>E. coli</i> .	<b>47</b>
<b>Figure 19</b>	Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche <i>klebsiella spp.</i>	<b>48</b>
<b>Figure 20</b>	Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche <i>salmonella tphi.</i>	<b>49</b>
<b>Figure 21</b>	Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	<b>50</b>
<b>Figure 22</b>	Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche <i>Staphylococcus aureus.</i>	<b>51</b>
<b>Figure 23</b>	Interaction entre le surnageant des souches lactiques et <i>E. coli</i> .	<b>54</b>
<b>Figure 24</b>	Interaction entre le surnageant des souches lactiques et <i>klebsiella spp.</i>	<b>54</b>
<b>Figure 25</b>	Interaction entre le surnageant des souches lactiques et <i>salmonella tphi.</i>	<b>55</b>
<b>Figure 26</b>	Interaction entre le surnageant des souches lactiques et <i>P.aeruginosa.</i>	<b>55</b>
<b>Figure 27</b>	Interaction entre le surnageant des souches lactiques et <i>S.auréus.</i>	<b>56</b>
<b>Figure 28</b>	Diamètres des zones d'inhibition exercés par la souche <i>Lb .plantarum</i> sur les souches pathogènes.	<b>57</b>
<b>Figure 29</b>	Adhérence des souches de <i>lactobacillus spp</i> aux cellules intestinales visualisées sous microscope photonique après coloration au violet de gentiane.	<b>62</b>

***Liste des annexes :***

<b>Numéro d'annexe</b>	<b>Titre</b>
<b>Annexe 1</b>	Composition des milieux de culture et tampon.
<b>Annexe 2</b>	Coloration de gram.

## *Liste des abréviations :*

- + **BL** : Bactérie lactique.
- + **Lb** : *Lactobacillus*.
- + **St** : *Streptococcus*.
- + **S** : *Staphylococcus*.
- + **E** : *Escherichia*.
- + **En** : *Enterococcus*.
- + **Ln** : *Leuconostoc*.
- + **Lc** : *Lactococcus*.
- + **Pc** : *Pediococcus*.
- + **P** : *Pseudomonas*.
- + **Bf** : *Bifidobacterium*.
- + **C** : *Clostridium Difficile*.
- + **H** : *Helicobacter Pylori*.
- + **Spp** : Sous espèce.
- + **Sp** : Espèce non précisée.
- + **PTS** : Phosphotransferase System.
- + **ATP** : Adénosine triphosphate.
- + **FPC** : fructose-6-p –p phosphocétolase.
- + **PP** : Pentose phosphate.
- + **EMP** : Embden-Meyerhof-Parnas.
- + **EPS** : Exopolysaccharides.
- + **ATB** : Antibiotique.
- + **MRS** : Man, Rogosa et Sharpe.
- + **MH** : Muller Hinton.
- + **PDA** : Potato dextrose agar.
- + **PBS** : Tampon phosphate salin (Phosphate buffered saline).

- + **GRAS** : *Generally Regarded As Safe.*
- + **FAO** : Food and Agriculture Organization.
- + **OMS** : Organisation Mondiale De La Santé.
- + **DAA** : Diarrhées associée aux antibiotiques.

# Table des matières

	Page
Dédicace.....	<i>i</i>
Remerciements.....	<i>iv</i>
Résumé.....	<i>viii</i>
Abstract.....	<i>ix</i>
ملخص	<i>x</i>
Liste des tableaux.....	<i>xi</i>
Liste des figures.....	<i>xii</i>
Liste des annexes.....	<i>xv</i>
Liste des abréviations.....	<i>xvi</i>
Table des matières.....	<i>xviii</i>
Introduction.....	1
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
Chapitre I : Les bactéries lactiques.....	3
1- Caractéristiques générales des bactéries lactiques.....	3
2-Habitat .....	4
3-Taxonomie.....	5
4-Caractéristiques des principaux genres.....	7
4-1- Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	7
4-2-Le genre <i>Lactococcus</i> .....	8
4-3-Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	8
4-4-Le genre <i>Enterococcus</i> .....	9
4-5-Le genre <i>Stréptococcus</i> .....	9
4-6-Le genre <i>Pédiococcus</i> .....	9

4-7-Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	9
5 –Métabolisme fermentaire des bactéries lactiques.....	10
5-1-La voie homofermentaire.....	10
5-2-La voie hétérofermentaire.....	10
5-3-La voie bifide.....	10
6-Intérêt des bactéries lactiques en industrie fromagère.....	12
6-1-Rôle des bactéries lactiques dans l'industrie fromagère.....	12
6-1-1-Activité acidifiante.....	12
6-1-2-Activité protéolytique.....	12
6-1-3-Activité lipolytique.....	12
<b>Chapitre II : Les probiotiques.....</b>	<b>14</b>
1-Historique.....	14
2-Définition.....	14
3-Les principales espèces de bactéries lactiques à potentiel probiotique.....	15
4-Les critères de sélection des souches probiotiques .....	16
4-1- L'origine .....	16
4-2-Innocuité totale.....	17
4-3-Survie au cours du transit digestif.....	17
4-4-La résistance à l'acidité gastrique.....	17
4-5-La résistance aux sels biliaires.....	17
4-6-La production des substances antimicrobiennes.....	18
4-7-L'adhésion aux cellules épithéliales.....	18
4-8-Résistance aux antibiotiques.....	19
<b>Chapitre III : Les effets bénéfiques des probiotiques.....</b>	<b>21</b>
1-Les effets bénéfiques des probiotiques.....	21

<b>1-1- Troubles associés au système gastro-intestinal.....</b>	<b>22</b>
<b>1-1-1- Prévention et réduction des diarrhées due à bactéries ou virus.....</b>	<b>22</b>
<b>1-1-2- Les diarrhées aiguës.....</b>	<b>23</b>
<b>1-1-3- Diarrhées à Rotavirus.....</b>	<b>23</b>
<b>1-1-4- Les diarrhées associées aux antibiotiques.....</b>	<b>24</b>
<b>1-1-5- Prévenir la récurrence des infections à <i>Clostridium difficile</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>1-1-6- Les diarrhées du voyageur.....</b>	<b>25</b>
<b>1-1-7- Les infection à <i>Helicobacter pylori</i>.....</b>	<b>26</b>
<b>1-1-8-Constipation.....</b>	<b>26</b>
<b>1-1-9- L'élimination ou amélioration de l'intolérance au lactose.....</b>	<b>27</b>
<b>1-1-10- Maladies inflammatoires de l'intestin.....</b>	<b>27</b>
<b>2-Effets sur le système immunitaire.....</b>	<b>28</b>
<b>2-1- Stimulation de systèmes immunitaire.....</b>	<b>28</b>
<b>2-2- Diminution des risques des maladies allergiques.....</b>	<b>29</b>
<b>3-Autres effets.....</b>	<b>29</b>
<b>3-1- Activité anti-cancérogène.....</b>	<b>29</b>
<b>3-2- Diminution du taux de cholestérol dans le sang.....</b>	<b>30</b>

## **Partie II : Etude expérimentale**

<b>Chapitre I : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>31</b>
<b>1-Objectif de l'étude.....</b>	<b>31</b>
<b>2-Matériel utilisé.....</b>	<b>31</b>
<b>2-1-Matériel biologique.....</b>	<b>31</b>
<b>2-2-Milieus de culture.....</b>	<b>31</b>
<b>2-3-Produits chimiques et réactifs.....</b>	<b>32</b>
<b>2-4-Appareillages.....</b>	<b>32</b>
<b>2-5-Outils de la microbiologie.....</b>	<b>32</b>

<b>3- Méthodes et protocoles utilisés.....</b>	<b>32</b>
<b>3-1-Echantillonnage.....</b>	<b>32</b>
<b>3-2- La collecte des souches.....</b>	<b>34</b>
<b>3-2-1- Réalisation des dilutions décimales.....</b>	<b>34</b>
<b>3-2-2-Ensemencement.....</b>	<b>36</b>
<b>3-2-3-Purification des isolats.....</b>	<b>36</b>
<b>3-2-4-Caractérisation des isolats.....</b>	<b>36</b>
<b>3-3-Conservation des souches.....</b>	<b>36</b>
<b>3-4-Caractères probiotiques recherchés.....</b>	<b>36</b>
<b>3-4-1-Recherche de l'activité antimicrobienne.....</b>	<b>36</b>
<b>3-4-2-L'adhésion in vitro au tissu intestinal.....</b>	<b>38</b>
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion.....</b>	<b>41</b>
<b>1-Isolement et purification des bactéries lactiques.....</b>	<b>41</b>
<b>1-1-Observation macroscopique des cultures bactériennes.....</b>	<b>41</b>
<b>1-2- Aspect des bactéries lactique avec l'utilisation d'une binoculaire.....</b>	<b>41</b>
<b>1-3-Résultat d'isolement des colonies suspectes d'être des bactéries lactiques.....</b>	<b>42</b>
<b>1-4-Observation microscopique après coloration de Gram.....</b>	<b>43</b>
<b>1-5-Test de catalase.....</b>	<b>44</b>
<b>2- l'activité antimicrobienne.....</b>	<b>46</b>
<b>3- Adhésion au tissu intestinal .....</b>	<b>59</b>
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>65</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# **Introduction**

---

## *Introduction :*

Depuis l'antiquité l'être humain ne cesse de s'intéresser à la qualité de sa nourriture et ses bienfaits sur sa santé comme le dit Hippocrate (que la nourriture soit ton médicament et ton médicament soit ta nourriture).

A l'ère moderne et ces derniers décennies l'utilisation des probiotiques et la reconnaissance de leur rôle dans la santé et les maladies humaines l'un des domaines de développement le plus promoteur dans la nutrition humaine. (Zielińska et Kolożyn-Krajewska, 2018).

Depuis que Elie Mechnikoff a observé que la consommation régulière de certains produits laitiers fermentés contenant des espèces bactériennes viables peut avoir un rôle bénéfique dans le maintien et le rétablissement de microbiote et par conséquent l'homéostasie intestinale, les recherches sur l'utilisation des bactéries lactiques à potentiel probiotique n'a cessé guère jusqu'à nos jours, et la demande sur des aliments naturels bénéfiques est de plus en plus importante. (Ringo, Van Doan *et al.*, 2020).

Un probiotique se définit comme des préparations contenant des micro-organismes et leurs métabolites utilisés comme additifs alimentaires, et qui affectent l'organisme hôte de manière bénéfique, ces micro-organismes peuvent se développer et fonctionner dans le tractus intestinal de l'animal hôte. (Samedi et Linton, 2019), sachant que les deux principales sources de micro-organismes probiotiques sont le tractus gastro-intestinal humain et les produits laitiers fermentés, ces derniers sont riches de bactéries lactiques qui forment actuellement les probiotiques les plus couramment utilisés. (Oliveira et Lemsaddek, 2018). L'un des produits fermentés qui sont riches en probiotiques sont les fromages traditionnels qui proviennent d'un système complexe lié à divers facteurs de biodiversité comme l'environnement, le climat, la prairie naturelle, la race des animaux, l'utilisation de lait cru et de sa microflore indigène.

Un isolat probiotique puissant doit posséder certaines caractéristiques comme la survie dans le tube digestif (pouvoir résister à un pH bas du suc gastrique avec une résistance aux sels biliaires) et de coloniser l'intestin (adhérer aux cellules épithéliales et exercer une activité antimicrobienne.). Un probiotique devrait également offrir certains

avantages pour la santé comme l'activité anticancéreuse, les effets réducteurs de toxines et la stimulation de la réponse immunitaire, diminution des risques liés aux maladies du tube digestif ...etc (**Somashekaraiah et al., 2019**).

Donc avoir un probiotique efficace qui peut échapper et résister toutes les conditions hostiles du tubes digestif et de coloniser celui-ci et exercer les différentes fonctions bénéfiques c'est un défi.

Par conséquent la présente étude a pour objectif d'isoler à partir du fromage traditionnel fabriqué dans la wilaya de Tébessa (la région d'El-Ogla), des bactéries lactiques et évaluer leur potentiel probiotique, dans le même objectif, on a choisi une souche lactique commercialisée *Lactobacillus plantarum 299V* (smebiotca confort) afin de comparer les caractéristiques probiotiques de celle-ci avec les souches lactiques isolées.

Durant notre travail nous étions limités aux deux critères probiotiques : l'activité antagoniste et l'adhérence au tissu intestinal.

Le présent manuscrit présente deux parties, dont la première est réservée pour la synthèse bibliographique qui est subdivisée en trois chapitres :

- Généralité sur les bactéries lactiques.
- Les probiotiques.
- Les effets bénéfiques des probiotiques.

La deuxième partie élucide les différentes procédures expérimentales.

# Partie I : Synthèse

---

## bibliographique

*Chapitre I :*

*Les bactéries lactiques*

## Chapitre I : Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques font partie des groupes de micro-organismes les plus importants utilisés dans les fermentations alimentaires. Elles sont utilisées de manière empirique depuis des millénaires. Des traces archéologiques ont été retrouvées en Egypte, indiquant que l'Homme maîtrise les procédés de caillage du lait depuis le néolithique. (Carée-Mlouka, 2019).

Très rapidement dans l'histoire de l'Homme, les bactéries lactiques ont été exploitées pour la production d'aliments fermentés lactés comme les yaourts ou les fromages, mais également des produits à base de légumes, de céréales, de poissons ou de viande, ils contribuent au goût et à la texture des produits fermentés et inhibent les bactéries d'altération des aliments en produisant des substances inhibant leur croissance. (Kenneth, 2011).

### 1- Caractéristiques générales des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques (BL) sont des micro-organismes procaryotes hétérotrophes et chimioorganotrophes, cocci, des coccobacilles ou des bâtonnets à Gram positif, non sporiformes, à l'exception de *Sporolactobacillus inulinus* qui est une bactérie lactique sporulée unique ( Doores, 2014). Ce sont Généralement immobiles, dont certaines d'entre elles sont flagellées et présentent une motilité ; *Lactobacillus agilis* et *Lactobacillus ruminis* (Akinobu *et al.*, 2016), elles sont dépourvues de catalase et de cytochrome et se comportent comme des «anaérobies aérotolérants» ; tolèrent de petite quantité d'oxygène mais de trop grandes teneurs peuvent être néfastes, à cause de la présence d'une peroxydase qui est moins efficace que la catalase dans l'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxique accumulé ( Kenneth, 2011 ; Mathieu, 2007). Elles possèdent dans leur ADN une faible proportion de bases guanine – cytosine (GC % < 50). Les (BL) ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminées , les peptides , les vitamines , les sels , les acides gras et les sucres fermentescibles , ces derniers sont fermentés principalement en acide lactique ou en acide lactique, CO<sub>2</sub> et l'éthanol ( Mathieu, 2007).

**2-Habitat :**

Elles sont très ubiquistes colonisent de nombreux habitats ; comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales, dans le tractus digestif. Elles ont été également retrouvées dans le sol, les engrais, et les eaux d'égout. Il semble que chaque espèce ou groupe d'espèces ait un métabolisme bien adapté à son environnement. (Corrieu et luquet, 2008). (Tableau n°1).

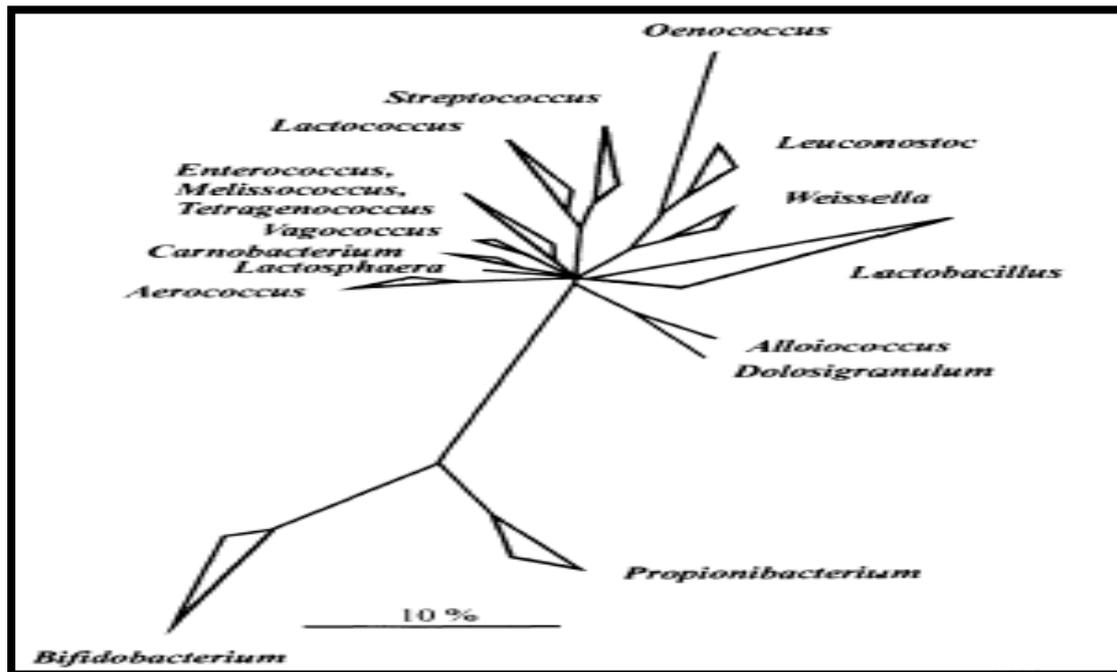
**Tableau n° 1 :** Milieux d'isolement de quelques espèces de bactéries lactiques. (Hassaine, 2013).

<b>BACTERIES LACTIQUES.</b>	<b>HABITAT OU MILIEU D'ISOLEMENT.</b>
<b><i>LACTOBACILLUS</i></b>	
<i>Lb delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	Végétaux.
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Yaourt, fromage.
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	Lait, fromage.
<i>Lb. acidophilus</i>	Bouche, tractus intestinal.
<i>Lb. gasseri</i>	Bouche, tractus intestinal.
<i>Lb. helveticus.</i>	Fromage.
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	Rumen.
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i>	Fromage, fourrage.
<i>Lb. kefir</i>	Kéfir.
<i>Lb. viridescens</i>	Produits carnés.
<i>Lb. sanfrancisco</i>	Pain.
<b><i>LACTOCOCCUS</i></b>	
<i>Lc .lactis</i> sussp. <i>lactis</i>	Lait crus, laits fermentés, végétaux.
<i>Lc .lactis</i> subsp <i>cremoris</i>	Lait
<i>Lc. raffinolactis</i>	Lait caillé
<i>Lc .graviae</i>	Lait de mammité

<b>LEUCONOSTOC</b>	
<i>Ln. oenos</i>	Lait, produit laitiers, fruit légumes, végétaux en fermentation (choucroute) produit de panification, solution visqueuses de sucres Vin (absent dans le lait)
<b>PEDIOCOCCUS</b>	
<i>Pc. pentosaceus, Pc. acidilactici.</i>  <i>Pc. halophilus</i>	Végétaux, boissons (bière, cidre et vin). lait et produit laitiers. Produit de pêche, anchois salé.
<b>STREPTOCOCCUS</b>	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lait, produit laitiers, yaourt, levains artisanaux.

### 3-Taxonomie :

Le concept de bactéries lactiques comme groupe de micro-organismes date de 1900. L'approche classique de la taxonomie bactérienne, est fondée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques auxquelles s'est ajoutée la composition pariétale, les acides gras, mais les caractéristiques moléculaires comme le pourcentage de G+C de l'ADN, l'hybridation ADN-ADN, la structure et séquence des ARN<sub>r</sub>, sont devenus des outils taxonomiques importants. Ces outils ont conduit à des changements notables dans la classification des bactéries lactiques (Hervé *et al.*, 2008) (Figure n° 1).



**Figure n° 1 :** Schéma montrant l'arbre phylogénique basée sur la comparaison du gène de l'ARN 16s, en groupant les bactéries lactiques à faible pourcentage CG et la relation lointaine avec les germes à gram positif de haut pourcentage CG du genre *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*, (Tahlaiti, 2019).

Les (BL) appartiennent au phylum XIII des *Firmicutes*, la classe I des *Bacilli* et l'ordre II des *Lactobacillales*. Il existe plus de 500 espèces de bactéries lactiques classées sous forme de genres répartis en six grandes familles :

- *Lactobacillaceae* qui comprend les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*.
- *Aerococcaceae* qui comprend les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.
- *Carnobacteriaceae* qui comprend les genres *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granlucatella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus* et *Trichococcus*.
- *Enterococcaceae* qui comprend les genres *Bavariicoccus*, *Catelliococcus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.
- *Leuconostocaceae* qui comprend les genres *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* et *Weissella*.

- *Streptococcaceae* qui comprend les genres *Lactococcus*, *Lactovum* et *Streptococcus*. (Fessard, 2017).

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont parfois considérées comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de leurs propriétés physiologiques et biochimiques et à leur présence dans le même habitat écologique, il est considéré pendant longtemps comme *Bacillus bifidus* puis comme *Lactobacillus bifidus*, ce groupe de bactérie lactique a été écarté des autres genres et spécifié sous le nom de *Bifidobacterium*, après l'analyse de son contenu G+C % (entre 55 et 67% beaucoup plus élevé que celui des lactobacilles), de ce fait il est classé dans le phylum d'*Actinobacteria* et donc phylogénétiquement éloigné des bactéries lactiques (Léonard, 2013 ; Mermouri, 2018).

#### 4- Caractéristiques des principaux genres :

##### 4-1- Le genre *Lactobacillus* :

Ce sont des cellules allongées, régulières en forme de bâtonnets ou coccobacilles isolés ou en chaînettes de taille variable, leurs températures de croissance (2 à 53 °C) sont très variables d'une espèce à l'autre, mais elles sont toutes acidophiles avec un pH optimal de croissance de 5,5 à 6,2. Leurs pourcentages en GC sont de 36 à 47. Leur mode de fermentation donne lieu à une classification répartie en trois groupes distincts :

- ✓ **Le groupe I :** regroupe représenté par les lactobacilles homofermentaires obligatoires thermophiles, ce groupe ne fermente que les hexoses en acide lactique via la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP ou glycolyse). Il est principalement connu par les espèces : *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* ; souvent utilisées en industrie laitière.
- ✓ **Le groupe II :** renferme les lactobacilles homo-hétérofermentaires comprenant les *lactobacilles* hétérofermentaires facultatifs et mésophiles. Ce groupe connu par les espèces : *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. graminis...etc*, Ces espèces bactériennes sont présentes dans les végétaux fermentés comme l'ensilage et dans les produits carnés et laitiers fermentés, ce groupe est caractérisé par la capacité à fermenter les hexoses en acide lactique via la voie EMP ; et à dégrader les pentoses et le gluconate par la voie du pentose phosphate

(PP). Ceci par l'intervention de l'enzyme phosphoketolase, produisant de l'acide acétique, de l'éthanol et de l'acide formique.

- ✓ **Le groupe III :** regroupe les lactobacilles hétérofermentaires stricts ; les bactéries de ce groupe transforment exclusivement les hexoses et les pentoses en acide lactique, éthanol (ou acide acétique) et CO<sub>2</sub> à travers la voie du phosphogluconate. Ce groupe comprend des espèces à faible capacité acidifiante (0.5% d'acide lactique) tel que : *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum*, *Lb. kefir* ...etc. Ces espèces se retrouvent dans les levains de panification et les produits laitiers fermentés. (Privat et Thonart, 2011).

#### 4-2-Le genre *Lactococcus* :

- ✓ Morphologiquement les lactocoques sont des coques à Gram positif, de 0.5 à 1.5 um en paire ou formant des chaînes courtes, ils sont mésophiles capable de fermenter les hexoses par voir homofermentaire. Les lactocoques des produits laitiers sont souvent employé en collaboration avec *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris* essentiellement pour les cultures starters laitiers mésophiles utilisés à la fois pour la production du lait et des fromages fermentés.
- ✓ La fameuse bactériocine découverte en 1927 nommée Nisine est produite par *Lc. lactis* est utilisée comme additif alimentaire (E234) pour la conservation de certains aliments comme la viande. (Mahamedi, 2015).

#### 4-3-Le genre *Leuconostoc* :

- ✓ A l'heure actuelle le genre *Leuconostoc*, se compose exclusivement des espèces coccoides, ce sont non thermophiles et la température optimale de croissance est comprise entre 20<sup>0</sup> C et 30<sup>0</sup> C ; presque aucune croissance ne se produit au-dessous de 40<sup>0</sup>C. Les espèces sont généralement non acidophiles et préfèrent un pH du milieu initial entre 6 et 7, elles sont obligatoirement hétérofermentaires. La production de bactériocine a été enregistrée pour les souches de *Ln. mesenteroides*, *Ln. carnosum*, *Ln. citreum*, *Ln. gelidum* et *Ln. pseudomesenteroides*. Ces bacteriocines sont actives contre les agents pathogènes d'origine alimentaire ; y compris *Lesteria monocytogenese* et sont donc bénéfiques comme bio-conservateurs pour la protection des aliments. (Mahamedi, 2015).

**4-4-Le genre *Enterococcus* :**

- ✓ Ce sont des cellules cocci, ovoïde, isolés ou en paires en chaînes courtes ou elles peuvent être disposées en groupes .ces espèces sont homofermentaires avec une température optimale de croissance environ de 37<sup>0</sup> C. mais de nombreuses espèces peuvent se développer à des températures allant de 10<sup>0</sup> à 45<sup>0</sup> C. Elles ont une importance alimentaire (maturation et développement d'arômes) de certains produits alimentaires traditionnellement fermentés tel que les fromages, mais elles peuvent aussi causer la détérioration de certains aliments comme la viande transformée.
- ✓ Les entérocoques sont également utilisés comme probiotique humains pour traiter les maladies diarrhéiques causées par des pathogènes d'origine alimentaire ainsi que la diarrhée associé aux ATB. (Mahamedi, 2015).

**4-5-Le genre *Streptococcus* :**

- ✓ Les membres du genre *streptococcus* ont la forme sphérique ou ovoïde moins de 2 um de diamètre , dont la seule espèce utilisée dans le domaine laitier est *streptococcus thermophilus* grâce à son rôle dans la fermentation du lait et son caractère non pathogène ,elle est homofermentaire , thermophile a la capacité de croitre même à 52 <sup>0</sup>C. Elle est utilisée à coté de *Lactobacillus bulgaricus* dans la production du yaourt. . (Mahamedi, 2015).

**4-6-Le genre *Pediococcus* :**

- ✓ Sont des cellules sphériques de taille uniforme, se disposent en tétrade, et d'habitude ne forment pas des chaînes, les *pediocoques* sont homofermentaires, avec une température optimale de croissance entre 25 <sup>0</sup>C et 35 <sup>0</sup> C et sont capables de se croitre à pH = 5.
- ✓ Un certain nombre de bactériocines (*pediocines*) a été décrit pour le genre *Pediococcus*. (Mahamedi, 2015).

**4-7-Le genre *Bifidobacterium* :**

Les bifidobactéries sont des bactéries commensales de l'homme et sont également retrouvées chez les animaux , leur isolement nécessite des conditions assez spécifiques qui mettent en jeu des systèmes d'anaérobiose comme les gas-pack .les conditions optimales de croissance des bifidobactéries d'origine humaine se situent à des

températures de croissance entre 37<sup>0</sup> et 41<sup>0</sup>C , et des valeurs de pH entre 6.5 et 7 . À l'heure actuelle les bifidobactéries sont les fameuses bactéries utilisées autant que probiotique à travers divers produits comme par exemple les laits fermentés et le yaourt. (Mahamedi, 2015).

### 5 -Métabolisme fermentaire des bactéries lactiques :

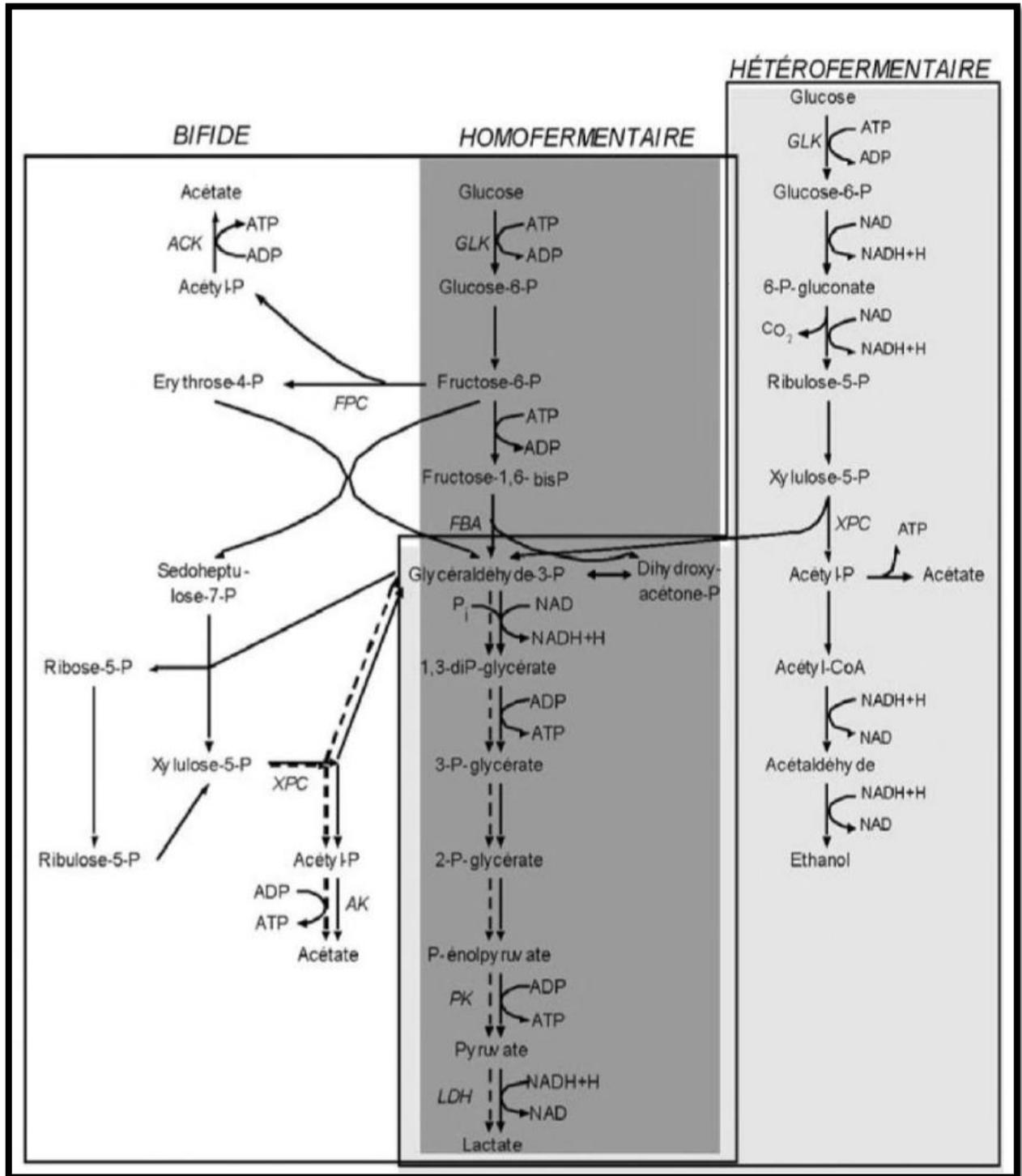
L'une des caractéristiques des bactéries lactiques qu'elles ne sont capable de cataboliser qu'un nombre plutôt réduit de sources de carbone, et via des voies métaboliques linéaires relativement simple. Suivant les genres ou l'espèce, elles utilisent l'une des trois voies suivantes du métabolisme des sucres : la voie homofermentaire, la voie hétérofermentaire et la voie bifide. (Figure n° 2).

**5-1-La voie homofermentaire :** qui emprunte la glycolyse dans sa totalité (du glucose 6-p jusqu'au pyruvate) est généralement associée aux bactéries du genre *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

La glycolyse conduit en conditions optimales de croissance à la production de deux molécules d'ATP par molécule de glucose. Le métabolisme est qualifié d'homolactique lorsqu'au moins 90% du glucose consommé est converti en lactate.

**5-2-La voie hétérofermentaire :** Certains bactéries des genres *Leuconostoc*, et *lactobacillus* ne possèdent pas de fructose-1,6-biphosphate aldolase ni de triose phosphate isomérase et sont également dépourvus d'un système PTS. Elles empruntent une voie hétérofermentaire qui conduit à la production d'un lactate, d'un éthanol, d'un CO<sub>2</sub> et d'un ATP par mol du glucose.

**5-3-La voie bifide :** Le métabolisme des bactéries du genre *Bifidobacterium* suit une voie particulière appelée voie fermentaire bifide ou voie de la fructose-6-p –p phosphocétolase (FPC). Le fructose -6-phosphate est scindé par le fructose -6-phosphate phosphocétolase en érythrose -4-phosphate et en acétyl – phosphate. L'érythrose -4-phosphate réagit ensuite avec une molécule de fructose -6-phosphate par la voie des pentoses-phosphate pour former de l'acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde -3-phosphate. Le bilan net de la voie bifide est d'une mole de lactate, 105 moles d'acétate et 2.5 moles d'ATP par mole d'hexose, ce qui est légèrement supérieur au rendement de la glycolyse en terme énergétique. (Corrieu et luquet, 2008).



**Figure n° 2** : voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose. Les principales enzymes sont indiquées en italique. *GLK* : glucokinase, *FBA* : fructose-1,6-biphosphate aldolase, *FPC* : fructose-6-phosphate phosphocétolase, *XPC* : xylulose-5-phosphate phosphocétolase, *PK* : pyruvate kinase, *LDH* : lactate déshydrogénase, *ACK* : acétate kinase. (Corrieu, Luquet, 2008).

**6-Intérêt des bactéries lactiques en industrie fromagère :**

Le rôle des bactéries lactiques dans l'industrie fromagère est d'abord la fermentation du lactose en acide lactique et donc l'acidification du lait pour obtenir le caillé (pH environ 4.6). Par leur métabolisme fermentaire les BL participent de façon importante à la production d'arôme, de gaz et interviennent également au cours de l'étape de l'affinage. (Carée-Mlouka, 2019).

Traditionnellement, les fermiers et les bergers ont fait le fromage à partir du lait cru de vache, de chèvre ou de brebis sur une petite échelle en utilisant des bactéries lactiques naturelles, dans le but de la biopréservation du lait en augmentant sa durée de conservation en toute sécurité (Mami, 2013).

Aujourd'hui, cette manière traditionnelle de produire des fromages est toujours présente dans beaucoup de pays méditerranéens notamment l'Algérie ; dont on distingue plusieurs types et variétés selon les régions et le processus artisanal de production ( JBEN , KLILA , IMADGHASSE, IGOUANE, TAKAMERT, BOUHEZZA , KEMARIA, TAKAMMART , MECHOUNA.....etc ) (Mami, 2013).

**6-1-Rôle des bactéries lactiques dans l'industrie fromagère :****6-1-1-Activité acidifiante :**

L'acidification est le rôle principal des BL, qui a pour but :

- La coagulation du lait et l'augmentation de la synérèse du caillé.
- La participation aux propriétés rhéologiques du produit final.
- L'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles.

**6-1-2-Activité protéolytique :**

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases, des peptidases nécessaire à la dégradation des protéines du lait en peptides courts et acides aminés libres qui contribuent aux propriétés organoleptiques (texture, saveur...) typiques du fromage.

**6-1-3-Activité lipolytique :**

La lipolyse est très importante au développement de flaveur dans les produits laitiers particulièrement dans la maturation du fromage. Beaucoup de bactéries lactiques, y

compris ; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* et *Lb. rhamnosus* ont été décrits d'avoir une activité lipolytique par des systèmes estérases / lipases. (Mahamedi, 2015 ; Saoudi, 2012).

*Chapitre II :*

---

*Les Probiotiques*

---

## **Chapitre II : Les probiotiques.**

### **1-Historique :**

Le terme “probiotique” est un mot relativement nouveau qui signifie “en faveur de la vie” et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l’homme et les animaux **(FAO/MOS, 2001)**.

Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff en 1907 (savant ukrainien naturalisé français ayant travaillé à l’Institut Pasteur et prix Nobel en 1908 pour ses travaux sur la phagocytose) ayant suggéré que l’ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines **(Hadeif, 2012 ; Piquepaille, 2013)**. En 1907, dans son livre « La prolongation de la vie », il met en évidence l’effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé. Il suggère qu’on peut modifier la flore intestinale et remplacer les bactéries nuisibles par des bactéries utiles à l’organisme. En 1965, le terme « probiotique » est utilisé pour la première fois par Lilly et Stilwell comme « des substances sécrétées par un organisme qui stimulent la croissance d’un autre ». Par la suite, Parker décrit les probiotiques comme des organismes et substances qui contribuent à l’équilibre intestinal. **(Bultel, 2017)**. Puis, en 1974, Parker proposa d’élargir la définition à « des organismes ou substances qui contribuent au maintien de l’équilibre de la flore » **(Piquepaille, 2013)**.

Afin de souligner la nature microbienne des probiotiques, Fuller en 1989 a redéfini le terme comme : « Un complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l’animal hôte en améliorant son équilibre intestinal ». **(Lardeur, 2018)**.

### **2-Définition :**

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. **(Piquepaille, 2013)**.

En 2001, Schrezenmeir et De Vrese ont proposé la définition de probiotique suivante : «une préparation ou un produit contenant des micro-organismes viables et définis en nombre suffisant, qui altèrent la microflore par implantation ou colonisation,

dans un compartiment de l'hôte et par là, exercent des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte » (Zielińska et Kolożyn-Krajewska, 2018).

Une définition plus précise de probiotique a été formulée en 2001 par la FAO, l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture :

« Un **probiotique** est un mélange de microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantités suffisantes, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte, Homme ou animal. ». Cette définition sous-tend que ces microorganismes vont coloniser le tractus gastro-intestinal et y proliférer, au moins de manière transitoire, pour y exercer l'action souhaitée. (Carée-Mlouka, 2019).

### 3-Les principales espèces de bactéries lactiques à potentiel probiotique :

Les souches les plus utilisées comme probiotiques sont des espèces des bactéries lactiques à Gram positif appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, (Lardeur, 2018), mais il faut aussi mentionner des souches du genre *Enterococcus* et *Streptococcus*. (Hadeif, 2012). Les principales espèces de bactéries lactiques à activité probiotique sont montrées dans le **tableau n°2** :

**Tableau n°2** : Les principales espèces de bactéries lactiques à activité probiotique (Hadeif, 2012)

Espèces de <i>Lactobacillus</i>		
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. gasseri</i>	<i>Lb. paracasei</i>
<i>Lb. amylovorus</i>	<i>Lb. johnsonni</i>	<i>Lb. rhamnosus</i>
<i>Lb. crispatus</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. plantarum</i>
Espèces de <i>Bifidobacterium</i>		
<i>Bf. lactis</i>	<i>Bf. animalis</i>	<i>Bf. infantis</i>
<i>Bf. longum</i>	<i>Bf. bifidum</i>	<i>Bf. breve</i>
<i>Bf. adolescentis</i>		
Autres bactéries lactiques		

<i>Lc. lactis</i>	<i>St. diacetylactis</i>	<i>En. faecalis</i>
<i>Ln. mesenteroides</i>	<i>St. intermedius</i>	<i>En. faecium</i>
<i>P. acidilactici</i>	<i>St. thermophilus</i>	

#### 4-Les critères de sélection des souches probiotiques :

Les probiotiques présentent des propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Il est nécessaire de connaître le genre et l'espèce de la souche utilisée car les effets probiotiques sont spécifiques à la souche microbienne. (Hadeb, 2012). La non-pathogénicité des souches est un critère très important, et les souches reconnues comme **GRAS** (*Generally Regarded As Safe*) sont généralement privilégiées. (Lesly et Albert, 2019 ; Benreguieg, 2015)

Une souche probiotique doit avoir la capacité de résister à l'environnement digestif. Il doit essentiellement tolérer l'acidité et la bile, avoir la capacité d'adhérer à la muqueuse intestinale, prouver son innocuité et avoir la capacité d'inhiber les organismes pathogènes. Il doit aussi pouvoir survivre aux différents procédés technologiques de fabrication et de conservation (lyophilisation, congélation, ...). (Tableau n°3) (Mermouri, 2018).

##### 4-1-L'origine :

Les microorganismes probiotiques doivent être des composantes habituelles d'un microbiote intestinal sain, de préférence humain. (Carée-Mlouka, 2019).

Généralement les souches lactiques non humaines ont une croissance optimale à une température comprise entre 30 et 42°C, ne résistent pas au passage dans l'estomac, sont tuées par les sels biliaires, et sont incapables de s'établir dans le tube digestif. A l'opposé, les souches d'origine humaine poussent à 37°C, sont résistantes aux acides et aux sels biliaires, et en général peuvent s'établir au moins transitoirement dans l'intestin humain. Il a également été démontré que la muqueuse intestinale et sa microflore partagent des épitopes antigéniques communs, sans doute responsables de la tolérance immunologique de l'hôte vis-à-vis de ses bactéries résidentes. (Chemlal-Kherraz, 2013).

**4-2-Innocuité totale :**

Un probiotique ne doit pas être nocif pour l'organisme et ne doit présenter aucun risque pour la santé. Ce critère semble évident, mais il est important de le vérifier surtout si le choix de la bactérie administrée n'appartient pas à la microflore normale de l'hôte. Les bactéries lactiques (lactobacilles et bifidobactéries) sont utilisées depuis des temps immémoriaux pour la conservation des aliments, et cela reste la meilleure preuve de leur parfaite innocuité (**Chemlal-Kherraz, 2013**). Avant de pouvoir utiliser une souche probiotique, il est important de vérifier le fait qu'elle ne présente pas de résistance aux antibiotiques portée sur un plasmide, et qu'elle soit donc incapable d'induire une résistance aux antibiotiques chez un autre microorganisme. (**Denohue, 2004 ; Ammor et Mayo, 2007**)

**4-3-Survie au cours du transit digestif :**

La capacité de survie au cours du transit intestinal est très variable entre genres et entre souches. Certaines bactéries sont détruites dès leur passage dans l'estomac. Cependant, pour exercer une influence positive sur l'organisme, les bactéries lactiques probiotiques doivent survivre en quantité suffisante au passage à travers le tractus digestif supérieur pour pouvoir coloniser l'intestin. (**Chemlal-Kherraz, 2013**).

**4-4-La résistance à l'acidité gastrique :**

La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les bas pH. Le temps de passage peut être d'une heure à quatre heures selon l'individu et son régime. Par conséquent, quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un PH de 2.5 dans un milieu de culture pendant quatre heures. (**Ammor et Mayo, 2007 ; Benreguieg, 2015**).

**4-5-La résistance aux sels biliaries :**

Dans l'intestin grêle, la tolérance aux sels biliaries est un facteur important qui contribue à la survie des probiotiques. Les bactéries qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaries libérés dans

le duodénum après ingestion des repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des sels biliaires en les hydrolysant avec des hydrolases, diminuant ainsi leur solubilité. (Samedi et Albert, 2019).

#### 4-6-La production des substances antimicrobiennes :

Les bactéries lactiques sont capables d'inhiber la croissance de nombreuses autres bactéries par la production de composés chimiques de différentes natures. Tout d'abord, toute fermentation lactique est à l'origine de la production d'**acides organiques** (acides lactique et acétique principalement), qui vont acidifier localement le milieu, ce qui ralentit généralement la croissance des autres microorganismes moins acido-résistants. Certaines espèces de *Lactobacillus* notamment, produisent également du **peroxyde d'hydrogène**, un agent oxydant pouvant provoquer des lésions dans l'ADN des cellules adjacentes. Enfin, de nombreuses bactéries lactiques possèdent la capacité de synthétiser des **bactériocines**, qui sont des peptides antimicrobiens actifs contre des souches phylogénétiquement proches. Ce sont des molécules antibiotiques de faible masse moléculaire, produites par voie ribosomale, puis sécrétées afin de limiter la croissance des bactéries compétitrices pour la colonisation du milieu. (Carée-Mlouka, 2019).

#### 4-7-L'adhésion aux cellules épithéliales :

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est l'un des principaux critères de sélection des souches probiotiques ; elle est considérée comme une condition préalable à la colonisation (Ouwehand *et al.*, 1999).

Les microorganismes probiotiques doivent être capables d'adhérer à l'épithélium et au mucus intestinal, pour pouvoir s'y implanter et s'y développer. Ceci est possible grâce aux structures de surface présentes dans la paroi bactérienne, notamment des protéines appelées adhésines capables de se lier aux protéines de surface de l'épithélium intestinal (fibronectine, laminine, collagène) (Carée-Mlouka, 2019). L'adhésion des souches au mucus ou à l'épithélium est habituellement étudiée *in vitro* en utilisant des mucus d'origine humaine ou animale et des cultures cellulaires comme les Caco2 ou HT29. (Belhamra, 2017).

**4-8-Résistance aux antibiotiques :**

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de **Temmerman et al., (2003)**, ont montré que 68.4% des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la kanamycine, à la tétracycline, à l'érythromycine et au chloramphénicol.

Il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autres espèces et genre, c'est pour cette raison qu'il faut choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance. (**Denohue, 2004**).

**Tableau n°3 :** Principaux critères utilisés pour la sélection des probiotiques (**Izquierdo, 2009**) :

<b>Critères de sécurité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Historique de non pathogénicité (GRAS).</li> <li>✦ Souche d'origine humaine de préférence.</li> <li>✦ Souche caractéristique par des méthodes phénotypiques et génotypiques.</li> <li>✦ Aucune possibilité de transmission de gène de résistance aux antibiotiques.</li> </ul>
<b>Critères fonctionnels</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Tolérance à l'acidité gastrique.</li> <li>✦ Tolérance à la bile.</li> <li>✦ Antagonisme vis-à-vis des pathogènes et production de substances antimicrobiennes.</li> <li>✦ Adhésion à diverses lignées de cellules intestinales et /ou au mucus.</li> <li>✦ Stimulation du système immunitaire.</li> </ul>
<b>Critères technologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini.</li> <li>✦ Conservation des propriétés probiotiques après production.</li> </ul>

De façon plus spécifique, pour qu'un organisme soit considéré comme étant potentiellement probiotique, il doit présenter les caractéristiques suivantes :

- ✦ Être un habitant naturel de l'intestin.
- ✦ Être capable de coloniser le milieu intestinal, persister et se multiplier.

- ✚ Adhérer aux cellules intestinales et exclure ou réduire l'adhérence des pathogènes.
- ✚ Avoir un métabolisme actif et produire des substances inhibant les pathogènes (acides, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bactériocines...).
- ✚ Être non invasif, non carcinogène et non pathogène.
- ✚ Être capable de co-agréger pour former une flore normale équilibrée.
- ✚ Survivre aux différents procédés technologiques de production.
- ✚ Garder sa viabilité dans l'aliment et durant le transit intestinal (**Mechai, 2009**).

*Chapitre III :*

---

*Les effets bénéfiques*

---

*des Probiotiques*

---

## Chapitre III : Les effets bénéfiques des probiotiques.

### 1-Les effets bénéfiques des probiotiques :

Différents effets positifs sont ainsi attribués aux probiotiques. Cependant, des études doivent encore être réalisées afin de confirmer certains bienfaits. Ces effets sont décrits dans le **tableau n°4** et expliqués ci-dessous.

Il est à noter que la validité scientifique de ces effets bénéfiques est très variable. Pour certains effets, des preuves scientifiques irréfutables appuyées par des études cliniques existent et permettent d'attribuer certaines allégations-santé aux produits probiotiques (Moroni, 2007).

**Tableau 04** : Effets positifs des probiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés). (Moroni, 2007).

<b>Evidences scientifiques fortes</b>	
<b>Effets des probiotiques</b>	<b>Mécanismes des probiotiques</b>
<b>Aide à la digestion du lactose</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Action de la <math>\beta</math>- galactosidase bactérienne</li> </ul>
<b>Réduction du risque des diarrhées</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Activité anti-pathogène</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Stimulation du système immunitaire</li> </ul>
<b>Diminution des allergies alimentaires</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Amélioration de la fonction barrière de la muqueuse</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Stimulation du système immunitaire</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Dégradation des protéines allergènes</li> </ul>
<b>Evidences scientifiques prometteuses</b>	
<b>Effets des probiotiques</b>	<b>Mécanismes des probiotiques</b>
<b>Activité hypocholestérolémiante</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Assimilation du cholestérol</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Déconjugaison des sels biliaires</li> </ul>
<b>prévention du cancer du côlon</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Production de composés anti-mutagéniques</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Modulation des enzymes fécales carcinogéniques</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Stimulation du système immunitaire</li> </ul>

<b>Résistance contre les maladies inflammatoires et irritables des intestins</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Activité anti-pathogène</li> <li>▪ Stimulation du système immunitaire</li> </ul>
<b>Diminution des infections à <i>Helicobacter pylori</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Activité anti-pathogène</li> </ul>
<b>Effet antihypertenseur</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Action des peptidases sur les protéines du lait donnant des peptides bioactifs</li> </ul>

Depuis longtemps, les consommateurs attribuent au yaourt des bénéfices sur la santé, mais il a fallu attendre les années 1970 pour découvrir progressivement le rôle joué par les bactéries lactiques vivantes du yaourt dans le tube digestif. (**Chmlal-Kherraz, 2013**). Alors, La reconnaissance de l'importance de la microflore intestinale a généré un intérêt croissant dans l'utilisation de probiotiques pour maintenir ou améliorer la santé humaine. A titre d'exemple, les probiotiques peuvent avoir des effets avérés sur :(**Ebel, 2012**).

### **1-1- Troubles associés au système gastro-intestinal :**

Les bactéries lactiques utilisées comme probiotiques peuvent donc prévenir voire aider à guérir certaines infections gastro-intestinales. L'adhérence des probiotiques aux villosités de l'épithélium, ou tout simplement leur consommation des nutriments nécessaire au développement des souches pathogènes, peut aussi s'avérer un bon mécanisme d'inhibition, concurrençant et empêchant la fixation de certains entéro-pathogènes (**Mermouri, 2018**).

#### **1-1-1- Prévention et réduction des diarrhées due à bactéries ou virus :**

La diarrhée d'origine infectieuse est un grave problème sanitaire mondial, responsable chaque année de la mort de plusieurs millions de personnes. (**FAO/OMS, 2001 ; Chmlal-Kherraz, 2013**). Les traitements par antibiothérapie orale pour diverses pathologies peuvent également, par déséquilibre et réduction de la flore intestinale, provoquer des diarrhées. (**Carré-Mlouka, 2019**).

Des effets assez clairs ont pu être démontrés sur l'amélioration et le soulagement de ces symptômes et le raccourcissement des infections par la consommation de différentes souches probiotiques, (**Belhamra, 2017**) notamment *Lactobacillus*

*rhamnosus* ou *Lactobacillus acidophilus*. Ces effets bénéfiques sont directement liés au rééquilibrage de la flore intestinale, mais dans le cas d'infections par des rotavirus, on a pu aussi mesurer une concentration d'IgA sériques plus élevée. (Carré-Mlouka, 2019).

Les probiotiques pourraient constituer un important moyen de réduire ces problèmes. L'effet bénéfique de souches définies de probiotiques a parfaitement été démontré à l'aide de *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* BB-12 pour la prévention et avec le traitement de la diarrhée aiguë causée principalement par des rotavirus chez les enfants (Chmlal-Kherraz, 2013 ; FAO/ OMS, 2001).

Outre les infections à rotavirus, de nombreuses espèces bactériennes causent la mort et la morbidité chez l'homme. Il y a de bonnes preuves in vitro que certaines souches probiotiques peuvent inhiber la croissance et l'adhérence d'une gamme d'entéropathogènes, et des études sur les animaux ont indiqué des effets bénéfiques contre des agents pathogènes tels que Salmonella (FAO/OMS, 2001 ; Chmlal-Kherraz, 2013).

De nombreuses études cliniques visant le traitement ou la prévention des maladies diarrhéiques par l'utilisation des probiotiques ont été publiés ; les probiotiques peuvent avoir des effets avérés sur : (Belhamra, 2017).

**1-1-2- Les diarrhées aiguës :** Une méta-analyse portant sur 39 études cliniques a montré que les probiotiques réduisent la durée moyenne de la diarrhée de 13 heures, réduisent l'échec du traitement de 38% et ont également un rôle préventif dans les diarrhées aiguës chez l'enfant (Ebel, 2012 ; Piquepaille, 2013 ; Ebel, 2012).

**1-1-3- Diarrhées à Rotavirus :** Rotavirus est l'un des virus entériques les plus importants, le traitement commun des diarrhées à rotavirus comprend principalement la réhydratation orale. Cependant, plusieurs études ont rapporté que des combinaisons avec des microorganismes probiotiques réduisent la durée de la diarrhée (Pintado *et al.*, 2014). L'hypothèse que la diminution de la sévérité des diarrhées à rota-virus était liée à une diminution de l'entrée des rota-virus dans l'intestin est due aux modifications de la glycosylation de surface des cellules intestinales. Effectivement, lorsque des cellules HT-29 MTX sont traitées par des probiotiques, leur niveau d'infection par rotavirus est diminué de plus de 80%. La plupart des études concernant l'utilisation de *Lb. rhamnosus* GG dans la prévention de diarrhées à rota-virus ont vues des diminutions de

la durée des diarrhées de 1 à 2 jours avec une augmentation des IgA et une diminution de l'entrée de rota-virus (Hamedi, 2009).

#### 1-1-4- Les diarrhées associées aux antibiotiques :

Les diarrhées associée aux antibiotiques (DAA), survient généralement au cours du traitement antibiotique en particulier les antibiotiques à large spectre tels que l'ampicilline, l'amoxicilline, la céphalosporine, et la clindamycine (Fung *et al.*, 2011 ; Belhamra, 2017). Dans les cas récents, l'influence négative de l'antibiothérapie sur la microflore intestinale est acceptée comme le principal mécanisme (Hamedi, 2009).

Les probiotiques se sont révélés utiles comme traitement préventif, et potentiellement, ils peuvent être utilisés pour atténuer les signes et les symptômes une fois que la diarrhée due aux antibiotiques s'est produite (Armuzzi *et al.*, 2001 ; FAO /OMS, 2001). Les lactobacilles peuvent prévenir efficacement la DAA chez les enfants et les adultes. (Lyra *et al.*, 2011 ; Belhamra, 2017).

Deux méta-analyses ont montré que les probiotiques, en particulier *Saccharomyces boulardii* et *Lactobacillus* GG, peuvent être utilisés dans la prévention des diarrhées associées aux antibiotiques. (Ebel, 2012).

Les probiotiques peuvent prévenir et restaurer les déséquilibres dus à l'antibiothérapie, Les résultats apportés par certains scientifiques ont clairement prouvé des diminutions dans les incidences des DAA par quelques espèces de *Lactobacillus* (Hamedi, 2009) ; comme par exemple : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, les résultats ont montrés une diminution de l'incidence des diarrhées de 0-10% (Koning *et al.*, 2008 ; Hamedi, 2009). Ainsi, L'administration d'un mélange de prébiotiques (fructo- oligosaccharides) et de probiotiques chez 98 enfants a pu montrer son efficacité dans la prévention et le traitement des épisodes de diarrhée associée aux antibiotiques (Benreguieg, 2015).

#### 1-1-5- Prévenir la récurrence des infections à *Clostridium difficile* :

L'antibiothérapie modifie l'équilibre écologique de la microflore normale, ce qui peut entraîner les diarrhées et l'émergence d'agents pathogènes tels que *Clostridium difficile*, qu'il existe normalement dans l'intestin mais à un niveau faible, et provoque une

augmentation anormale de leur nombre et d'autres symptômes liés à la production de toxines. Les probiotiques produisent des protéases qui dégradent directement les toxines et augmentent la réponse immunitaire (**Fung et al., 2011 ; Belhamra, 2017**).

L'effet préventif des probiotiques sur l'infection par *C. difficile* a été étudié. Les probiotiques tels que *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium longum*, et *Enterococcus faecium* SF 68 ont diminué de façon significative l'incidence des diarrhées chez des patients traités avec des antibiotiques (**Pintado et al., 2014 ; Belhamra, 2017**). Et le traitement spécialement par *Saccharomyces boulardii*, peut diminuer significativement le risque de récurrence chez les personnes souffrant de cette infection gastro-intestinale fortement récurrente (**Benreguiég, 2015**).

Certaines études encore ont montré qu'en effet peut atténuer les signes et les symptômes de l'infection par *C. difficile*. Il faut reconnaître que la preuve d'effets thérapeutiques contre *C. difficile*, et d'autres troubles a été obtenue à l'aide de certaines souches probiotiques, telles que *L. rhamnosus* GG (**FAO/OMS, 2001**).

#### **1-1-6- Les diarrhées du voyageur :**

La fameuse « turista » ou diarrhée du voyageur, est une diarrhée très fréquente qui se déclare suite à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries pathogènes comme *Escherichia coli*, *Shigella*, ou *Salmonella*. (**Carré-Mlouka, 2019**). C'est une maladie commune qui affecte principalement les personnes voyageant des pays développés vers les régions les moins développées du monde. Alors que l'utilisation des probiotiques contre cette diarrhée est populaire. (**Belhamra, 2017**).

Il semble que la consommation de probiotiques puisse dans certains cas réduire l'incidence de ce type de diarrhée (**Carré-Mlouka, 2019**). Différents probiotiques ont démontré un intérêt dans la prévention de la diarrhée du voyageur, cependant les preuves cliniques sont encore peu limitées. (**Belhamra, 2017**).

Les recherches menées en vue de soulager ces sujets de cette maladie sont revenues très prometteuses, car ces mêmes personnes ont révélé être soulagées après une consommation de *Lb rhamnosus* en combinaison avec *Lb. acidophilus*. (**Hamedi, 2009**). Il ressort de certaines études de la diarrhée du voyageur, où l'on suppose que

certains des agents pathogènes responsables sont de nature bactérienne, que les effets bénéfiques peuvent augmenter avec l'administration de probiotiques. (FAO/OMS, 2001).

#### 1-1-7- Les infection à *Helicobacter pylori* :

Concernant les applications des probiotiques, on a également découvert qu'ils sont actifs contre une bactérie résistante aux conditions acides *Helicobacter pylori*, un agent pathogène Gram négatif responsable de la gastrite de type B, d'ulcères peptiques et du carcinome gastrique. (Belhamra, 2017 ; Carré-Mlouka, 2019). Les bactéries lactiques peuvent inhiber la croissance des agents pathogènes et diminuer l'activité des uréases nécessaire pour que l'agent pathogène reste dans le milieu acide de l'estomac.

Les données *in vitro* et *in vivo* obtenues, rapportent un effet inhibiteur des probiotiques sur l'adhésion de *H. pylori* aux cellules épithéliales gastriques et la réduction de viabilité (Pintado *et al*, 2014 ; Belhamra, 2017) ; dont la plupart des études impliquent des lactobacilles, en raison de leur forte aptitude à adhérer à la muqueuse gastrique et leur résidence transitoire dans l'estomac comprennent des souches de *Lactobacillus acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. salivarius*. (Belhamra, 2017). Les données concernant l'homme sont limitées, mais il y a des preuves d'un effet induit par *L. johnsonii* La1. Ces études contrôlées puissent être faite pour des effets bénéfiques des probiotiques contre *Helicobacter pylori* en ce qui concerne la prévention et le traitement. (FAO/OMS, 2001).

#### 1-1-8-Constipation :

La capacité de la thérapie probiotique d'atténuer la constipation (dureté excessive des selles, transit intestinal lent) est controversée, mais pourrait être une caractéristique des souches sélectionnées. (FAO/OMS, 2001).

Les bifidobactéries et les lactobacilles produisent l'acide lactique, acétique et d'autres acides conduisant à un abaissement du pH dans le côlon, qui peut améliorer le péristaltisme et diminue ensuite le temps de transit colique (Belhamra, 2017).

#### 1-1-9- L'élimination ou amélioration de l'intolérance au lactose :

Le lactose est un disaccharide présent exclusivement dans le lait et ses dérivés ; (Belhamra, 2017). L'intolérance au lactose est provoquée par un déficit congénital (Hamedi, 2009). L'absence de synthèse de la lactase ou  $\beta$ -galactosidase "enzyme permettant de cliver le lactose en glucose et galactose", est produite par les cellules de la surface épithéliale de l'intestin. (Chmlal-Kherraz, 2013 ; Carré-Mlouka, 2019). Résultant à une incompétence à digérer le lactose (Hamedi, 2009) ; qui se traduit par des symptômes digestifs après l'ingestion de lait : ballonnements, digestion difficile, diarrhée. Ce problème touche près de 70% de la population mondiale. (Belhamra, 2017).

La consommation de probiotiques, sous forme de yaourts ou laits fermentés ou complément alimentaire, améliore ces symptômes (Carré-Mlouka, 2019). Parmi beaucoup d'études ont montré que chez des sujets déficients en lactase, le lactose a été absorbé beaucoup mieux à partir de yaourt que du lait. (Hamedi, 2009 ; Belhamra, 2017 ; Carré-Mlouka, 2019). Cette assimilation peut s'expliquer par l'hydrolyse du lactose par les lactobacilles probiotiques durant leur métabolisme fermentaire ; L'action bénéfique résulte de la présence de  $\beta$ -galactosidase dans les cellules bactériennes : enzyme bactérienne équivalente à la lactase. (Hamedi, 2009 ; Chmlal-Kherraz, 2013 ; Belhamra, 2017 ; Carré-Mlouka, 2019).

L'utilisation des bactéries lactiques comme probiotique facilite la digestibilité du lactose chez les personnes atteintes d'intolérance (Chmlal-Kherraz, 2013). Certains probiotiques utilisent rapidement le lactose, d'autres ont une forte activité lactasique (Hamedi, 2009).

#### **1-1-10- Maladies inflammatoires de l'intestin :**

La maladie inflammatoire de l'intestin est une inflammation chronique et récurrente qui affecte généralement le côlon ou l'intestin grêle, telles que la rectocolite hémorragique (Belhamra, 2017 ; piquepaille, 2013), la pochite et la maladie de Crohn, peuvent être causés ou aggravés par des altérations dans la flore intestinale incluant l'infection. Selon certaines études, les probiotiques pourraient jouer un rôle dans la thérapie et la

prophylaxie et des combinaisons de souches pourraient avoir un rôle à jouer dans le traitement thérapeutique. (FAO/OMS, 2001).

Une étude portant, sur l'administration de *Lb. rhamnosus* GG améliore la qualité de la barrière intestinale d'enfants souffrant de la maladie de Crohn et suggérant un effet protecteur (Hamedi, 2009 ; Turpun, 2011), et son association avec une drogue anti-inflammatoire, la mésalazine permet de prolonger la rémission dans le cas de colite ulcéreuse (Turpun, 2011) ; ainsi que, le mélange (VSL#3 ®) semble efficace de prévenir les rechutes, en diminuant le nombre de rechute en cas de pouchite (Ebel, 2012 ; Benreguieg, 2015).

## 2-Effets sur le système immunitaire :

### 2-1- Stimulation de systèmes immunitaire :

Selon la littérature, les probiotiques, grâce à leurs composants intra et/ou extracellulaires, sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes mais aussi par interaction avec les épithéliums de l'hôte, qui vont alors modifier la réponse immunitaire de l'organisme (Bouchard, 2013 ; Belhamra, 2017).

De nombreuses études ont rapporté que la prolifération des lymphocytes et la production des cytokines inflammatoires notamment (TNF $\alpha$ ), (IFN $\gamma$ ) (IL12) par les cellules du système immunitaire (FAO/OMS, 2001 ; Bouchard, 2013 ; Belhamra, 2017) ; peuvent être sensiblement modifiées par l'ingestion de probiotiques spécialement les lactobacilles. (Bouchard, 2013 ; Belhamra, 2017). Plusieurs souches de *Lactobacillus* améliorent l'activation de la maturation des cellules dendritiques (Bouchard, 2013) ; et alors, peut avoir des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte (FAO/OMS, 2001). Certains *Lactobacillus* tels que *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. plantarum* augmentent considérablement l'immunité systémique de la muqueuse ; la production de mucus et/ou stimulent les cellules phagocytaires plus efficacement que d'autres bactéries. (Lemetais, 2012 ; Hamedi, 2009 ; Bouchard, 2013).

## 2-2- Diminution des risques des maladies allergiques :

Les maladies atopiques comme l'eczéma, la rhinite allergique et l'asthme sont des troubles allergiques chroniques (Belhamra ; 2017) ; ces allergies alimentaires sont de plus en plus fréquentes chez les enfants, en particulier l'allergie au lait de vache (Carré-Mlouka, 2019). Nombreuses preuves suggèrent que les souches probiotiques vivantes sélectionnées peuvent être efficaces dans la prévention des maladies allergiques (Belhamra, 2017).

Des thérapies liées à l'ingestion de probiotiques ont amélioré significativement les symptômes liés à ce type d'allergie, comme la dermatite atopique (eczéma). (Carré-Mlouka, 2019). Ont démontré que l'administration de *Lactobacillus GG* confère un effet protecteur contre le développement de l'eczéma, persistant jusqu'à 7 ans d'âge (Belhamra, 2017). L'association de *Lb. bulgaricus* et de *Lb. acidophilus* réduirait la fréquence des allergies alimentaires (Hamedi, 2009).

## 3-Autres effets :

### 3-1- Activité anti-cancérogène :

Il a déjà été démontré que les microorganismes probiotiques peuvent prévenir ou retarder l'apparition de certains cancers. Cela vient de la connaissance que les membres de la microflore intestinale peuvent produire des cancérogènes tels que les nitrosamines. (FAO/OMS, 2001).

Les propriétés anti-cancérogènes sont attribuées à plusieurs souches utilisées en industrie laitière (Hamedi, 2009) ; qu'elles peuvent être classées en deux catégories : la prévention de l'initiation d'un cancer, et la suppression des cellules tumorales (Chmlal-Kherraz, 2013). Les souches lactiques agissent sur la prévention de l'initiation d'un cancer soit en détruisant des substances pré-cancérogènes présentes dans l'organisme telles que les nitrosamines, soit en inhibant des bactéries présentes dans le tractus digestif productrices d'enzymes telles que la  $\beta$ -glucosidase, la  $\beta$ -glucuronidase, l'azoréductase et la nitroréductase qui catalysent la conversion de substances pré-cancérogènes en substances cancérogènes (Chmlal-Kherraz, 2013 ; FAO/OMS, 2001 ; Belhamra, 2017). Par conséquent, l'administration de lactobacilles

et de bifidobactéries pourrait théoriquement modifier la flore, sécrètent des composés qui inhiberaient la prolifération des cellules tumorales ou provoqueraient leur apoptose, en réduisant les niveaux de b-glucuronidase et des cancérogènes. (Carré-Mlouka, 2019).

### 3-2- Diminution du taux de cholestérol dans le sang :

Certains probiotiques peuvent prévenir de l'hypercholestérolémie en favorisant l'utilisation du cholestérol par le foie et de par L'habilité des lactobacilles à dégrader les acides biliaires participant à la synthèse du cholestérol (Turpin, 2011 ; Chmlal-Kherraz, 2013) et confirme ainsi le rôle avantageux de ces ferments dans la régulation du métabolisme humain. (Chmlal- Kherraz, 2013).

Lors d'essais cliniques, ont démontré que la consommation de lait fermenté par certaines souches de *Lactobacillus* conduisait à la diminution du niveau de cholestérol dans le sang à cause de l'affaiblissement de son processus de synthèse. (FAO/OMS, 2001 ; Chmlal- Kherraz, 2013) ; aussi l'ingestion de *Lb. acidophilus* ATCC 43121 permet de réduire le cholestérol du sérum. D'autres auteurs ont montré que l'ingestion de *Lb. plantarum* KCTC3928 chez la souris a des effets hypocholestérolémiantes en modulant les gènes et enzymes clés impliqués dans le métabolisme hépatique du cholestérol (Turpin, 2011).

**Partie II :**

---

**Etude expérimentale**

---

*Chapitre I :*

---

*Matériel et méthodes*

---

## **Chapitre I : Matériel et Méthodes.**

### **1-Objectif de l'étude :**

L'objectif de ce travail consiste en, l'évaluation des aptitudes probiotiques des bactéries lactiques isolées du fromage traditionnel, qui a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie (N<sup>o</sup>2) de l'Université de TEBESSA. Durant la période s'étalant du mois de février (09/02/2020) jusqu'au mois de mars (12/03/2020).

### **2-Matériel utilisé :**

#### **2-1-Matériel biologique :**

- Comme témoin, nous avons utilisé une souche de bactérie lactique commercialisée : *Lactobacillus plantarum* 299V (smebiotca confort).
- Pour l'activité antimicrobienne, des bactéries pathogènes d'origine alimentaire, clinique et nosocomiale sont également utilisées.
- une souche levurienne *Candida albicans* d'origine clinique.
- Un segment d'intestin grêle et du côlon d'une poule fraîchement abattu récupéré, afin de réaliser le test d'adhésion des bactéries lactiques au tissu intestinal.

#### **2-2-Milieus de culture :**

- **Bouillon MRS (Man-Rogosa et Sharpe)** : utilisé pour la croissance des bactéries lactiques.
- **Gélose MRS** : est utilisée pour la culture et dénombrement des lactobacilles, dans les différents tests.
- **Gélose MH (Muller Hinton)** : utilisé dans l'étude de l'évaluation de l'activité antibactérienne des souches lactiques.
- **Gélose PDA (Potato dextrose agar)** : utilisé pour faire le test d'antagonisme pour la levure *Candida albicans*.

### 2-3-Produits chimiques et réactifs :

- **Colorants** : violet de gentiane, la fuchsine.
- **Autres produits** : l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10V), eau physiologique, huile à émulsions, éthanol, lugol,
- **Tampon** : tampon phosphate salin (PBS).

**2-4-Appareillages** : Agitateur, cocote autoclave, bain marie, balance, étuve, microscope optique, réfrigérateur, centrifugeuse, pied à coulisse. Fromagère, loupe binoculaire.

**2-5-Outils de la microbiologie** : Anse de platine, bec benzène, boîtes pétri, écouvillons, épinddorfs, flacons, pipettes Pasteur, lames et lamelles, tubes à essai. Pipettes graduées, fioles erlenmeyer, bécher, jarre d'anaérobiose.

### 3- Méthodes et protocoles utilisés :

#### 3-1-Echantillonnage

Le fromage frais *Jben* est préparé de façon artisanale à base du lait de chèvre selon les traditions de fabrication paysanne des milieux ruraux de la région d'El –Ogla Chéria-Tébessa.

Les étapes de la fabrication du *Jben* sont les suivantes :

- Le lait cru est chauffé sur feu doux.
- La macération d'un fragment du caillette du jeune agneau « *EDOUTH* » dans le lait, qui entraîne la coagulation du lait.
- L'égouttage du caillé dans une fromagère (**Figure n° 04**).
- Le coagulum obtenue est appelé *Jben*, est mis dans un moule est conservé dans le réfrigérateur.

- **Description du (*Edouth*) :**

Partie de l'estomac de jeunes ruminants (veau, chevreau, agneau), dont leur alimentation est basée essentiellement et uniquement du lait. Après l'abatage de l'animale, cette partie est prélevée soigneusement, salée puis séchée, puis conservée (**Figure n° 03**).



**Figure n°3** : Caillette du jeune agneau salé et séché puis conservée.



**Figure n°4** : L'égouttage du caillé dans une fromagère.

### 3-2- La collecte des souches :

#### 3-2-1- Réalisation des dilutions décimales :

- Faire peser 1 g de *Jben* de manière aseptique (**Figure n°05**), et on le dépose dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique. le bien homogénéiser jusqu'à l'obtention d'une solution homogène, et on obtient la dilution dite la  $10^{-1}$ . (**Figure n° 07**).
- Pour réaliser la dilution  $10^{-2}$  on prend 1 ml de la suspension précédente ( $10^{-1}$ ) et on le met dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique.
- On continue l'opération jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-5}$ .
- Dans le cadre de comparer nos souches avec une souche de bactéries lactiques commercialisée comme probiotique, on a choisi ; *Lactobacillus plantarum* 299V

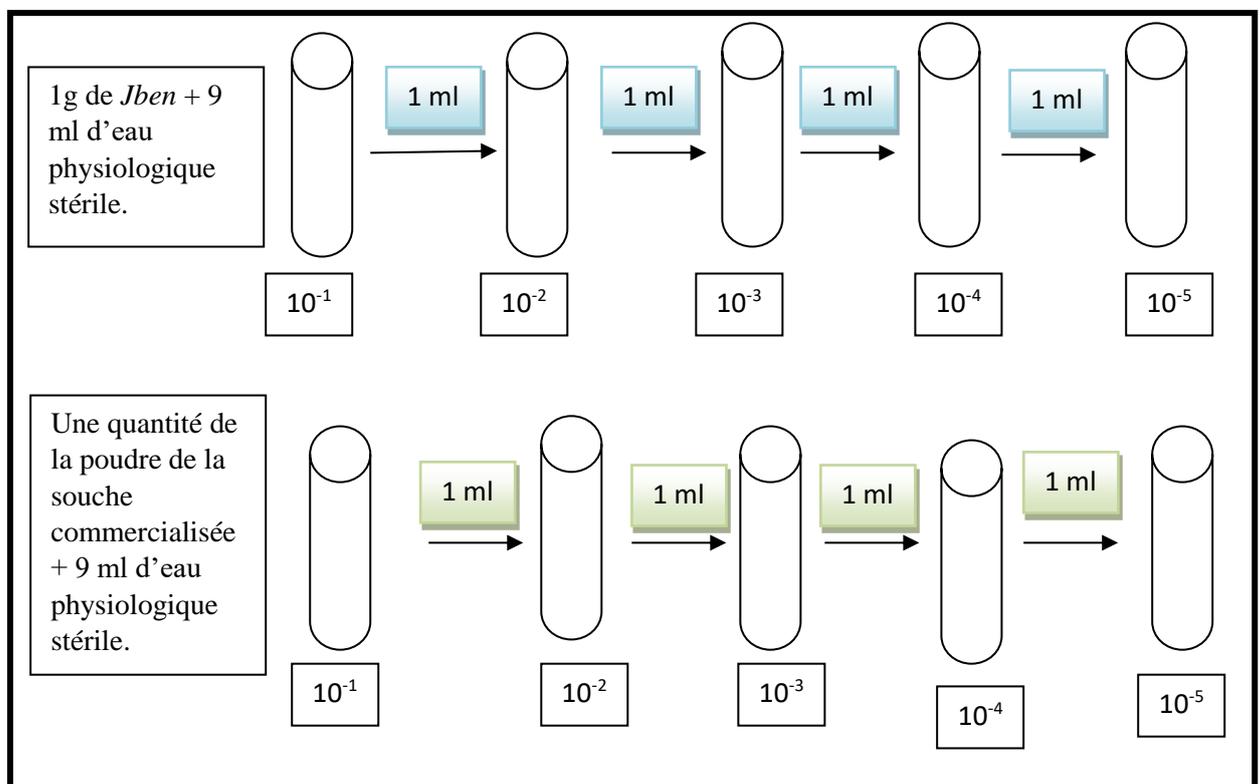
(smebiotca confort) (**Figure n°06**).



**Figure n°5** : La pesée d'un gramme de *Jben*.



**Figure n°6** : Préparation de la solution mère à partir de la souche lactique commercialisée *Lactobacillus plantarum* .299V



**Figure n°7** : Schéma représentant la réalisation des dilutions décimales.

### 3-2-2-Ensemencement :

On a réalisé l'ensemencement des dilutions  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  dont chaque dilution est ensemencée dans deux boites au gélose MRS, Puis on a incubé les boites à 37 °C pendant 48 h, en anaérobiose.

### 3-2-3-Purification des isolats :

La sélection des colonies a été faite aléatoirement après une incubation à 37 °C pendant 48 h ; 5 à 8 colonies ont été sélectionnées de chaque boite selon leur forme, taille et couleur (petites colonies blanchâtres, tache laiteuses, et bien rondes) suivant la description théorique des bactéries lactiques (caractères culturaux). Chaque colonie a été ensuite repiquée individuellement sur le milieu MRS par des stries sur une nouvelle boite.

### 3-2-4-Caractérisation des isolats :

Les isolats purifiés subissent des tests microbiologiques de routines (Gram, production de catalase) afin de vérifier leur pureté et de déterminer leur forme.

### 3-3-Conservation des souches :

Les souches bactériennes qui sont Gram positifs et catalases négatives sont retenues, repiquées sur gélose inclinée, MRS, elles subissent une incubation à 37 °C, pendant 24 h puis une conservation à 4 °C.

### 3-4-Caractères probiotiques recherchés :

#### 3-4-1-Recherche de l'activité antimicrobienne :

L'objectif de ce travail était d'évaluer *in vitro* l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques choisies sur la croissance de : *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *E.coli*, *Salmonella tphi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella spp.*

#### ➤ Méthode de détection indirecte :

Les souches purifiées sont testées pour la production de substances antibactériennes suivant la méthode des puits (méthode indirecte), celle de **Barefoot et Klaenhammer (1983) (Figure n° 08)**. Cette méthode permet de mettre en contact le surnageant de la

souche lactique productrice de la substance antimicrobienne avec la souche indicatrice dans un milieu solide.

Un bouillon MRS est inoculé par la souche à tester au  $1/10^3$  à partir d'une culture de 18 h à 37°C (fin de la phase exponentielle) de façon à obtenir  $10^2$  à  $10^3$  UFC/ml, puis incubé pendant 18 h à 37°C. La culture obtenue est centrifugée à 45000 g pendant 10 min et à 4°C. Parallèlement, des boîtes de Pétri sont préparées de la façon suivante : les boîtes sont recouvertes de 10 ml de gélose MH, après solidification, elles sontensemencées par écouvillonnage avec une souche indicatrice. Les micro-organismes utilisés dans cette étude sont consignés dans **le tableau n°5**.

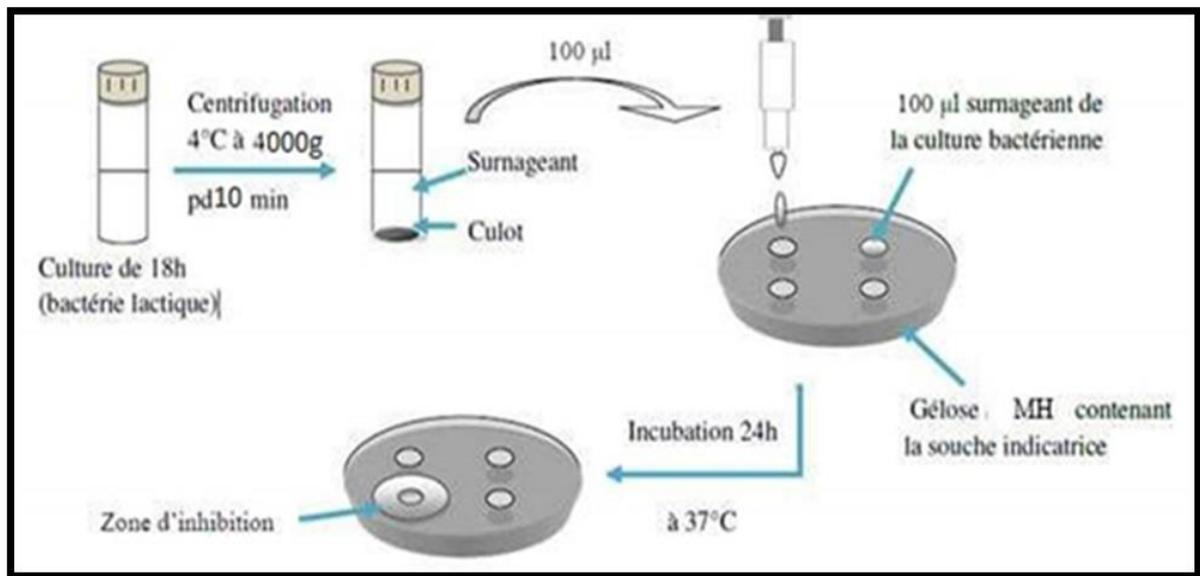
Des puits de 5 mm de diamètre sont creusés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette pasteur stérile, Les boîtes sont ensuite séchées pendant 20 min, avant que les puits soient remplis d'extraits de cultures (100 µl). Après diffusion complète de ce dernier dans la gélose (1 à 2 h à température ambiante), les boîtes sont incubées pendant 18 h à 37°C.

L'effet des surnageants se traduit par la formation des halos clairs autour des puits.

**Remarque :** pour la levure *Candida albicans* on a utilisé la gélose PDA, pour le test de l'activité antimicrobienne.

**Tableau n°5 :** Description des souches microbiennes révélatrices utilisées dans la méthode des puits.

Microorganismes	Familles	Gram	Provenance
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram -	Laboratoire de microbiologie
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram -	
<i>Klebsiella spp</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram -	
<i>Salmonella spp</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram -	
<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	Gram -	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Gram+	
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>		



**Figure n°8 :** Schéma représentant les méthodes de détection de l'antagonisme bactérien, adaptées d'après la méthode de diffusion en puits de Méthode de Barefoot et Klaenhammer (1983).

#### ➤ Mesure de l'activité antimicrobienne :

L'activité antibactérienne est estimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition observée autour des puits (**Figure n° 08**) (double de la distance en mm allant du centre du puits jusqu'au point où se termine l'inhibition de la croissance (fin de la zone d'éclaircissement)).

#### 3-4-2-L'adhésion in vitro au tissu intestinal :

Ce test consiste à étudier la capacité des bactéries lactiques à effet probiotique de s'adhérer à l'intestin. Pour le réaliser, nous avons appliqué la méthode décrite par **Lin et al, (2007)** qui se subdivise en trois étapes (avec quelques modifications) :

#### ➔ Préparation du tissu intestinal :

- Avant de mettre en œuvre le test d'adhésion, un segment de l'intestin a été isolé à partir d'un poulet fraîchement abattu le bien nettoyé, puis le mettre dans du tampon phosphate salin stérile (PBS) pendant 30 min à 4°C.

- Par la suite, on réalise un lavage 10 fois avec ce tampon, puis on le met une deuxième fois au repos à 4°C pendant 3 h dans le même tampon.
- Le segment est ouvert et les cellules sont récupérées en grattant la surface tapissant l'intestin par une lame stérile, des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10<sup>-3</sup>.
- Cette suspension cellulaire a été examinée par microscope pour assurer qu'elle n'était pas contaminée. **(Figure n° 09). (Mermouri, 2018).**

→ **Préparation d'une culture jeune :**

- une colonie de chaque souche lactique a été inoculée avec 1 ml de bouillon MRS dans un tube à essai stérile puis incubé à 37°C pendant 20 h.

→ **Réalisation du test :**

- 1 ml de chaque culture est mélangé avec 1 ml de la dilution 10<sup>-3</sup> de la suspension des cellules épithéliales déjà préparée.
- Après incubation à 37°C pendant 40 minutes, une préparation de frottis et une coloration au cristal violet pendant 5 min a été réalisées pour observer l'adhésion au microscope optique.
- Le test est considéré comme positif si le nombre de bactéries adhérentes est supérieur à 15. **(Hadeif, 2012).**

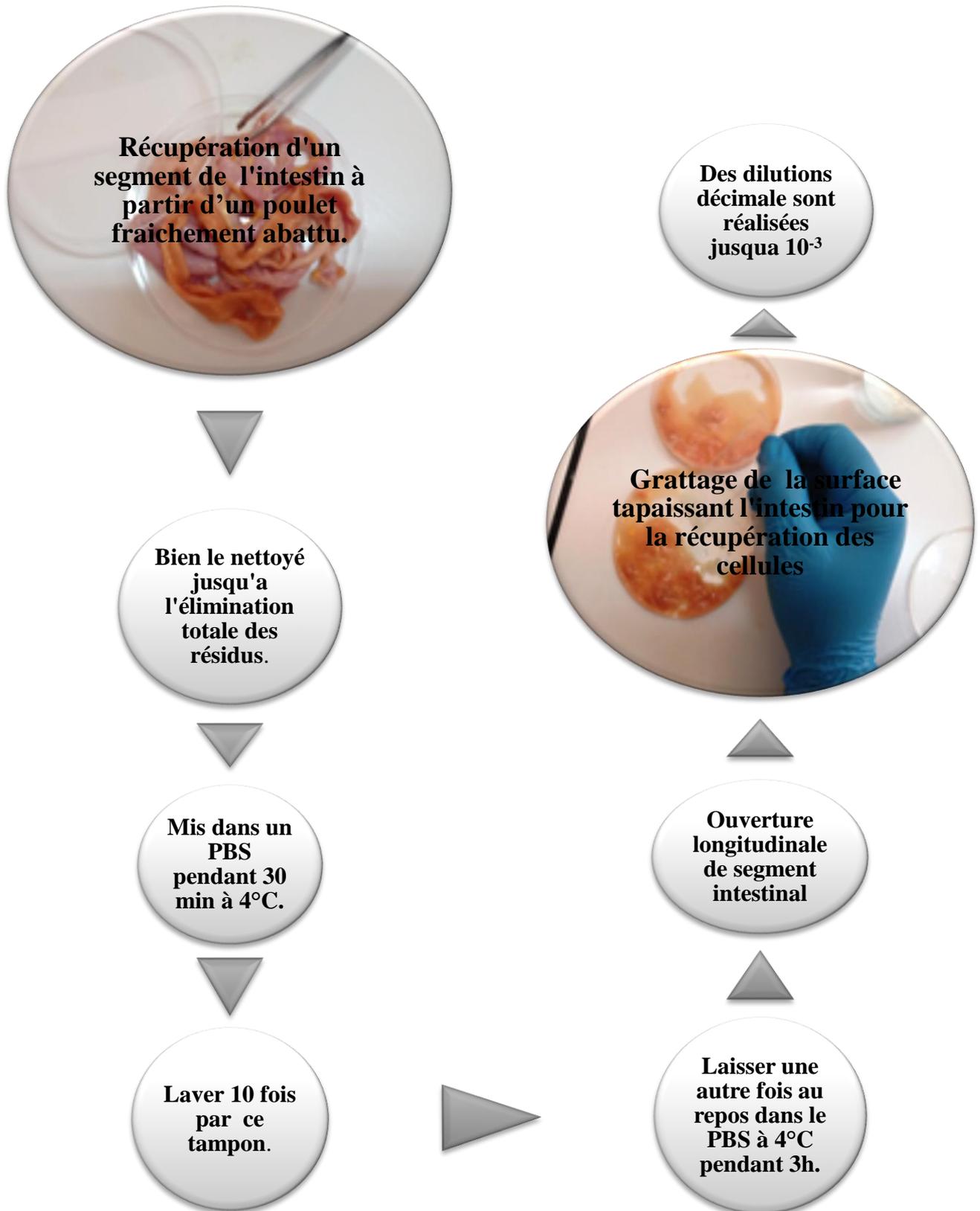


Figure n°9 : Schéma représentant les étapes de préparation des cellules intestinales.

*Chapitre II :*

---

*Résultats*

---

*et Discussion*

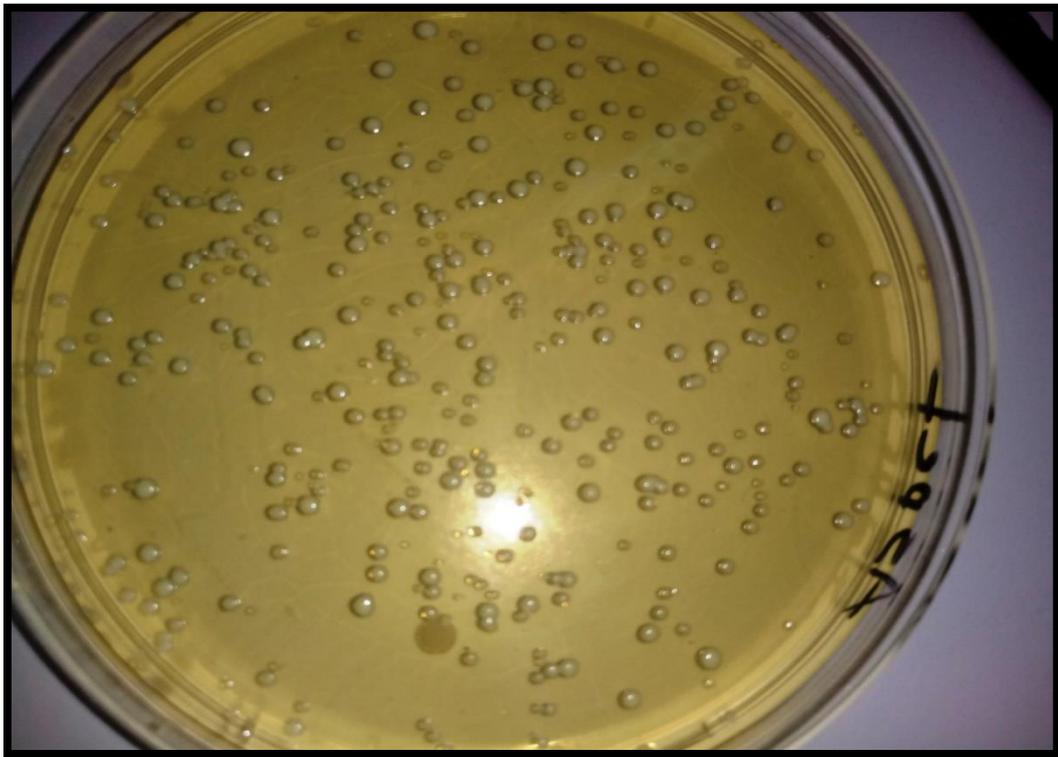
---

## Chapitre II : Résultats et Discussion.

### 1-Isolement et purification des bactéries lactiques :

#### 1-1-Observation macroscopique des cultures bactériennes :

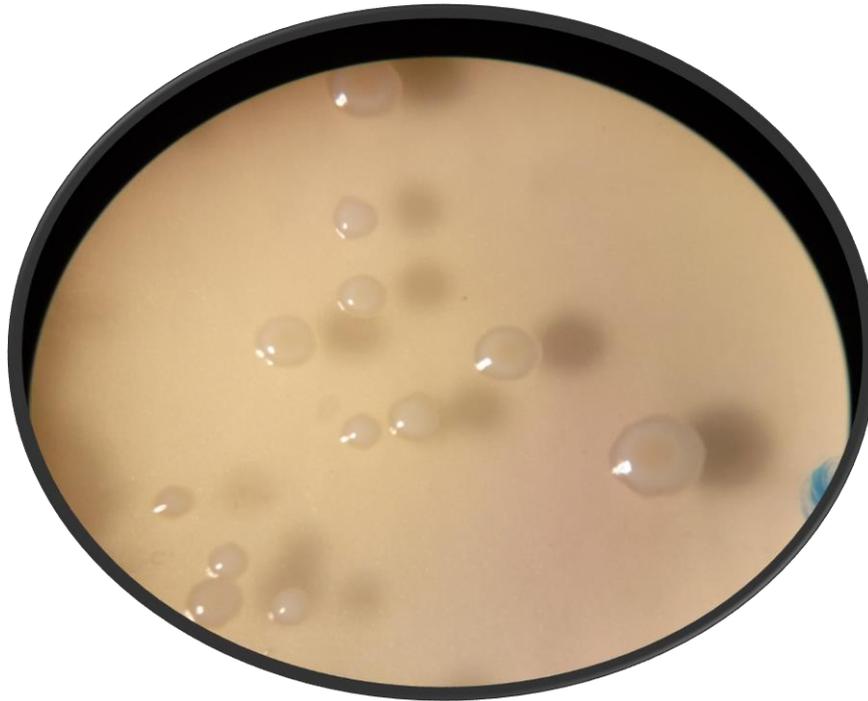
Les colonies sont bien réparties sur la gélose, plusieurs formes de colonies suspectes ont été observées, petite taille, grande taille, plus bombées, plus plats, toutes partagent les mêmes caractéristiques, taches laiteuses, crémeuses, blanchâtres, qui dégagent une odeur similaire au lait fermenté. Ce qui reflète l'aspect des bactéries lactiques. On a noté aussi la présence minime de quelques colonies de type contaminant. (Figure n° 10).



**Figure n° 10 :** Aspects macroscopiques des colonies de bactéries lactiques de la dilution  $10^{-3}$  cultivées sur le milieu MRS.

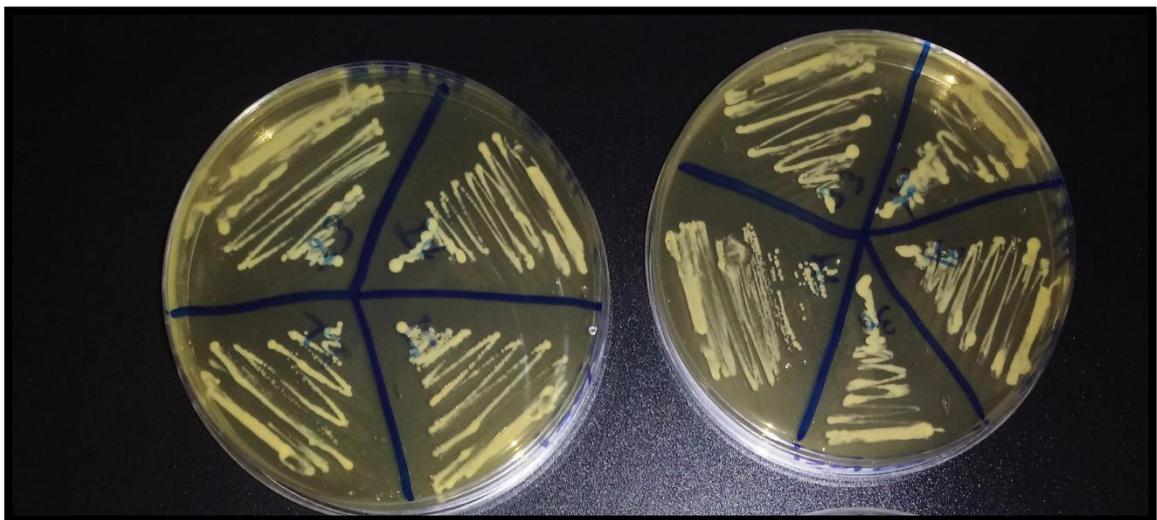
#### 1-2- Aspect des bactéries lactique avec l'utilisation d'une loupe binoculaire :

Les colonies apparaissent bien arrondies à contour régulier, blanchâtres avec un centre un peu plus foncé (un beige plus foncé que le contour), laiteuses, gélatineuses, reflétant la lumière. (Figure n°11).



**Figure n°11** : Aspect des colonies cultivées sur milieux MRS sous une loupe binoculaire, agrandissement x 12.

**1-3-Résultat d'isolement des colonies suspectes d'être des bactéries lactiques :**



**Figure n°12** : Isolement des colonies suspectes par des stries.

**1-4-Observation microscopique après coloration de Gram :**

La coloration de Gram est faite sur 45 colonies isolées. Plusieurs formes ont été observées ; bacilles, petits bacilles, bacilles allongés, coccobacilles ; bacilles épais...etc (**Figures n° : 13, 14 ,15 et 16.**)



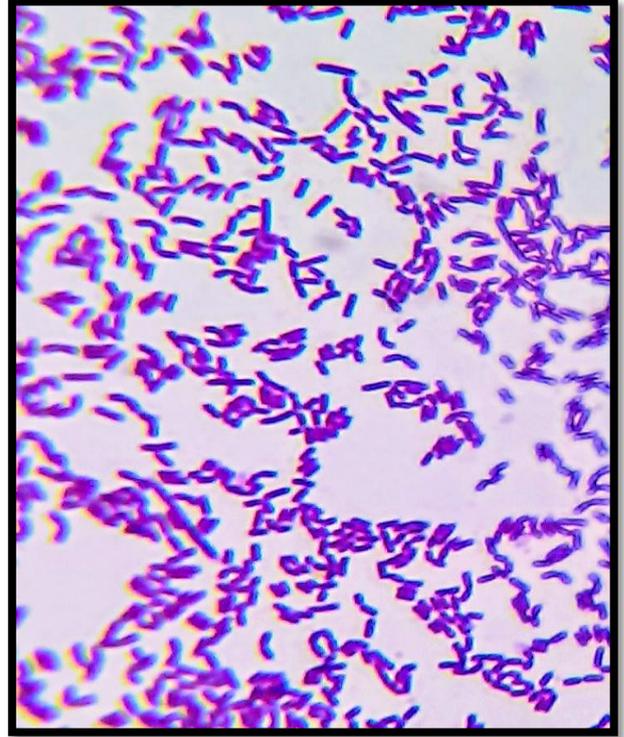
**Figure n°13 : Bactéries Gram positif de forme, diplo-coccobacille, agrandissement x 100. (BL1)**



**Figure n°14 : Bactéries Gram positif de forme bacille, agrandissement x 100. (BL4)**



**Figure n° 15 :** Bactéries Gram positif de forme bacille allongée, agrandissement x 100. (BL 21)



**Figure n°16 :** Bactéries Gram positif de forme bacille épais, agrandissement x 100. (BL 07)

#### 1-5-Test de catalase :

Toutes les colonies sélectionnées ont prouvé un test de catalase négatif.

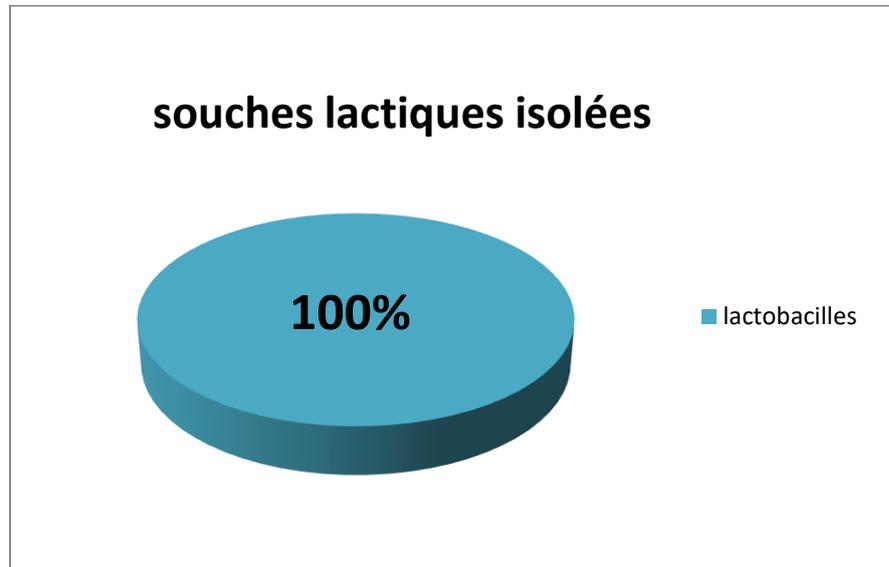
- A partir de notre échantillon, *Jben* traditionnel de la région d'El-Ogla – Chéria wilaya de Tébessa, nous avons isolé 45 souches dont 21 remplissent les caractéristiques suivantes : pures, révélées positives à la coloration de Gram et catalase négative, et ont été gardées pour le reste de l'étude, les autres ont été écartées (**Tableau n°6**).

Tableau n°6 : Caractérisation des souches lactiques.

Souches lactiques	Caractères		
	Gram	Formes	Catalase
BL 1	+	Diplo-cocobaacille	—
BL 2	+	Cocobacille	—
BL 3	+	Petit bacille	—
BL 4	+	Bacille	—
BL 5	+	Bacille	—
BL 6	+	Bacille	—
BL 7	+	Bacille épais	—
BL 8	+	Bacille	—
BL 9	+	Bacille	—
BL 10	+	Bacille	—
BL 11	+	Bacille	—
BL 12	+	Cocobacille	—
BL 13	+	Cocobacille	—
BL 14	+	Cocobacille	—
BL 15	+	Bacille	—
BL 16	+	Petitbacille	—
BL 17	+	Bacille	—
BL 18	+	Bacille	—
BL 19	+	Bacille	—
BL 20	+	Petit bacille	—
BL 21	+	Bacille allongé	—
<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	Bacille	—

- . Durant cette étape nous avons remarqué que toutes les colonies isolées possèdent une forme bacillaire et cela est due, au milieu de culture MRS qui est spécialement utilisé pour la sélection des lactobacilles, et aussi peut être due aux

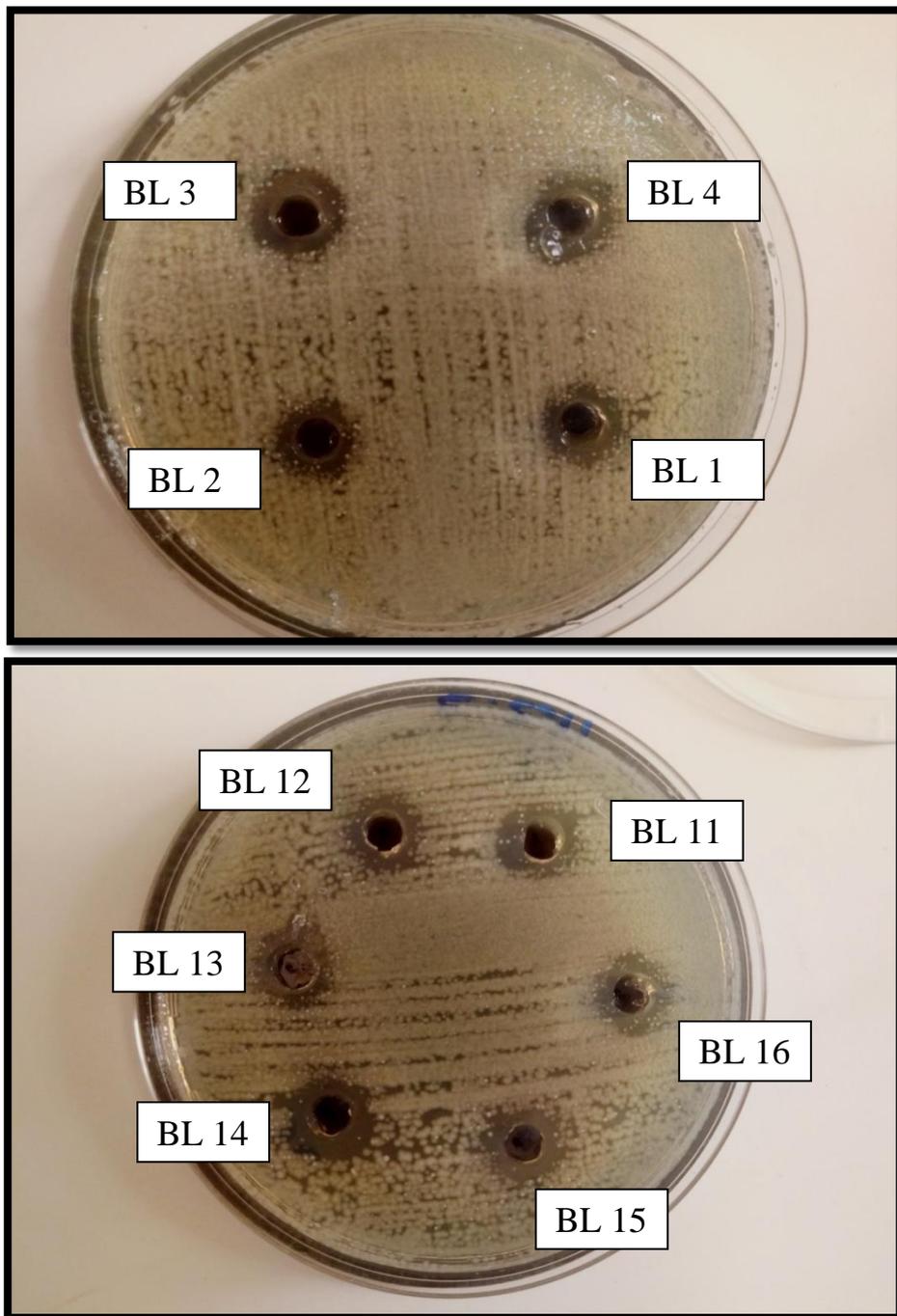
ingrédients utilisés dans la préparation de notre échantillon ; lait de chèvre et la caillette du jeune agneau (*Eldouth*).



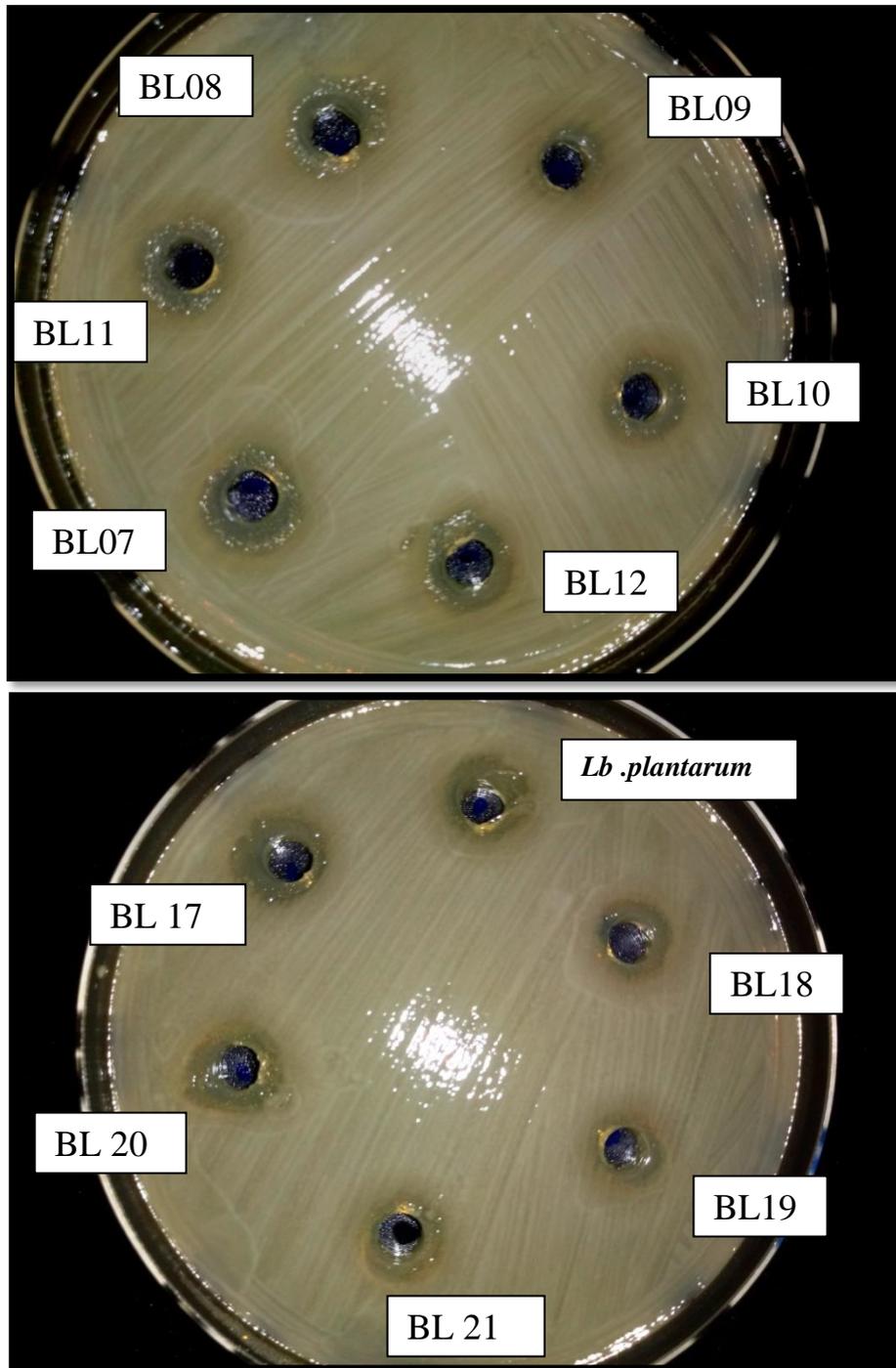
**Figure n°17** : Représentation graphique en pourcentage des lactobacilles isolés.

## 2- l'activité antimicrobienne :

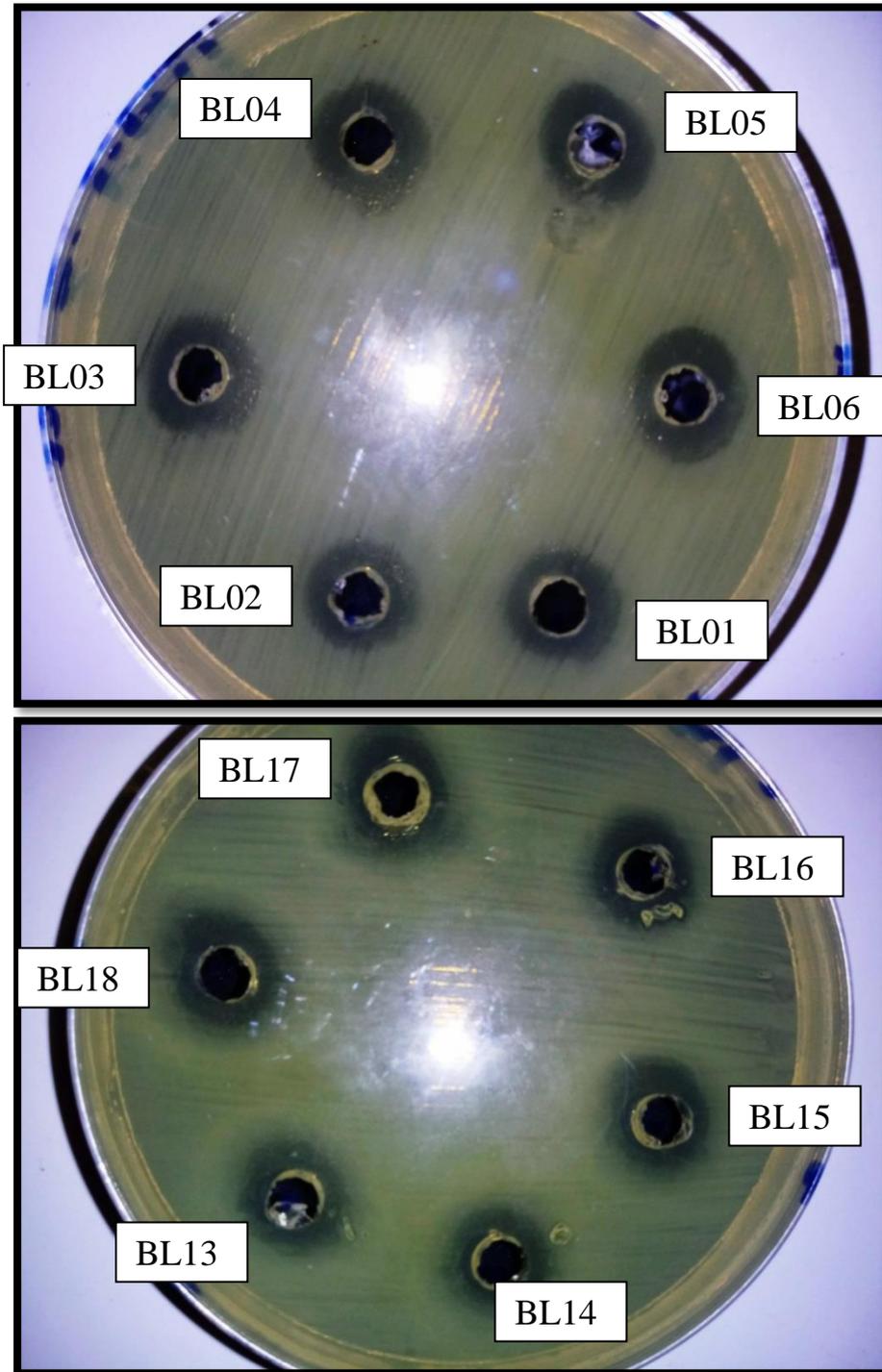
Dans ce test les résultats s'observent sous forme de zones d'inhibition autour les puits. La mesure des diamètres des zones d'inhibition a été faite par un pied à coulisse, Les zones d'inhibition sont exprimées en (mm). La liste des photos suivante illustre les résultats d'antagonisme obtenus des surnageants natifs des souches lactiques envers les souches tests. (**Figures 18, 19, 20, 21 et 22**).



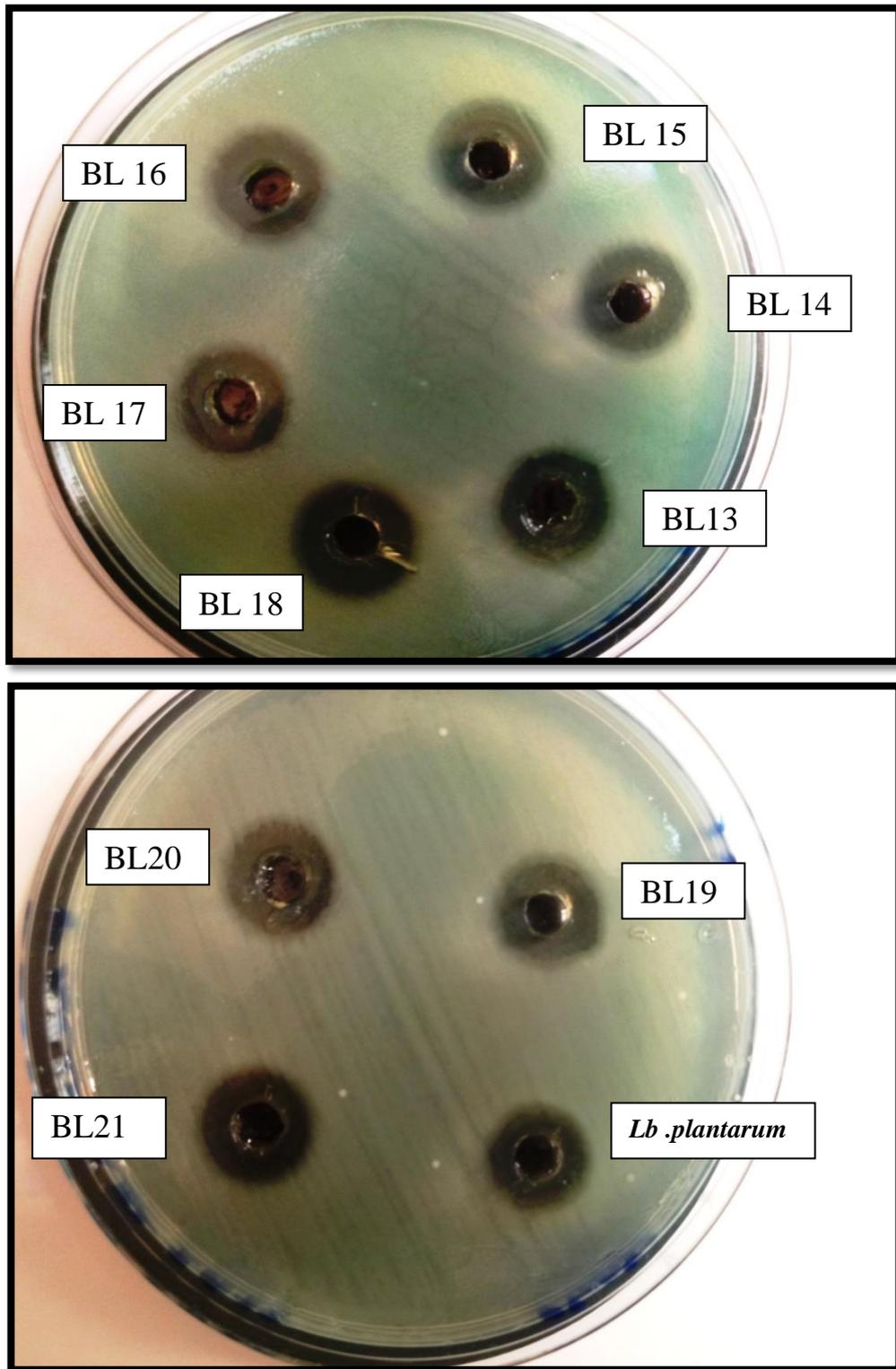
**Figure n°18 :** Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche *E. coli*.



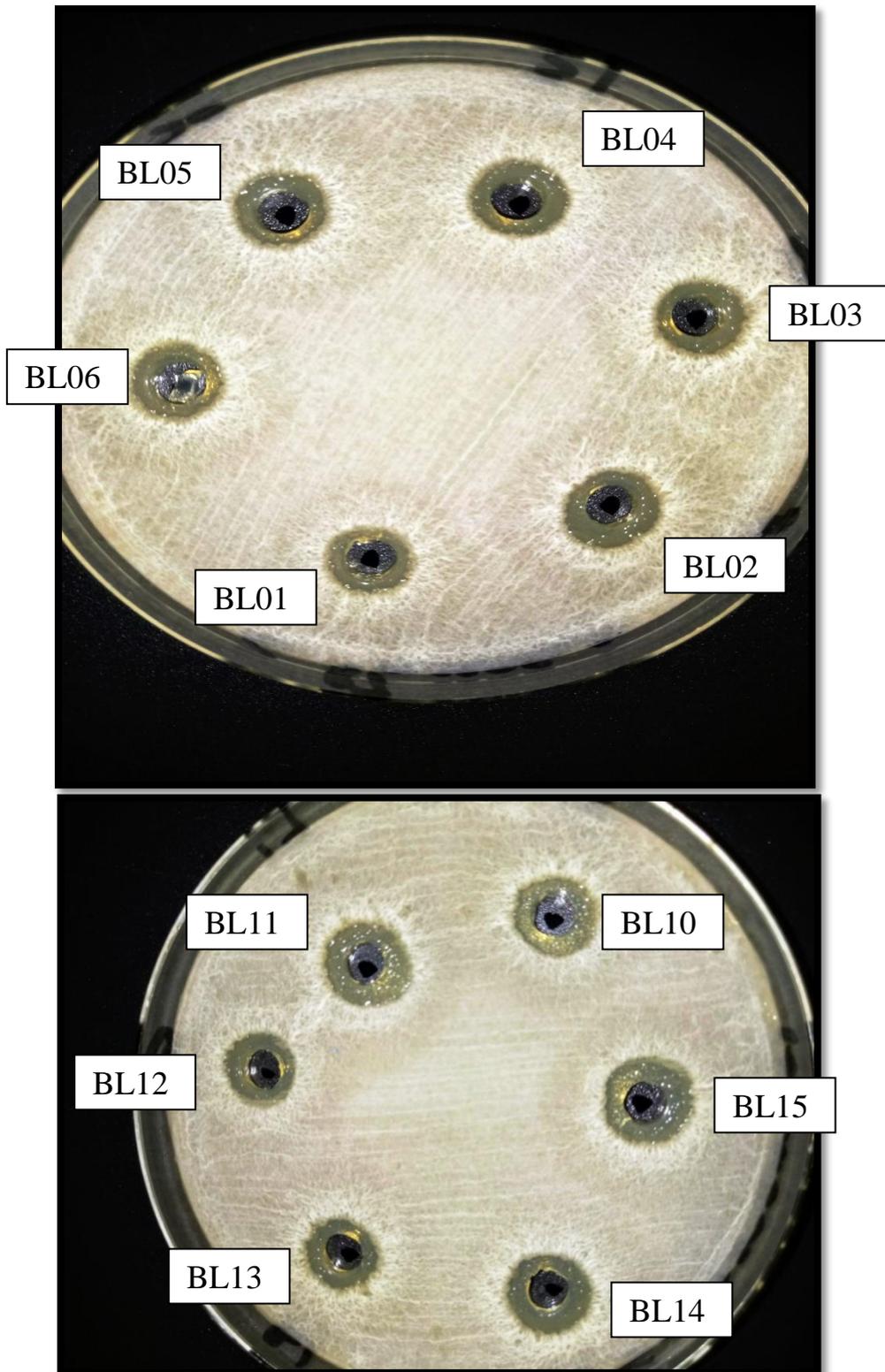
**Figure n° 19 :** Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche *Klebsiella spp.*



**Figure n° 20 :** Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche *Salmonella tphi*.



**Figure n°21** : Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure n°22 :** Mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches lactiques envers la souche *Staphylococcus aureus*.

Les résultats exposés dans le **tableau n°7**, illustrent la réaction de différentes souches pathogènes tests envers les surnageants natifs des lactobacilles isolés. Y compris la souche commercialisée de comparaison *Lactobacillus plantarum*.

En effet les résultats obtenus des diamètres des zones d'inhibition envers les germes pathogènes prouvent des valeurs comprises entre 8.2 mm (*Klebsiella spp* / BL 2) et 14.3 mm (*Pseudomonas aeruginosa* / BL 18).

**Tableau n°7** : Diamètres des zones d'inhibition des germes pathogènes exprimés en mm.

Souches révélatrices/ diamètre des zones d'inhibition (mm).							
Souches lactiques	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>Salmonella tphi</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
BL 1	10.1	09.1	12.5	00	11.6	11.00	00
BL 2	11.1	08.2	12.8	00	12.3	13.1	00
BL 3	12.5	10.00	12.2	00	12.3	11.00	00
BL 4	12.00	08.5	13.8	00	12.8	12.00	00
BL 5	10.8	09.3	12.5	00	11.7	11.3	00
BL 6	11.8	11.4	14.00	00	12.8	10.2	00
BL 7	11.5	12.00	12.4	00	12.7	10.1	00
BL 8	11.7	11.1	10.1	00	11.63	10.5	00
BL 9	12.7	09.00	11.3	00	11.30	10.4	00
BL 10	12.9	11.3	10.6	00	12.16	11.1	00
BL 11	12.8	11.5	12.4	00	12.4	12.2	00
BL 12	11.6	11.2	10.00	00	11.7	10.1	00
BL 13	10.10	11.4	11.00	00	14.00	10.5	00
BL 14	13.00	10.3	11.1	00	13.00	11.4	00
BL 15	11.8	10.1	12.3	00	13.6	12.00	00

BL 16	12.90	11.2	13.00	00	13.5	11.00	00
BL 17	11.3	12.00	12.00	00	14.2	09.2	00
BL 18	10.3	10.7	13.1	00	14.3	09.1	00
BL 19	11.10	09.8	11.6	00	12.3	12.2	00
BL 20	11.60	12.3	12.00	00	13.6	09.5	00
BL 21	11.10	10.00	11.00	00	13.9	10.00	00
<i>Lb. plantarum</i>	10.10	11.5	10.00	00	12	10.5	00

D'après les résultats obtenus, il paraît que les surnageants natifs des 21 souches de lactobacilles testés montrent une activité :

- Considérablement bonne ; envers les souches de *Pseudomonas aeruginosa* : (dont 23.80 % des diamètres mesurés sont autour de 11 mm , 38.09 % sont autour de 12 mm , 23.80 % sont autour de 13 mm et 14.28 % sont autour de 14 mm .) et la souche *Salmonella tphi* : ( dont ; 14.28 % des diamètres mesurés sont autour de 10 mm , 23.80 % sont autour de 11 mm , 42.85% sont autour de 12 mm ,14.28% sont autour 13 mm et 4.76 % sont 14 mm .) (**Figures n° 26,25**)
- Moins bonne : envers la souche d'*E.coli* : dont ; 19.04 % des diamètres mesurés sont autour 10 mm, 47.61 % sont autour 11 mm, 28.57 % sont autour 12 mm et 4.76 % sont 13 mm. (**Figure n° 23**).
- Moyenne : envers la souche de *Staphylococcus aureus* : dont ; 14.28 % des diamètres mesurés sont autour 09 mm, 33.33 % sont autour 10 mm, 28.57 % sont autour 11 mm, 19.04 % sont autour 12 mm et 4.76 % sont 13.1 mm. (**Figure n°27**).
- Minimale : envers la souche de *Klebsiella. spp* dont ; 09.52 % des diamètres mesurés sont autour 08 mm, 19.04 % sont autour 09 mm, 23.80 % sont autour 10 mm, 33.33 % sont autour 11 mm, 14.28 sont autour 12 mm. (**Figure n° 24**).
- Nulle envers la souche *Proteus mirabilis* et la levure *Candida albicans*.

Ces résultats sont représentés et exemplifiés dans les graphiques suivants :

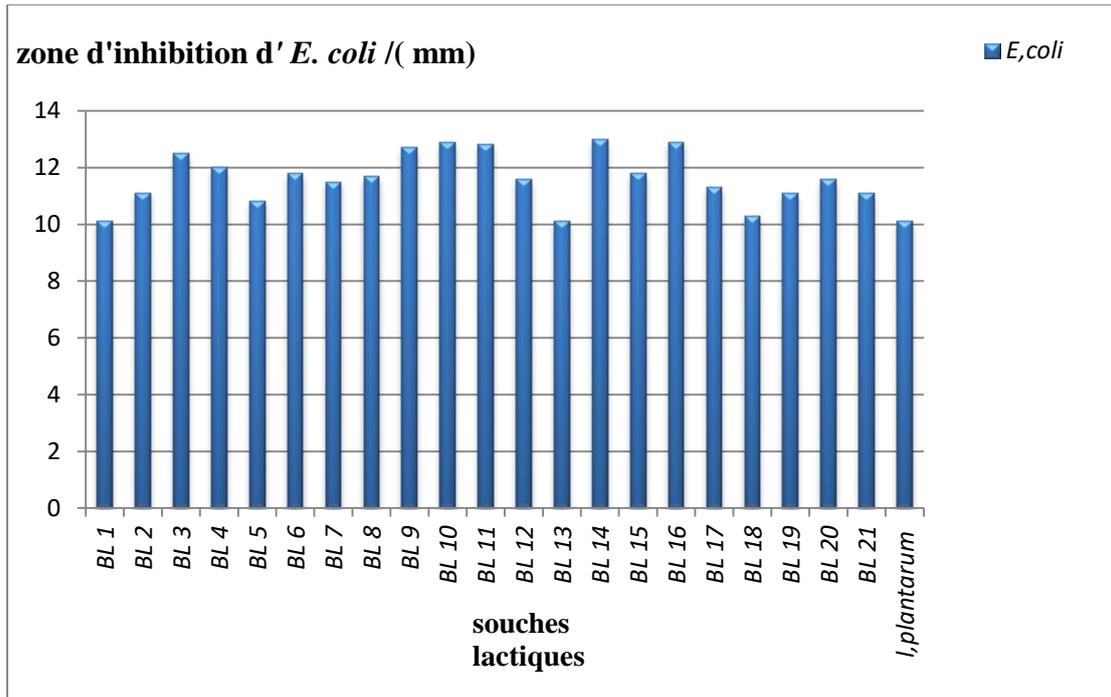


Figure n° 23 : Interaction entre le surnageant des souches lactiques et *E. coli*.

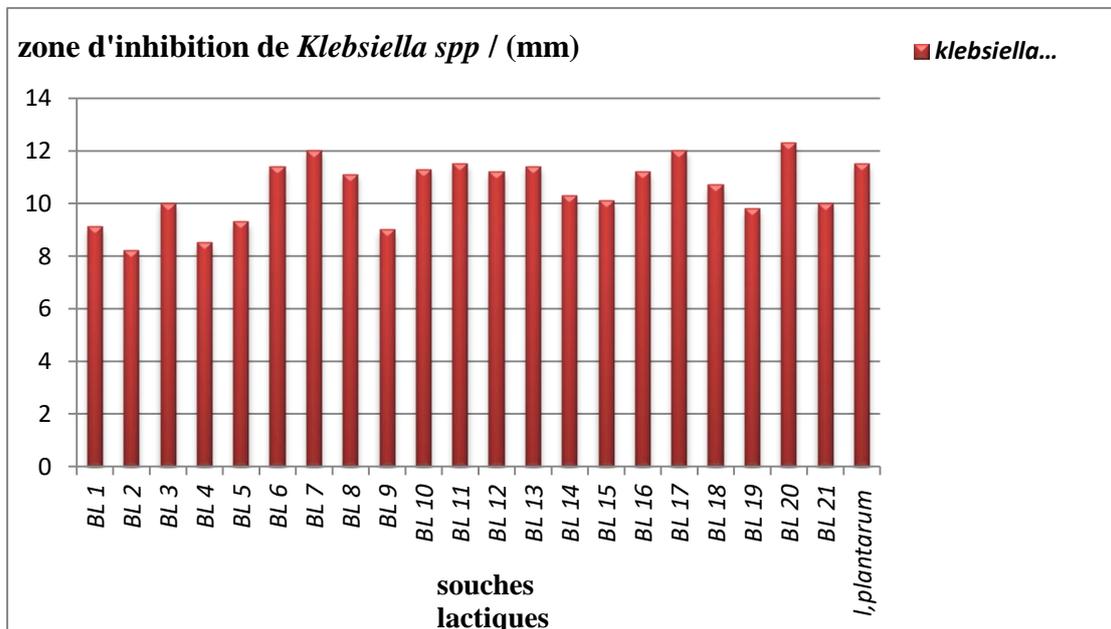
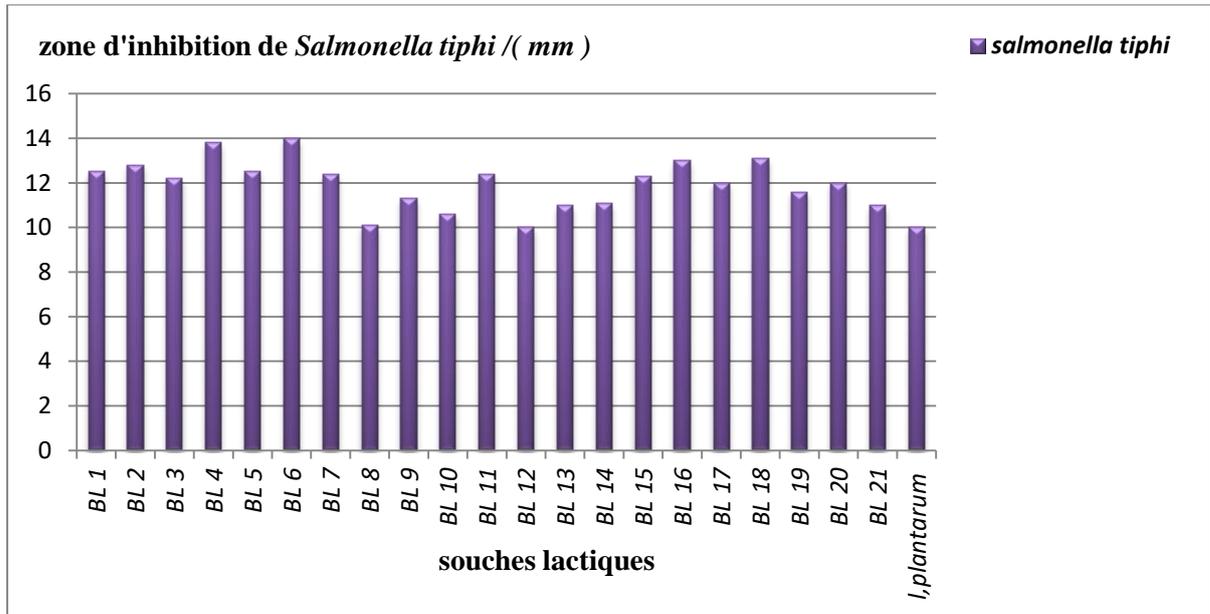
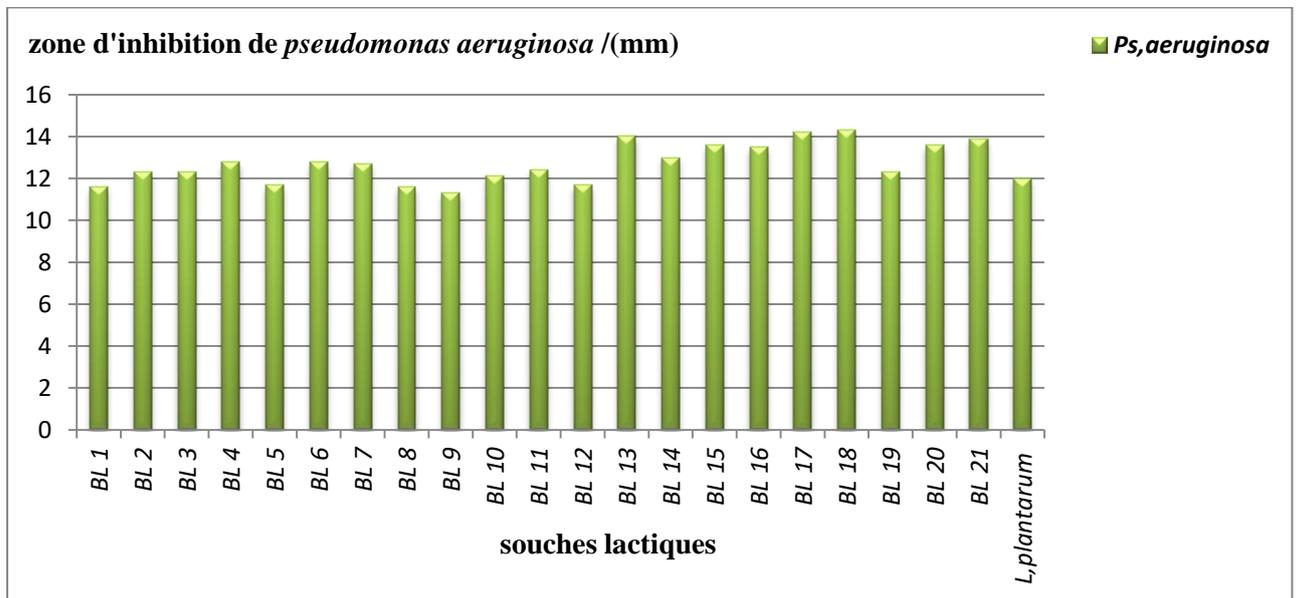


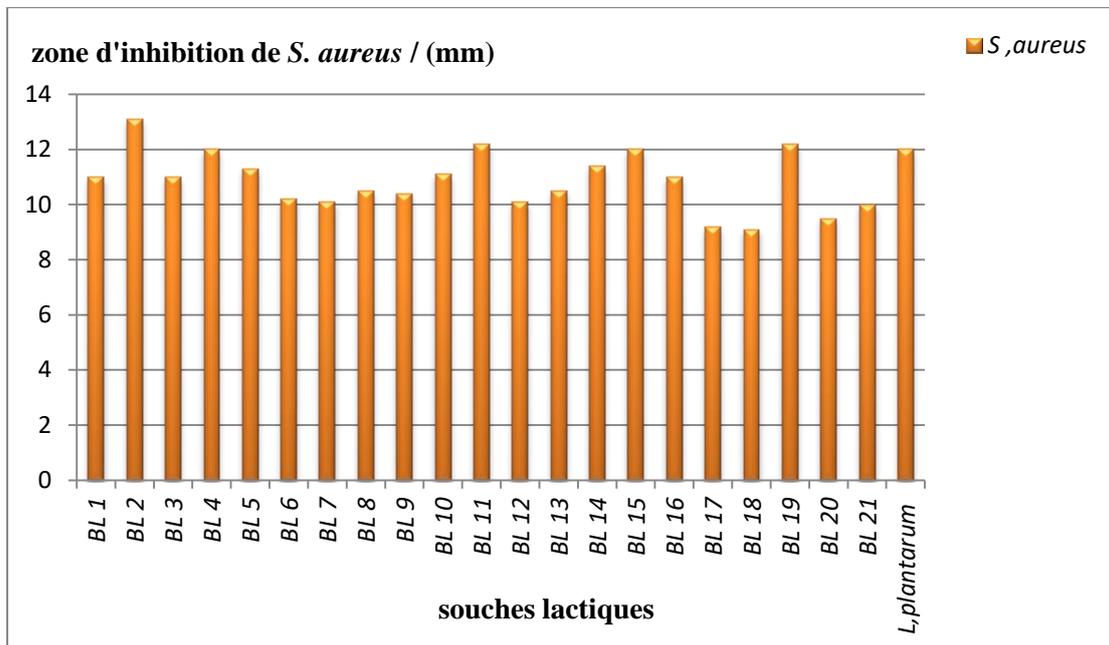
Figure n° 24 : Interaction entre le surnageant des souches lactiques et *Klebsiella spp*.



**Figure n°25 :** Interaction entre le surnageant des souches lactiques et *Salmonella tphi*.



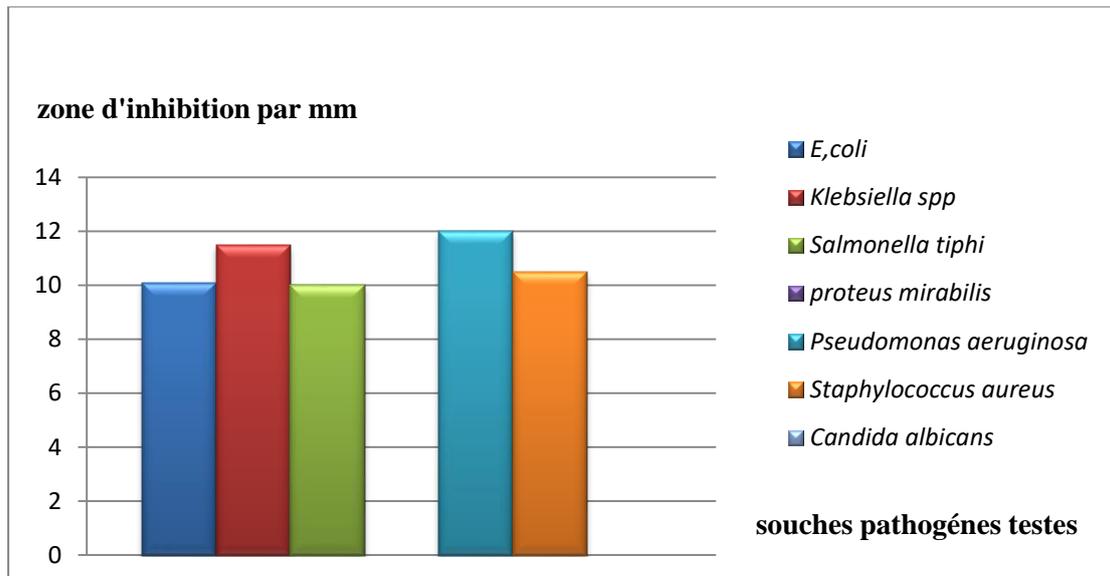
**Figure n° 26 :** Interaction entre le surnageant des souches lactiques et *P. aeruginosa*.



**Figure n°27** : Interaction entre le surnageant des souches lactiques et *S. aureus*.

D'une autre part les résultats d'antagonisme de la souche commercialisée *Lb. plantarum* envers les souches révélatrices ne se différencient pas beaucoup des souches isolées, parfois des valeurs plus inférieures sont enregistrées comme le montre le **tableau n°06**.

Le graphique ci-dessous (**figure n°28**) illustre la réaction de la souche commercialisée *Lb. plantarum* envers les souches tests.



**Figure n° 28 :** Diamètres des zones d'inhibition exercés par la souche *Lb. plantarum* sur les souches pathogènes.

Une des caractéristiques la plus importante des bactéries lactiques et leur activité antagoniste, en inhibant la croissance des germes pathogènes, par la production de facteurs inhibiteurs ; que se soient : des acides organiques ( l'acide lactique, l'acide acétique..), des dérivés du métabolisme  $H_2O_2$  et des substances naturelles de nature peptidique dénommées bactériocines qui présentent une activité bactéricide ou bactériostatique dont leur spectre d'activité peut être plus ou moins large, quelques fois limité aux espèces proche phylogénitiquement des bactéries productrices. (Allouche *et al.*, 2010). En effet, l'acide lactique produit par les bactéries lactiques pendant leur croissance, modifie le pH du milieu et peut agir sur la croissance des bactéries pathogènes, l'activité antibactérienne de l'acide lactique s'explique par la capacité à pénétrer sous sa forme non dissociée à travers la membrane cytoplasmique perturbant ainsi le maintien du potentiel de la membrane et inhibant les systèmes membranaires de transport actif. Servin (2004) et Tejero –sarinena (2012), ont signalé que l'acide lactique agit comme un agent perméabilisant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. En outre la multiplication de certaines cultures lactiques entraîne la production de peroxyde d'hydrogène considéré comme inhibiteur de la croissance bactérienne. (Bahri, 2014 ; Mari, 2011).

L'évaluation du pouvoir antagoniste des 21 souches de lactobacilles a été étudié vis à vis six souches bactériennes cibles indicatrices et la levure *Candida albicans*.

Les résultats des interactions ont montré que toutes les souches isolées possèdent un effet inhibiteur contre cinq souches pathogènes (*E. coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella tphi*, *Staphylococcus aureus*.) tandis que l'activité inhibitrice vis à vis *Proteus mirabilis* et *Candida albicans* est totalement absente ; cet effet est plus ou moins différent ,avec un spectre d'action sur Gram positifs (*S. aureus*) et les Gram négatifs .

Pour la souche d'*E. coli*, on a enregistré le diamètre d'inhibition le plus important par la souche lactique BL 14 (13 mm) plus supérieur que la souche commercialisé (*Lb. plantarum*) avec 10.10 mm de diamètre d'inhibition.

Concernant la souche *Klebsiella spp*, nous avons enregistré le diamètre d'inhibition le plus important par les souches lactiques : BL 17, BL 7, BL 20 ; (12mm) un peu proche de la souche commercialisé (*Lb. plantarum*) 11.5 mm de diamètres d'inhibition.

Alors que pour la souche *Salmonella tphi*, nous avons enregistré le diamètre d'inhibition le plus important par la souche lactique BL 6 (14 mm), plus supérieur que la souche commercialisé (*Lb. plantarum*) avec 10.00 mm de diamètre d'inhibition.

De Même que pour la souche *S. aureus*, nous avons enregistré le diamètre d'inhibition le plus important par la souche lactique BL 2 (13.1 mm), plus supérieur que la souche commercialisé (*Lb. plantarum*) avec 10.5 mm de diamètre d'inhibition.

En fin pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, on a enregistré le diamètre d'inhibition le plus important par les souches lactiques ; BL 13, BL 17, BL 18. (Environ 14 mm), plus supérieur que la souche commercialisé (*Lb. plantarum*) avec 12 mm de diamètre d'inhibition. .

Ces derniers temps, l'effet inhibiteur des bactéries lactiques est reporté dans plusieurs études, nous mentionnons parmi eux :

- **Dib et al., (2012)** ont également rapporté dans une étude sur l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels une activité inhibitrice remarquable sur des bactéries pathogènes à savoir

*Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* et *E.coli*, leurs résultats sont très proches de nos résultats.

- Nos résultats corroborent ceux de **Lamia Mermouri, (2018)** qui a constaté une activité inhibitrice des souches lactiques isolées de produits fermentés sur les souches pathogènes de *Pseudomonas spp* et *E .coli*, et une activité très prononcée sur *S.aureus*, ce qui n'est pas le cas dans notre étude (une activité inhibitrice considérée moyenne envers *S. aureus*).
- **Makhlouf et Souane (2017)** ont signalé une activité inhibitrice remarquable envers la souche *Proteus mirabilis*.
- **Guetarni, (2018)** a constaté que les bactéries lactiques isolées de différents milieux (lait de vache cru, selles des enfants, lait de brebis et de chèvre) Ont démontré un effet inhibiteur des souches pathogène responsables des maladies diarrhéiques tels que *Escherichia coli* et *Salmonella typhi*.
- **Baso, (2011)** a montré que des bactéries lactiques isolées des produits laitiers et de soya commercialisés par la compagnie **BioK plus** ont un effet inhibiteur contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline.

### 3- Adhésion au tissu intestinal :

La capacité d'adhésion à la couche intestinale est un critère de sélection recommandé pour le choix des probiotiques, parce que c'est une condition pour la colonisation des entrailles. (**Benreguieg, 2015**). Plus la bactérie passe le temps dans le tractus gastro-intestinale plus elle aura la chance d'exercer un effet bénéfique pour l'hôte (**Izquierdo, 2009**).

L'adhérence constitue le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes. Elle est basée sur la réalisation d'un ensemble de tests *in vitro* puis *in vivo* en utilisant des cellules d'origine animale et/ou humaine (**Benreguieg, 2015**).

Dans notre travail et pour le but d'étudier la capacité adhésive des bactéries lactiques aux cellules intestinales *in vitro* nous avons utilisé des tissus épithéliaux d'origine animale (l'intestin de poulet).

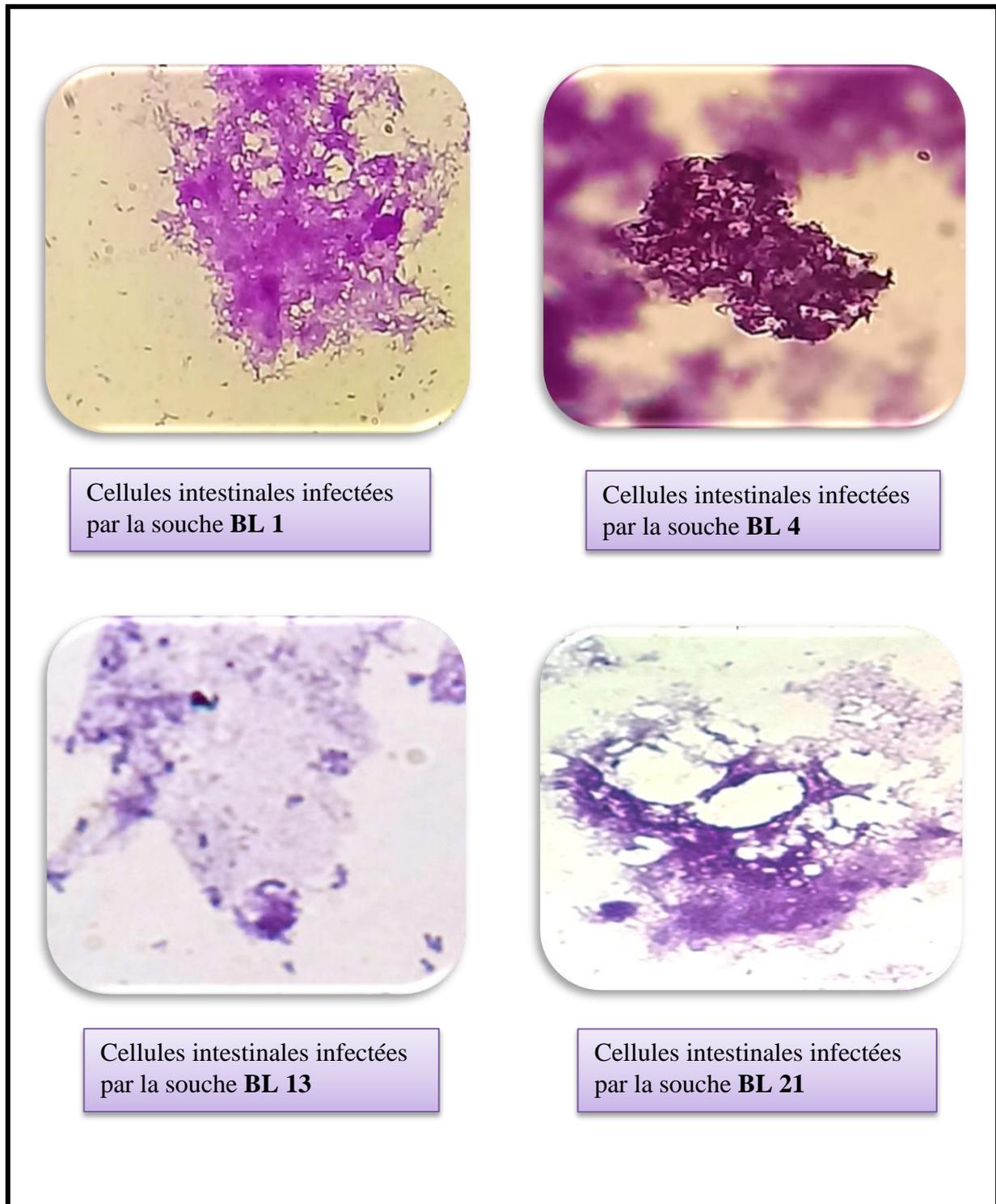
Les résultats obtenus sont illustrés dans **le tableau n°8**. Toutefois nous avons constaté que les bactéries lactiques isolées ont présenté un résultat d'adhésion positif au tissu épithélial de l'intestin à l'exception des souches BL5, BL8, BL9 et BL12.

**Tableau n°8** : Résultats d'adhésion des souches lactiques isolées et la souche de comparaison *Lb. plantarum* au tissu intestinal d'un poulet.

Souches lactiques	Tissu intestinal	
	Résultats du test	La lecture
BL1	+	Adhésion
BL2	+	Adhésion
BL3	+	Adhésion
BL4	+	Adhésion
BL5	-	Absence d'adhésion
BL6	+	Adhésion
BL7	+	Adhésion
BL8	-	Absence d'adhésion
BL9	-	Absence d'adhésion
BL10	+	Adhésion
BL11	+	Adhésion
BL12	-	Absence d'adhésion
BL13	+	Adhésion
BL14	+	Adhésion
BL15	+	Adhésion
BL16	+	Adhésion

BL17	+	<b>Adhésion</b>
BL18	+	<b>Adhésion</b>
BL19	+	<b>Adhésion</b>
BL20	+	<b>Adhésion</b>
BL21	+	<b>Adhésion</b>
<i>Lb. plantarum</i>	+	<b>Adhésion</b>

- ✓ Selon le postulat une souche probiotique ne peut être définie comme telle, avant d'assurer sa capacité d'adhérence aux cellules de l'épithélium intestinal. Le test réalisé sur des cellules épithéliales isolées d'un intestin de poulet frais, a permis de définir les souches possédants cette capacité d'adhérence. il s'agit notamment des souches isolées : (BL1, BL2, BL3, BL4, BL6, BL7, BL10, BL 11, BL 13, BL 14, BL15, BL 16, BL 17, BL 18, BL19, BL 20, BL 21), sous microscope optique, après une simple coloration au violet de gentiane (**Figure n°29**).



**Figure n° 29** : Adhérence des souches de *Lactobacillus spp* aux cellules intestinales visualisées sous microscope photonique après coloration au violet de gentiane.

Il a été démontré que l'adhésion des bactéries lactiques à la muqueuse intestinale est indispensable pour la colonisation et elle est importante pour l'interaction entre les souches probiotiques et l'hôte. Toutefois, la plupart des infections intestinales sont initiées par l'adhésion des pathogènes aux cellules entérocytaires de l'hôte. D'après (Belhamra, 2017), les bactéries lactiques présentent divers déterminants de surface impliqués dans leur interaction avec les cellules épithéliales intestinales.

Les cellules épithéliales intestinales produisent la mucine qui est un mélange complexe de glycoprotéine qui constitue un composant principale de la muqueuse, empêchant ainsi l'adhésion des bactéries pathogènes (Bermudez-Brito *et al.*, 2012).

De plus, l'adhésion aux cellules épithéliales humaines est un test important suggéré pour l'évaluation du pouvoir probiotique des souches lactiques (Hadeif, 2012). Plusieurs effets bénéfiques des probiotiques semblent directement liés à la capacité d'adhésion. En effet, l'adhésion serait importante pour l'immun-modulation car les probiotiques adhèrent sont en contact direct avec les cellules immunes épithéliales. De plus, l'adhésion des probiotiques permettrait de prévenir l'implantation des bactéries pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales par des mécanismes de compétition (Piquepaille, 2013).

Gueimonde *et al.*, (2006) ont suggéré que les bactéries lactiques ont aussi démontré leur potentiel à entrer en compétition avec les agents pathogènes pour l'adhésion et la colonisation des muqueuses de l'hôte. Des études récentes *in vitro* rapportent une inhibition par adhésion compétitive entre des bactéries entéropathogènes et des bactéries lactiques probiotiques. Ces études ont été réalisées sur des cultures cellulaires (lignées cellulaires intestinales) et ou de mucus intestinal d'origine humaine. Par exemple, l'adhésion de *Enterobacter sakazakii* au mucus intestinal a été inhibée par différentes souches de probiotiques testés seules ou en combinaison (*Streptococcus thermophilus* NCC 2496, *Lactobacillus rhamnosus* NCC 4007, *Lactobacillus paracasei* NCC 2461, *Bifidobacterium longum* NCC 3001 et *Bifidobacterium lactis* NCC 2818 (Bouchard, 2013).

Pour les lactobacilles, l'adhésion aux cellules épithéliales a été démontrée par de nombreuses études *in vitro*, qui permettent de confirmer ces observations (Valeur *et al.*, 2004). Cependant Pinto *et al.*, (2006) ont constaté que les souches de *Lactobacillus* à propriétés probiotiques, ont plusieurs mécanismes qui sont un critère important qui

leur permettent d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales. Cette propriété est la résultante d'une interaction entre des protéines de surface présentes chez les *Lactobacillus* (Lectin-like proteins) et les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale (Saito, 2004).

# Conclusion et

---

# Perspectives

---

## *Conclusion Et Perspectives :*

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis « l'antiquité » de façon consciente ou non pour leurs activité probiotique dans la bioconservation, l'entretien et l'amélioration de l'état de la santé humaine et animale.

L'objectif principal de notre travail était d'évaluer *in vitro* de quelques aptitudes probiotiques des bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier de fabrication artisanale « *JBEN* » de la région d'El-Ogla \_Tébessa.

D'abord nous avons commencé par l'isolement de quarante-cinq souches à partir de d'un fromage artisanal « *JBEN* », et ensuite on a purifié ces isolates par la détermination des caractéristiques morphologiques (observation macro et microscopique, coloration de Gram et le test de catalase), dont 21 souches ont été choisies. La totalité était des bacilles avec quelques coccobacilles à Gram positif et catalase négatif. Nous avons testé une souche probiotique commercialisée *Lactobacillus plantarum* 299V (smebiotca confort) afin de comparer ses propriétés probiotiques à celles de nos souches lactiques.

Cette recherche est intéressée principalement à l'étude de l'activité antagoniste des bactéries lactiques contre des microorganismes pathogènes indicatrices par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de leur croissance, ainsi que leur capacité d'adhésion aux cellules intestinales d'origine animal.

Au terme de cette étude les résultats obtenus, montrent que :

- ✓ Nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne contre la plupart des souches pathogènes sauf contre (*Proteus mirabilis* et *candida albicans*), Ainsi que la souche commercialisée « *lactobacillus plantarum* » a donné des résultats presque proche à celle de nos souches.
- ✓ les isolats ont une capacité de s'adhérer au tissu intestinal à l'exception de quelques souches. De même, la souche commercialisée « *lactobacillus plantarum* » a donné un résultat d'adhésion positif.

Les bactéries lactiques isolées de notre échantillon de « *JBEN* » possédants des activités probiotiques assez importantes (Adhésion et Antagonisme) nous donne l'orientation de chercher ce type de bactéries dans ces produits. Nos résultats corroborent les travaux antérieurs puisque les produits alimentaires en général, et ceux fermentés de façon artisanale en particulier, constituent une niche écologique de choix pour l'isolement de bactéries lactiques.

Enfin, en perspective d'avenir, il serait souhaitable de valoriser ces travaux par :

- L'identification au niveau de l'espèce par la galerie miniaturisée API 50 CHL des souches isolées.
- Etude de l'adhésion aux cellules épithéliales d'origine humaine.
- La purification des substances antimicrobiennes synthétisées par ces souches afin de confirmer leur nature et leurs modes d'action.
- L'étude des mécanismes d'action de ces différentes souches.

**References**

---

**Bibliographiques**

---

## Références bibliographiques :

1. **A**kinobu K, Emiko M, Kazuya M, et al, (2016). Characterization of flagellins isolated from a highly motile strain of *Lactobacillus agilis*. BMC microbiology. (En ligne). Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4802830/> « Consulté le 01/02/2020 ».
2. Allouche F-N, Hellal A, Larbaba A, (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. Revue nature et technologie. (En ligne).vol 6 (03), p 13 à 20. Disponible sur : [http://rist.cerist.dz/IMG/pdf/Etude\\_de\\_l\\_activite\\_antimicrobienne\\_des\\_souches\\_de\\_lacto\\_bacilles\\_.pdf](http://rist.cerist.dz/IMG/pdf/Etude_de_l_activite_antimicrobienne_des_souches_de_lacto_bacilles_.pdf) « Consulté le 23-05-2020 ».
3. Ammor M. S et Mayo B, (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production : An update. *Meat science*. (En ligne). 76(1), 138-146 disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174006003627> « Consulté le 12/11/2019 ».
4. Armuzzi, A., Cremonini, F., Bartolozzi, F., Canducci, F., Candelli, M., Ojetti, V., Cammarota G., Anti M., De Lorenzo A., Pola P., Gasbarrini, G., Gasbarrini A., (2001). The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy. *Aliment pharmacol Ther*. (En ligne). 15(2), 163-169. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11148433> « Consulté le 28/12/2019 ».
5. **B**ahri F, (2014). isolement et caractérisation des souches de lactobacilles à caractères probiotiques à partir de selles d'enfants. (En ligne) .thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Constantine-Algérie : université Constantine I, p 124. Disponible sur : <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/BAH6554.pdf> « Consulté le 30/05/2020 ».

6. Baso M, (2011). Recherche des effets de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques sur le *S. aureus* résistant à la Méthicilline. (En ligne). Mémoire de maîtrise : Biologie. Montréal : université de Québec, p 37. Disponible sur : <http://archipel.uqam.ca/4211/1/M12207.pdf> « Consulté le 04/06/2020 ».
7. Belhamra Z, (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. (En ligne). Thèse de Doctorat 3ème CYCLE : Microbiologie. Stif : Université Ferhat Abbas Sétif 1, 147 p. Disponible sur : <http://dspace.univsetif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1146> « Consulté le 22/11/2019».
8. Benreguiég M, (2015). Propriétés Antibactériennes et Probiotiques de Bactéries Lactiques Isolées à Partir du Lait de Vache, de Chèvre et de Brebis dans la région de l'Ouest Algérien. (En ligne). Thèse de doctorat: Microbiologie. Mostaghanem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 181p. Disponible sur : <http://hdl.handle.net/123456789/1110> « Consulté le 22/11/2020 ».
9. Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C, Gil A, (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*. (En ligne). 61(2), 160-174. Disponible sur : <https://www.karger.com/article/fulltext/342079> « Consulté le 11/12/2019 ».
10. Bouchard D, (2013). Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*. (En ligne). Thèse de doctorat : sciences agricoles. France : université de rennes 1, 327p. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01397499/> « Consulté le 22/01/2020 ».
11. Bultel A, (2017). Les probiotiques aujourd'hui : où en est-on ?. (En ligne). Thèse de doctorat : Pharmacie. Lille : Université de Lille2, 118p. Disponible sur : <https://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/b1c39013-f249-4bc7-8e78-10096fae46bc> « Consulté le 2/3/2020 ».

12. **C**arée- Mlouka A, (2019) .Bactéries lactiques et métabolismes fermentaires. Muséum national d'Histoire naturelle. (En ligne). Disponible sur :<http://edu.mnhn.fr/mod/page/view.php?id=8038&lang=en> . « Consulté le 26 /12/2019 ».
13. Carée- Mlouka A, (2019). LES EFFETS DES PROBIOTIQUES. Muséum national d'Histoire naturelle. (En ligne), 1-4p. Disponible sur : [http://edu.mnhn.fr/pluginfile.php/24672/mod\\_page/content/24/19\\_Les\\_Effets\\_Des\\_Probiotiques.pdf](http://edu.mnhn.fr/pluginfile.php/24672/mod_page/content/24/19_Les_Effets_Des_Probiotiques.pdf) « Consulté le 11/12/2019 ».
14. Carée-Mlouka A, (2019). PRÉ- ET PROBIOTIQUES : DÉFINITION ET CARACTÉRISTIQUES. Muséum national d'Histoire naturelle (En ligne). 1-3p. Disponible sur : <http://edu.mnhn.fr/mod/page/view.php?id=8044> « Consulté le 11/12/2019 ».
15. Carée-Mlouka A, (2019).Les aliments lactés fermentés. Muséum national d'Histoire naturelle. (En ligne). Disponible sur : <http://edu.mnhn.fr/mod/page/view.php?id=8038&lang=en> . « Consulté le 26 /12/2019 ».
16. Chemlal-Kherraz D, (2013). Isolement et identification phénotypique des bactéries lactiques isolées du Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) et mise en évidence de leur potentiel probiotique. (En ligne). Thèse de doctorat: Sciences de l'environnement. Oran: Université d'Oran, 217p. Disponible sur: [https://labos.univoran1.dz/gestion\\_laborechepagetdl.php?nummbr=994&sxee=F](https://labos.univoran1.dz/gestion_laborechepagetdl.php?nummbr=994&sxee=F) « Consulté le 14/11/2019 ».
17. **D**enohue D.C., 2004. Safety of novel probiotic bacteria.*In*: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 531-546. Disponible sur : <https://researchbank.rmit.edu.au/view/rmit:3614> « Consulté le 12/12/2019 ».

18. Dib H, Hajj Semaan E et all, (2012). Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. *Lebanese science journal*. (En ligne).vol 13(02), p 43 -57. Disponible sur : <http://lsj.cnrs.edu.lb/wp-content/uploads/2015/12/hajj-d.pdf> . « Consulté le 03/03/2020 ».
19. Doores S. The genus *Sporolactobacillus*. in : Wilhelm H, Holzapfel Brian J.B. Wood , lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomie. (En ligne). wily- Back well, 2014, p 543-553.Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch30>. « Consulté le 10/02/2020 ».
20. **E**bel B, (2012). Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz. (En ligne). Thèse de doctorat : Discipline : Sciences de l'Alimentation - Spécialité : Microbiologie. Bourgogne : Université de Bourgogne – Agro Sup Dijon- Ecole Doctorale Environnement-Santé, 219 p. Disponible sur : [https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00967552/file/these\\_A\\_EBEL\\_Bruno\\_2012.pdf](https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00967552/file/these_A_EBEL_Bruno_2012.pdf) « consulté le : 22/12/2019 ».
21. **F**AO/OMS, (2001). Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes. *Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture - Organisation mondiale de la santé*. Cordoba, ARGENTINE. <http://www.fao.org/3/a-y6398f.pdf> « Consulté le 22/11/2019 ».
22. Fessard A, (2017). Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. (En ligne). Thèse de doctorat : Agroalimentaire, Biotechnologies alimentaires et Sciences des aliments. France : Université de La Réunion, p 181. Disponible sur [https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01974108/ document](https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01974108/document) « Consulté le 01/01/2020 ».

23. Fung W.Y, Lye H .S, Lim T. J, Kuan C. Y, Liong M. T., (2011). Roles of Probiotic on Gut Health. In Probiotics. (En ligne) : Springer Berlin Heidelberg, 139-165. disponible sur : [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-20838-6\\_6](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-20838-6_6). « Consulter le 22/11/2019 ».
24. **G**uetarni H, (2018). Les probiotiques et leur métabolites : une alternative de traitement des pathologies gastro intestinales. SAGREN. (En ligne). vol 02 (2), p 11-22. Disponible sur : [http://www.univ-km.dz/LABORATOIRES/PRAVDURN/images/Revue\\_SAGREN/Vol-02-NO-02-juillet-2018/6-Article\\_2.pdf](http://www.univ-km.dz/LABORATOIRES/PRAVDURN/images/Revue_SAGREN/Vol-02-NO-02-juillet-2018/6-Article_2.pdf). « Consulté le 01/06/2020 ».
25. **H**adef, S, (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. (En ligne). Mémoire de magister: Microbiologie appliquée. Ouargla: Université Kasdi Merbah, 135p. Disponible sur : [https://nanopdf.com/download/evaluation-des-aptitudes-technologiques-et-probiotiques-des\\_pdf](https://nanopdf.com/download/evaluation-des-aptitudes-technologiques-et-probiotiques-des_pdf) « Consulté le 2/1/2020 ».
26. Hamedi A.R., (2009). Etude de potentiel probiotique et technologique des lactobacilles isolés du lait cru de la chamelle. (En ligne). Mémoire de magister : microbiologie appliquée. Oran : université d'Oran, 100 p. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH2981.pdf>. « Consulté le 22/12/2019 ».
27. Hassaine O, (2013). Caractéristique d'intérêts technologique des souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. (En ligne). Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. oran –Algérie : université d'Esenia, p 104. Disponible sur : <http://e-biblio.univmosta.dz/bitstream/handle/123456789/2790/M%C3%A9moire%20finale.pdf?sequence=1&isAllowed=y> « Consulté le 25/01/2020 ».
28. Hervé A, Cosette G et al. Les bactéries lactiques en œnologie. (En ligne). Lavoisier 2008. Paris 172 p. Disponible sur : [www.ebooks.dz](http://www.ebooks.dz). « Consulté le 20/01/2020 ».

29. **I**zquierdo Alegre E, (2009). Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. (En ligne). Thèse de doctorat : Chimie Analytique. Institut pluridisciplinaire Hubert Curie, université de Strasbourg, 215p. Disponible sur : <https://www.theses.fr/2009STRA6034> « Consulté le 4/2/2020 ».
30. **K**enneth T, (2011). Lactic Acid Bacteria. Online textbook of bacteriologie. (En ligne). Disponible sur : [http://textbookofbacteriology.net/lactics\\_1.html](http://textbookofbacteriology.net/lactics_1.html) . « Consulté le 22/12/2019 ».
31. Koning, C. J., Jonkers, D. M., Stobberingh, E. E., Mulder, L., Rombouts, F. M., Stockbrügger, R. W., (2008). The effect of a multispecies probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxicillin. *American Journal of Gastroenterology*. (En ligne). 103(1), 178-189. Disponible sur : [https://journals.lww.com/ajg/Fulltext/2008/01000/The\\_Effect\\_of\\_a\\_Multispecies\\_Probiotic\\_on\\_the.27.aspx](https://journals.lww.com/ajg/Fulltext/2008/01000/The_Effect_of_a_Multispecies_Probiotic_on_the.27.aspx). « Consulté le 21/02/2020 ».
32. Kouakou P, Philippe Th, (2011). Action des cultures protectrices : cas des germes lactiques sur la flore alimentaire indésirable, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, (En ligne). vol 15 (2), p 339-348. Disponible sur : <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=17042&file=1&pid=7589> « Consulté le 19/01/2020 ».
33. **L**ardeur D, (2018). L'intérêt de l'utilisation des probiotiques dans certaines affections de la petite enfance. (En ligne). Thèse de doctorat : pharmacie. Lille : université de Lille, 82p. Disponible sur : <http://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/94dcff55-e97e-4bf7-8b71-eef199f559d7> « Consulté le 8/2/2020 ».
34. Lemetais G, (2012). Sélection et intégration d'une souche probiotique Fonctionnelle dans une matrice sèche. (En ligne). Thèse de doctorat : Sciences des Aliments-Option : Génie des Procédés. Dijon, Bourgogne : Université de Bourgogne, 193p. Disponible sur : [https://tel.archivesouvertes.fr/tel00993268/file/these\\_A\\_LEMETAIS\\_Guillaume\\_2012.pdf](https://tel.archivesouvertes.fr/tel00993268/file/these_A_LEMETAIS_Guillaume_2012.pdf). « Consulté le : 25/01/2020 ».

35. Léonard L, (2013). Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. (En ligne). Thèse de doctorat : Sciences de l'Alimentation. la France : Université de Bourgogne, p 229. disponible sur : [https://tel.archivesouvertes.fr/tel01228979/file/these\\_A\\_LEONARD\\_Lucie\\_2013.pdf](https://tel.archivesouvertes.fr/tel01228979/file/these_A_LEONARD_Lucie_2013.pdf). « Consulté le 13/02/2020 ».
36. Lyra A, Lahtinen S, Ouwehand A .C, (2011). Gastrointestinal Benefits of Probiotics— Clinical Evidence. In Lactic Acid Bacteria. (En ligne) : Microbiological and Functional Aspects. Von Wright A (Ed.), 4th .CRC Press, 527-542. Disponible sur : <https://scholar.google.fr/citations?user=nItCEEMAAAJ&hl=fr&oi=sra> « Consulté le 02/02/2020 ».
37. **M**ahamedi A. E, (2015). Etude des qualités hygiénique, physico-chimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. (En ligne). Mémoire de magister : Microbiologie fondamentale et appliquée. Oran- Algérie : université d'Esenia, p89. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH4507.pdf>. « Consulté le 30/01/2020 ».
38. Mami A, (2013) .Recherche des bactéries lactiques productrices de bacteriocines à large spectre d'action vis à vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. (En ligne).thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Oran –Algérie : université d'Esenia, p 123. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/13201338t.pdf> . « Consulté le 15/02/2020 ».
39. Mechai A, (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques. (En ligne). Thèse de doctorat: Biochimie. Annaba: Université Badji-Mokhtar, 186 p. Disponible sur: <http://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2015/01/MECHAI-Abdelbasset.pdf> « Consulté le 11/12/2019 ».
40. Mermouri L, (2018).Étude de l'Effet de Souches Probiotiques de Bactéries Lactiques (Lactobacillus spp) Isolées de Produits Fermentés sur la Valeur Nutritive de Fourrages Conservés par Ensilage. (En ligne). Thèse de doctorat : Biotechnologie Végétale ; Production, Valorisation Végétale et Microbienne. Oran

–Algérie : université d’Esenia, p 144. Disponible sur : [http://www.univ-usto.dz/theses\\_en\\_ligne/index.php?lvl=categ\\_see&id=140](http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/index.php?lvl=categ_see&id=140). « Consulté le 15/02/2020 ».

41. Millette M, (2007). Etude des bactéries lactiques à potentiel probiotique et de leurs métabolites. (En ligne). Thèse de doctorat : Biotechnologie .laval-canada : institut armand-Frappier, p 205. Disponible sur : [http://espace.inrs.ca/id/eprint/253/1/Millette%2C\\_Mathieu-combin%C3%A9.pdf](http://espace.inrs.ca/id/eprint/253/1/Millette%2C_Mathieu-combin%C3%A9.pdf) . « Consulté le 10/01/2020».
42. Moroni O, (2007). Contribution à l’étude du rôle des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections entériques à *Lesteria monocytogenes* : analyse in vitro et étude in vivo des mécanismes d’action antimicrobien. (En ligne). Thèse présentée à la Faculté des études supérieures de l’Université Laval, 146p. Disponible sur : <https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/18622/1/24212.pdf> « Consulté le 2/24/2020 ».
43. **O**uwehand, A C, Kirjavainen P V, Shortt C, Salminen S, (1999). Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*. (En ligne). 9(1), 43-52. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694699000436> « Consulté le 16/11/2019 ».
44. **P**intado M.M, Gomes A M, Freitasb A. C., (2014). Probiotics and their therapeutic role. In: Probiotic Bacteria. (En ligne) : Fundamentals, Therapy, and Technological Aspects, 47p, e Silva J P S, Freitas A C. (Ed). CRC Press. Disponible sur : <https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=UekxAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA47&ots=n28qWyVmef&sig=eMDZFFbKwOhSYn3kGT7iEEnW3g0#v=onepage&q&f=false> « Consulté le 13/12/2019 ».

45. Pinto, M. G. V., Franz, C. M., Schillinger, U., et Holzapfel, W. H, (2006). Lactobacillus spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International journal of food microbiology*. (En ligne). 109(3), 205-214. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160506000821> « Consulté le 22/11/2019 ».
46. Piquepaille C, (2013). Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales. (En ligne). Thèse de Doctorat : Pharmacie. Limoges : universite de limoges, 183p. Disponible sur : <https://aurora.unilim.fr/theses/nxfile/default/ec5b9581-c073-4431-9bc8-bfe52ac4e6f2/blobholder:0/P20133354.pdf> « Consulté le 08/02/2020 ».
47. **R**ingo E , Van Doan H, et al, (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of applied Microbiology*. (En ligne ). Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/jam.14628> « Consulté le 01/06/2020 ».
48. **S**aito, T. (2004). Selection of useful probiotic lactic acid bacteria from the Lactobacillus acidophilus group and their applications to functional foods. *Animal Science Journal*. (En ligne). 75(1), 1-13. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2004.00148.x> « Consulté le 2/2/2020».
49. Samedi L, Albert Linton C, (2019) .Evaluation of Technological and Probiotic Abilities of Local Lactic Acid Bacteria. *Journal of Applied & Environnemental Microbiology*. (En ligne), Vol 7(1), p 9-19. Disponible sur : <http://pubs.sciepub.com/jaem/7/1/3/> « Consulté le 01/06/2020 »
50. Saoudi Z, (2012). Caractérisation microbiologique et de la protéolyse du fromage traditionnel Algerien Bouhéza de ferme. (En ligne). Mémoire de magister : Biotechnologie alimentaire. Constantine - Algérie : université Mentouri, p 74. Disponible sur : <https://bu.umc.edu.dz/theses/agronomie/SAO6147.pdf>. « Consulté le 15/02/2020 »

51. Somashekaraiah R, Shruthi B , et al, (2019). Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Neera: A Naturally Fermenting Coconut Palm Nectar. (En ligne). Disponible sur : <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01382> « Consulté le 30/05/2020 »
52. **T**ahlaiti H, (2019). Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté. (En ligne). Thèse de doctorat : Microbiologie. Mostaghanem –Algérie : université Ibn Badis, p 127. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/13521/these%20de%20doctorat111.pdf?sequence=1&isAllowed=y> « Consulté le 20/02/2020 ».
53. Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., et Swings, J, (2003). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International Journal of Food Microbiology*, (En ligne). 81(1), 1-10 Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502001629> « Consulté le 11/2/2020 ».
54. Touret T, Oliveira M , Smedo-Lemsaddek T , (2018 ) . Putative probiotic lactic acid bacteria isolated from sauerkraut fermentations .journal plos one . (En ligne). Disponible sur : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203501> « Consulté le 30/05/2020 ».
55. Trugnan G, (2003). Mécanismes d'action des probiotiques dans les défenses Anti-rotavirus. *Intes Homeo*. (En ligne), 1-5. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?q=Anti-rotavirus+defenses+induced+by+probiotics.+intes.+Homeo&hl=fr&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholar](https://scholar.google.com/scholar?q=Anti-rotavirus+defenses+induced+by+probiotics.+intes.+Homeo&hl=fr&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar) « Consulté le 21/12/2019 ».
56. Turpin W, (2011). Vers une évaluation des potentialités probiotique et nutritionnelle des bactéries lactiques constitutives du microbiote d'un aliment fermenté traditionnel à base de mil par une approche moléculaire. (En ligne). Thèse de doctorat : Biotechnologie, microbiologie. "Languedoc" France : université de Montpellier 2, 269 p.

Disponible sur : [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers12-11/010053955.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers12-11/010053955.pdf) « Consulté le 15/10/2019 ».

57. **V**aleur N., Engel P., Carbajal N., Connolly E., et Ladefoged, K, (2004). Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.*, (En ligne). 70(2), 1176-1181. Disponible sur : <https://aem.asm.org/content/70/2/1176.short> « Consulté le 2/2/2020 ».
58. Véronique M, Daniéte A et al, (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique, in : Corrieu G, Luquet F – M : bactéries lactique de la génétique aux ferments, Edition Lavoisier 2008, paris, p 271-499. Disponible sur : [www.ebooks.dz](http://www.ebooks.dz). « Consulté le 15/01/2020 ».
59. **Z**ielińska D., et Kolożyn-Krajewska, D, (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *BioMed research international*. (En ligne). vol 2018 ,15p. Disponible sur : <http://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2018/5063185.pdf> « Consulté le 30/5/2020 ».

# Annexes

## *Annexes:*

**Annex 1:** Composition des milieux de culture et tampon:

### **Milieu MRS Agar « Man-Rogosa-Sharp » (Conda®)**

Dextrose.....	20 g
Peptone bactériologique.....	10 g
Extrait de bœuf.....	8 g
Acétate de sodium.....	5 g
Extrait de levure.....	4 g
Phosphate Dipotase.....	2 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Tween 80.....	1 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Manganèse sulfate.....	0,25 g
Agar bactériologique.....	10 g

➤ Autoclavage 121°C, 12 min.

### **Milieu Mueller Hinton Agar (Conda®)**

Caséine acide peptone (H).....	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Infusion de bœuf.....	2 g
Gélose bactériologique.....	17 g

➤ Autoclavage 121°C, 12 min.

**PDA « Potato Dextrose Agar » :**

Dextrose.....	20 g
Extrait de pomme de terre.....	4 g
Gélose.....	15 g

**MRS « Man-Rogosa-Sharp » Bouillon (Conda®)**

Dextrose.....	20 g
Peptone bactériologique.....	10 g
Extrait de bœuf.....	8 g
Acétate de sodium.....	5 g
Extrait de levure.....	4 g
Phosphate Dipotase.....	2 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Tween 80.....	1 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Manganèse sulfate.....	0,25 g

➤ **Autoclavage 121°C, 15 min.**

**Bouillon nutritif (Conda®)**

Extrait de bœuf.....	1 g
Extrait de levure.....	2 g
Peptone.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g

⇒ pH 6,8 ± 0,2 à 25°C.

⇒ Autoclavage 121°C, 15 min.

### Tampon:

Pour préparer 1000 ml de PBS 1x:

Concentration et réactifs	Quantité
137 mM NaCl	<b>8,0 g/L</b>
27 mM KCl	<b>0,2 g/L</b>
10 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	<b>1,44 g/L</b>
1,76 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	<b>0,24 g/L</b>

Pour certains usages, on ajoute à ce tampon un sel de calcium (CaCl<sub>2</sub>) ou de magnésium (MgCl<sub>2</sub>).

### Annex 2: coloration de gram:

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de cristal*; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée.

On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée. À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la *fushine* (ou *safranine*) pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen et on l'examine à l'objectif (X100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge.