

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض  
Faculté Des Sciences de la Nature et de  
la Vie et des Sciences de la Terre

Département : Biologie



جامعة الجيلالي بونعامة – خميس مليانة

Université Djilali Bounaama  
Khemis Miliana

قسم : بيوجيا

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

### MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

### THEME

## Le pouvoir antioxydant et antibactérien des probiotiques

Réalisé par :

BEN HADJ M'HAMED Hadjer

TABOUNI Imane

Soutenu le 02/07/2024 devant le jury composé de :

<b>Présidente</b>	Mme GUETARNI H	Pr	U. Khemis Miliana
<b>Promotrice</b>	Mme ITATAHINE A	MAB	U. Khemis Miliana
<b>Co-promotrice</b>	Mme KOCHRANE R	MAB	U. Khemis Miliana
<b>Examinatrice</b>	Mme ABDELLI W	MCA	U. Khemis Miliana

Année universitaire : 2023/2024

# Remerciement

*Avant tout, on remercie Allah d'avoir nous donné la bonne santé, la volonté, le courage et la patience d'aller jusqu'au bout de nos études.*

{ اللهم لك الحمد حتى ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا }

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à Mme Itatahine Amina maître assistant B, pour avoir encadré et dirigé ce Travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permis de réaliser ce travail. Nous vous souhaitons un vivre reconnaissant et un profond respect.*

*Nous remercions aussi notre Co-encadrante Mme Kouchran rym pour ses conseils, ses orientations, sa bienveillance, sa confiance, son encadrement scientifique et humain et sa disponibilité qui nous a permis de mener à bien cette passionnante étude.*

*Notre remerciement à Pr Ghutarni qui a accepté de présider ce jury et à Dr. Abdelli qui nous a fait l'honneur d'être l'examinatrice de ce travail. Leurs remarques et leurs suggestions seront sans aucun doute très utiles pour ce travail. C'est un honneur et un immense plaisir de présenter ce Travail devant vous.*

*Nous exprimons notre gratitude, notre reconnaissance.*

*Nos remerciements sont aussi adressés à nos familles pour leur soutien financièrement et moralement ainsi qu'à tous nos amis et collègues. On tient aussi à exprimer nos sincères remerciements également à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réussite de ce travail.*

*A tous et à toutes, un grand merci et une reconnaissance infinie.*

*Merci.*

# *Dédicaces*

*Avant de commencer, je tiens d'abord à remercier le bon dieu pour M'accorder la patience et la sérénité pour la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce travail à mes très chers parents, que Dieu les garde pour moi. Ils m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs Encouragements, par leurs dévouements exemplaires et les énormes Sacrifices qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé Me voir réussir, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude et mes sentiments les Plus respectueux,*

*A mes sœurs : Raounak, ritadje , merieme*

*A mon frère : Abd el badie*

*A mon Binôme : Tabouni imane*

*A mes Amis : IMEN, et wafa , farah , oumaïma , rahile , fayza , et ingénieur derosan kenol , toute l'équipe Nutrition et Diététique humaine avec qui j'ai passé des moments inoubliables*

*A toutes les personnes qui m'ont fasciné par leur savoir, leur curiosité D'esprit et leur Influence.*

*Je dédie ce travail à tous ceux qui ont voulu et nous ont aidés à aller aussi Loin*

*Hadjer*

## *Dédicaces*

*Avant de commencer, je tiens d'abord à remercier le bon dieu pour M'accorder la patience et la sérénité pour la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce travail à mes très chers parents, que Dieu les garde pour moi. Ils m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs Encouragements, par leurs dévouements exemplaires et les énormes Sacrifices qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé Me voir réussir, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude et mes sentiments les Plus respectueux,*

*A mes sœurs : Rabia Naima et la femme de mon frère chahira*

*A mes frères : billal. Nour ellddine*

*A mon Binôme : Ben hadj m'hamed Hadjer*

*A mes Amis : wafaa et hadjer toute l'équipe Nutrition et Diététique humaine avec qui j'ai passé des moments inoubliables*

*A toutes les personnes qui m'ont fasciné par leur savoir, leur curiosité D'esprit et leur Influence.*

*Je dédie ce travail à tous ceux qui ont voulu et nous ont aidés à aller aussi Loin*

*Imane*

# Résumé

Les probiotiques sont des organismes vivants non pathogènes, généralement des bactéries, incorporés dans la nutrition et les compléments alimentaires comme moyen de prévention contre un certain nombre de maladies et de troubles gastro-intestinaux, et leur efficacité clinique a été démontrée dans un certain nombre d'études. Ils sont souvent utilisés pour traiter ou prévenir une série de maladies humaines.

L'objectif de cette étude, est d'évaluer le pouvoir antioxydant et antibactérien des bactéries lactiques isolé à partir du blé fermenté et de complément alimentaire.

L'identification des souches a été réalisée par la détermination des caractéristiques morphologiques et biochimiques, l'évaluation des propriétés probiotiques étaient réaliser par la détermination du taux de résistance aux pH acides et aux sels biliaires à 0.3 %. La capacité antioxydante de ces isolats a été appréciées par le biais du pouvoir de péage des radicaux de DPPH.

Pour évaluer l'activité antibactérienne des isolats lactiques contre les souches pathogènes, nous avons utilisés la méthode de diffusions sur gélose (méthode des puis), trois souches pathogènes ont étaient utilisé qui sont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Le test de sensibilité aux antibiotiques des isolats lactiques a été évaluées par la méthode de diffusion sur disques.

Au totale 6 Souches de bactéries lactiques ont été isolés et purifiées à partir du blé fermenté et 3 souches isolées de complément alimentaire, tous les isolats lactiques possèdent une excellente activité de piégeage du radical DPPH°, les taux variaient entre 55% à 97%. Trois isolats seulement ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis les souches pathogènes testés. Tous les isolats sont notés résistant vis-à-vis les antibiotiques appartenant à la famille des bêta lactamine.

**Mot clé :** Probiotiques, Blé fermenté, bactéries lactiques, activité antioxydante, activité antibactérienne

# *Abstract*

Probiotics are non-pathogenic living organisms, usually bacteria, incorporated into nutrition and dietary supplements as a means of prevention against a number of gastrointestinal diseases and disorders, and their clinical efficacy has been demonstrated in a number of studies. They are often used to treat or prevent a range of human diseases.

The aim of this study was to evaluate the antioxidant and antibacterial power of lactic acid bacteria isolated from fermented wheat and the dietary supplement.

The strains were identified by determining their morphological and biochemical characteristics, and their probiotic properties were assessed by determining their resistance to acid pH and 0.3% bile salts. The antioxidant capacity of these isolates was assessed by means of DPPH radical tolling capacity.

To assess the antibacterial activity of lactic isolates against pathogenic strains, we used the agar diffusion method. Three pathogenic strains were used: *Staphylococcus aureas*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia.coli*. Antibiotic susceptibility testing of lactic isolates was carried out using the disk diffusion method.

A total of 6 lactic acid bacterial strains were isolated and purified from fermented wheat and 3 from food supplements. All lactic acid isolates showed excellent DPPH° radical scavenging activity, with rates ranging from 55% to 97%. Only three isolates showed inhibitory activity against the pathogenic strains tested. All isolates were resistant to beta-lactam antibiotics.

**Key words:** Probiotics, fermented wheat, lactic acid bacteria, antioxidant activity, antibacterial activity

## ملخص

البروبيوتيك هي كائنات حية غير مسببة للأمراض، وعادةً ما تكون بكتيريا، يتم دمجها في التغذية والمكملات الغذائية كوسيلة للوقاية من عدد من أمراض واضطرابات الجهاز الهضمي، وقد تم إثبات فعاليتها السريرية في عدد من الدراسات. وغالباً ما تستخدم لعلاج مجموعة من الأمراض التي تصيب الإنسان أو الوقاية منها.

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لبكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من القمح المخمر والمكملات الغذائية.

تم التعرف على السلالات من خلال تحديد خصائصها المورفولوجية والكيميائية الحيوية، وتم تقييم خصائصها البروبيوتيكية من خلال تحديد مقاومتها للأس الهيدروجيني الحمضي و0.3% من أملاح الصفراء. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة لهذه العزلات عن طريق القدرة على إزالة DPPH الجذور.

لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للعزلات اللبنية ضد السلالات المسببة للأمراض، استخدمنا طريقة الانتشار الآجري. تم استخدام ثلاث سلالات مسببة للأمراض: المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية والإشريكية القولونية. تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للعزلات اللبنية باستخدام طريقة الانتشار القرصي.

تم عزل وتنقية ما مجموعه 6 سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك من القمح المخمر و3 سلالات معزولة من المكملات الغذائية. جميع معزولات حيث تراوحت نسبتها بين 55% و97%. أظهرت ثلاث عزلات فقط نشاطاً، DPPH حمض اللاكتيك كان لها نشاط ممتاز في مسح جذور

مثبطاً ضد السلالات المسببة للأمراض التي تم اختبارها. وُجد أن جميع العزلات مقاومة للمضادات الحيوية بينا لاكتام.

**الكلمة الرئيسية :** البروبيوتيك، القمح المخمر، بكتيريا اللاكتيك، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا

# *Table des matières*

Introduction.....	1
-------------------	---

## **Chapitre I : Les probiotiques**

I.1. Définition des probiotiques .....	2
I.2. Historique des probiotiques .....	2
I.3. Critères de sélection des probiotiques .....	3
I.3.1. Critères de sélection et exigences pour les souches probiotiques.....	3
I.3.2. Viabilité des probiotiques dans le tube digestif .....	5
I.3.3. Adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin .....	7
I.4. Composition de microbiote intestinale .....	9
I.5. Les probiotiques commercialisé .....	11
I.6. Les mécanismes d'action des probiotiques .....	12
I.7. Bénéfices et application des probiotique .....	14
I.7.1. Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé .....	14
I.7.2. Application des probiotiques .....	20

## **Chapitre II : Activités biologiques des probiotiques**

II.1. Le stress oxydatif .....	21
II.2. Les probiotiques et leurs rôles dans l'activité antioxydante .....	21
II.2.1. Le système antioxydant enzymatique et non enzymatique .....	23
II.2.1.1. Inhibiteurs enzymatiques .....	23
II.2.1.2. Inhibiteurs non enzymatiques .....	24
II.2.1.3. Capacité de chélation des ions métalliques.....	25
II.2.1.4. Métabolites antioxydants .....	25
II.3. Les probiotiques et leurs effets antimicrobiens.....	26

## **Matériels et Méthodes**

1. Objectif .....	28
2. Lieu et la durée de l'étude .....	28
3. Le complément alimentaire .....	28
4. Echantillon du blé fermenté.....	28
4.1. Origine du blé.....	28
4.2. Etapes et conditions de fermentation .....	28
5. Les milieux de cultures.....	29
6. Méthode expérimentale .....	29
6.1. Enrichissement, isolement et purification des isolats.....	29
6.2. Conservation des isolats .....	30
6.3. Identification des isolats lactiques.....	30
6.3.1. Observation macroscopique et microscopique des isolats.....	30
6.3.2. Caractérisation biochimique des isolats lactiques .....	31
6.4. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques .....	32
6.4.1. Résistance aux pH gastrique .....	32
6.4.2. Résistance au sels biliaires.....	33
6.5. Evaluation de l'activité antioxydante .....	33
6.5.1. Préparation de la culture cellulaire .....	33
6.5.2. Détermination de l'effet piègeur des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)..	33
6.6. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	34
6.7. Test de sensibilité aux antibiotiques.....	34
6.8. Analyses statistiques .....	35

## **Résultats et Discussions**

1. Aspect macroscopique des isolats .....	36
2. Aspect microscopique des souches isolées.....	36

3. Caractérisation biochimique des souches isolées .....	37
3.1. Catalase .....	37
3.2. Oxydase.....	38
3.3. Le système Api20 <sup>E</sup> .....	38
4. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques.....	39
4.1. La résistance aux sel biliaire .....	39
4.2. Le taux de survie aux différents pH .....	40
5. Evaluation de l'activité antioxydante .....	42
6. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	43
7. Test de sensibilité aux antibiotiques .....	45
Conclusion .....	47
Références bibliographiques .....	50
Annexes .....	60

## *Liste des abréviations*

**SOD** :superoxyde dismutase.

**ERO** : espèce reactive oxygène .

**Abs**: Absorbance

**°C**: Degree

**LAB**: Lactic acid bacteria

**MI**: Milliliter.

**MRS**: Milieu de terrain Rogosa Sharpe

**MI**: microliter

**Na Cl**: Sodium chloride

**Nm**: Nanometer.

**PBS**: Solution saline tamponnée au phosphate

**PI %**: pourcentage inhibition .

**pH**: Potentiel hydrogène

**DPPH**: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**LAB** : Bactéries lactiques.

**DO**: Densité Optique.

**NADH** : nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) + hydrogen (H)

**DPPH**: 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau01.</b> Critères des Probiotiques . . . . .	4
<b>Tableau02.</b> Principales espèces microbiennes commercialisées comme probiotiques . . . . .	12
<b>Tableau03.</b> Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotique . . . . .	16
<b>Tableau04.</b> - activité antibactérienne des isolats contre les agents pathogènes . . . . .	44
<b>Tableau05.</b> - Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques . . . . .	46
<b>Tableau06.</b> - Caractères macroscopiques et microscopiques des isolats . . . . .	Annex n°05
<b>Tableau07.</b> - Caractérisation biochimique des isolats lactiques . . . . .	Annex n°06

## *Liste des figures*

<b>Figure 01.-</b> Divers facteurs affectent la viabilité des probiotiques pendant le transit gastro-intestinal, notamment l'acide gastrique, les enzymes digestives, les acides biliaires dans le tractus gastro-intestinal supérieur et la résistance à la colonisation causée par les bactéries commensales dans le côlon gastro-intestinal supérieur et la résistance à la colonisation causée par les bactéries commensales dans le côlon.....	5
<b>Figure02.-</b> Mécanismes d'adhésion aux cellules épithéliales .....	8
<b>Figure 03.-</b> Différences entre le microbiote de l'intestin grêle et celui du gros intestin.....	10
<b>Figure 04.-</b> Mécanismes des interactions entre le microbiote et les probiotiques chez l'hôte.....	13
<b>Figure 05.-</b> Attributs prospectifs des probiotiques en matière de santé.....	15
<b>Figure 06.-</b> Modulation de l'activité antioxydante par les probiotiques.....	22
<b>Figure 07.-</b> Diagramme en secteur représente le taux de différents aspects macroscopique .....	36
<b>Figure 08.-</b> Aspects macroscopique des souches isolées sur milieu solide. A souche L3 aspect lisse, B souche L10 aspect rugueux. (Photos originaux) .....	36
<b>Figure 09.-</b> Diagramme en secteur représente les formes cellulaires des souches isolées.....	37
<b>Figure 10.-</b> Observation au microscope photonique et à l'immersion (10x100) des formes cellulaires des souches lactiques. Les souches L10 et L9 isolées sur gélose MRS et les souches L14 et L13 isolées sur gélose M17. (Photos originaux) .....	37
<b>Figure 11.-</b> Représentation graphique de l'utilisation des sucres par les isolats lactiques.....	39
<b>Figure 12.-</b> Représentation graphique des taux de résistance des bactéries aux sels biliaire.....	40
<b>Figure 13.-</b> Taux de survie des bactéries isolées sur des milieux à différents pH.....	41
<b>Figure 14.-</b> La capacité des isolats lactiques à piéger les radicaux libres de DPPH.....	42
<b>Figure 15.-</b> Activité antibactérienne des isolats lactiques contre les différents agents pathogènes .....	42

# Introduction

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui confèrent des bienfaits pour la santé aux hôtes. Ils comprennent notamment certaines espèces de bactéries lactiques (Lallali et al., 2018).

Ces souches de probiotiques, introduites dans l'alimentation sous forme de produits laitiers fermentés ou de suppléments alimentaires (dans les produits non-fermentés), peuvent s'implanter dans le tube digestif. Elles sont capables d'interagir avec la flore intestinale, les cellules épithéliales intestinales, ainsi que dans une moindre mesure avec les cellules immunitaires (Bechachha et al., 2020).

Les probiotiques sont souvent décrits comme ayant de nombreux effets bénéfiques potentiels sur la santé de l'hôte, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour confirmer scientifiquement ces affirmations (Villeger, 2014).

Le blé (*Triticum sp*) est la céréale la plus largement cultivée à l'échelle mondiale, et ses produits revêtent une importance capitale dans l'alimentation humaine en fournissant environ un tiers des besoins quotidiens en protéines et en énergie pour un adulte (environ 2400 kcal) (Alfonso et al., 2013). La fermentation est une méthode traditionnelle et largement adoptée dans la consommation et la transformation économique des matières alimentaires. Parmi les microorganismes associés au blé fermenté (Gourchala et al., 2014), les bactéries lactiques jouent un rôle crucial dans la fermentation des matières premières d'origine animale et végétale. Ces bactéries sont omniprésentes dans la nature et largement utilisées dans l'industrie alimentaire. Elles occupent une place essentielle dans la préparation, la conservation et la transformation de nombreux aliments fermentés. De plus, elles jouent un rôle important dans la production de fromages et autres produits laitiers fermentés (Stiles et Holzapfel, 1997 ; Ali, 2010).

Notre travail consiste à évaluer quelques effets probiotiques de bactéries lactiques isolées à partir du blé fermenté et comparer à celle des souches isolées à partir d'un complément alimentaire, ainsi d'apprécier leurs effets bénéfiques en évaluant leurs pouvoir antioxydant et antibactérien pour envisager leur utilisation dans le domaine biotechnologique (conservation des aliments, souches starters...) ou dans les stratégies nutritionnelles préventives vis-à-vis des maladies chroniques à stress oxydatif.

Cette étude est structurée en trois parties initiées par une revue bibliographique qui a trait aux généralités sur les probiotiques et leurs activités biologiques. La seconde partie traite de la méthodologie liée à l'isolement et à l'évaluation des propriétés probiotiques des isolats lactiques. Quant à la troisième partie, les résultats obtenus sont exposés et discutés

**PREMIERE PARTIE**

**SYNTHESE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE 1

## LES PROBIOTIQUES

### I.1. Définition des probiotiques

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Cette définition des probiotiques est également adoptée par l'Association scientifique internationale pour les probiotiques et les prébiotiques (ISAPP) (Fijan, 2014)

Selon (Gasbarrini & Bonvicini, 2016), Les probiotiques sont des microbes vivants qui peuvent être intégrés dans différents types de produits, y compris les aliments, les médicaments et les suppléments alimentaires. Les probiotiques sont constitués de diverses espèces. Les bactéries les plus fréquemment utilisées sont les *Lactobacillus* (Bacille anaérobie, retrouvée dans la flore buccale, habituellement flore de transit dans l'intestin) et les *Bifidobacterium* (Bacille anaérobie). Parmi les levures, c'est le *Saccharomyces boulardii* (champignon unicellulaire, non présent dans la flore intestinale humaine résistant naturellement aux antibiotiques) qui est le plus utilisé (Guillemin, 2019).

### I.2. Historique des probiotiques

Elie Metchnikoff, est connu comme le père de l'immunité innée. Ses recommandations ont permis de développer le premier probiotique au monde sous formes de comprimé de *lactobacilline*. Son travail a également démontré au début au XXe siècle, la consommation régulière de bactéries lactiques dans les produits laitiers fermentés était associée à une meilleure santé et à une meilleure longévité des populations paysannes bulgares. Les scientifiques seront encouragés à poursuivre leurs recherches sur la microbiologie des processus humains. (Leem & Martirosyan, 2019).

Le terme "probiotique" a été utilisé pour la première fois en 1965 par Lilly et Stillwell pour décrire les substances sécrétées par un organisme qui stimulent la croissance d'un autre organisme (Gupta & Garg, 2009). Par ailleurs, le concept de probiotiques peut être retracé jusqu'au 20ème siècle et a été pionnier par le lauréat du prix Nobel russe, Elie Metchnikoff, qui a découvert plusieurs souches bactériennes chez les humains qui étaient bénéfiques et participaient aux activités physiologiques de l'hôte (Ha et al., 2023).

La première utilisation du terme "probiotique" remonte à 1953 et est attribuée au médecin allemand Werner Kollath, un théoricien des bienfaits des aliments non transformés. À l'époque, le terme désignait les substances actives qui étaient essentielles pour un développement sain.

Un an plus tard, Ferdinand Vergin a donné un contexte au concept de probiotique par rapport aux antibiotiques, affirmant que "une alimentation riche en probiotiques permet de restaurer le déséquilibre microbien provoqué par les antibiotiques. En 1965, deux vétérinaires ont proposé une définition plus générale des probiotiques.

Ils ont utilisé le terme "probiotic" dans le titre d'un article publié dans Science : "**Probiotics : growth-promoting factors produced by microorganisms**". Ils ont expliqué que les probiotiques sont des substances sécrétées par un organisme capable de stimuler la croissance d'un autre organisme (Lilly DM & Stillwell RH, 1965).

Par la suite, en 1989, Fuller a donné une autre définition des probiotiques : "microbe vivant utilisé dans la supplémentation alimentaire animale apportant un bénéfice à l'hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal" (Hauguel & Hauguel, 2021)

L'OMS tranche finalement en 2001 en donnant la définition actuelle d'un probiotique « micro-organismes vivants qui, lorsque administrés en quantité adéquate, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte » (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture/Organisation Mondiale de la Santé, 2001)(Hauguel & Hauguel, 2021).

### **I.3. Critères de sélection des probiotiques**

#### **I.3.1. Critères de sélection et exigences pour les souches probiotiques**

Selon les suggestions de l'OMS, de la FAO et de l'EFSA (l'Autorité européenne de sécurité des aliments), dans leur processus de sélection, les souches probiotiques doivent répondre à la fois à des critères de sécurité et de fonctionnalité, ainsi qu'à ceux liés à leur utilité technologique.

Les caractéristiques probiotiques ne sont pas associées au genre ou à l'espèce d'un micro-organisme, mais à quelques souches spécialement sélectionnées d'une espèce particulière. La sécurité d'une souche est définie

par son origine, l'absence d'association avec des cultures pathogènes et le profil de résistance aux antibiotiques (Markowiak&Ślizewska, 2017).

Ils poursuivent en disant que, les aspects fonctionnels définissent leur survie dans le tractus gastro-intestinal et leur effet immunomodulateur. (Tableau 1).

**Tableau 1.-** Critères des Probiotiques selon Markowiak&Ślizewska, 2017

Les critères	Propriétés requises
Sécurité	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Origine humaine ou animale.</li> <li>- Isolé du tractus gastro-intestinal de sujets sains.</li> <li>- Historique d'utilisation sûre.</li> <li>- Identification diagnostique précise (traits phénotypiques et génotypiques).</li> <li>- Absence de données concernant une association avec une maladie infectieuse.</li> <li>- Absence de capacité à cliver les sels biliaires.</li> <li>- Aucun effet indésirable.</li> <li>- Absence de gènes responsables de la résistance aux antibiotiques localisés dans des éléments non stables.</li> </ul>
Fonctionnalité	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Compétitivité par rapport aumicrobiote habitant l'écosystème intestinal.</li> <li>- Capacité à survivre, maintenir l'activité métabolique et croître dans le site cible.</li> <li>- Résistance aux sels biliaires et aux enzymes.</li> <li>- Résistance au faible pH dans l'estomac.</li> <li>- Compétitivité par rapport aux espèces microbiennes habitant l'écosystème intestinal (y compris les espèces étroitement apparentées).</li> <li>- Activité antagoniste envers les agents pathogènes (par exemple, <i>H. pylori</i>, <i>Salmonella sp.</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Clostridium difficile</i>).</li> <li>- Résistance aux bactériocines et aux acides produits par le microbiote intestinal endogène.</li> <li>- Adhérence et capacité à coloniser certains sites particuliers à l'intérieur de l'organisme hôte, et un taux de survie approprié dans le système gastro-intestinal.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Facilité de production de grandes quantités de biomasse et haute productivité des cultures.</li> <li>- Viabilité et stabilité des propriétés désirées des bactéries probiotiques pendant le processus de fixation (congélation, lyophilisation), la préparation et la distribution des produits probiotiques.</li> </ul>

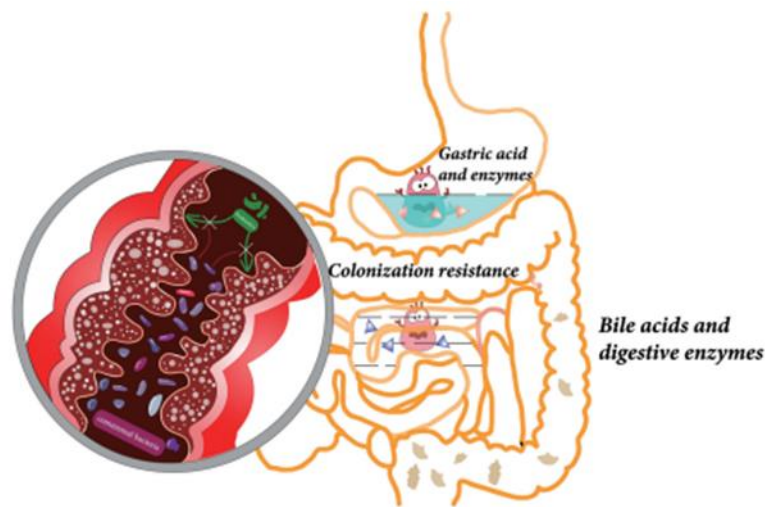
Utilisabilité technologique	<ul style="list-style-type: none"><li>- Taux de survie élevé lors du stockage dans les produits finis (dans des conditions aérobies et micro-aérophiles).</li><li>- Garantie des propriétés sensorielles souhaitées des produits finis (dans le cas de l'industrie alimentaire).</li><li>- Stabilité génétique.</li><li>- Résistance aux bactériophages.</li></ul>
-----------------------------	--

### I.3.2. Viabilité des probiotiques dans le tube digestif

Les probiotiques ont été définis comme « des micro-organismes vivants qui, administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (OMS, 2001). Cette définition implique que la viabilité est un facteur important et que le probiotique doit atteindre son site cible vivant et en nombre significatif afin de lui conférer des propriétés bénéfiques.

L'administration orale de probiotiques présente un large éventail d'applications et offre une méthode pratique et sécurisée. Cependant, la viabilité des probiotiques administrés par voie orale est fortement compromise par des conditions difficiles, telles que l'acide gastrique, les sels biliaires et les enzymes de dégradation, avant qu'ils n'atteignent leur site fonctionnel dans le tractus gastro-intestinal (Yao et al., 2020). De plus, les probiotiques viables qui parviennent au côlon doivent également réussir à coloniser la muqueuse intestinale, en concurrence avec les bactéries indigènes.

Après administration orale, les probiotiques passent par le tube digestif, de la bouche à l'estomac, l'intestin grêle et le côlon. Dans cette section, une série de facteurs physicochimiques (Figure1), qui peuvent avoir un impact sur la viabilité des probiotiques (Han et al., 2021).



**Figure 1.-** Divers facteurs affectent la viabilité des probiotiques pendant le transit gastro-intestinal, notamment l'acide gastrique, les enzymes digestives, les acides biliaires dans le tractus gastro-intestinal supérieur et la résistance à la colonisation causée par les bactéries commensales dans le côlon gastro-intestinal supérieur et la résistance à la colonisation causée par les bactéries commensales dans le côlon (Han et al., 2021).

### ➤ La bouche

Lorsque les probiotiques sont ingérés, ils sont d'abord exposés à la salive. La salive est une sécrétion exocrine claire et légèrement acide, composée de composants immunologiques et non immunologiques qui protègent les dents et les surfaces muqueuses (Humphrey et Williamson, 2001).

Le contenu immunologique de la salive comprend l'immunoglobuline A (IgA), l'immunoglobuline G (IgG) et l'immunoglobuline M (IgM) sécrétées. Les composants non immunologiques incluent des protéines, des mucines, des peptides et des enzymes. La salive exerce également un effet antibactérien (Han et al., 2021). Étant donné que le transit des probiotiques dans la cavité buccale et leur exposition à la salive sont temporaires après une administration orale, l'impact de la salive sur les taux de survie des probiotiques apparaît négligeable (Han et al., 2021).

### ➤ L'estomac

Après avoir traversé l'œsophage, les probiotiques atteignent l'estomac où ils sont exposés au liquide gastrique acide. Cet environnement acide est extrêmement létal pour la majorité des bactéries, en particulier

celles qui ne sont pas résistantes à l'acidité. Cette exposition peut entraîner une réduction du pH cytoplasmique des bactéries (Han et al., 2021).

Les bactéries probiotiques traversent rapidement l'œsophage en environ 10 à 14 secondes et atteignent l'estomac, où elles sont exposées à la forte acidité des sucs gastriques, principalement constitués d'acide chlorhydrique et de pepsine (Hammon, 2011). La survie des bactéries dans ce milieu dépend de leur capacité à tolérer un pH bas (Benmeziane et Bennai, 2016).

### ➤ L'intestin grêle

Après avoir traversé le pylore, les bactéries probiotiques pénètrent dans l'intestin grêle, où elles rencontrent le suc pancréatique et la bile en abondance. Sous l'effet neutralisant du liquide intestinal, le pH de l'intestin grêle est d'environ 6,0-7,0, ce qui est beaucoup moins acide que le liquide gastrique (Cook et al., 2012).

### ➤ Le côlon

Le côlon présente la plus grande densité bactérienne, avec  $10^{11}$  à  $10^{12}$  UFC/ml. Dans cet organe, les probiotiques rencontreront une forte résistance à la colonisation de la part des bactéries commensales (O'Hara and Shanahan, 2006 ; Zmora et al., 2018). En raison de la résistance à la colonisation, la plupart des probiotiques sont éliminés du côlon avec les selles peu de temps après l'administration orale et l'arrêt de leur consommation, rendant leur détection impossible (Sierra et al., 2010 ; Wang et al., 2015). Les mécanismes responsables de cette résistance à la colonisation sont détaillés dans la section ci-dessous.

### I.3.3. Adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin

Selon (Shokryazdan *et al.*, 2017), la capacité à adhérer aux cellules épithéliales intestinales est un autre facteur important pour la colonisation des souches probiotiques, en fait, elle est généralement considérée comme un facteur préalable à la colonisation. Par conséquent, c'est l'un des principaux critères de sélection d'un microorganisme probiotique. La colonisation du microbiote intestinal chez l'homme commence à la naissance et se poursuit tout au long de la vie. Cependant, le microbiote intestinal peut subir des changements au cours de la vie de l'hôte et les probiotiques pourraient influencer cela.

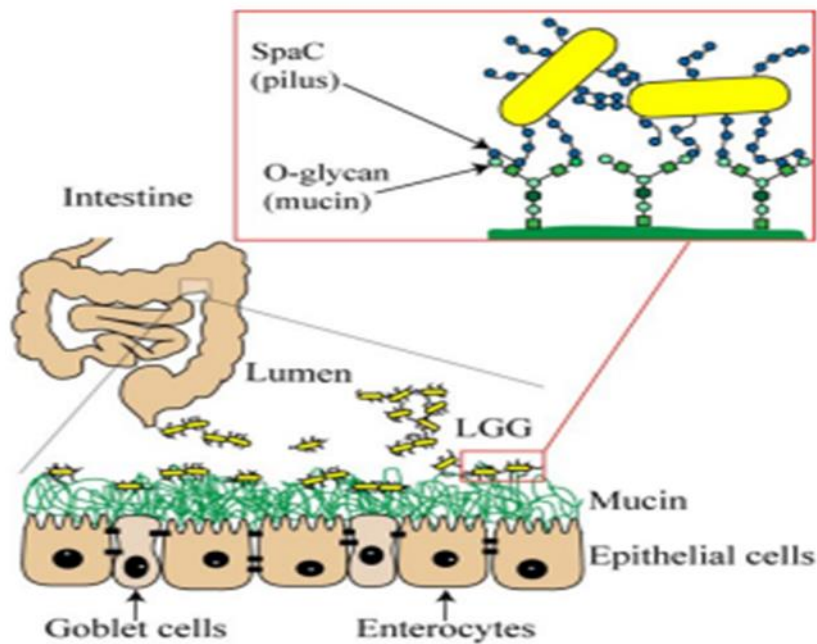
Il existe également d'autres avantages à sélectionner des souches probiotiques adhésives. Par exemple, il a été suggéré que l'adhérence peut être importante pour le traitement de la diarrhée à rotavirus. Une thérapie de réhydratation orale combinée à différentes souches de lactobacilles probiotiques a été utilisée pour traiter la diarrhée à rotavirus. Les résultats ont montré que la durée de la diarrhée était significativement raccourcie avec une souche bactérienne adhésive, mais pas avec des souches non adhésives. L'adhésion des souches peut également être importante pour la stimulation du système immunitaire car il existe une corrélation entre la capacité à adhérer à la muqueuse intestinale et la quantité d'anticorps dans le sérum des volontaires recevant des probiotiques (Shokryazdan *et al.*, 2017).

Cette section explore l'importance de l'adhésion des probiotiques aux cellules épithéliales intestinales pour leur efficacité. Les probiotiques doivent pouvoir adhérer à la muqueuse gastro-intestinale pour persister dans le tractus digestif et exercer leurs effets bénéfiques, notamment en empêchant les pathogènes de se fixer (Collado *et al.*, 2007).

Les mécanismes d'adhésion impliquent diverses structures à la surface des bactéries, notamment les adhésines comme les acides lipotéichoïques et les protéines de surface telles que les protéines de liaison à la fibronectine (Wang *et ses collègues* 2017).

La couche de surface S des bactéries, un réseau cristallin de sous-unités auto-assemblées, est crucial car il est parmi les premiers composants bactériens à se fixer à la surface gastro-intestinale (Monteagudo-Mera *et al.*, 2019 ; Clara *et al.*, 2011). Des études ont montré que la perte de cette couche de surface diminue l'adhésion aux cellules cibles (Monteagudo-Mera *et al.*, 2019).

L'auto-agrégation et l'hydrophobicité sont également utilisées comme mesures directement liées à l'adhésion aux cellules intestinales (Wang *et al.*, 2017) de plus, la capacité de co-agrégation avec des pathogènes potentiels peut être utilisée pour la sélection préliminaire des bactéries probiotiques (Iñiguez-Palomares *et al.*, 2007). Ces mécanismes et tests sont cruciaux pour évaluer l'efficacité des probiotiques dans leur capacité à adhérer aux cellules épithéliales intestinales et à exercer leurs effets bénéfiques (Vlková *et al.*, 2008).



**Figure2.-** Mécanismes d'adhésion aux cellules épithéliales (Eshrati et al., 2018).

#### I.4. Composition de microbiote intestinale

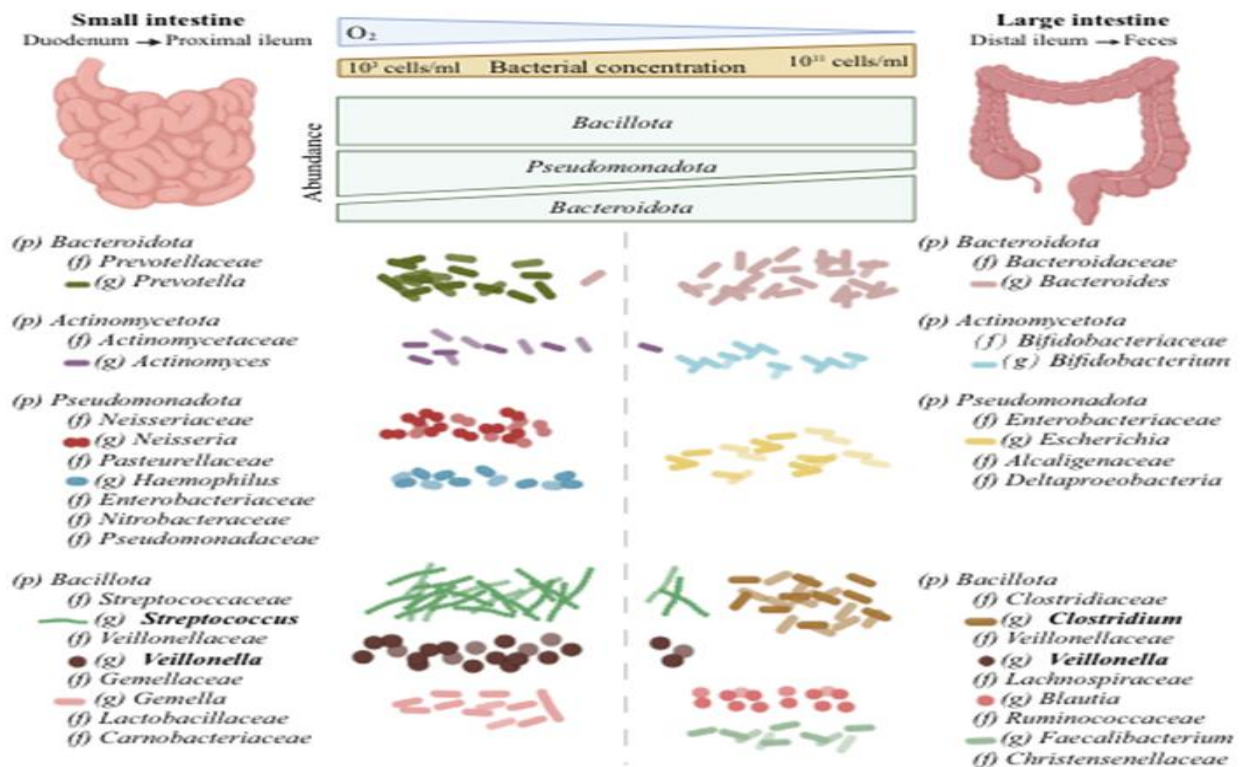
Le microbiote intestinal, un écosystème complexe, est principalement composé de quatre embranchements bactériens : Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria et Proteobacteria. Son rôle crucial dans la régulation de la santé et de la maladie de l'hôte a été largement documenté au cours des dernières décennies à travers une abondance de publications scientifiques. Ce microbiote exerce une influence significative sur divers processus physiologiques, notamment la synthèse des vitamines. (Bolsega S et al., 2019).

Chez les adultes en bonne santé, le microbiote intestinal atteint des populations de plus de  $10^{13}$  micro-organismes et est considéré comme un « organe » adapté à notre physiologie. Il remplit d'importantes fonctions métaboliques et immunologiques, et son développement pendant l'enfance est crucial. Le lait maternel est reconnu comme la source postnatale la plus importante de bactéries commensales pour coloniser l'intestin des nourrissons (Chavoya-Guardado et al., 2022).

Les différences dans la communauté microbienne entre l'intestin grêle et le gros intestin sont significatifs. La plupart des études se concentrent sur l'analyse des échantillons de matières fécales, considérant souvent ces dernières comme représentatives de l'ensemble du tractus intestinal inférieur. Cependant, cette approche pose

## Synthèse Bibliographique

des problèmes notables, car les facteurs biotiques et abiotiques, et par conséquent les écosystèmes, varient tout au long du tractus intestinal gastro-intestinal (TIG). Ainsi, il n'est pas surprenant que la composition de la communauté microbienne varie de manière significative le long du tube digestif, en particulier entre le duodénum et les matières fécales (Yersin & Vonaesch, 2024). (Figure 3)



**Figure 3.-** Différences entre le microbiote de l'intestin grêle et celui du gros intestin (Yersin & Vonaesch, 2024)

La figure résume la distribution des trois principaux phylums le long du tractus gastro-intestinal. (Yersin & Vonaesch, 2024). Des trois principaux phyla le long du tractus gastro-intestinal (GIT). Les Bacillota reste très abondant le long du tractus intestinal, l'abondance de Pseudomonadota est plus importante que celle de Bacillota. L'abondance des Pseudomonadota diminue et celle des Bacteroidota augmente de l'intestin grêle au gros intestin. Les deux colonnes décrivent les différentes familles et genres bactériens dont l'abondance et la prévalence sont plus élevées soit dans l'intestin grêle, soit dans le gros intestin. Dans l'intestin grêle ou dans le gros intestin. Bien que les mêmes phyla soient présents dans les deux sites, la composition du microbiote

au sein de chaque phylum change entre la partie supérieure et la partie inférieure du tractus intestinal. Abréviations : f, famille ; g, genre ; p, phylum. (Yersin & Vonaesch, 2024)

### I.5. Les probiotiques commercialisés

Actuellement, le marché des probiotiques est en plein essor, avec un chiffre d'affaires de 222 millions d'euros en 2019 et une croissance de 3,1% selon Pharmatren d Pharmaone. Cette expansion est due à la prise de conscience croissante par la population des bienfaits des bactéries pour traiter certaines pathologies. L'augmentation de l'utilisation de médecines alternatives telles que les médecines douces, la phytothérapie et l'aromathérapie contribue également à cette croissance. Les probiotiques ont commencé à apparaître sur le marché officinal à partir des années 2010, principalement sous forme de compléments alimentaires, disponibles dans les rayons spécialisés (Hauguel & Hauguel, 2021).

Les LAB (*Lactobacilles* et *Bifidobacterium*) comprennent une large gamme de genres, y compris un nombre considérable d'espèces souvent retrouvées dans les préparations commerciales de probiotiques, mais des bacilles formant des spores ou des *Bifidobacterium* peuvent également être utilisés. Le groupe de travail de l'ILSI (Institut International des Sciences de la Vie), Europe, a défini un probiotique comme "un complément alimentaire microbien viable qui a un impact positif sur la santé de l'hôte" (Ahire, 2013).

La présence de probiotiques dans les produits alimentaires commerciaux a été très bien acceptée et est connue pour ses nombreux bienfaits pour la santé. Dans cette direction, les industries du monde entier se concentrent sur les applications des probiotiques dans les produits alimentaires ainsi que sur la construction d'une nouvelle ère des aliments. Les LAB (*Lactobacilles* et *Bifidobacterium*) comprennent une large gamme de genres, y compris un nombre considérable d'espèces souvent retrouvées dans les préparations commerciales de probiotiques, mais des bacilles formant des spores ou des *Bifidobacterium* peuvent également être utilisés (Ahire, 2013).

Cependant, aucune investigation systématique n'a encore été menée pour évaluer la variabilité de la température pendant la commercialisation des fromages frais et probiotiques, influencée par le type d'exposition réfrigérée utilisé (sans portes ou avec portes en verre), et selon la position de l'échantillon de fromage dans l'exposition. (Mishra et al., 2015).

Les probiotiques doivent également avoir des effets pro-santé documentés cohérents avec les caractéristiques de la souche présente dans un produit commercialisé. Le type de support/matrice est important, car il peut réduire la viabilité d'une souche particulière, modifiant ainsi les propriétés d'un produit. Les souches probiotiques doivent répondre aux exigences liées à la technologie de leur production, ce qui signifie qu'elles doivent être capables de survivre et de maintenir leurs propriétés tout au long des processus de stockage et de distribution. (Markowiak&Ślizewska, 2017).

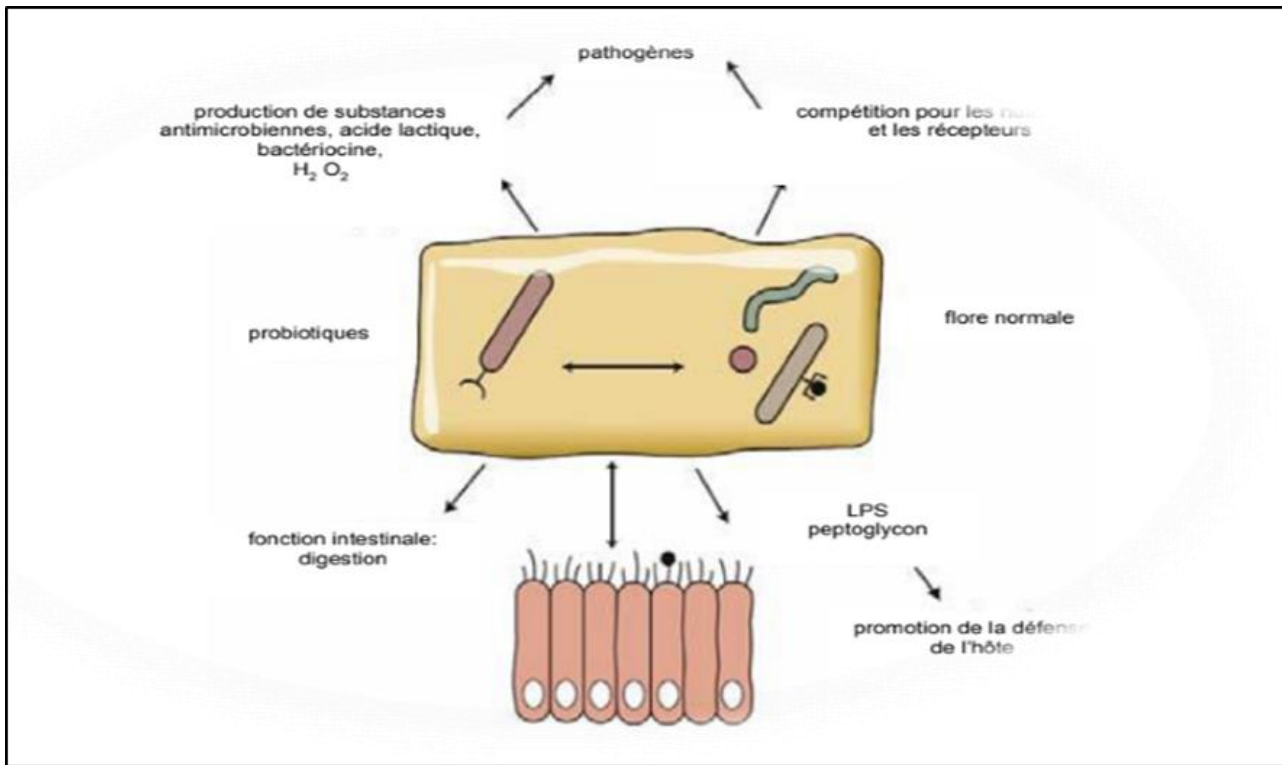
**Tableau 2.-** Principales espèces microbiennes commercialisées comme probiotiques (Hauguel et Hauguel, 2021)

Type <i>Lactobacillus</i>	Type <i>Bifidobacterium</i>	Autres Bactéries lactiques
<i>L. acidophilus</i> (a)	<i>B. adolescentis</i> (a)	<i>Enterococcus</i>
<i>L. amylovorus</i> (b)	<i>B. animalis</i> (a)	<i>faecium</i> (a)
<i>L. casei</i> (a),(b)	<i>B. bifidum</i> (a)	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. gasseri</i> (a)	<i>B. breve</i> (b)	(b)
<i>L. helveticus</i> (a)	<i>B. infantis</i> (a)	<i>Streptococcus</i>
<i>L. johnsonii</i> (b)	<i>B. longum</i> (a)	<i>thermophilus</i> (a)
<i>L. pentosus</i> (b)		
<i>L. plantarum</i> (b)		
<i>L. reuteri</i> (a)		
<i>L. rhamnosus</i> (a), (b)		

### I.6. Les mécanismes d'action des probiotiques

D'après (Dupont, 2002), les prébiotiques influencent les bactéries intestinales en augmentant le nombre de bactéries anaérobies bénéfiques et en diminuant la population des microorganismes potentiellement pathogènes. Les probiotiques affectent l'écosystème intestinal en stimulant les mécanismes immunitaires muqueux, par une interaction avec des microbes commensaux ou potentiellement pathogènes, en produisant des produits métaboliques tels les acides gras à chaîne courte et en communiquant avec les cellules hôtes par des signaux, ces mécanismes peuvent induire un antagonisme envers des pathogènes potentiels, améliorer l'environnement intestinal, renforcer la barrière intestinale, diminuer l'inflammation et renforcer la réponse

immune contre la stimulation antigénique. On pense que ces phénomènes induisent la plupart des effets positifs, y compris la réduction de l'incidence et de la sévérité des diarrhées. Il s'agit là de l'utilisation la plus largement reconnue des probiotiques.



**Figure 4.-** Mécanismes des interactions entre le microbiote et les probiotiques chez l'hôte (Wilkins et Sequoia, 2017).

Le microbiote normal et les probiotiques interagissent avec les activités métaboliques et la fonction immune de l'hôte et préviennent la colonisation par des micro-organismes et des pathogènes. (Wilkins et Sequoia, 2017).

Il existe une relation entre la maladie, la santé, le système immunitaire et les changements dans le microbiote. Les probiotiques jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre immunologique dans le tractus gastro-intestinal par une interaction directe avec les cellules immunitaires. La diversité du microbiote est probablement importante dans le maintien de la santé, et il est probable que les probiotiques à large spectre augmentent l'efficacité du traitement. Les mécanismes d'action des probiotiques sont complexes et probablement différents selon les espèces (Wilkins et Sequoia, 2017).

Les bactéries probiotiques ont des effets multiples et variés sur l'organisme hôte. Elles peuvent influencer l'environnement intestinal, le fonctionnement de la barrière épithéliale et de la muqueuse, ainsi que le système immunitaire (Wilkins et Sequoia, 2017). Différents types de cellules sont affectés par les probiotiques, tels que les cellules épithéliales, les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages et les lymphocytes B et T (Wilkins & Sequoia, 2017).

Les probiotiques doivent pouvoir survivre dans les environnements acides et alcalins de l'intestin, adhérer et coloniser le côlon pour être efficaces. Ils améliorent la barrière muqueuse en limitant l'accès des pathogènes grâce à des mécanismes tels que la régulation du pH, de l'oxydoréduction et de la production de sulfure d'hydrogène, ainsi que par des actions antimicrobiennes. Certaines bactéries probiotiques, telles que *Bacillus clausii*, stimulent la prolifération des CD4 et produisent des bactériocines pour limiter la croissance des pathogènes potentiels (Nagp *et al.*, 2012).

De plus, les communautés microbiennes présentes dans l'intestin améliorent la valeur nutritive en produisant des enzymes pour fermenter les résidus alimentaires et le mucus endogène. Elles contribuent également à la récupération de l'énergie perdue sous forme d'acides gras essentiels, à la synthèse des vitamines et à l'absorption de certains minéraux. (Nagp *et al.*, 2012).

### **I.7. Bénéfices et application des probiotique**

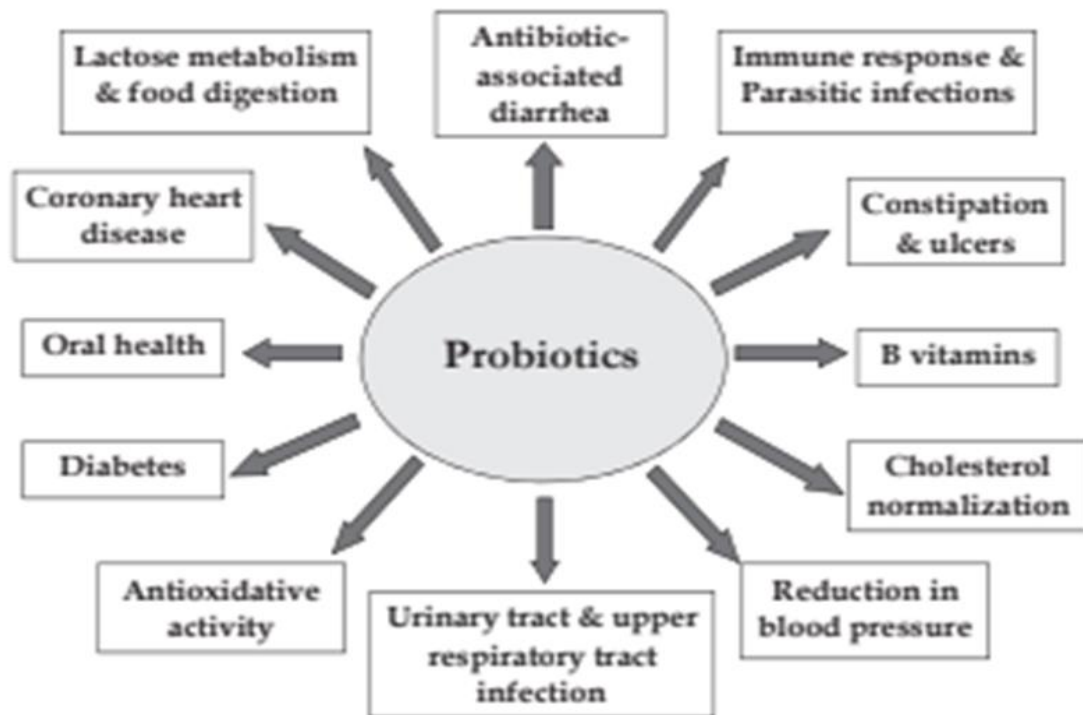
Les probiotiques ont établi leur efficacité en tant que facteurs alimentaires capables de réguler les fonctions gastro-intestinales, offrant ainsi des avantages pour la santé aux consommateurs. L'atténuation de l'intolérance au lactose, la prévention de différentes formes de diarrhée et d'infections urogénitales, la réduction du cholestérol, la réduction des maladies atopiques et la modulation du système immunitaire sont certaines des fonctions attribuées aux probiotiques (Mishra *et al.*, 2015).

#### **I.7.1. Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé**

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques. Le tableau 3 illustre la diversité des effets bénéfiques sur la santé documentés et rapportés dans la littérature.

Principalement, l'application clinique des probiotiques vise la prévention et le traitement des infections et des affections gastro-intestinales (Parsan *et al.*, 2008). Les déséquilibres du microbiote intestinal sont étroitement

associés à un risque accru de maladies spécifiques ; dès lors, la thérapie probiotique vise à moduler un microbiote indigène déséquilibré (Turnbaugh et al., 2006). Par ailleurs, avec l'émergence rapide de souches pathogènes résistantes aux antibiotiques et les conséquences néfastes des flores protectrices, le développement de thérapies adjuvantes ou alternatives reposant sur le remplacement bactérien devient crucial, afin de réduire le risque d'infection (Forestier et al., 2001).



**Figure 5.-** Attributs prospectifs des probiotiques en matière de santé. (Nagpal et al.,2012).

**Tableau3.-** Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotique (Salminen et al., 2004 ; Pattereson, 2008)

Effets intestinaux	Effets sur le système immunitaire	Autres effets
Contrôle des troubles suivants : -mauvaise digestion du lactose -Diarrhée due aux rotavirus- associée aux antibiotiques -syndromes du côlon irritable. -constipation -infection par <i>Helicobacter pylori</i> -prolifération bactérienne dans l'intestin grêle -maladies inflammatoires chroniques de l'intestin Prévention de l'entérocolite nécrosante de nouveau-né	-Modulation immunitaire -Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation. -Réduction des risques d'infection des risques d'infection par les agents pathogènes courants ( <i>salmonella, shigella</i> ).	Réduction du risque de : - Certains cancers (colorectal,vessie,col utérin ,dein) - Coronaropathie - Maladie de voie urinaires - Infection des voies respiratoire supérieure connexes - Réduction du cholestérol sériques et de la pression artérielle

### a) Amélioration d'intolérances au lactose

Les probiotiques ont suscité un grand intérêt ces dernières années comme potentiellement compensateurs de l'insuffisance en lactase. Les probiotiques sont des bactéries vivantes ou des levures qui complètent la flore gastro-intestinale. En particulier, les souches appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, qui sont les groupes prédominants du microbiote gastro-intestinal, sont les bactéries probiotiques les plus largement utilisées (Morin, 2020). Les probiotiques favorisent la digestion du lactose dans l'intolérance au lactose en augmentant la capacité hydrolytique globale dans l'intestin grêle et en augmentant la fermentation colique. Les probiotiques peuvent diminuer la concentration de lactose dans les produits fermentés et augmenter l'entrée d'enzyme lactase active dans l'intestin grêle avec les produits fermentés (Oak & Jha, 2019).

Théoriquement, les probiotiques ingérés sous forme de suppléments adhèreraient à la paroi intestinale et digèreraient le lactose alimentaire, soulageant ainsi les symptômes de malabsorption dus à un excès de lactose (Ketvertis et al., 2005).

### **a) Diminution de l'incidence et de la durée des diarrhées**

Pour les probiotiques, plusieurs études confirment qu'un traitement par *Lactobacillus* (toutes espèces et souches confondues) est efficace en termes de réduction de durée de la diarrhée (Dupont, 2010). Les probiotiques peuvent avoir des effets préventifs ou thérapeutiques sur la diarrhée de diverses étiologies.

De nombreuses souches de micro-organismes probiotiques ont été démontrées pour inhiber la croissance et l'activité métabolique ainsi que l'adhérence aux cellules intestinales des bactéries entéro-pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*) ou entéro-toxinogène (*Vibrio cholerae*) pour moduler (temporairement) la microflore intestinale et avoir des propriétés immunostimulantes ou immun régulatrices (De Vrese & Marteau, 2007).

### **b) Soulagement des symptômes associés aux maladies inflammatoires de l'intestin**

Les maladies inflammatoires du tractus digestif comprennent la rectocolite hémorragique (RCH), la maladie de Crohn et la pochite. Un déséquilibre de la microflore intestinale, en particulier des niveaux élevés de *Escherichia coli* entéro-adhésives et entérohémorragiques avec la RCH et des niveaux réduits de *Bifidobactéries* avec la maladie de Crohn, peut contribuer à l'inflammation observée dans ces maladies. Les probiotiques peuvent améliorer l'équilibre microbien de la flore indigène. Bien que les études aient été contradictoires, les probiotiques semblent être une option attrayante dans le traitement et la prévention des maladies inflammatoires de l'intestin, offrant une alternative intéressante à l'utilisation d'antibiotiques (Williams, 2010).

### **c) Effet des probiotiques sur la réponse Immunitaire**

L'utilisation spécifique des probiotiques vise à la modulation des réponses immunitaires de l'hôte aux antigènes potentiellement nocifs. L'introduction orale de *Bifidobacterium bifidum* a été démontrée pour améliorer la réponse en anticorps à l'ovalbumine, et *Bifidobacterium breve* a été démontrée pour stimuler la

réponse en IgA aux toxines cholériques chez les souris. De la même manière, une réponse immunitaire humorale accrue, comparée à celle des études de contrôle, comprenant une augmentation des cellules sécrétant des anticorps spécifiques du rotavirus de la classe IgA, a été détectée chez les enfants souffrant de diarrhée aiguë à rotavirus ayant reçu *Lactobacillus rhamnosus* pendant la phase aiguë de la diarrhée (Isolauri et al., 2001).

Les cibles suggérées de la thérapie probiotique pour moduler les réponses immunitaires aux antigènes alimentaires pendant le déroulement de l'inflammation allergique dans l'intestin.

Les bactéries probiotiques sont démontrées pour moduler l'inflammation allergique en :

- ↳ Modifiant l'immunogénicité des allergènes via l'activité protéolytique,
- ↳ Réduisant la sécrétion de médiateurs inflammatoires dans l'intestin,
- ↳ Inversant l'augmentation de la perméabilité intestinale et améliorant la dégradation des antigènes entéraux,
- ↳ Déviant l'absorption des antigènes intestinaux vers les plaques de Peyer,
- ↳ Normalisant la composition de la microflore intestinale,
- ↳ Renforçant la réponse en immunoglobuline A (IgA) muqueuse aux antigènes entéraux. TNF, facteur de nécrose tumorale ; ECP, protéine cationique des éosinophiles (Isolauri et al., 2001).

### **d) Prévention des infections uro-génitales**

Essentiellement, la vaginose bactérienne est considérée comme une prolifération d'organismes anaérobies combinée à une perte des lactobacilles protecteurs normalement présents dans le vagin sain. (Reid & Bruce, 2003).

Selon (Reid & Bruce, 2003), la perte de lactobacilles vaginaux semble être le principal facteur dans la cascade de changements conduisant à la vaginose bactérienne, et les rechutes sont associées à l'incapacité d'établir une flore vaginale saine dominée par les lactobacilles. Certains médecins suggèrent aux patients de se doucher avec du yaourt, mais les lactobacilles présents dans le yaourt échouent à coloniser le vagin et sont inefficaces

dans le traitement ou la prévention de la vaginose bactérienne, bien qu'une petite étude contredise cette conclusion.

Plus récemment, l'apport oral quotidien des souches probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus fermentum* a conduit à ce que certains patients asymptomatiques atteints de vaginose bactérienne reviennent à une microflore vaginale normale dominée par les lactobacilles. Le mode d'action n'a pas été élucidé mais pourrait comprendre :

1. Une ascension accrue des lactobacilles probiotiques et/ou indigènes de la peau rectale vers le vagin.
2. Une réduction de l'ascension des agents pathogènes de la peau rectale vers le vagin.
3. Un renforcement de l'immunité muqueuse intestinale qui affecte l'immunité vaginale, rendant ainsi l'environnement moins réceptif aux organismes responsables de la vaginose bactérienne

(Reid & Bruce, 2003).

Reid et al, ont rapporté que lorsqu'ils étaient administrés par voie orale, les probiotiques restauraient la flore vaginale normale, réduisaient significativement le décompte des levures vaginales et diminuaient le décompte des coliformes (Shah et al., 2020).

### **e) Amélioration de l'équilibre lipidique**

Un métabolisme lipidique anormal est un processus physiologique et pathologique, associé à certaines maladies, telles que l'obésité, le diabète de type 2 l'athérosclérose, stéatose hépatique non alcoolique et hyperlipidémie. Cependant, les médicaments traditionnels ont souvent des effets secondaires, par exemple des douleurs abdominales, réactions allergiques, (X.R. Song et al., 2023).

Au cours de la dernière décennie, la recherche en microbiologie est entrée dans le domaine « L'ère de la ruée vers l'or », l'intérêt pour le rôle du microbiote intestinal a été résurgence Backhed et coll. ont d'abord découvert que le microbiote intestinal régulé le comportement de l'hôte pour obtenir et stocker l'énergie de l'alimentation. Van Hook et coll. ont élaboré les différents effets de deux bactéries produites de fermentation sur le métabolisme des lipides. Dans son texte, X.R. Song et al (2023), démontraient comment les probiotiques régulent le métabolisme des lipides via différentes fonctions propriétés, cela se réalise de la manière suivante :

- Production d'enzymes digestives, favorisant l'absorption et l'utilisation de substances, réduisant le cholestérol et ayant des effets anti-inflammatoires et les activités immunitaires. Actuellement,

il y a principalement les suivent les méthodes par lesquelles les probiotiques régulent le métabolisme des lipides

- Les probiotiques peuvent réguler le métabolisme des lipides grâce à deux métabolites, SCFA et acides biliaires secondaires (BA). Aussi, le cholestérol la synthèse peut être réduite en produisant certaines enzymes et inhibiteurs.

### I.7.2. Application des probiotiques

Au cours des 20 dernières années, la perception des consommateurs à l'égard des aliments fonctionnels, y compris les probiotique, a changé. La présence de probiotique dans les produits alimentaires commerciaux a été très bien acceptée et est reconnue pour ses nombreux bienfaits pour la santé. Dans cette optique, les industries du monde entier se concentrent sur les applications des probiotique dans les produits alimentaires, ainsi que sur la construction d'une nouvelle ère des aliments "santé probiotique" (Mishra et al., 2015).

Les différents produits commercialisés en tant que probiotique humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits mono-souches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits pluri-souches) (Butel, 2014). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes :

Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruits et de céréales.

Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation. Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés (Tahlaiti, 2019).

# CHAPITRE 11

## ACTIVITES BIOLOGIQUES

## DES PROBIOTIQUES

### II.1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est la cause de divers maladies chroniques chez l'homme. Le stress oxydatif est causé par une augmentation de l'activité des espèces réactives de l'oxygène (ROS) à travers le processus d'oxydation (Mishra et al., 2015)

La formation de ces ROS est cruciale pour le maintien de l'homéostasie cellulaire les organismes vivants y parviennent grâce à un système de défense antioxydant, qui leur permet de maintenir un équilibre entre le stress oxydatif et la protection antioxydante (Gulcin, 2020).

L'impact des antioxydants pourrait potentiellement être utile pour améliorer la régénération cellulaire qui peut moduler les processus biologiques cellulaires (survie et différenciation) en neutralisant les effets néfastes des ROS dans divers troubles vasculaires (Shafi et al., 2019) .

Le terme antioxydant peut être littéralement défini comme toute substance capable de prévenir, réduire ou réparer les dommages induits par les ROS sur une biomolécule cible. En biologie et en médecine des ROS, les molécules cibles incluent généralement les protéines, les lipides et les acides nucléiques, entre autres (Friese C, Yang J, 2019)

Le stress oxydatif est un concept important en biologie et en médecine. Le terme, initialement introduit en 1985 par Helmut Sies, fait référence à une condition où les niveaux de ROS dépassent significativement la capacité des défenses antioxydantes, entraînant ainsi des dommages potentiels dans un système biologique.

La condition de stress oxydatif peut être causée soit par une formation accrue de ROS, soit par une activité réduite des antioxydants, ou les deux, dans un système biologique (Friese C, Yang J, 2019).

Les antioxydants jouent un rôle majeur dans la neutralisation des radicaux libres et des oxydants non radicalaires, protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif (Ali et al., 2020)

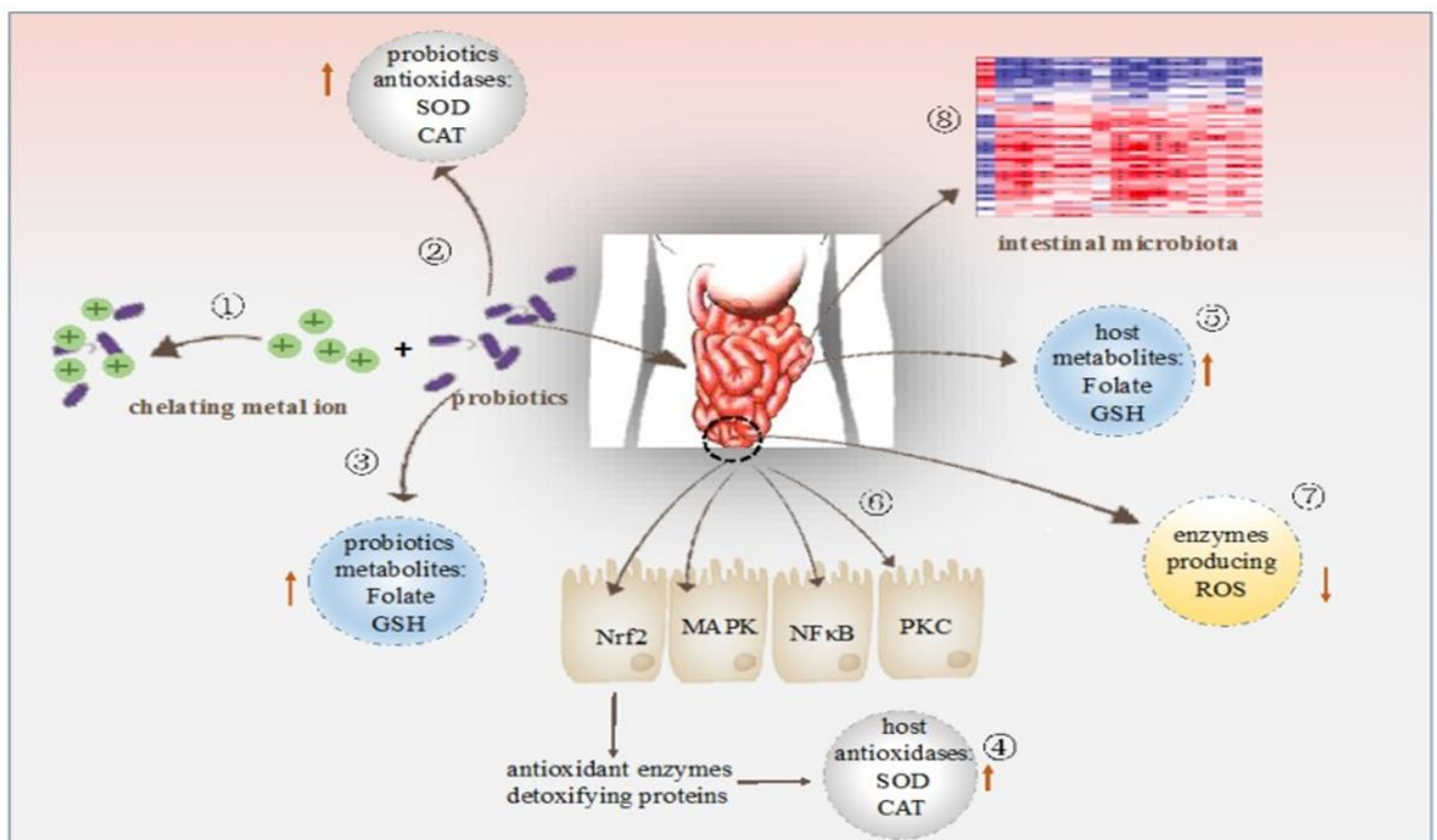
### II.2. Les probiotiques et leurs rôles dans l'activité antioxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par les bactéries pathogènes jouent un rôle physiologique important dans les voies de signalisation intracellulaires et favorisent la production de cytokines

pro-inflammatoires dans les cellules épithéliales gingivales (Wang et al., 2017). Ainsi, la parodontite peut être définie comme une maladie associée au stress oxydatif (Varela-López et al., 2015).

Les antioxydants enzymatiques comprennent la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces antioxydants convertissent le radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en eau inoffensive (Hyun et al., 2002 ; Weydert et Cullen, 2010).

Au cours des dernières décennies, des études ont démontré que différentes souches de bactéries probiotiques pouvaient exercer une capacité antioxydante de différentes manières. Cependant, peu d'études ont été réalisées sur les fondements des mécanismes antioxydants des probiotiques. Les sections suivantes donnent donc un aperçu des connaissances actuelles sur les mécanismes de résistance à l'oxygène de diverses souches probiotiques (figure 6)



**Figure 6.-** Modulation de l'activité antioxydante par les probiotiques (Wang et al., 2017)

La figure 6 montre les mécanismes de résistance des probiotiques à des agents oxydants (espèces réactives d'oxygène) (Wang et al., 2017). Parmi les mécanismes nous citons ce qui suit :

- Les probiotiques chélatent les ions métalliques.
- Les probiotiques possèdent leurs propres anti oxydases.
- Les probiotiques produisent des métabolites antioxydants.
- Les probiotiques régulent positivement les activités anti oxydases de l'hôte.
- Les probiotiques augmentent les niveaux de métabolites antioxydants de l'hôte.
- Les probiotiques régulent les voies de signalisation.
- Les probiotiques régulent négativement les activités des enzymes produisant des ERO.
- Les probiotiques régulent le microbiote intestinal .

### II.2.1. Le système antioxydant enzymatique et non enzymatique

Les probiotiques ont également leurs propres systèmes enzymatiques antioxydants de résistance contre le stress des ERO notamment :

#### II.2.1.1. Inhibiteurs enzymatiques

Ces enzymes ou protéines antioxydantes sont essentielles pour protéger les systèmes biologiques contre les dommages causés par les radicaux libres. Elles jouent un rôle fondamental et indispensable dans la capacité de protection antioxydante, neutralisant les attaques des radicaux libres pour prévenir les dommages oxydatifs (Ighodaro et Akinloye, 2018). Les enzymes antioxydantes mentionnées sont essentielles pour la régulation et la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les organismes vivants :

##### ↳ **La superoxyde dismutase (SOD)**

Est une enzyme antioxydant qui joue un rôle central dans la régulation des niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Elle constitue un élément clé du système de défense primaire contre ces espèces oxydantes. Dans les bactéries lactiques, cette enzyme catalyse la conversion du superoxyde en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en eau ( $H_2O$ ), ce qui contribue à réduire le stress oxydatif (Bruno- Barcena et al., 2005 ; Ighodaro et Akinloye, 2018).

### ↳ La catalase

Présente dans quasiment tous les êtres vivants, notamment dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, fonctionne en collaboration avec la SOD pour catalyser la décomposition du peroxyde dihydrogène ( $H_2O_2$ ) en oxygène gazeux ( $O_2$ ) et en eau ( $H_2O$ ), des substances moins réactives. Cette réaction prévient ainsi la formation de radicaux hydroxyles (Lobo et al., 2010 ; Spyropoulos et al., 2011).

### ↳ La NADH peroxydase

Contrairement aux catalases, est tributaire de la capacité Réductrice de la bactérie, car son activité enzymatique exige l'oxydation du cofacteur NADH. Cette réaction permet de compenser l'absence de catalase en éliminant le peroxyde Dihydrogène ( $H_2O_2$ ) généré par le métabolisme cellulaire aérobie (Ighodaro et Akinloye, 2018).

### ↳ Le glutathion peroxydase

Occupe une fonction cruciale dans la neutralisation du peroxyde dihydrogène ainsi que de l'hydro peroxyde, résultant de l'oxydation du Cholestérol ou des acides gras, en couplant la réduction de ces composés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs tels que le glutathion (GSH) (Lobo et al., 2010 ; Spyropoulos et al., 2011).

## II.2.1.2. Inhibiteurs non enzymatiques

Cette catégorie d'antioxydants est constituée de micronutriments alimentaires tels que la vitamine A, la vitamine C (acide ascorbique) et la vitamine E (tocophérol et tocotriénol). Leur rôle essentiel est de former une barrière protectrice contre les radicaux libres et les oxydants non radicaux, prévenant ainsi les dommages causés à l'ADN, aux protéines, aux lipides et à d'autres molécules par les oxydants (Ali et al., 2020).

Le glutathion, ou  $\gamma$ -glutamyl cystéinyl glycine, représente le principal antioxydant non enzymatique impliqué dans de multiples fonctions cellulaires. Il s'agit d'un tripeptide omniprésent qui régule l'homéostasie redox intracellulaire, pouvant exister sous forme réduite (GSH) ou oxydée (GSSG) (Ali et al., 2020).

### II.2.1.3. Capacité de chélation des ions métalliques

De plus, pour la chélation des ions cuivre, les souches de *L. acidophilus* et de *S. thermophilus* ont montré une large gamme de capacité de chélation allant de 0 à 34,8 ppm et de 2,4 à 51,0 ppm, respectivement. Les six souches de *L. bulgaricus* testées présentaient une forte capacité de chélation du  $\text{Cu}^{2+}$  allant de 13,2 à 48,3 ppm. *B. longum* B6 et 15 708 ont non seulement une forte capacité de chélation du  $\text{Fe}^{2+}$  (Mishra et al., 2015).

Les chélateurs, tels que l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), l'acide bathophénanthroline sulfonique (BPS), la pénicillamine et la désférroxamine, sont connus pour leur capacité à capturer les ions métalliques, empêchant ainsi leur participation à des réactions d'oxydation (wang et al., 2017). La capacité de chélation des ions métalliques (ferreux et cuivriques) par différentes souches de bactéries lactiques (LAB) a été évaluée par Lin et Yen en 1999. Leurs résultats ont révélé que *Streptococcus thermophilus* 821 présentait la meilleure capacité de chélation pour  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^{2+}$ , avec d'autres souches montrant également une capacité de chélation pour l'un ou l'autre de ces ions métalliques.

Par ailleurs, une autre souche de LAB, *Lactobacillus casei* KCTC 3260, a démontré une forte capacité antioxydante en chélatant  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$ , bien que aucune activité détectable de superoxyde dismutase (SOD) n'ait été observée (wang, y et al., 2017). De même, extrait intracellulaire de *Lactobacillus helveticus* CD6 a également montré une capacité de chélation accrue des ions  $\text{Fe}^{2+}$ . Bien que les mécanismes exacts de la chélation des ions métalliques chez les bactéries probiotiques ne soient pas entièrement compris, il a été suggéré que les lésions de métal de transition pourraient inhiber certaines enzymes, comme les réactions de déplacement de l'ester de phosphate, conduisant ainsi à la production de radicaux peroxydes et alkyles par la décomposition des hydro peroxydes. Selon Lin et Yen, cette capacité de chélation observée chez ces souches probiotiques pourrait être due à la présence de chélateurs physiologiques dans leurs extraits cellulaires intracellulaires (wang, y et al., 2017).

### II.2.1.4. Métabolites antioxydants

Les probiotiques présentent la capacité de générer une variété de métabolites dotés d'une activité antioxydante, tels que le glutathion (GSH), le butyrate et le folate. Le folate, une vitamine qui participe à de nombreuses voies métaboliques en acceptant les unités d'un carbone des molécules donneuses, joue un rôle

crucial dans l'efficacité de la réplication, de la réparation et de la méthylation de l'ADN La recherche intensive sur la capacité des souches probiotiques à produire du folate a révélé que les bifidobactéries productrices de folate ont pu améliorer le statut en folate chez les rats et les humains (wang et al., 2017)

Par ailleurs, des études ont montré que les probiotiques *Lactobacillus helveticus* CD6, producteurs de folate, présentaient un potentiel antioxydant similaire entre leur extrait cellulaire intracellulaire et leur forme intacte (Ahire, J.J et al., 2013).

Le GSH, un antioxydant cellulaire majeur, agit en éliminant les radicaux tels que les Peroxydes d'hydrogène, les radicaux hydroxyles et les peroxy-nitrites, principalement par le biais de la glutathion peroxydase dépendante du sélénium. Des études ont également révélé que certaines souches de *Lactobacillus fermentum*, telles que E-3 et E-18, présentaient des niveaux significatifs de GSH. De plus, une recherche a identifié l'existence d'un système complet de GSH chez *Lactobacillus fermentum* ME-3 pour la première fois (Kullisaar, T et al., 2010).

Le butyrate est un acide gras à chaîne courte (AGCC) produit par la fermentation de l'amidon résistant, des fibres alimentaires et des polysaccharides peu digestibles par le microbiote du côlon et de l'intestin grêle distal. Une souche probiotique notable, *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588, est connue pour sa capacité à produire du butyrate. Des recherches récentes ont montré que ce (Kau, A.L et al., 2011) toute souche pouvait induire des anti oxydases chez des rats atteints de stéatose hépatique non alcoolique, ce qui contribue à atténuer le stress oxydatif hépatique. Les niveaux de métabolites antioxydants de l'hôte peuvent également être régulés par le traitement probiotique. Une carence en folates et en vitamine B12 a favorisé le stress oxydatif dans le diabète de type 2 de l'adulte (wang et al., 2017).

### II.3. Les probiotiques et leurs effets antimicrobiens

La communauté microbienne intestinale est un écosystème complexe et il est difficile d'introduire de nouveaux organismes dans cet environnement hautement compétitif. C'est pourquoi les organismes qui peuvent produire un produit qui inhibe la croissance des organismes existants ont un avantage certain. La capacité probiotique à s'établir dans le tractus gastro-intestinal est renforcée par leur capacité à éliminer les concurrents.

Les espèces de *Lactobacillus* régulent les processus en produisant des composés antibactériens tels que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et les bactériocines. Les bactériocines sont des protéines ou peptides qui inhibent la croissance de bactéries pathogènes (Nagpal, R *et al.*.,2012)

Bien que les effets bénéfiques des probiotiques contre les bactéries pathogènes soient largement documentés, y compris leur capacité à exercer une exclusion compétitive, à produire des bactériocines, à renforcer la barrière intestinale et à stimuler les défenses antimicrobiennes de l'hôte, il est important de reconnaître que ces effets peuvent être contrecarrés par les interactions avec les agents pathogènes viraux. Par conséquent, il est essentiel de poursuivre les recherches afin de mieux comprendre les mécanismes d'action complexes impliqués dans les interactions entre les probiotiques et les pathogènes, tant bactériens que viraux. (Steyer A.,2022)

Les souches de bactéries lactiques, telles que celles appartenant au genre *Lactobacillus*, sont reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes bien documentées. De plus, ces bactéries probiotiques ont été associées à la modulation de la production de cytokines, influençant ainsi l'immunité de l'hôte en agissant dans le tissu lymphoïde intestinal. Leur effet bénéfique se traduit par la protection contre les infections causées par des agents pathogènes, ainsi que par la réduction des symptômes allergiques et potentiellement même des processus tumoraux. (Fijan S.,2023).

L'activité antimicrobienne ou antagoniste des probiotiques est une caractéristique cruciale qui implique la production de composés antimicrobiens tels que les bactériocines, ainsi que l'exclusion compétitive des agents pathogènes et l'amélioration de la fonction de barrière intestinale pour résister aux pathogènes. De plus, les probiotiques renforcent le système immunitaire de l'hôte pour combattre efficacement les pathogènes. Plusieurs méthodes, tant *in vitro* que *in vivo*, sont employées pour évaluer ces propriétés antimicrobiennes des probiotiques. (Fijan S.,2023).

**DEUXIEME PARTIE**

**MATERIELS**

**ET**

**METHODES**

### 1. Objectif

la présente étude porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des souches isolées à partir d'un aliment traditionnel qui est le blé fermenté. Les activités biologiques des isolats à été comparés à celle de 3 souches lactiques probiotiques choisie comme référence isolées d'un complément alimentaire commercialisé sous le nom de PROBIOTIC EVEXIA®.

### 2. Lieu et durée de l'étude

Cette étude à été réaliser au niveau des laboratoires pédagogique « Laboratoire de Microbiologie Appliquée et Laboratoire de Biochimie et Laboratoire des micro-organismes pathogène » de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

### 3. Le complément alimentaire

Un complément alimentaire lyophilisé et commercialisé sous le nom de PROBIOTIC EVEXIA®, développé par SARL EXEVIA PHARMA, Algérie. Ce complément est à base de ferments lactiques qui ont un effet de barrière, permettent de soutenir les mécanismes de défense de l'organisme. Il est composé de 4 souches : *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus rhamnusus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, dosé à  $10^9$  UFC/g. (Annexes n°04)

### 4. Echantillon du blé fermenté

#### 4.1.Origine du blé

Dans cette étude nous avons utilisé 700 g de blé dure (*Triticum durum*), variété locale « région de Ain Defla », issus de la récolte de 2022.

#### 4.2.Etapes et conditions de fermentation

La fermentation a été effectuée sans addition du vinaigre, été reproduit au niveau du laboratoire dans un bocal en plastique de 1,5 litres.

Pour 700g du blé dure nous avons utilisé 500ml de l'eau minérale, en scellant de bocal pour crée de l'anaérobiose et en incubant à l'abri de la lumière. Ceci est dans le but de se rapprocher des conditions de fermentation traditionnelle dans le *matmor*, non prises en considération par les artisans. La température ambiante peut varier de 20 à 40 ° C. La fermentation du blé dure a duré 2 mois (décembre 2023 jusqu'au février 2024).

L'échantillon du blé dure a été sécher à l'aire libre pendant 48h, par la suite a été broyé avec un broyeur manuelle à fin d'obtenir une poudre fine de 200 µm.

### 5. Les milieux de cultures

Deux milieux de culture ont été utilisé pour isolée les bactéries lactiques à partir du blé fermenté et du compléments alimentaire :

- **Le milieu MRS** (DeMan, Rogosa , Sharpe Agar) a été utilisé pour l'isolement des espèces de *lactobacilles*. Ce milieu a été conçu pour favoriser la croissance luxuriante des *Lactobacillus* destinés aux études en laboratoire (Basavaraju & Jamil, 2014).
- **Le Milieu M17** a été utilisé pour Favoriser la culture des bactéries lactiques du Genre *Lactococcus spp* (Kazanc et al., 2019)

### 6. Méthode expérimentale

#### 6.1.Enrichissement, isolement et purification des isolats

##### ➤ Enrichissement

L'enrichissement et l'isolement des microorganismes sont basés sur la culture de ces derniers dans des milieux de culture liquide ou solide. Deux milieux de culture ont été utilisés MRS et M17 (Annexe n°01).

Une quantité d'une gélule de complément alimentaire lyophilisé a été inoculée dans 9ml de milieu

## Matériels et Méthodes

---

MRS et incubé en aérobiose à 37°C pendant 72h afin d'assurer une revivification des bactéries lactiques présents dans le lyophilisat.

1g de la poudre du blé dur fermenter à été inoculée dans 9ml de milieu MRS et M17 liquide et incubé en aérobiose à 37°C pendant 24h afin de favoriser la culture des *lactobacilles* et *lactocoques* présent dans l'échantillon.

### ➤ Isolement

L'isolement des souches a été effectuer sur gélose MRS et M17, milieux adaptés à la recherche spécifique des lactobacilles et lactococcus.

Les boites de Pétri contenant la gélose MRS et M17 préalablement coulées et solidifiées sontensemencées en étalant à leur surface 1000µl du bouillon d'enrichissement et incubé à 37 °c pendant 48h, ce qui favorise la croissance de différents groupes de microorganismes (cultures mélangées).

### ➤ Purification

La purification des souches a été réalisée par plusieurs repiquages sur milieux solides à partir des colonies bien isolées. Les souches bactériennes sontensemencées par la méthode des stries sur milieu solide et cultivées à une température de 37°C.

## 6.2. Conservation des isolats

Les souches pures sont conservées à -18°C sur leurs milieu sélectif additionnée de 20% de glycérol (Shahid et al., 2017).

## 6.3. Identification des isolats lactiques

### 6.3.1. Observation macroscopique et microscopique des isolats

### ➤ **Observation macroscopique**

Les caractères macroscopiques des colonies des bactéries lactiques sont observés à l'œil nu afin de décrire leur taille, leur couleur, leur forme, leur contour, leur viscosité, leur aspect.

### ➤ **Observation microscopique**

L'examen morphologique des bactéries isolées a été réalisé par coloration de Gram, afin de déterminer la forme des colonies (bacilles, coque-bacille, coques) et leur mode de regroupement et le plus important s'il s'agit des bactéries à Gram + ou à Gram -. Pour cela, une seule colonie de chaque bactérie isolée a été prélevée et colorée conformément au protocole standard de coloration de Gram et observée au microscope à immersion. Grossissement x100 (Smith & Hussey, 2016).

## **6.3.2. Caractérisation biochimique des isolats lactiques**

### **6.3.2.1. Mis en évidence des enzymes respiratoires**

L'activité respiratoire est mise en évidence par deux enzymes : la catalase et le cytochrome oxydase.

#### ➤ **Catalase**

La catalase est responsable de la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui est un métabolite formé lors de l'utilisation aérobie des glucides. Un résultat positif se traduit lors du contact d'une colonie d'isolats avec l'eau oxygénée par une effervescence (dégagement gazeux) (Goa et al., 2022).

#### ➤ **Oxydase**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé, cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyle paraphénylène diamine, ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé violet, noircissement à l'air. La technique a été réalisé selon le protocole de Marchal et Boudron (1982)

### 6.3.2.2. Le système Api 20<sup>E</sup>

L'identification biochimique et la fermentation glucidique des isolats lactiques ont été réalisées sur chaque en utilisant la galerie Api 20<sup>E</sup> (Bio Mérieux).

La galerie API 20E comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne préparée avec des culture jeune 18h.

Après l'ensemencement de la suspension bactérienne dans les micros tubes contenant des substrats déshydratés, les réactions produites après 24h d'incubation à 37°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

L'interprétation des réactions produites se réfère au tableau de lecture tandis que l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique joint avec la plaque.

**NB :** on a utilisé la galerie API 20E juste pour compléter et confirmer les tests de la galerie classique sachant que cette dernière est destinée à l'identification des entérobactéries.

## 6.4. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques

### 6.4.1. Résistance aux pH gastrique

La capacité de la souche à survivre dans le milieu acide a été étudiée en se référant à la méthode décrite par Maragkoudakis et al., 2006 avec quelques modifications, 0.5ml de la culture jeune (18h) a été introduit dans 5 ml de bouillon MRS et M17 déjà ajusté à pH 3 et pH 4. La résistance de la bactérie à ce facteur hostile a été estimée par la lecture de la densité optique à 620 après incubation de 2 h à 37°C

Le pourcentage de survie a été calculé par la comparaison des valeurs de la DO de la culture dans le bouillon MRS et M17 à différents pH :

$$\% \text{ de survie} = (\text{DO MRS pH acide}^* / \text{DO MRS pH 5.8}) \times 100$$

### 6.4.2. Résistance au sels biliaires

La tolérance aux sels biliaires des souches isolées ayant survécu pendant 4 h dans des bouillons MRS et M17 additionnées de 0.3% de sels biliaires (v/v), en suivant la méthode décrite par (Oh & Jung, 2015) la résistance a été évaluée par la mesure de la DO à 620 nm, en comparant les valeurs de la DO de la culture sur bouillons MRS et M17 avec et sans sels biliaires. L'équation suivante a été appliquée :

$$\% \text{ survie} = (\text{DO sels biliaires} / \text{DO témoin}) \times 100$$

**Sels biliaires :** MRS et M17 additionnée 0,3% de sels biliaires

**Témoin :** MRS et M17 sans sels biliaires

### 6.5. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 6.5.1. Préparation de la culture cellulaire

Des cultures bactériennes ont été cultivées dans du MRS et M17 à 37 °C pendant 24 h, après incubation toutes les cultures bactériennes ont été ajusté à une valeur d'environ 11 log UFC/ml basé sur une comparaison avec les normes McFarland 5 (Düz et al., 2020). 500µl de la suspension obtenue ont été centrifugés à 13.000rpm pendant 15 min à 4°C. Après centrifugation le culot ait été mis en suspension dans 1 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) (Annexe n°03).

#### 6.5.2. Détermination de l'effet piègeur des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été déterminée en utilisant la méthode décrite par Düz et al., 2020. 1 mL de solution fraîche de DPPH (0,05 mM, dans l'éthanol) a été ajouté aux échantillons de cellules intactes préparé en une suspension dans 1 mL de PBS dans des tubes Eppendorf par la suite, les échantillons ont été conservés dans l'obscurité pendant 1 heure, après l'incubation les échantillons ont été centrifugés à 13 000 tr/min pendant 10 minutes et les surnageants ont été mesurés par spectrophotométrie à DO 517nm.

Le blanc a été préparé en remplaçant l'échantillon par du PBS, l'acide ascorbique (1 mg/ml) été utilisé comme contrôle positive.

Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux a été calculé selon l'équation :

$$\text{Activité de piégeage (\%)} = [ 1 - (\text{A échantillon} - \text{A blanc}) / \text{A blanc} ] \times 100$$

Avec : Blind= solution PBS / Blank= Solution de DPPH avec PBS / Sample = l'échantillon

### 6.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des isolats lactiques contre les souches pathogènes, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits) décrite par Anas et al., 2012.

Trois souches pathogènes ont été utilisées pour étudier l'activité antibactérienne des isolats, qui sont : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922

Les isolats lactiques sont cultivés dans du milieu MRS et M17 liquide et incubés pendant 18 heures. Après incubation, le milieu est centrifugé (4000 tr/mn 20 min) et le surnageant est conservé.

Des cultures jeunes de 18h des souches pathogènes à 0.5 McFarland sont ensemencées avec un écouvillon inutile dans des boîtes de Pétries contenant 25 ml de milieu Muller Hinton. Des puits ont été creusés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sur le milieu et 100 µl de surnageants de bactéries probiotiques ont été ajoutés dans chaque puits, par la suite les boîtes sont incubées à 4°C pendant 2h afin d'assurer une meilleure diffusion de la substance antibactérienne présente dans le surnageant. Après 2h les cultures sont incubées à 37°C pendant 18h à 24h.

Après incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées, Les puits entourés d'une zone claire dans la nappe de culture de la souche test et ayant un diamètre supérieur à 2 mm sont considérées comme positives.

### 6.7. Test de sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques des isolats lactiques a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques (BAUER et al., 1966). Pour élaborer, les cultures nocturnes des souches lactiques désignées pour les tests ont été ajustées pour atteindre une concentration de  $10^8$  UFC/mL (0,5 McFarland), puis elles ont été étalées uniformément sur des plaques de gélose MRS et M17. Par la suite, six types de disques antibiotiques ont été placés de manière aseptique sur la surface de la gélose MRS et M17. Ces antibiotiques comprenaient la pénicilline (10 µg), Cefoxitine (30 µg), Oxacilline (10 µg), Fusidic Acid (10 µg), Fosfomycine (50 µg), Imipenem (10 µg).

Après une période d'incubation de 24 h à 37 ° C, les diamètres (mm, taille du disque compris) des zones claires

entourant chaque disque d'antibiotique ont été mesurés. Les isolats lactiques ont été classés comme résistants ( $\leq 15$  mm), moyennement sensibles (16-20 mm) ou sensibles ( $\geq 21$  mm) conformément aux critères établis par BAUER et al., 1966.

### 6.8. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en pourcentage. Le test statistique a été utilisé afin de déterminer s'il existe une différence significative entre les valeurs du taux de survie des bactéries lactiques dans les milieux à différent pH. Un test non paramétrique a été utilisé car la distribution des échantillons ne suit pas la loi normale.

**TROISIEME PARTIE**

**RESULTATS**

**ET**

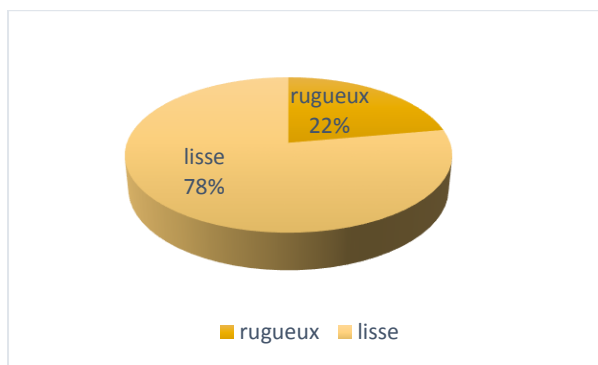
**DISCUSSION**

### 1. Aspect macroscopique des isolats

Dans la présente étude, un total de neuf isolats lactiques a été isolé sur les deux milieux MRS et M17, 3 souches sont isolées à partir du complément alimentaire, et 6 souches à partir du blé fermenté.

La culture des souches isolées sur les milieux solides est observée à l'œil nu pour une identification morphologique, nous avons regroupés les caractéristiques macroscopiques des colonies isolées dans le tableau 06 (Annexe n°05)

Des colonies de différente taille avec différent aspect lisse et rugueux ont été observées avec une couleur dominante blanche ou laiteuse (figure 7 et 8). Ces critères macroscopiques des isolats correspond aux propriétés culturelles décrite pour les bactéries lactiques (Maxton et al., 2013)



**Figure 07.-** Diagramme en secteur représente le taux de différents aspects macroscopique



**Figure 08.-** Aspects macroscopique des souches isolées sur milieu solide. A souche L3 aspect lisse, B souche L10 aspect rugueux. (Photos originaux)

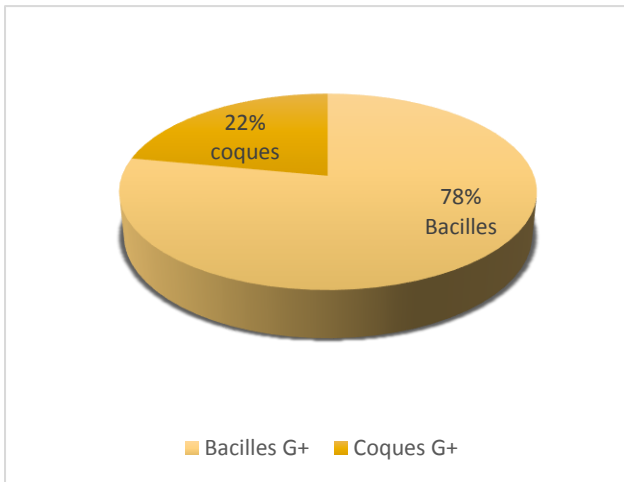
### 2. Aspect microscopique des souches isolées

L'observation microscopique des caractères cultureux montre la forme des colonies, Ainsi que la pureté des souches. La coloration de Gram, effectuées sur des cultures jeunes a permis de révéler que toutes les souches sont de Gram +. La forme dominante est la forme bacille présent 78% de la totalité des souches avec la forme coque présente 22% des souches isolées. (Figure 09 et 10).

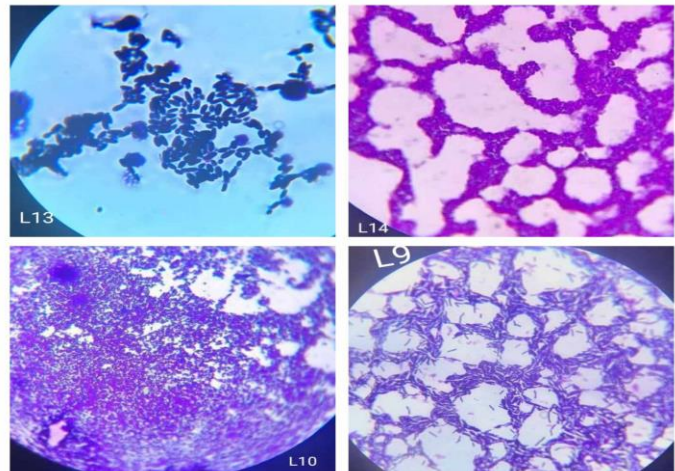
## Résultats et Discussion

Les bactéries lactiques se présentent sous forme de bacilles ou coccobacilles long ou court, isolée ou regroupée en amas, aussi d'une forme circulaire (Cocci) le cas des lactococcus en différents modes d'association et sont à Gram positif.

Ces bactéries apparaissent sur les milieux MRS et M17, qui sont d'un aspect crémeux et d'une couleur laiteuse avec des formes coque et bacille à Gram positif représentant les caractères culturels des lactobacilles et lactococcus (Chahrazed et al., 2021).



**Figure 9.-** Diagramme en secteur représente les formes cellulaires des souches isolées.



**Figure 10.-** Observation au microscope photonique et à l'immersion (x100) des formes cellulaires des souches lactiques. Les souches L10 et L9 isolées sur gélose MRS et les souches L14 et L13 isolées sur gélose M17. (Photos originaux)

### 3. Caractérisation biochimique des souches isolées

#### 3.1. Catalase

On a réalisé des tests de catalase afin d'évaluer la capacité des bactéries à synthétiser l'enzyme catalase, qui participe à l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène.

Les résultats des tests obtenus indiquent que tous les isolats ont démontré une activité catalase, sauf qu'une seule souche est révélée à catalase négative.

Dans la plupart des cas, les bactéries lactiques présentent des caractéristiques telles que Gram positif, non sporulé, en forme de bacille et de coque, ainsi qu'une catalase négative (Angelis & Gobbetti, 2016)

Engesser et Hammes (1994) indiquent qu'il est assez rare que les LAB développent une activité catalase, cette activité est limitée aux souches de *L. plantarum*, *L. mali* et *P. pentosaceus*.

Selon Whittenbury (1963), certaines espèces de LAB comme *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Pediococcus* ont une activité catalase, ils se distinguent par leur aptitude à générer des pseudo-catalase. La pseudo catalase produite provoque des réactions fausses positives (Stiles & Holzapfel, 1997).

### 3.2.Oxydase

5 isolats ont obtenu une oxydase positive et 4 souches sont d'oxydase négative. Le test oxydase permet de révéler la présence de l'enzyme phénylène diamine oxydase. Plusieurs études (Begum et al., 2024) et (Sulmiyati et al., 2018) ont confirmé l'absence de cette enzyme chez les LAB.

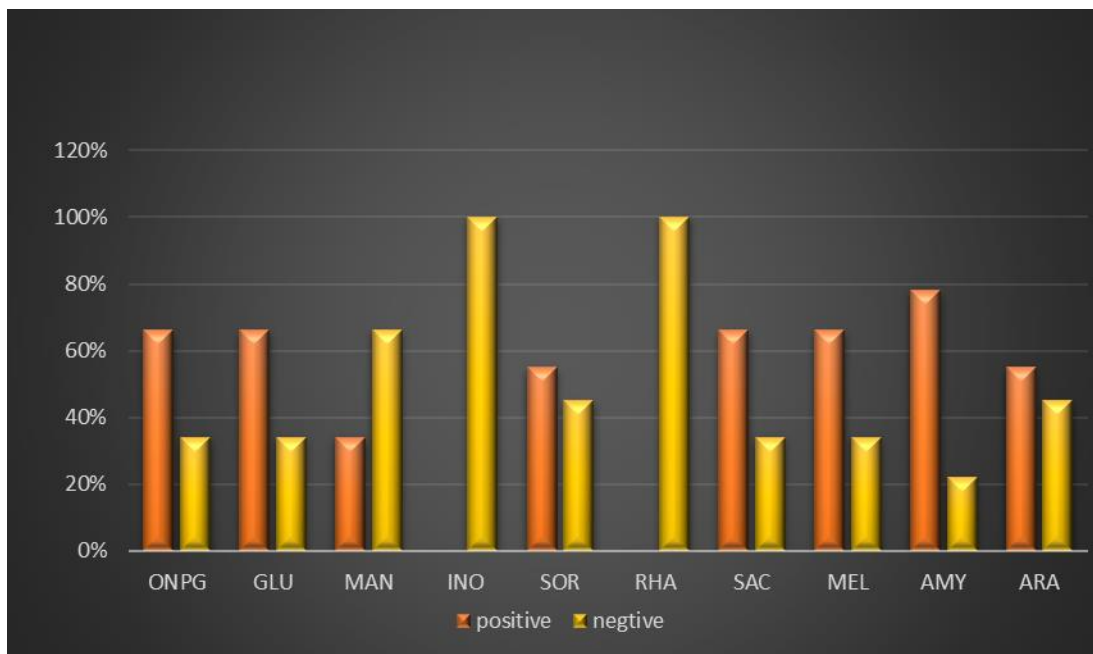
### 3.3.Le système Api20<sup>E</sup>

Une galerie API est conçu pour l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

Les résultats de l'analyse des propriétés biochimiques à l'aide de la galerie Api20E ont révélé que ; seulement deux souches sont positives au citrate, ce qui indique qu'ils pourraient utiliser le citrate comme source de carbone et une seule souche révélée positive pour l'utilisation de TDA. Tous les isolats restants étaient négatifs pour l'utilisation H<sub>2</sub>S, Indole, TDA, Citrate. Pour l'utilisation des nitrate la majorité des isolats n'ont pas la capacité de réduire les nitrates.

Pour la fermentation des glucides ; Selon les résultats, il a été constaté que les sucres testés pouvaient être généralement divisés en deux groupes en fonction du pourcentage de souches capables de les utiliser de manière optimale.

La majorité des isolats étaient capable de fermenter des sucres tel que glucose (65%), amygdaline (79%), Melbiose (65%), Saccharose (65%). En revanche, le Sorbitol (58%), Arabinose (58%), Mannitol (35%) sont révélés moins utilisés par les isolats (figure 11). 70% des isolats ont révélé ONPG positive du de leurs capacité de produire la Ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside.



**Figure 11.-** Représentation graphique de l'utilisation des sucres par les isolats lactiques.

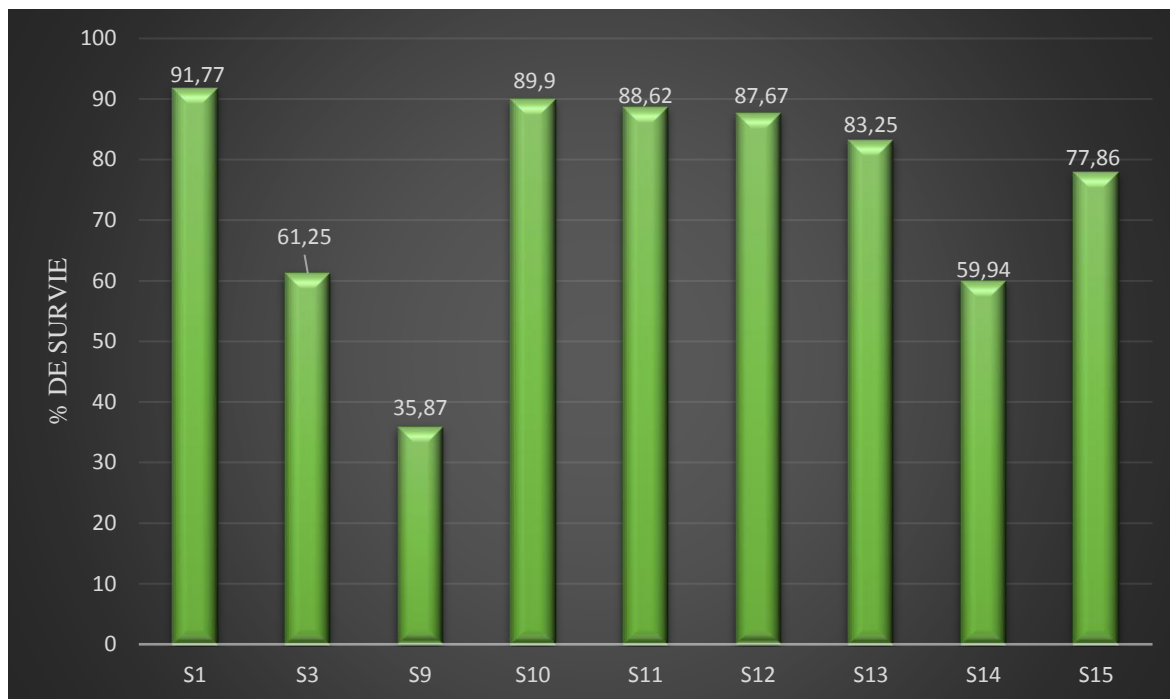
Le modèle d'utilisation du sucre différerait selon les souches, ce qui mettrait en évidence les particularités propres à chaque souche (Suvagiya, 2024). En se basant sur leurs modèles spécifiques d'utilisation du sucre, les bactéries lactiques les plus performantes peuvent être choisies comme candidats potentiels pour des recherches plus approfondies en tant que probiotiques (Lim & Dong-Soon, 2009)

#### **4. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques**

##### **4.1.La résistance aux sel biliaire**

Les propriétés probiotiques des 09 isolats ont été évaluées, y compris leur capacité à tolérer aux sels biliaires.

La figure 12, présente le taux de survie des bactéries dans des bouillons à 0,3% de sels biliaires.



**Figure 12.-** Représentation graphique des taux de résistance des bactéries aux sels biliaire

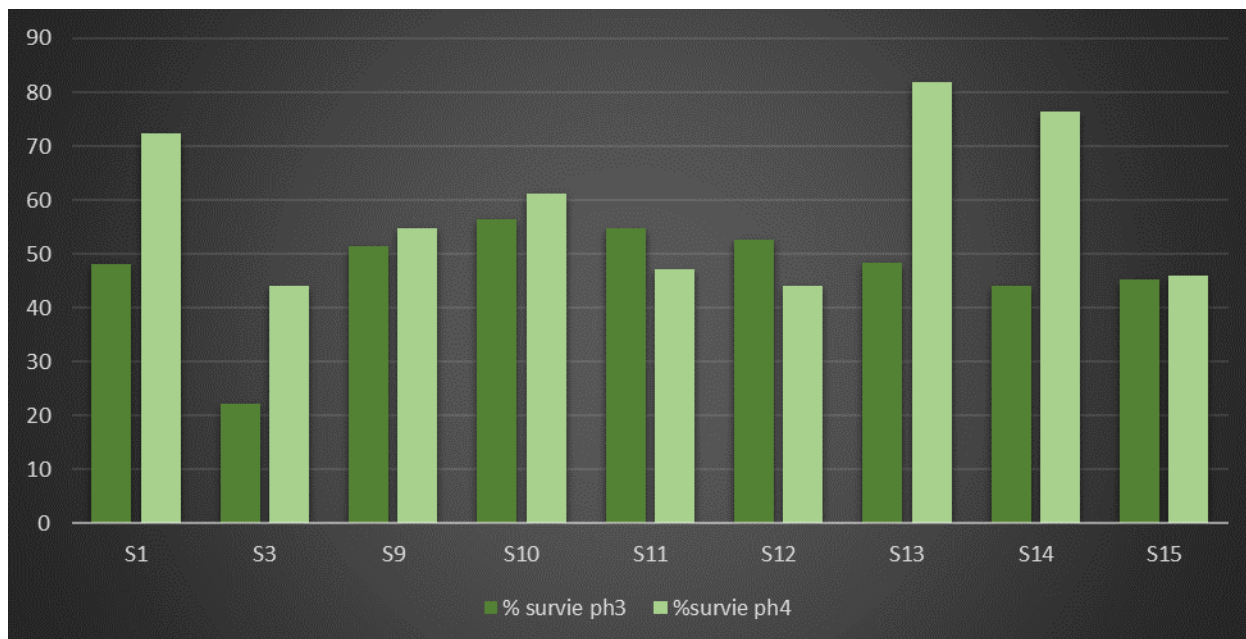
Le taux de survie maximal pour la résistance aux sels biliaires est de 91%, tandis que le taux de survie minimum est de 35%.

### 4.2.Le taux de survie aux différents pH

La résistance des bactéries dans des milieux à différents pH a été évaluée (Figure 13). Pour cette expérience les bactéries lactiques ont été incubées dans un milieu MRS et M17 avec des conditions de pH similaires à celles de l'estomac.

Dans les milieux à pH 3, le taux de survie minimale des isolats lactiques est de 22% et le taux de survie maximale est de 56%, tandis que dans les milieux à pH 4, le taux de survie minimale est de 43% et le taux de survie maximale est de 81%.

La comparaison entre les taux de survie des isolats dans les deux milieux à différents pH a montré qu'il existe une différence hautement significative avec  $p < 0,01$ .



**Figure 13.-** Taux de survie des bactéries isolées sur des milieux à différents pH

Nos résultats obtenus pour la résistance aux sels biliaires sont similaires à ceux obtenus par (Sujay S et al., 2023) qui ont prouvé que après 4 heures d'incubation dans une bile acide à des concentrations de 0,3% et 1%, les souches de LAB ont affiché des taux de survie de 98% et 93%, respectivement, en particulier, sept isolats ont démontré un taux de survie élevé à une concentration de sels biliaire de 0,3 %.

L'efficacité d'une bactérie comme probiotique potentiel dépend fortement de son aptitude à survivre au passage du tube digestif supérieur jusqu'à l'intestin, où son effet bénéfique est attendu, ce qui représente une exigence cruciale (Zago et al., 2011).

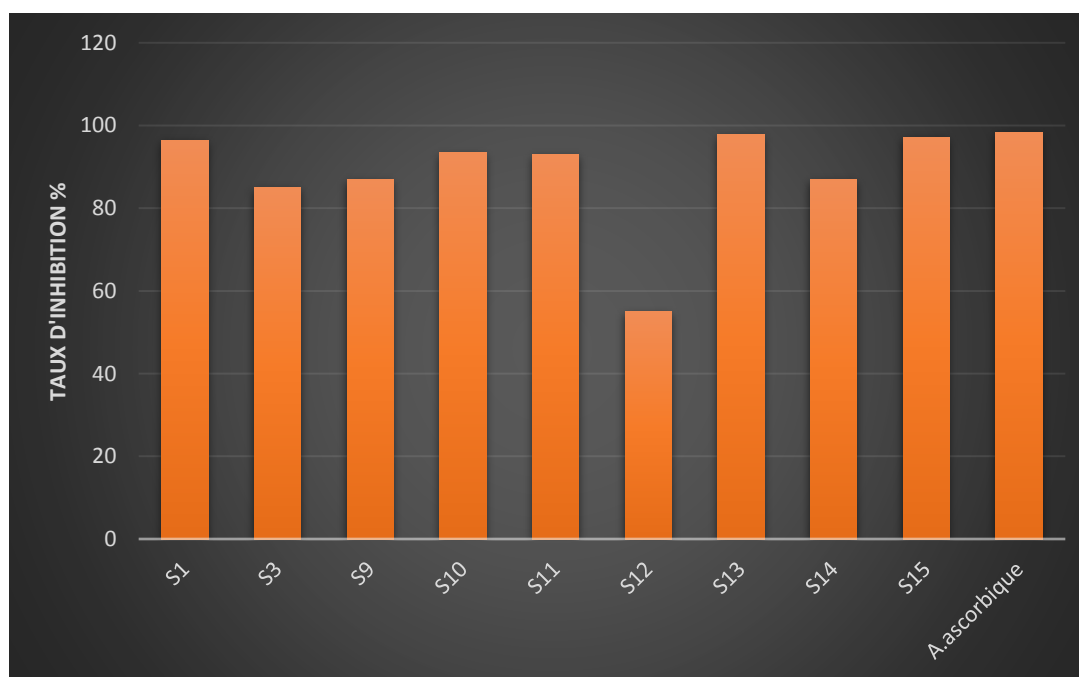
Dans cette étude le taux de survie dans des conditions acides, varie d'une bactérie à l'autre, suggérant un schéma spécifique à la bactérie. Les isolats S9, S10, S11, S12 ont montré une capacité de survie maximale en présence de conditions acide. Les résultats de cette étude sont en accord avec ceux de recherches antérieures (Begum et al., 2024 ; Zago et al., 2011). MULLER et al., (2009) ; AZAT et al., (2016) ont considérés comme le pH 4 est optimal Pour une bonne viabilité des bactéries lactiques ce qui est confirmé par nos résultats

La sélection de bons candidats probiotiques repose principalement sur la capacité à supporter des conditions difficiles, telles qu'un pH faible, du suc gastrique et des sels biliaires (Bazireh et al., 2020).

### 5. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé ou d'une cellule bactérienne, diverses méthodes reposant sur le piégeage des radicaux libres sont utilisées (Kouassi, 2017). Parmi celles-ci, le radical DPPH est le plus couramment employé en raison de sa facilité, rapidité, sensibilité et reproductibilité, des qualités qui le distinguent des autres méthodes (Prior *et al.*, 2005).

Le taux d'inhibition des radicaux libres de DPPH par les souches lactiques été avec un taux minimum d'inhibition de 55% et un taux maximum de 97% (Figure 14). La bactéries S13 présentait l'activité la plus élevée, tandis que la bactérie S12 présentait l'activité la plus faible. Il a été constaté que les activités de suppression des radicaux DPPH de l'acide ascorbique était de 98,5%.



**Figure 14.-** La capacité des isolats lactiques à piéger les radicaux libres de DPPH

Il a été prouvé par des recherches précédentes que les propriétés antioxydantes de certaines souches de LAB pourraient être liées à la synthèse de composés de surface cellulaire tels que les polysaccharides extracellulaires produits par des souches comme *Lactococcus lactis subsp.lactis* 12 (Guo *et al.*, 2013).

L'activités de piégeage des radicaux DPPH des micro-organismes déterminés dans la présente étude étaient similaires aux résultats rapportés dans les études précédentes (Düz et al., 2020), dont une variation du taux de piégeage des radicaux libres entre 90,34% et 58,38% est observée.

En outre, les résultats de notre étude corroborent que les isolats lactiques examinées présentent une activité antioxydante remarquable. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Zhang et al. (2011), qui ont observé des pourcentages de piégeage du radical DPPH allant de 52,9 % à 71,3 % pour les cellules intactes de certaines souches lactiques.

En termes de définition, les antioxydants sont des substances chimiques qui jouent un rôle dans la prévention, l'arrêt ou la réduction des dommages oxydatifs. Par ailleurs, les antioxydants contribuent de manière efficace à la lutte contre les radicaux libres et peuvent être liés à une diminution de la progression de diverses maladies (Lai et al., 2001).

Les souches LAB dotés de propriétés antioxydantes efficaces peuvent apporter un soutien précieux à la restauration de l'homéostasie et de la stabilisation des niveaux de radicaux libres (Rwubuzizi et al., 2023).

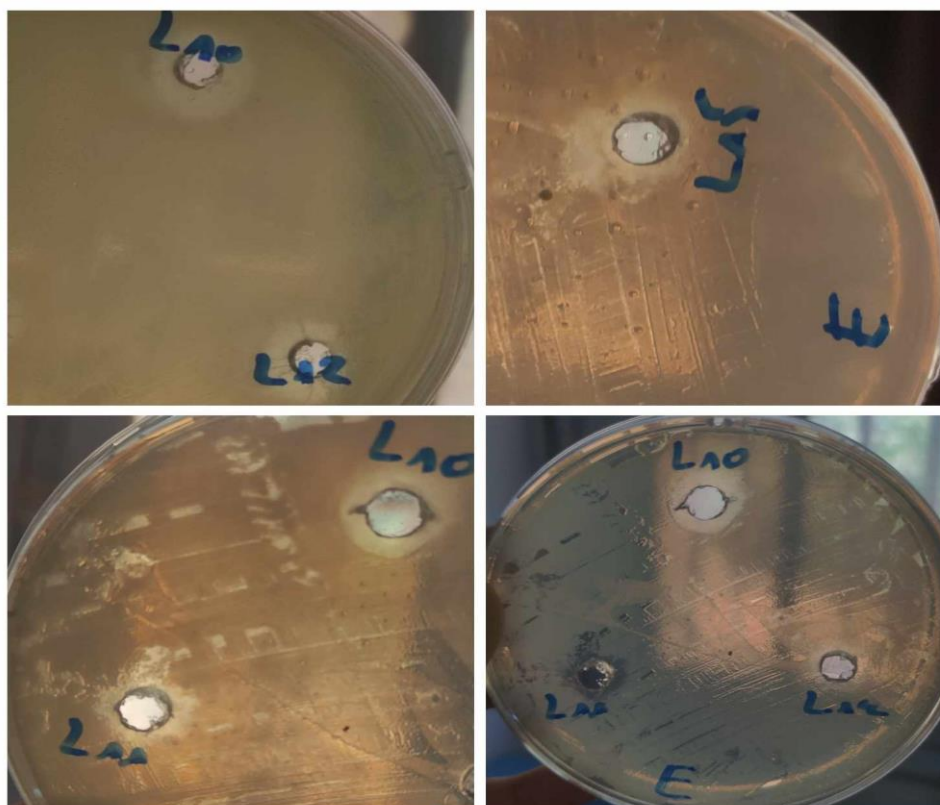
### 6. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les propriétés inhibitrices des surnageants des 09 isolats LAB ont été observées contre divers agents pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922)

Les résultats ont montré que seulement 3 isolats LAB présentaient une activité inhibitrice vis-à-vis tous les agents pathogènes, tandis que la bactéries L15 a obtenu une activité positive contre une seule souches pathogène (tableau 4, figure 15). L12 a noté la plus grande zone d'inhibition contre (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) (6mm).

**Tableau 4.-** activité antibactérienne des isolats contre les agents pathogènes

Les isolats LAB	Zone d'inhibition en mm		
	<i>Escherichia. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
L1	-	-	-
L3	-	-	-
L9	-	-	-
L10	5	5	5
L11	4	5	3
L12	3	5	6
L13	-	-	-
L14	-	-	-
L15	3	-	-



**Figure 15.-** Activité antibactérienne des isolats lactiques contre les différents agents pathogènes

Les isolats LAB avaient une activité antimicrobienne comparable contre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, différemment à quelque peu des études publiées, selon lesquelles le LAB ne pouvait pas affecter les pathogènes Gram-négatifs (Zommiti et al., 2018). Ces résultats soulignent l'importance des bactéries sélectionnées dans notre étude. L'activité antibactérienne joue un rôle crucial dans la sélection des

probiotiques, car elle permet de préserver les aliments et de prévenir les infections gastro-intestinales (CHAMPOMIER-VERGES et al., 2010 ; AZAT et al., 2016).

Selon les critères établis par Schillinger et Lucke (1989), les *Lactobacillus* sont considérées comme présentant une activité positive lorsque la zone d'inhibition dépasse 1 mm, ce qui correspond aux résultats obtenus dans notre étude. De manière similaire, Fleming et al. (1975) définissent les souches comme productrices de substances antibactériennes si elles montrent une zone claire d'extension latérale supérieure à 0,5 mm, critère également vérifié dans nos résultats.

Les propriétés inhibitrices des LAB sont principalement attribuées à la production d'acides organiques, en particulier les acides lactique et acétique, responsables de la diminution du pH, Ils affectent aussi l'intégrité de la membrane cellulaire compromettant la viabilité des cellules et conduisant dans de nombreux cas à leur lyse. Les LAB exercent également un effet bio protecteur ou inhibiteur contre d'autres microorganismes en raison d'une compétition pour les nutriments, ou en produisant une variété de substances antimicrobiennes entre autres, le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, l'acide formique, l'acétone, le d'acétyle et les bactériocines (OLIVEIRA et al., 2008 ; CHAMPOMIER-VERGES et al., 2010, MORANDI et al., 2013).

### **7. Test de sensibilité aux antibiotiques**

Dans cette étude, nos souches ont été analysées pour leurs sensibilité aux différents antibiotiques, en utilisant la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur gélose.

La tolérance des 09 isolats à 6 types d'antibiotiques est présenté dans le tableau 5. Tous les isolats sont notés résistant vis-à-vis les antibiotiques appartenant à la famille des bêta lactamine. Deux isolats seulement ont notés une sensibilité, la bactéries L14 est sensible à la fosfomycine et à l'imipenème, la bactérie L15 est sensible à l'imipenème.

**Tableau 5.-** Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques

Les souches	Antibiotique					
	P	OX	FF	CX	FC	IMP
L1	R	R	R	R	R	R
L3	R	R	R	R	R	R
L9	R	R	R	R	R	R
L10	R	R	R	R	R	R
L11	R	R	R	R	R	S
L12	R	R	R	R	R	R
L13	R	R	R	R	R	R
L14	R	R	R	R	S	S
L15	R	R	R	R	R	S

La sensibilité et la résistance des LAB à divers antibiotiques sont variables selon les espèces. En tant que caractéristique clé, un bon candidat probiotique ne doit pas posséder ou acquérir de gènes de résistance aux antibiotiques (Bazireh et al., 2020).

Il a été démontré que la plupart des souches LAB testées sont résistantes à la céfoxitine, à la bacitracine, à la gentamicine, à la furantoïne, à la kanamycine, au métronidazole, à la streptomycine, à la norfloxacine, à la sulfadiazine, à la teicoplanine, au triméthoprime et à la vancomycine (Danielsen & Wind, 2003) ce qui est conforme à nos résultats.

En raison de l'utilisation massive des antibiotiques, les probiotiques ont développé une résistance aux antibiotiques, ce qui pose un problème majeur à l'échelle mondiale, car ils peuvent transmettre des gènes de résistance à des agents pathogènes (Li et al., 2020). En fait d'un point de vue bénéfique, il est possible que certaines souches probiotiques qui ont une résistance innée aux antibiotiques puissent contribuer à la restauration du microbiote intestinal après un traitement antibiotique (Guo et al., 2013).

Selon Guo et al. (2013) certains aliments fermentés comme les produits laitiers, présentent une densité bactérienne importante de LAB qui constituent un vaste réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques, dont l'ingestion pourrait avoir un impact sur la présence, l'établissement et la dynamique des bactéries résistantes aux antibiotiques dans notre corps.

Conclusion

Et

Perspectives

Probiotiques sont très proche des êtres vivants, principalement l'Homme. Ainsi, pour ajouter un plus aux différents travaux déjà réalisé au monde des Probiotic, nous venons de proposer « Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des Probiotiques ».

Pendant plusieurs mois, nous avons exposé à une stratégie bien adaptée nous Permettant de réussir notre travail de recherche. .

Nous avons commencé notre étude et évaluer les activités biologiques des Bactéries isolées du blé dur fermenté (blé fermenté). Nous avons sélectionné 6 souches et 3 souches du complément alimentaire probiotique Evexia .

Le présent travail est restreint au effet antioxydant des probiotiques les résultats de cette analyse montrent Que la plupart des souches probiotiques testées ont montré un pouvoir antioxydant intéressant

Qui varie selon la souche.

Concernant les résultats de l'activité antibactérienne évaluée par la mesure des

Diamètres des zones d'inhibitions révèlent que la Montre meilleure inhibition contre Escherichia coli pour la souche (L15).

D'après les résultats enregistrés Les résultats ont montré que seulement 3 isolats LAB présentaient une activité inhibitrice vis-à-vis tous les agents pathogènes, tandis que la bactéries L15 a obtenu une activité positive contre une seule souches pathogène. L12 a noté la plus grande zone d'inhibition contre (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853) (6mm).

- La majorité des souches résiste aux conditions hostiles du tube digestif in vitro à savoir la Présence de sels biliaires à une dose de 0,3 %. Cette résistance s'est traduite par une Croissance des souches lors de leur incubation .

- Nos souches sont globalement résistantes aux antibiotiques .

Enfin, en perspective d'avenir, nous espérons vivement d'approfondir les données

Concernant les neuf souches que nous avons étudié :

- Elargir l'étude de résistance aux stresse gastro-intestinal
- Poursuivre l'étude d'antibio-résistance par des techniques de la génétique

- Approfondir l'étude probiotique par une étude *in vivo* à fin d'identifier l'effet Bénéfique exercé, et faire la relation avec les effets bénéfiques du Hamoum afin de Promouvoir les bienfaits de ce type de blé
- Et enfin d'utiliser ces souches dans le domaine pharmaceutique.

Références

Bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

**Ahire, J. J. (2013).** Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. 50(February), 26–34. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0244-0>

**Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., & Khan, F. H. (2020).** Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13145>

**Ahire, J.J.; Mokashe, N.U.; Patil, H.J.; Chaudhari, B.L. Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. *J. Food Sci. Technol.* 2013, 50, 26–34. [CrossRef] [PubMed]**

**Anas, M., Zinedine, B. A., Rizk, H. A., & Eddine, H. J. (2012).** Screening of autochthonous *Lactobacillus* species from Algerian raw goats' milk for the production of bacteriocin-like compounds against *Staphylococcus aureus*. 6(12), 2888–2898. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1208>

**Angelis, M. De, & Gobbetti, M. (2016).** *Lactobacillus* SPP.: General Characteristics q. September. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9>

### B

**Benmeziane, A., Bennai, L. (2016).** Sélection de souches de bactéries lactiques isolées De l'ben traditionnel à propriétés probiotiques (Mémoire de master, Université A. MIRA–Bejaia, Microbiologie.)

**Bolsega S, Basic M, Smoczek A, Buettner M, Eberl C, Ahrens D, Odum KA, Stecher B, Bleich A. Composition of the Intestinal Microbiota Determines the Outcome of Virus-Triggered Colitis in Mice. *Front Immunol.* 2019 Jul 23;10:1708. doi: 10.3389/fimmu.2019.01708. PMID: 31396223; PMCID: PMC6664081.**

**Bruno-Bárcena, J. M., Azcárate-Peril, M. A., Klaenhammer, T. R., & Hassan, H. M. (2005).** Marker-free chromosomal integration of the manganese superoxide dismutase gene (*sodA*) from *Streptococcus thermophilus* into *Lactobacillus gasseri*. *FEMS Microbiology Letters*, 246(1), 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.03.044>

**Birben, E., Sahiner, U., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense Mechanism in. *WAO Journal*, 22(96), 9–19. <https://waojournal.biomedcentral.com/track/pdf/10.1097/WOX.0b013e3182439613>

**Bolsega S, Basic M, Smoczek A, Buettner M, Eberl C, Ahrens D, Odum KA, Stecher B, Bleich A. Composition of the Intestinal Microbiota Determines the Outcome of Virus-Triggered Colitis in Mice. *Front Immunol.* 2019 Jul 23;10:1708. doi: 10.3389/fimmu.2019.01708. PMID: 31396223; PMCID: PMC6664081.**

**Basavaraju, B., & Jamil, K. (2014).** Identification and Characterization of Probiotics from New Sources. December.

**Begum, K., Kubra, K., Aowal, R., & Ema, N. J. (2024).** Characterization of Lactic Acid Bacteria ( LAB ) Isolated from Homemade Characterization of Lactic Acid Bacteria ( LAB ) Isolated from Homemade Fermented Kimchi in Bangladesh. January.  
<https://doi.org/10.3329/bpj.v27i1.71160>

**Bazireh, H., Shariati, P., Jamalkandi, S. A., & Ahmadi, A. (2020).** Isolation of Novel Probiotic Lactobacillus and Enterococcus Strains From Human Salivary and Fecal Sources. 11(December), .12–1  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.597946>

**BAUER, A. W., M.D., KIRBY, W. . M. . M. ., M.D., J. C. S., M.D., & M. TURCK, M.(1966) . .** ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING BY A STANDARDIZED SINGLE DISK METHOD. T HE AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY, 45(4), 493–496.

## C

**Clara, G., Suárez, A., Fernández-García, M., Margolles, A., Gueimonde, M., & Ruas- Madiedo, P. (2011).** Adhesion of bile-adapted Bifidobacterium strains to the HT29-MTX cell line is modified after sequential gastrointestinal challenge simulated in vitro using human gastric and duodenal juices. *Research in Microbiology*, 162(5), 514-519

**Chahrazed, B., Souhila, A., Amine, B., & Mohamed, Z. L. (2021).** ETUDE DU POTENTIEL PROBIOTIQUE DES BACTERIES LACTIQUES ISOLEES A PARTIR D ' Artemia sp. PROBIOTIC POTENTIAL OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM Artemia sp ETUDE DU POTENTIEL PROBIOTIQUE DES BACTERIES. October.

**Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2007).** Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology*, 45(4), 454-460.

## D

**DeVrese, M., & Marteau, P. R. (2007).** The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics Probioticsand Prebiotics: Effects on Diarrhea 1,2. J. Nutr,137(March), 803–811.  
<https://academic.oup.com/jn/article-abstract/137/3/803S/4664760>

**Dupont, C. (2010).** Diarrhées aiguës de l'enfant. *Journal dePediatrie et de Puericulture*, 23(2), 84–95.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpp.2010.03.008>

**Dupont, C. (2002).** Probiotiques et prébiotiques. *MedecineTherapeutiquePediatrie*, 5(1), 49–53.  
[https://doi.org/10.1016/s0987-7983\(01\)80015-3](https://doi.org/10.1016/s0987-7983(01)80015-3)

**Danielsen, M., & Wind, A. (2003).** Susceptibility of Lactobacillus spp . to antimicrobial agents. .11–1 ,82

**Düz, M., Doğan, Y. N. İ. L., & Doğan, İ. (2020).** Antioxidant activitiy of Lactobacillus plantarum ,Lactobacillus sake and Lactobacillus curvatus strains isolated from fermented Turkish Sucuk. 92, 1–13. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020200105>

## E

**Ezzariga, N. (2015).** Probiotiques : applications thérapeutiques et effets Secondaire, Thèse de doctorat. Université Mohammed V de rabat  
Faculté de médecine et de pharmacie -Rabat, 158p.

**Eshrati, M., Amadei, F., Staffer, S., Stremmel, W., & Tanaka, M. (2018).** Shear-Enhanced Dynamic Adhesion of *Lactobacillus rhamnosus* GG on Intestinal Epithelia: Correlative Effect of Protein Expression and Interface Mechanics. *Langmuir*, 35(2), 529-537

**Endo, H., Niioka, M., Kobayashi, N., Tanaka, M., & Watanabe, T. (2013).** Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: new insight into the probiotics for the gut-liver axis. *PloS one*, 8(5), 63388

**Ejtahed, H.S.; Mohtadi-Nia, J.; Homayouni-Rad, A.; Niafar, M.; Asghari-Jafarabadi, M.; Mofid, V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition* 2012, 28 539–543. [CrossRef] [PubMed]**

**Engesser, D. M., & Hammes, W. P. (1994).** Non-Heme Catalase Activity of Lactic Acid Bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 17(1), 11–19. [https://doi.org/10.1016/S0723-1-80025\(11\)2020](https://doi.org/10.1016/S0723-1-80025(11)2020)

## F

**Friese C, Yang J, M.-V. K. and M. M. (2019).** 乳鼠心肌提取HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 46(2), 248–256.<https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>.Defining

**Fijan, S. (2014).** Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(5), 4745–4767.<https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>

## G

**Guillemin, L. (2019).** Probiotiques : la représentation des médecins généralistes du Puy-de-Dôme : analyse qualitative par entretiens individuels To cite this version :HAL Id : dumas-02102216

**Gasbarrini, G., & Bonvicini, F. (2016).** Probiotics History.50(December), 116–119.<https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000697>

**Goa, T., Beyene, G., Mekonnen, M., & Gorems, K. (2022).** Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Milk Produced in Jimma Town , Southwest Ethiopia, and Evaluation of their Antimicrobial Activity against Selected Pathogenic Bacteria. 2022.

**Guo, Y., Pan, D., Sun, Y., Xin, L., Li, H., & Zeng, X. (2013).** Antioxidant activity of phosphorylated exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp . *lactis*. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 849–854. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.024>

**Gupta, V., & Garg, R. (2009).** ProBIotIcs. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27, 202–210.

**Gulcin, İ. (2020).** Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In Archives of Toxicology (Vol. 94, Issue3). <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>

## H

**Hyun DH, Lee M, Hattori N, Kubo SI, Mizuno Y, Halliwell B, Jenner P. 2002.** Effect of wild-type or mutant Parkin on oxidative damage, nitric oxide, antioxidant defenses, and the proteasome. *J Biol Chem* 277:28572-28577

**Hauguel, V., & Hauguel, V. (2021).** L'avenir du marché des probiotiques dans le domaine de la santé To cite this version : HAL Id : dumas-03161018 L'avenir du marché des probiotiques dans le domaine de la santé Sous la direction de Monsieur Philippe GORRY. L'Avenir Du Marché Des Probiotiques Dans Le Domaine de La Santé To Cite This Version : HAL Id : Dumas-03161018 L'Avenir Du Marché Des Probiotiques Dans Le Domaine de La Santé Sous La Direction de Monsieur Philippe GORRY

**Hamon, E. (2011).** Utilisation de l'analyse protéomique dans la caractérisation des Bactéries d'intérêt probiotique (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg, Chimie Analytique)

**Han, S., Lu, Y., Xie, J., Fei, Y., Zheng, G., Wang, Z., Liu, J., Lv, L., Ling, Z., Berglund, B., Yao, M., & Li, L. (2021).** Probiotic Gastrointestinal Transit and Colonization After Oral Administration: A Long Journey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>

**Humphrey, S. P., and Williamson, R. T. (2001).** A review of saliva: Normal Composition, flow, and function. *J. Prosthetic Dentistry* 85 (2), 162–169. Doi: /10.1067mpr.2001.113778

**Hauguel, V., & Hauguel, V. (2021).** L'avenir du marché des probiotiques dans le domaine de la santé To cite this version : HAL Id : dumas-03161018 L'avenir du marché des probiotiques dans le domaine de la santé Sous la direction de Monsieur Philippe GORRY. L'Avenir Du Marché Des Probiotiques Dans Le Domaine de La Santé To Cite This Version : HAL Id : Dumas-03161018 L'Avenir Du Marché Des Probiotiques Dans Le Domaine de La Santé Sous La Direction de Monsieur Philippe GORRY

**Ha, S., Zhang, X., & Yu, J. (2023).** Probiotics intervention in colorectal cancer: From traditional approaches to novel strategies. *Chinese Medical Journal*, 137(1), 8–9. <https://doi.org/10.1097/cm9.0000000000002955>

## I

**Iñiguez-Palomares, C., Pérez-Morales, R., & Acedo-Félix, E. (2007).** Evaluation of probiotic properties in Lactobacillus isolated from small intestine of piglets. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 49(3-4), 46-54.

**Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018).** First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.

**Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., & Salminen, S. (2001).** Probiotics: Effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 SUPPL.), 444–450. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.444s>

## K

**Ketvertis, K., Deramo, M., Merenstein, J. H., & Amico, F. D. (2005).** New research findings that are changing clinical practice Do probiotics reduce adult lactose intolerance? *THE JOURNAL OF FAMILY PRACTICE*, 613–620

**Kazanc, E., Demirci, T., & Öztürk-negi, H. İ. (2019).** Isolation , technological characterization and in vitro probiotic evaluation of *Lactococcus* strains from traditional Turkish skin bag Tulum cheeses. 1275–1287.

**Koc, M.; Taysi, S.; Buyukokuroglu, M.E.; Bakan, N.** Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *J. Radiat. Res.* 2003, 44, 211–215. [CrossRef] [PubMed]

**Kullisaar, T.; Zilmer, M.; Mikelsaar, M.; Vihalemm, T.; Annuk, H.; Kairane, C.; Kilk, A.** Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 2002, 72, 215–224. [CrossRef]

## L

**Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., & Wang, Q. (2012).** Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food chemistry*, 135(3), 1914-1919

**Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X., & Wang, J. (2020).** A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Research International*, 136(February), 109571. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109571>

**Lai, L., Chou, S., & Chao, W. (2001).** Studies on the Antioxidative Activities of Hsian-tsau) *Mesona procumbens* Hemsl ) Leaf Gum. 963–968.

**Lim, S.-M., & Dong-Soon. (2009).** Screening and Characterization of Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from from Korean Fermented Foods. July.

**Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-128

**LILLY DM, TOUJOURS RH.** PROBIOTIQUES : FACTEURS DE CROISSANCE PRODUITS PAR DES MICRO-ORGANISMES. *Science*. 12 février 1965;147(3659):747-8. Est ce que je : 10.1126/science.147.3659.747. PMID : 14242024.

**Leem, C., & Martirosyan, D. M. (2019).** The bioactive compounds of probiotic foods / supplements and their application in managing mental disorders. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 2(10), 206–220.

## M

**Markowiak, P., & Ślizewska, K. (2017).** Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*,9(9). <https://doi.org/10.3390/nu9091021>

**Marchal, L., Bourdon, J.L (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Edition Doin. Paris. 482 p

**Maxton, A., Benjamin, J. C., Guru, G. R., & Bailey, S. B. (2013).** Antibacterial activity of isolated human intestinal microbiota *Lactobacillus* strains against methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus*. April. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1517>

**Morin, M.-C. (2020).** Version of Record:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1957255720300444>.

**Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2019).** Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(16), 6463-6472

## N

**Novik, G., Sidarenka, A., Kiseleva, E., Kolomiets, E., & Dey, E. S. (2014).** Probiotics. In: Brar, S. K., Dhillon, G. S., & Soccol, C. R. (Eds.). *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals* (pp. 199-205). London, New York: Springer

## O

**O'Hara, A. M., and Shanahan, F. (2006).** The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 7 (7), 688–693. Doi: 10.1038/sj.embor.7400731

**Oak, S. J., & Jha, R. (2019).** The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(11), 1675–1683. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>

## P

**Parsan, E. (2007).** *Aid for Trade: A Diversity of Issues and Viewpoints.*

**Penner, L.A., Dovidion, J.F., J.A. Piliavin and D.A. Schroeder (2005)**  
Prosocial Behavior: multilevel perspectives. *Annual Review of Psychology*  
92-56:365

## R

**Reid, G., & Bruce, A. W. (2003).** Urogenital infections in women : can probiotics help ? 428–432.

**Rwubuzizi, R., Kim, H., Heinrich, W., & Dimitrov, S. (2023).** Heliyon Beneficial , safety , and antioxidant properties of lactic acid bacteria : A next step in their evaluation as potential probiotics. *Heliyon*, 9(4), e15610. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15610>

## S

**Smirnoff, N. (Ed.). (2008).** Antioxidants and reactive oxygen species in plants (pp. 169-177). Oxford: Blackwell.

**S. Lin, X.M. Yang, Y.R. Long, et al.,** Dietary supplementation with *Lactobacillus plantarum* modified gut microbiota, bile acid profile and glucose homeostasis in weaning piglets, *Brit. J. Nutr.* 124 (2020) 797-808. <https://doi.org/10.1017/S0007114520001774>

**Shahid, M., Rajoka, R., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., Shao, D., Xu, X., & Shi, J. (2017)** Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. 84. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.055>

**Smith, A. C., & Hussey, M. A. (2016).** Gram Stain Protocols. September 2005, 1–9.

**Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. 36.

**Sulmiyati, Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Maruddin, F. (2018).** The Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Indonesian Commercial Kefir Grain Malaysian Journal of Microbiology. December. <https://doi.org/10.21161/mjm.117317>

**Suvagiya, A. (2024).** Biochemical Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fruit Waste Biochemical Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fruit Waste. July .2022

**Samedi, L., & Charles, A. L. (2019).** Evaluation of Technological and Probiotic Abilities of Local Lactic Acid Bacteria. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 7(1), 9-19.

**Spyropoulos, B.G.; Misiakos, E.P.; Fotiadis, C.; Stoidis, C.** Antioxidant properties of probiotics and their protective effects in the pathogenesis of radiation-induced enteritis and colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2011, 56, 285–294. [CrossRef] [PubMed]

**Shafi, S., Ansari, H. R., Bahitham, W., & Aouabdi, S. (2019).** The Impact of Natural Antioxidants on the Regenerative Potential of Vascular Cells. *Frontiers In Cardiovascular Medicine*, 6(March). <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00028>

**Shah, P., Kumar, P., Gupta, M., Gadam, M., & Ganla, K. (2020).** Probiotics for woman's health focus on urogenital infections and reproductive outcomes. 9(2), 884–890. Shokryazdan, P., Jahromi, M. F., Liang, J. B., Wan, Y.,

**Shokryazdan, P., Faseleh, M., Boo, J., & Wan, Y. (2017).** Probiotics: From Isolation to Application Probiotics: From Isolation to Application. *Journal of the American College of Nutrition*, 0(0), 1–11. <https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1337529>

**Sierra, S., Lara-Villoslada, F., Sempere, L., Olivares, M., Boza, J., and Xaus, J. (2010)** Intestinal and immunological effects of daily oral administration of *Lactobacillus salivarius* CECT5713 to healthy adults. *Anaerobe* 16 (3), 195–200. doi: 10.1016/j.anaerobe.2010.02.001

## T

**Tahlaiti, H. (2019).** Etude des propriétés technologiques et inhibitrices Debactéries lactiques isolées à partir de blèfermentè, Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid ibn badis Mostaganem, faculté des Sciences de la nature et de la vie, p205

## V

**Vlková, E., Rada, V., Šmehilová, M., & Killer, J. (2008).** Auto-aggregation and co- aggregation ability in bifidobacteria and clostridia. *Folia microbiologica*, 53(3), 263-269

**Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (2003).** Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9-10), 895-904.

**Varela-López A, Battino M, Bullón P, Quiles JL. 2015.** Dietary antioxidants for chronic periodontitis prevention and its treatment. A review on current evidences from animal and human studies. *ARS Pharm* 56:131-140

## W

**Wang, Y.; Wu, Y.; Wang, Y.; Fu, A.; Gong, L.; Li, W.; Li, Y.** Bacillus amyloliquefaciens SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016, 101, 1–12. [CrossRef] [PubMed]

**Wang, A.N.; Yi, X.W.; Yu, H.F.; Dong, B.; Qiao, S.Y.** Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. *J. Appl. Microbiol.* 2009, 107, 1140–1148. [CrossRef] [PubMed]

**Weydert CJ, Cullen JJ. 2010.** Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc* 5:51-66

**Whittenbury, R. (1963).** Hydrogen Peroxide Formation and Catalase Activity in the Lactic Acid Bacteria. 1959, 13–26

**Williams, N. T. (2010).** Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449–458. <https://doi.org/10.2146/ajhp090168>

**Wilkins, T., & Sequoia, J. (2017).** Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *American Family Physician*, 96(3), 170–178.

**Wang, Y.; Wu, Y.; Wang, Y.; Xu, H.; Mei, X.; Yu, D.; Wang, Y.; Li, W.** Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients* 2017, 9, 521. <https://doi.org/10.3390/nu9050521>

**Wang, C. X., Nagata, S., Asahara, T., Yuki, N., Matsuda, K., Tsuji, H., et al. (2015).** Intestinal Microbiota Profiles of Healthy Pre-School and School-Age Children And Effects of Probiotic Supplementation. *Ann. Nutr. Metab.* 67 (4), 257–266. Doi: 10.1159/000441066

## Y

**Yao, M. F., Xie, J. J., Du, H. J., McClements, D. J., Xiao, H., and Li, L. J. (2020).**

Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19 (2), 857–874. Doi: 10.1111/1541-4337.12532

**Yersin S, Vonaesch P.** Small intestinal microbiota: from taxonomic composition to metabolism. *Trends Microbiol.* 2024 Mar 18:S0966-842X(24)00056-8. Doi: 10.1016/j.tim.2024.02.013. Epub ahead of print. PMID: 38503579

## Z

**Zommiti, M., Cambronel, M., Maillot, O., & Barreau, M. (2018).** Evaluation of Probiotic Properties and Safety of *Enterococcus faecium* Isolated From Artisanal Tunisian Meat“ Dried Ossban .” 9(August), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01685>

**Zago, M., Emanuela, M., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., & Giraffa, G.**

**(2011)**Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033–1040. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009>

# *Annexes*

## Annexes

---

### ➤ Annexes n°01

#### Composition du milieu MRS liquide (Man Rogosa et Sharpe)

Péptone bactériologique.....	10g
Extrait de viande.....	8,0g
Extrait autolytique de levure.....	4,0g
Glucose.....	20g
Tween.....	80g
Phosphate dipotassium.....	2,0g
Acétate de sodium.....	5,0g
Citrate d'ammonium.....	2,0g
Sulfate de magnésium.....	2,0g
Sulfate de manganèse.....	0,05g

Le milieu a subi une stérilisation à 121°C pendant 15min le a été ajusté à pH 6.2

#### Composition de bouillon M 17(g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu:

Tryptone: .....	2.5 (Biokar)- 5.0 (Difco)
Peptone pepsique de viande.....	:2.5(Biokar)
Peptone papainique de soja: .....	5.0
Extrait autolytique de levure: .....	2.5
Peptones.....	17.25 (Biolab)
Extrait de viande: .....	5.0
Lactose: .....	5.0 (Biokar- Biolab)
Sodium glycérophosphate: .....	19.0
Magnésium sulfate.....	0.25
Acide ascorbique.....	0.5

## Annexes

---

### Milieu MRS agar :

MRS déshydraté .....	68.24 g
Eau distillée .....	1000 ml

### Composition du milieu 17 agar :

M17 déshydraté .....	55.25 g
Eau distillée .....	1000 ml

#### ➤ Annexes n°02

### Préparation de 50 ml de la solution de DPPH

○ DPPH.....	0.002g
○ Ethanol pur .....	100 ml

#### ➤ Annexes n°03

### Préparation de 250 ml de solution de tampon PBS

○ KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,25g
○ NaCl .....	3,65g
○ Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,8g
○ Kcl.....	0,29 g

La solution a été ajustée à pH 7,4.

#### ➤ Annexes n°04

### Description et composition du complément alimentaire PROBIOTIC EVEXIA

PROBIOTIC EVAXIA est un complément alimentaire composé de 4 souches microbiennes probiotiques dosé à 109 UFC / g de poudre lyophilisée :

## Annexes

- *Lactobacillus rhamnorusus*
- *Lactoacillus paracasei*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium bifidum*



**Figure n°01** complément alimentaire PROBIOTIC EVEXIA

### ➤ Annexes n°05

**Tableau 6.-** Caractères macroscopiques et microscopiques des isolats

	Couleur	Surface	Taille	Contour	Aspect	Gram	Forme
L1	Jaunâtre	Lisse	Petite	Régulier	Crémeuse	+	Bacille
L3	Blanc	Rugueuse	Grosse	Irrégulier	Sèche	+	Bacille
L9	Jaunâtre	Lisse	Petite	Régulier	Crémeuse	+	Bacille
L10	Jaunâtre	Lisse	Moyenne	Régulier	Crémeuse	+	Coque
L11	Blanchâtre	Lisse	Grosse	Irrégulier	Crémeuse	+	Baille
L12	Jaunâtre	Lisse	Petit	Ondulé	Crémeuse	+	Bacille
L13	Beige	Lisse	Grosse	Régulier	Sèche	+	Coque bacille
L14	Beige	Rugueuse	Grosse	Irrégulier	Crémeuse	+	Coque
L15	Blanchâtre	Lisse	Grosse	Irrégulier	Crémeuse	+	Bacille

### ➤ Annexes n°06

## Annexes

---

**Tableau 7.-** Caractérisation biochimique des isolats lactiques

Test	L1	L2	L3	L6	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15
ONPG	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-
ADH	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LDC	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
ODC	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-
CIT	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
IND	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GEL	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
GLU	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
MAN	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-
RAH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+
MEL	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
AMY	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
ARA	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-

## Annexes

---

NO3-no2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
ZN	+	+		+	+	+	+	+	-	-	+
OXYDASE	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
CATALASE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

