

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم
التغذية

Mémoire de Fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Sciences de

La Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Thème

Isolement des bactéries lactiques productrices des
exopolysaccharides (EPS) et étude de leur relation avec le pouvoir
adhésif des isolats sélectionnés

Membres de Jury

Président : Pr. Sifour M.
Examinatrice : Dr. Ait Meddour A.
Encadrant : Mr. Khennouf T.



Présenté par

M^{elle} Boutaoui Maria
M^{elle} Kribeche Aicha
M^{elle} Mchekef Madjeda

Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chers parents qui m'ont tout donné, encouragement, soutiens, amour et qui ont sacrifiés leur vie pour ma réussite, J'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de

Ce qu'ils ont fait pour moi, Que Dieu leur prête bonheur et longue vie

À mes chers frères Ibrahim Moussab Mouad et Khaled

À mes copines dans ce travail Madjeda et Maria

À toute ma promotion microbiologie appliqué

2022

Et a toute ce qui m'a apportée de l'aide de près ou de loin

Je vous dis merci

Aicha

Dédicace

Je dédie ce succès à ma chère maman, car tu le mérites vraiment, et je te remercie beaucoup pour le soutien continu .et la patience et surtout ton amour pour moi.

Je remercie également papa qui m'a donné le courage

Je remercie aussi mon deuxième père Mohamed pour tous ce que vous avez fait pour moi

A ma grande mère et mon grand père

A mon frère Amin et à ma sœur Rahma,

A mes oncles maternel (Mouloud, Mohamed, Abd Nour et Abdhaffid) et tante

Nabila Je remercie aussi tous mes amis Samah Madjda et Aicha Sara Asma

Et les étudiantes de notre option microbiologie appliquée Et

tous ce qui j'aime

Maria

Dédicace

Tout d'abord, Dieu merci, qui m'aider à atteindre ce stade d'étude, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

Je dédie ce travail :

A ma chère mère : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. La source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner.

A mon cher père : aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mon très chère frère Farouk

et A ma belle-sœur Besma

A mes neveux : Yahya Yaser et Yazen

A mes Copines de ce travail Maria et Aicha

A toutes Ma promotion 2022

A tous mes amis sans exception et à tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Madjeda

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le Dieu puissant, qui nous a donné la patience, la volonté et le courage pour terminer ce travail.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à notre promoteur **Mr. Khennouf Tarek** donne les conseils et la supervision qui nous a fourni l'occasion et l'environnement propice pour effectuer cette étude.

Nos remerciements vont également aux membres du jury : **Pr. Mohamed Sifour** et **Dr. Amel Ait Meddour** qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble de nos enseignants qui ont contribué à notre formation tout au long de notre parcours pédagogique, que ce soit en licence ou en master.

Nous remercions aussi toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux	iii
Introduction	1
1 Bactéries lactiques	2
1.1 Caractéristiques principales	2
1.2 Taxonomie	2
1.3 Métabolisme	4
1.3.1 Voie homofermentaire.....	4
1.3.2 Voie hétérofermentaire.....	4
1.4 Applications des bactéries lactiques	5
1.4.1 Domaine industriel	5
1.4.2 Domaine thérapeutique	6
1.4.3 Domaine cosmétique	7
2 Exopolysaccharides.....	8
2.1 Exopolysaccharides microbiens	8
2.2 Exopolysaccharides bactériens	8
2.3 Exopolysaccharides des bactéries lactiques	8
2.4 Classification	9
2.4.1 Homopolysaccharides	9
2.5 Structure et composition.....	10
2.6 Applications des bactéries lactiques productrices d'EPS	11
2.6.1 Applications alimentaires	11
2.6.2 Applications médicales	11
3 Matériel et méthodes.....	13
3.1 Isolement et purification des bactéries lactiques	13
3.2 Production des exopolysaccharides	13
3.2.1 Screening des souches productrices d'exopolysaccharides	13
3.2.2 Extraction des EPS	13
3.2.3 Quantification des EPS.....	14
3.3 Propriétés de la surface cellulaire	14
3.3.1 Hydrophobicité.....	14
3.3.2 Autoagrégation	14
3.4 Adhésion aux cellules épithéliales.....	15
3.5 Traitement statistique	15

4	Résultats et discussion	16
4.1	Isolement et purification des bactéries lactiques	16
4.2	Production d'exopolysaccharides	16
4.2.1	Screening des souches productrices exopolysaccharides	16
4.2.2	Quantification d'Exopolysaccharides	17
4.3	Propriétés de la surface cellulaire	18
4.3.1	Hydrophobicité.....	18
4.3.2	Autoagrégation	20
4.4	Adhésion aux cellules épithéliales.....	21
4.5	Corrélation entre la production des EPS et les propriétés de surface des isolats	23
	Conclusion.....	28
	Références bibliographiques	29
	Annexes	36

Liste des abréviations

- ADN : acide désoxyribonucléique
- ADP : adénosine diphosphate
- ARNr16S : acide ribonucléique codant pour la petite sous-unité 16S de l'ARN ribosomal.
- ATP : adénosine triphosphate
- COVID-19 : Coronavirus disease(maladie à corona virus 2019)
- EPS : Exopolysaccharides
- FBP : Fructose-1,6-bisphosphate aldolase
- GRAS : Generally Regarded As Safe (généralement reconnu sans risques)
- HePS : Heteropolysaccharides
- HoPSs : Homopolysaccharides
- MRS : Man,de Rogosa et Sharp
- NAD : nicotinamide adenine dinucleotide
- NADH : nicotinamide adenine dinucleotide hydrogéné
- PCR : Polymérase Chain Reaction
- PTS : phosphotransférase phosphoénol pyruvate dépendant
- PBS : phosphate buffer saline
- Rpm : rotation par minute
- TCA : L'acide trichloracétique

Liste des figures

Figure 1 : Arbre phylogénique des bactéries lactiques	3
Figure 2 : Voies homofermentaire et hétérofermentaire de la dégradation du glucose	5
Figure 3 : Classification d'exopolysaccharides bactériens	10
Figure 4 : Observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram (×100). ...	16
Figure 5 : Exopolysaccharides produits par des bactéries lactiques sur la gélose hypersaccharosée.	17
Figure 6 : Adhésion des isolats bactériens aux cellules épithéliales (×100).....	23

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des isolats des bactéries lactiques.....	16
Tableau 2 : Production d'EPS dans le milieu MRS et MRS modifié.	17
Tableau 3 : Hydrophobicité des isolats cultivés sur bouillon MRS et MRS modifiée.....	19
Tableau 4 : Autoagrégation des isolats cultivés sur milieu MRS et MRS modifié.....	20
Tableau 5 : Corrélation entre l'hydrophobicité et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS.	24
Tableau 6 : Facteur de corrélation entre l'hydrophobicité et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS modifié.....	24
Tableau 7 : Facteur de corrélation entre l'autoagrégation et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS.	25
Tableau 8 : Facteur de corrélation entre l'autoagrégation et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS modifié.....	26

Les bactéries lactiques sont un groupe bien connu des micro-organismes traditionnellement associés aux fermentations alimentaires. Les bactéries lactiques sont traitées avec le statut généralement considéré comme sûr (GRAS) et se révèlent bénéfiques et apportent des améliorations à la santé de l'hôte (**Deepika et al., 2009**), parmi les principales caractéristiques de certaines bactéries lactiques, la production d'exopolysaccharides qui sont considérés comme des biopolymères synthétisés dans le milieu intracellulaire ou sécrétés dans le milieu extracellulaire (**Abarquero et al., 2022**), les EPS produits par les bactéries lactiques constituent un groupe diversifié de polysaccharides produits par nombreuses espèces, leur caractéristiques moléculaires et structurelles y compris les mécanismes de synthèse varient considérablement (**Jurášková et al., 2022**). Ces derniers temps plusieurs éléments de preuve ont montré que les EPS produits par les bactéries lactiques sont associées à nombreux rôles fonctionnels et des avantages pour la santé humaine et dans l'industrie (**Lynch et al., 2018**).

Ces biopolymères jouent un rôle important dans la réalisation de l'adhésion intestinale, qui est considérée comme un caractère de sélection des souches potentiellement probiotique, il a été démontré que les souches capables d'adhérer aux monocouches cellulaires présentent également des caractéristiques d'autoaggrégation et d'hydrophobicité déterminées par l'adhésion microbienne aux hydrocarbures. Par conséquent, ces deux traits peuvent être utilisés pour le dépistage préliminaire afin d'identifier les isolats potentiellement adhérents (**Bautista-Gallego et al., 2013**). Les Propriétés de la surface cellulaire, y compris l'hydrophobicité et l'autoaggrégation sont deux caractères indépendants considérés comme indicatif de l'adhésion des cellules probiotiques aux cellules épithéliales dans l'intestin humain. Ces caractéristiques une fois trouvés permettent d'inhiber les microorganismes pathogènes et rétablir l'équilibre écologique du tractus gastrointestinal (**Wang et al., 2021**).

L'objectif de notre travail est d'isoler et d'identifier des souches de bactéries lactiques productrices d'EPS à partir de lait de chèvre puis l'étude de la relation de quelques paramètres de surface bactérienne comme l'hydrophobicité l'autoaggrégation et l'adhésion avec la production d'EPS.

1.1 Caractéristiques principales

Le terme bactéries lactiques a été progressivement accepté au début du 20^{ème} siècle. Autres termes comme « acidification du lait » et les bactéries « productrices d'acide lactique » avait déjà été utilisés pour les mêmes bactéries provoquant une légère confusion, cela s'est terminé par la publication d'une monographie sur bactéries lactiques décrites par Orla-Jensen, 1919, un des travaux qui ont eu un grand impact sur la systématique des bactéries lactiques (**Khalid, 2011**). Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres, il regroupe plusieurs genres bactériens dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (**Badis et al., 2005**). Elles sont classées comme des bactéries à Gram positif qui ont une faible teneur en Guanine + Cytosine (G + C), sont tolérantes aux acides, non mobiles, ne forment pas de spores. Ces bactéries constituent une classe importante de microorganismes procaryotes utilisées dans l'alimentation, sont considérées comme non pathogènes et se voient attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes « Generally Recognized as Safe » (GRAS) (**Drouault et Corthier, 2001**).

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature grâce à leur bonne capacité d'adaptation, elles peuvent se retrouver à l'état libre dans l'environnement (eau, eaux usées, sol...etc.) (**Hasnaoui, 2022**). Elles sont ubiquitaires et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, les poissons, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001**).

Les bactéries lactiques sont généralement mésophiles mais peuvent se développer à des températures aussi basses à 5°C ou aussi élevées à 45°C, de même si la majorité des souches se développent à un pH de 4,0-4,5 certaines sont actives à un pH de 9,6 et d'autres à un pH de 3,2. Ces souches sont généralement faiblement protéolytiques et lipolytiques et ont besoin de sources de carbone organique, d'acides aminés, de bases puriques et pyrimidiques et de vitamines B pour se développer (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

1.2 Taxonomie

Les bactéries lactiques se trouvent dans deux phylums distincts, à savoir les Firmicutes et Actinobactéries. Au sein des Firmicutes, les genres les plus importants de bactéries lactiques sont *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Weissella*, qui appartiennent tous à l'ordre des Lactobacillales. Dans les Actinobactéries, on trouve le genre *Bifidobacterium* (**König et al., 2009**). L'approche conventionnelle de la classification des bactéries lactiques était basée sur des caractéristiques phénotypiques tel que la morphologie, la croissance à

différentes températures, le mode de fermentation de glucose, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (**Holzappel *et al.*, 2001**).

La caractérisation moléculaire est devenue un outil important pour la classification et l'identification des bactéries lactiques. La caractérisation moléculaire comprend l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD), le séquençage du gène de l'ARNr 16S, la prise d'empreintes digitales basée sur la PCR et les modèles de protéines solubles et la différenciation des espèces par test PCR multiplex en utilisant des amorces spécifiques. L'application de techniques de la biologie moléculaire comme la comparaison des séquences de l'ARNr16S est utile à la classification phylogénétique et à l'identification bactérienne puisqu'il est présent dans toutes les bactéries. Il comporte des séquences conservées (stables) communes à des unités de taxon élevés et des séquences variables spécifiques d'espèces (**Ayivi *et al.*, 2020**) (figure 1).

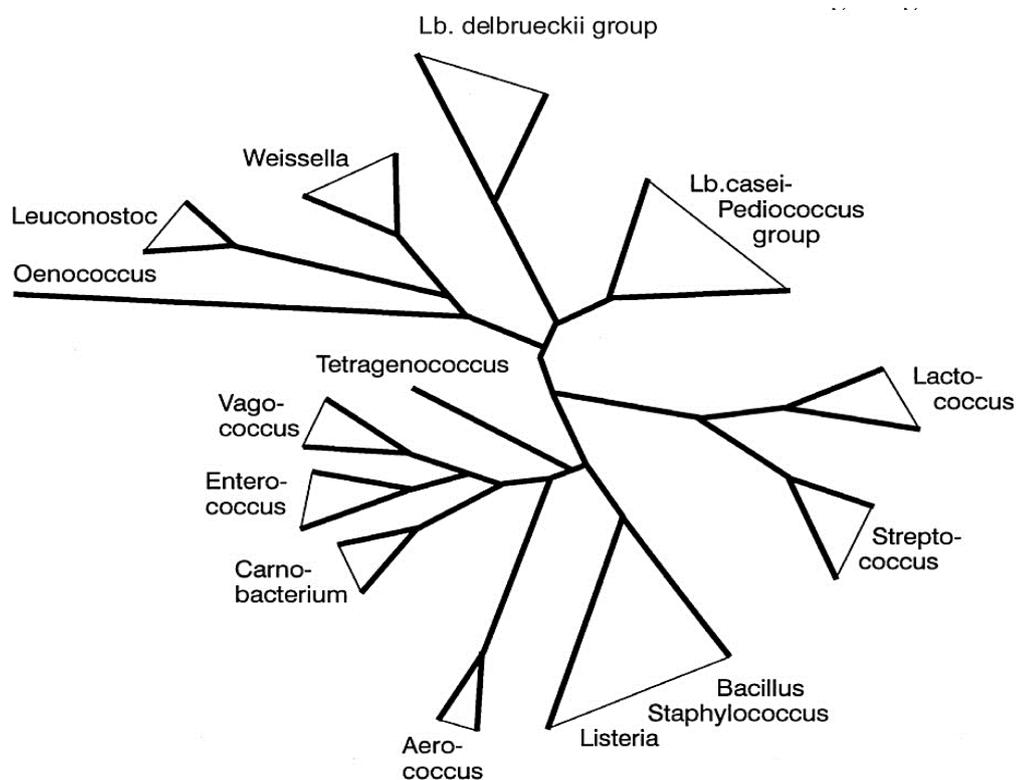


Figure 1 : Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (**Axelsson, 2004**).

Les changements majeurs dans la taxonomie bactérienne ont commencé avec la possibilité de déterminer les relations de nucléotides (contenu G + C) de l'ADN bactérien. A l'exception de la *Bifidobacterium*, les bactéries traditionnellement considérées comme bactéries lactiques ont un pourcentage molaire de G+C inférieur à 55%. Les bactéries lactiques d'importance dans les aliments appartiennent aux genres : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Oenococcus, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

Actuellement, la famille des *Lactobacillaceae* contient *Lactobacillus*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus* et 23 nouveaux genres : *Holzapfelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus* et *Lentilactobacillus* (**Zheng et al., 2020**).

1.3 Métabolisme

1.3.1 Voie homofermentaire

Les bactéries lactiques empruntent la glycolyse dans sa totalité (du glucose-6-phosphate jusqu'au pyruvate), est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*. La glycolyse conduit, en condition optimale de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose. Le métabolisme est qualifié d'homolactique lorsqu'au moins 90% du glucose consommé est converti en lactate. En condition de croissance non optimale (en limitation de carbone ou sur certains sucres), le métabolisme des bactéries homofermentaires peut se diversifier vers un métabolisme appelé mixte, avec production, en plus du lactate, de formiate, de CO₂, d'acétate et d'éthanol (**Loubiere et Coccagn-Bousquet, 2008**) (figure 2).

1.3.2 Voie hétérofermentaire

Certaines bactéries des genres *Leuconostoc*, *Lactobacillus* ne possèdent pas de fructose-1,6-bisphosphate (FBP) aldolase, ni de triose phosphate isomérase, et sont également dépourvues d'un système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant (PTS). Elles empruntent une voie hétérofermentaire qui conduit à la production d'un lactate, d'un éthanol, d'un CO₂ et d'un ATP par mole de glucose. Le glucose-6-phosphate emprunte la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose-5-phosphate. La D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique de la voie hétérofermentaire, catalyse la dissociation du xylulose-5-phosphate en acétyle phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate. L'acétyle phosphate est converti en éthanol ou acétate selon les besoins en ATP ou en NAD- et le glycéraldéhyde-3-phosphate rejoint la glycolyse pour être converti en acide lactique (**Loubiere et Coccagn-Bousquet, 2008**) (figure 2).

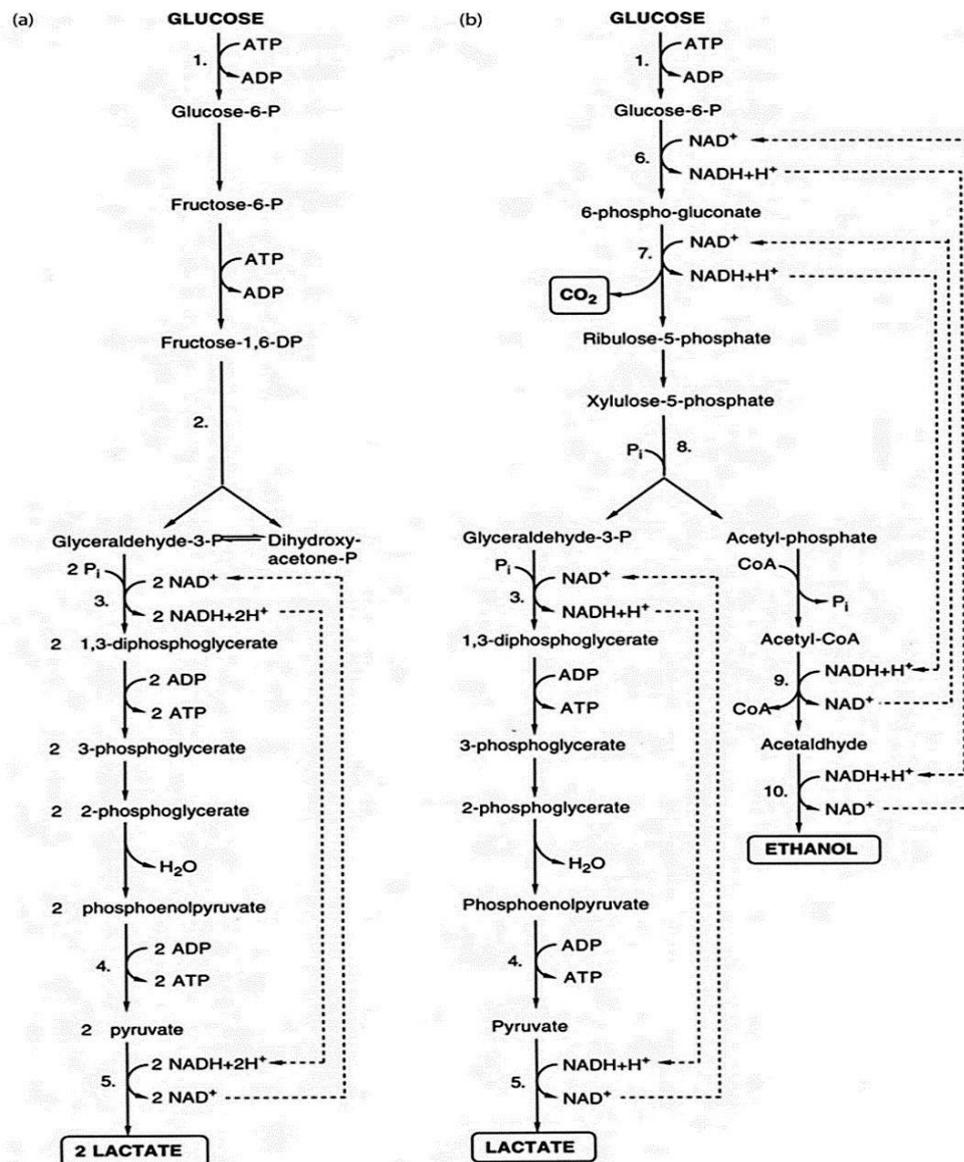


Figure 2 : Voies homofermentaire et hétérofermentaire de la dégradation du glucose (Wright et Axelsson, 2019)

1.4 Applications des bactéries lactiques

1.4.1 Domaine industriel

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers (yaourts et fromages) par exemple la fabrication du fromage est basée sur l'application de bactéries lactiques sous qui les donne un rôle très important, l'acidification rapide du lait par la production de l'acide lactique, avec la diminution conséquente du pH, affectant ainsi un certain nombre d'aspects du processus de la fabrication du fromage et finalement la composition et la qualité du fromage, ces bactéries interviennent également dans la fabrication des salaisons, du vin et des ensilages (Drider et Hervé, 2009).

L'action de la flore lactique sur la conservation d'un aliment est liée à l'abaissement du pH consécutif à la production d'acide lactique. Elles peuvent aussi produire de nombreux agents antibactériens tels que les bactériocines qui contribuent à inhiber la croissance de la flore indésirable. Enfin elles ont une action déterminante sur la qualité organoleptique des produits fermentés (texture et arôme par exemple) (**Drouault et Corthier, 2001**).

Ces bactéries produisent également plusieurs enzymes importantes pour l'industrie : glycosylase, peptidases, amylases et des vitamines comme le folate, B12, K2, la riboflavine et la thiamine (**Anshula Sharma et al., 2020**). Puisqu'elles sont utilisées en combinaison avec la levure est couramment utilisées pour fermenter les produits de céréales tels que la pâte, l'application des bactéries lactiques avec le contrôle simultané des facteurs qui affectent la croissance fongique peut aider à minimiser la détérioration des aliments (**Bangar et al., 2021**).

La sélection et l'ajout de nouveaux isolats de bactéries lactiques peuvent être la clé pour réduire l'utilisation de produits chimiques, améliorer les nutriments et prolonger la durée de conservation des produits de boulangerie. Les bactéries lactiques ont également la capacité de produire des métabolites de valeur industrielle ayant des applications potentielles en tant que nutraceutiques, pharmaceutiques, les produits chimiques de base, les arômes et les composés aromatiques, ainsi que dans les industries de fermentation et de traitement des déchets (**Anshula Sharma et al., 2020**).

1.4.2 Domaine thérapeutique

Selon le russe Metchnikoff les lactobacilles pouvaient réduire la putréfaction intestinale, en modifiant la microflore intestinale et ainsi prolonger la vie. Depuis, un grand nombre d'études sur l'effet potentiel des bactéries lactiques sur la santé ont été publiées (**Drouault et Corthier, 2001**). Les avantages potentiels de bactéries lactiques en tant que probiotique pour la santé humaine comprennent la régulation du système immunitaire, la réduction du taux de cholestérol, l'équilibre stable des micro-organismes intestinaux et la réduction du risque de tumeurs (**Ayivi et al., 2020**), également l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques. Certains probiotiques produisent des facteurs antibactériens qui les aident à supplanter les organismes indésirables, les bactériocines sont l'un de ces facteurs, ces petits peptides thermostables inhibent la croissance d'autres bactéries y compris les agents pathogènes entériques (**Gareau et al., 2010**).

Des preuves scientifiques étayent l'utilisation des bactéries lactiques dans le traitement des maladies cardiovasculaires. Il a été établi que l'utilisation des lactobacilles probiotiques et de sous-produits métaboliques confèrent potentiellement des avantages pour le cœur, ce qui concerne également la prévention et la thérapie de divers syndromes cardiaques ischémiques et la réduction du cholestérol sérique. Les bactéries lactiques sont considérées comme de puissants antidotes pour de nombreuses

infections virales. De plus, l'émergence d'infection virales telles que la récente COVID-19 a représenté un défi de taille pour les scientifiques qui s'efforcent de trouver un médicament puissant pour combattre cette menace mondiale. Une alternative naturelle de traitement des infections virales, telle que l'utilisation de bactéries lactiques est donc hautement justifiée car les médicaments antiviraux prophylactiques conventionnels sont souvent accompagnés de nombreux effets secondaires indésirables (**Ayivi *et al.*, 2020**).

1.4.3 Domaine cosmétique

Les lactates sont utilisés comme agents hydratants, émulsifiants et stabilisants dans de nombreux produits cosmétiques. Et ont été présentés comme améliorant la texture de la peau et sont utilisés dans les produits de soins de la peau. Dans de nombreux produits de soins de la peau, les acides lactiques sont utilisés pour hydrater la peau et dans les maladies de la peau (**Bangar *et al.*, 2022**). Le lactate d'éthyle est un ingrédient actif dans les traitements contre l'acné. L'acide lactique est également utile dans l'industrie cosmétique car il entre dans la composition de produits d'hygiène et d'esthétique (**Wee *et al.*, 2006**).

2.1 Exopolysaccharides microbiens

Les exopolysaccharides sont des biopolymères largement répandus dans la nature. Leur présence est bien documentée dans tous les microorganismes notamment les bactéries, ils sont impliqués de manière adéquate dans diverses fonctions biologiques. La cellule bactérienne peut synthétiser un certain nombre exopolysaccharides qui sont définis par leur emplacement par rapport à la cellule, certains sont intracellulaires situés dans le cytosol et utilisés comme source d'énergie, d'autres sont des constituants de la paroi cellulaire tels que le peptidoglycane et les acides téichoïques et un troisième groupe est situé à l'extérieur de la paroi cellulaire (Cerning, 1990).

2.2 Exopolysaccharides bactériens

Parmi les bactéries fortement productrices d'exopolysaccharide on cite des souches de *Leuconostoc mesenteroides* (productrice de dextrane) avec certaines souches de *Gluconobacter oxydans* (Naessens et al., 2005) *Xanthomonas campestris* (productrice de xanthane) (Palaniraj et Jayaraman, 2011) et *Sphingomonas paucimobilis* (productrice de gellane) (Collic-Jouault et al., 2004).

Les propionibactéries laitières sont producteurs très faibles d'EPS par rapport à d'autres microorganismes, c'est-à-dire que le rendement en EPS est de l'ordre du milligramme. Cela rend l'approche analytique et l'isolement des EPS à partir de milieu de fermentation par ces microorganismes complexe (Jan, 2014).

Divers criblages effectués sur des échantillons récupérés lors des campagnes océanographiques ont mis en évidence la découverte et la présence de nouvelles bactéries du genre *Alteromonas* productrices d'EPS qui se caractérise par des teneurs en acide uronique à haut poids et la souche *Vibrio diabolicus* productrice exopolysaccharides à haut poids moléculaire (Collic-Jouault et al., 2004).

Les EPS d'origine algale représentent une très grande variété de structure chimique à haute valeur moléculaire, leur production en réponse à des conditions défavorables est l'un des caractéristiques importantes de ces organismes, elles jouent des fonctions de protection et sont importantes pour leur survie dans les habitats stressés exposés aux radiations. Les microalgues de genre *Rhodella* et *Porphyridium* sont des microalgues rouges donnent des solutions très visqueuses à faible concentration en solution aqueuse (Cerning, 1990).

2.3 Exopolysaccharides des bactéries lactiques

Les exopolysaccharides sont des macromolécules extracellulaires excrétés sous forme de capsules étroitement liées ou de couches visqueuses faiblement attachées chez les bactéries lactiques. Ce sont

des composés de poids moléculaire élevé composés de glucides (résidus de sucre), substitués par des protéines, de l'ADN, des phospholipides et des substituant non glucidiques tels que l'acétate, le glycérol, pyruvate, sulfate, carboxylate, succinate et phosphates (**Angelin et Kavitha, 2020**). De nombreuses bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser des polysaccharides extracellulaires et de les excréter hors de la cellule sous forme soluble ou insoluble. Ils sont composés de métabolites secondaires produits lorsque certains microorganismes ne sont pas dans des conditions favorables de leur prolifération (**Dave et al., 2016**).

Les exopolysaccharides microbiens synthétisés par les bactéries lactiques jouent un rôle majeur dans la fabrication des produits laitiers fermentés. Il existe une grande variabilité dans la production en termes de composition chimique, de quantité, de taille moléculaire, de charge, la présence de chaînes latérales et de rigidité des moléculaires (**Jolly et al., 2002**).

De nombreuses espèces de bactéries lactiques sont capables de produire des EPS : les lactocoques, les leuconostokes, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* et *Lactococcus lactis ssp cremoris*, ainsi que les lactobacilles hétérofermentaires facultatif. Sont des bactéries utilisées dans la fabrication de divers laits fermentes (**Ruas-Madiedo et al., 2002**).

2.4 Classification

2.4.1 Homopolysaccharides

Les homopolysaccharides sont des polymères d'un seul monosaccharide, soit le glucose ou le fructose, et sont appelés glucans ou fructanes, respectivement. Ils sont synthétisés de manière extracellulaire à partir du saccharose par l'action d'une seule enzyme appelée glycansucrase (**Laubach et al., 2021**). Ils sont produits par un certain nombre de genres de bactéries lactiques, dont *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*. La production d'homopolysaccharides n'a pas été identifiée chez les bifidobactéries. Les homopolysaccharides peuvent être classés en fonction de leur caractère glucosidique ou fructosidique qui se produit dans le squelette du polymère. Le dextrane et le reuterane sont des α -glucanes HoPS, alors que le dextrane contient principalement des liaisons α -(1→6) entre les unités glycosylées, le reuterane contient principalement des liaisons α -(1→4). De même, l'inuline et le lévane sont des HoPS de fructane mais sont constitués de liaisons β -(2→1) et β -(2→6), respectivement (**Lynch et al., 2018**) (figure 3).

Hétéropolysaccharides

Les hétéropolysaccharides contiennent plus d'un type de monosaccharide dans la chaîne de polymère de sucre, typiquement le D-glucose, D-galactose, et L-rhamnose, mais d'autres monosaccharides (par exemple, le fructose, le fucose, le mannose, N-acétyl glucosides et acide glucuronique) et des fragments non glucidiques (par exemple, des groupes phosphate ou acétyle) peuvent être présents. En

général, le nombre de monosaccharides différents dans les HePS peut varier de deux à huit (Sanalibaba et Çakmak, 2016). Les hétéropolysaccharides sont produits par des membres des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, et *Bifidobacterium*. À l'inverse de HoPS, les Hétéropolysaccharides sont synthétisés de manière intracellulaire et polymérisés à l'extérieur de la cellule (Torino *et al.*, 2015) (Figure 3).

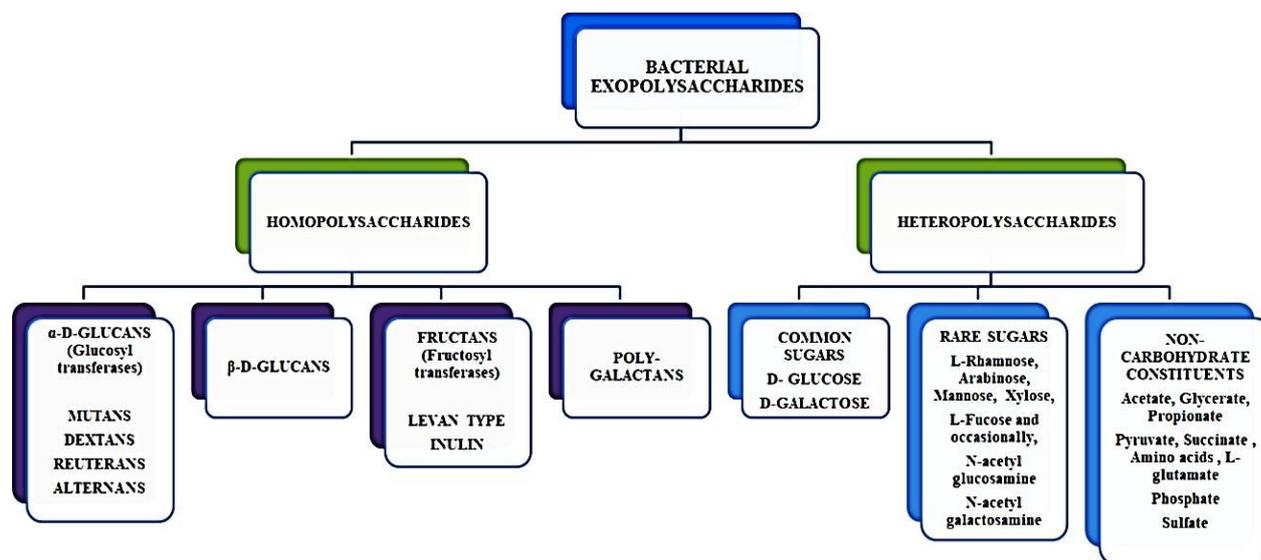


Figure 3 : Classification d'exopolysaccharides bactériens (Angelin et Kavitha, 2020)

2.5 Structure et composition

La composition chimique des EPS des bactéries lactiques a longtemps été controversée, tout d'abord ils ont étudié la nature des matières visqueuses de bactéries lactiques, qui se sont avérées être des matières de type protéique. Cependant certains chercheurs ont émis l'hypothèse que des glycoprotéines ou des complexes glucides-protéines étaient produits lors de la fermentation de lait, tandis que d'autres chercheurs ont isolé une matière exo-polymère qui est enrichi en hydrate de carbone après une purification ultérieure, finalement un accord est atteint que les exo-polymères de bactéries lactiques sont des polysaccharides composés d'éléments répétitifs et que de nombreuses catégories différentes sont sécrétées, cependant les compositions des résidus de monosaccharides sont très similaires. Fréquemment, D-galactose, D-glucose et L-rhamnose sont présents mais dans des proportions différentes (Ismail et Nampoothiri, 2010).

Les EPS sont largement variées en structures moléculaires et en masses moléculaires, la taille moléculaire, la charge et par conséquent leurs propriétés rhéologiques. Les EPS de bactéries lactiques sont des polymères très variés et peuvent être classés selon différents critères de classification, le plus utilisé est basé sur leur composition en monomères. Ils sont repliés de façon aléatoire, et donc leur

conformation n'est pas fixe, ce qui conduit à une structure tertiaire fluctuant aléatoirement (Sanalibaba et Çakmak, 2016).

2.6 Applications des bactéries lactiques productrices d'EPS

2.6.1 Applications alimentaires

Les EPS sont des bioproduits importants produits par certains genres de bactéries. Les EPS sont célèbres pour leurs propriétés d'amélioration de la durée de conservation, leurs capacités d'amélioration techno-fonctionnelle dans les industries alimentaires et laitières. Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques produisent des EPS par fermentation *in situ*, et ces EPS jouent un rôle important dans les propriétés organoleptiques des aliments (expériences sensorielles des attributs ou qualités distinctives des aliments). Il existe de nombreuses applications industrielles potentielles pour les EPS produits par les bactéries lactiques, telles que leur rôle en tant que gélifiants, épaississants, émulsifiants, stabilisateurs, agents de liaison à l'eau et agents viscosifiants, de plus, les EPS produits par les bactéries lactique ont un rôle potentiel dans la préparation de produits laitiers tels que le yaourt, le kéfir, les desserts à base de lait et le fromage et de produits à base de céréale. Bien que les quantités d'EPS produites par les bactéries lactiques soient relativement faibles, ils peuvent répondre à la demande des consommateurs pour des additifs et de graisses plus saines dans leurs produits laitiers, et ce, sans altérer les propriétés générales des produits (arôme, texture et saveur) (Daba *et al.*, 2021).

Les EPS peuvent texturer les produits à base de lait fermenté. Les EPS peuvent diminuer la synérèse, ce qui est également une propriété avantageuse dans les aliments laitiers, améliorer la structure et la texture des produits alimentaires, et également augmenter leur viscosité sans qu'il soit nécessaire d'ajouter des ingrédients. Plusieurs études ont indiqué que les EPS *in situ* ont influencé la qualité des produits de viande fermentée ce qui élargit sans aucun doute les possibilités de leur application, en particulier dans la viande à teneur réduite en matières grasses produits puisque leur consommation est actuellement en croissance. Par conséquent, plusieurs études ont montré que la production d'EPS par bactéries lactiques peut trouver une application pour améliorer la texture des produits carnés, en particulier ceux qui sont faibles en gras (Korcz et Varga, 2021).

2.6.2 Applications médicales

Il existe un intérêt croissant pour les bactéries lactiques produisant des EPS en raison de leurs effets prébiotiques anticoagulants, antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux, hypocholestérolémifiants et même anticancéreux. Les EPS de bactéries lactiques ont démontré un rôle fonctionnel essentiel dans la prévention de la coagulation sanguine. Une forte activité anticoagulante des EPS dans les dérivés sulfatés a été démontrée. Les EPS de bactéries lactiques peuvent être utilisées par les souches

probiotiques et ont la capacité de stimuler la croissance des bactéries lactiques et de maintenir l'équilibre de la microflore intestinale. De nombreuses recherches récentes ont été menées pour montrer la biodisponibilité antivirale des EPS. Une étude a démontré que les EPS extraits de *Lb. plantarum* LRCC5310 étaient capables de résister aux rotavirus humains *in vitro* (Nguyen *et al.*, 2020). Les EPS des bactéries lactiques ont plusieurs effets antimicrobiens contre les agents pathogènes. Elle peut exercer leur action antimicrobienne indirectement, soit par la stimulation des réponses immunitaire adaptative, ou en favorisant la croissance et la formation des biofilm, aussi ils sont adhérents aux cellules épithéliales intestinales, empêchant ainsi l'adhésion des agents pathogène et stimuler les cellules sous-jacentes du système immunitaire (Werning *et al.*, 2022).

Une autre fonction de promotion de la santé des EPS produits par les bactéries lactiques est la réduction du cholestérol, dans un test *in vitro*, les EPS produits par *Lb. plantarum* BR2 montrent des propriétés de réduction du cholestérol, sur la base d'expériences animales et *in vitro*, plusieurs hypothèses pour expliquer le mécanisme de réduction du cholestérol des EPS ont été proposées, notamment l'élimination de la bile, l'anabolisme et la conversion du cholestérol, les effets de coprécipitation...etc. Les EPS sont considérés comme des candidats prometteurs dans la production des médicaments non toxiques ayant de puissants effets antioxydants *in vivo* et *in vitro*. Ils sont utilisés dans diverses applications pharmaceutiques et médicales, telles que l'administration de médicaments et d'adjuvants de vaccins (Erginkaya et Konuray-Altun, 2022).

3.1 Isolement et purification des bactéries lactiques

Différents isolats bactériens ont été sélectionnés à partir du lait de la chèvre sur gélose MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant quelques gouttes des dilutions préparées à la surface de milieu suivi d'un étalement, l'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h. La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur le milieu MRS avec une incubation 37°C pendant 24h jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes. L'identification des isolats purifiés est établie pour les bactéries lactiques en se basant sur des caractères morphologiques et biochimiques tel que la coloration de gram et test catalase (**Idoui et Karam, 2008; Idoui et al., 2009**).

Les caractéristiques microscopiques des bactéries ont été réalisées par coloration de Gram pour sélectionner les bactéries à Gram positif. En marquant leur morphologie et leur mode de groupement (**Bouzaid et al., 2012**).

Le test de détection de la catalase dans une souche bactérienne, consiste à déposer une goutte d'H₂O₂ (eau oxygénée) sur une lame et ajouter à l'aide de l'anse de platine une colonie prélevée du milieu gélosé. Le résultat est immédiat et se caractérise par un dégagement gazeux (O₂) (**Reiner, 2010**).

3.2 Production des exopolysaccharides

3.2.1 Screening des souches productrices d'exopolysaccharides

Le screening des isolats productrices d'exopolysaccharides est réalisé sur deux milieux différents, la gélose hypersaccharosée et le milieu MRS modifié (saccharosé) (annexes). Les cultures bactériennes sont ensemencées à la surface des boîtes par stries et incubées à 37°C pendant 24 h, à la fin de l'incubation les isolats productrices d'EPS ont été déterminée par l'aspect visuel (**Abdellah et al., 2014**).

3.2.2 Extraction des EPS

L'acide trichloracétique (TCA) a été ajouté à la culture à une concentration finale de 4% (p/v) et le mélange a été agité et laisser pendant 30 min à température ambiante, les cellules et les protéines sont précipitées et éliminées par centrifugation (Hettich zentrifugen EBA 20) à 5000 rpm pendant 15min. Les EPS brut ont été précipité par l'addition 2 volume d'éthanol froid à 1 volume de surnageant et laissée à 4°C pendant 24h, puis ils sont récupérés et recueilli par une centrifugation (Hettich zentrifugen EBA 20) à 5000rpm pendant 20 min et le culota été dissous dans 3 ml de l'eau distillé (**Lai et al., 2014**).

3.2.3 Quantification des EPS

La quantité produite d'EPS a été estimée par la méthode de phénol-acide sulfurique en utilisant le glucose comme étalon. En bref, dans des tubes en verre très propres, on ajoute : 800 µl d'échantillon (solution d'EPS dialysée) avec 40 µl de phénol (80%), mélanger au vortex puis 2 ml d'acide sulfurique sont ajoutées, le tout est mélangé au vortex puis incubé à l'obscurité pendant 30 min. Un blanc est préparé en utilisant 800 µl d'eau distillée à la place de l'échantillon. Lire l'absorbance à 490 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) d'EPS par litre (**DuBois *et al.*, 1956**). Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant différentes concentrations de glucose (annexe).

3.3 Propriétés de la surface cellulaire

3.3.1 Hydrophobicité

L'hydrophobicité a été déterminée selon la méthode décrite par **Iyer *et al.*, (2010)**. Après la croissance des isolats dans les bouillons MRS et bouillons MRS modifiés (bouillon MRS saccharosé) à une température de 37°C pendant 24h. Le culot a été récolté par centrifugation (Hettich zentrifugen EBA 20) à 6000 rpm pendant 5 min, lavé deux fois et remis en suspension dans 1,2 ml de tampon PBS (pH 6,5). L'absorbance initiale (DO initiale) de la suspension cellulaire a été ajustée à environ 1.0 à 450 nm. À 3 ml de suspension bactérienne, 0,6 ml de xylène a été ajouté lentement. La suspension a été pré-incubée à 37°C pendant 10 min suivie d'un vortex pendant 2 min, laisser reposer pendant 15 minutes, la phase aqueuse a été soigneusement prise avec une micropipette et l'absorbance finale (DO finale) a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Analytikjena). La diminution de l'absorbance a été prise comme mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (%H) calculée par l'équation suivante :

$$\text{Hydrophobicité (\%)} = ((\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}}) / \text{DO}_{\text{initiale}}) \times 100$$

Où DO initial et DO finale sont l'absorbance avant et après l'addition du xylène.

3.3.2 Autoagrégation

L'autoagrégation a été évaluée selon la technique décrite par **Juárez Tomás *et al.*, (2005)**. En bref, après la croissance des isolats dans les bouillons MRS et bouillons MRS modifié (bouillon MRS saccharosé) à une température de 37°C pendant 24h. La culture a été centrifugée (Hettich zentrifugen EBA 20) (6000rpm/15min), lavée avec du tampon PBS et remis en suspension dans le même tampon, puis la culture est ajustée à une DO de 0,6 à 600 nm. La variation de DO à 600nm des suspensions cellulaires a été suivie pendant 4h et 18h. Le pourcentage d'autoagrégation a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Autoagrégation (\%)} = ((\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}}) / \text{DO}_{\text{initiale}}) \times 100$$

Où DO initiale est la DO au temps initial (t=0), et DO finale est la DO après 4h et après 18h.

3.4 Adhésion aux cellules épithéliales

Des segments de l'iléon provenant du jabot de poulet ont été ouverts et lavés avec phosphate-buffer saline stérilisé (PBS, pH 7,2), maintenu dans la PBS à 4°C pendant 30 min pour éliminer le mucus de surface et ensuite lavée plusieurs fois avec du PBS. Les cellules épithéliales ont été raclées dans du PBS stérilisé. Puis elles ont été examinées au microscope pour vérifier que tous les contaminants ont été éliminés. Les cultures jeunes de bactérie lactique ont été centrifugées (Hettich zentrifugen EBA 20) et le culot cellulaire a été remis en suspension jusqu'à environ 1×10^8 cellules/ml dans PBS (pH 7,2). Un millilitre de cette suspension bactérienne a été mélangée avec 1 ml de la suspension de cellules épithéliales. Le mélange incubé à 37°C pendant 30 minutes. L'adhésion a été observée par microscopie (grossissement $\times 100$) après avoir été colorée avec le violet de Gentiane. Les souches isolées présentant une efficacité d'adhésion d'au moins 15 bactéries par cellule ont été considérées comme positive. Au moins 10 cellules épithéliales ont été examinées par analyse (**Lin et al., 2007**).

3.5 Traitement statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=3) et le facteur de corrélation est calculé en utilisant le logiciel SPSS 22 (version d'évaluations), le facteur de corrélation varié entre (-1) et (1).

4.1 Isolement et purification des bactéries lactiques

Dix-neuf isolats ont été sélectionnés et obtenus à partir de lait de la chèvre. L'observation microscopique indique que les cellules sont des bacilles à gram positif (Figure 4), et catalase négative donc sont des isolats appartenant au groupe des bactéries lactiques (Bouacha *et al.*, 2021).

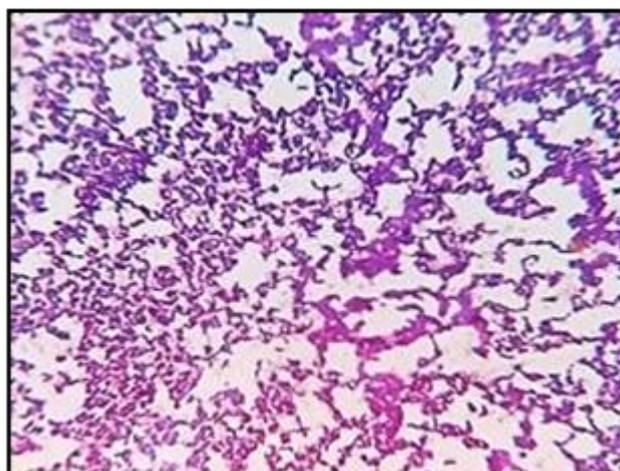


Figure 4 : Observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram ($\times 100$).

Tableau 1 : Caractéristiques des isolats des bactéries lactiques.

Isolats	Coloration de gram	Test de catalase	Morphologie
Isolat 1	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 5	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 9	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 16	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 17	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 18	Gram+	Catalase-	Bacille
Isolat 19	Gram+	Catalase-	Bacille

4.2 Production d'exopolysaccharides

4.2.1 Screening des souches productrices exopolysaccharides

À partir de dix-neuf isolats sélectionnés, seulement sept bactéries sont présentées sous forme de colonies blanchâtres à jaunâtres et visqueuses sur la gélose hypersaccharosée, ce qui indique la capacité de la production des EPS par ces bactéries (Figure 5).





Figure 5 : Exopolysaccharides produits par des bactéries lactiques sur la gélose hypersaccharosée.

4.2.2 Quantification d'Exopolysaccharides

Dans notre étude, la quantité d'EPS produit varie légèrement d'un isolat à l'autre. Les quantités produites d'EPS par les septes isolatsensemencées sur milieu MRS sont entre 14,20 et 16,29 mg/l. L'isolat 19 était le meilleur isolat producteur d'EPS avec une production maximale de 16,29 mg/l, l'isolat 18 est la faible productrice d'EPS (14,20 mg/l). Sur MRS modifié les quantités d'EPS produites sont entre 15,10 et 16,77 mg/l, où l'isolat 17 est la meilleure productrice d'EPS (16,77 mg/l) (Tableau 2). Les résultats montrent que tous les isolats sont capables de produire les EPS mais avec des proportions différentes.

Tableau 2 : Production d'EPS dans le milieu MRS et MRS modifié¹.

Isolats	Pourcentages des EPS (%)	
	EPS MRS (mg/l)	EPS MRSM ¹ (mg/l)
Isolat 1	15,73 ± 0,23	15,47 ± 0,00
Isolat 5	15,70 ± 0,06	16,34 ± 0,30
Isolat 9	15,61 ± 0,26	15,61 ± 0,26
Isolat 16	15,89 ± 0,93	15,10 ± 0,04
Isolat 17	15,60 ± 0,44	16,77 ± 0,23
Isolat 18	14,20 ± 0,82	15,35 ± 0,28
Isolat 19	16,29 ± 0,38	16,59 ± 0,16

¹(MRSM), MRS modifiée : MRS contenant du saccharose au lieu du glucose.

Ce taux de production se rapproche à des données d'une étude réalisée par **Korczyk et al., (2021)**, qui ont trouvé que la quantité produite par *Streptococcus thermophilus* est de 36,6 mg/l. Cependant **Buksa et al., (2021)** ont obtenu une production importante d'EPS atteignant 47000 mg/l par des

souches de *Weissella confusa* et *Weissella cibariace* taux de production est très supérieur à celui obtenu dans notre étude. On peut dire que la production des EPS diffère d'une espèce à l'autre ou même d'une souche à l'autre chez la même espèce. Nos résultats montrent que dans les deux milieux différents (MRS et MRSM) on a des taux de production d'EPS presque semblable, donc il n'y a pas un grand effet de la source de carbone des deux milieux (glucose et saccharose) sur la production des EPS par les sept isolats. Ce taux de production peut dépendre de la composition de milieu ou des conditions de culture dans lesquels ces bactéries croissent comme la température, temps d'incubation, pH...etc., mais aussi peut être dû aux souches qui ne sont pas hyper productrices (**Yuksekdag et Aslim, 2008**). L'influence de type de source de carbone sur la production d'EPS a été confirmée par (**Shene et al., 2008**), qui trouve que le taux de production d'EPS par la souche *Streptococcus thermophilus* Th4 dans le milieu saccharose est plus élevé par un taux de 117 mg/ml tandis que le taux de production dans le milieu glucosé est de 76 mg/ml. Aussi (**Yuksekdag et Aslim, 2008**), trouve que la souche *Streptococcus thermophilus* (w22) utilise le glucose comme la source de carbone la plus efficace pour la production d'EPS par un taux de 120 mg/l par rapport au saccharose 34 mg/l. Des observations ont été faites par (**Kanmani et al., 2011**), que la quantité d'EPS produite par *Streptococcus phocae* sont proches en utilisant le glucose et le saccharose comme source de carbone (8260 mg/l, 8400 mg/l respectivement).

4.3 Propriétés de la surface cellulaire

4.3.1 Hydrophobicité

À partir des résultats mentionnés dans le Tableau 3 on remarque que le pourcentage d'hydrophobicité des sept isolats cultivés dans le milieu MRS modifié varie entre 0.00 et 8.30% dont l'isolat 9 avait une hydrophobicité de surface cellulaire la plus élevée (8.30%) par rapport aux autres isolats, Alors que dans le milieu MRS les pourcentages d'hydrophobicité varient entre 2.56% et 14.61% où l'hydrophobicité la plus élevée est enregistrée chez l'isolat 16 (14.61%).

Selon **Burgain et al., (2014)**, « une bactérie est hydrophobe lorsque le pourcentage d'hydrophobicité est supérieur à 50% et hydrophile lorsqu'il est inférieur à 20% et moyennement hydrophobe si le pourcentage est compris entre ces deux valeurs » donc nos isolats sélectionnés ne sont pas hydrophobes.

Les bactéries lactiques hydrophobes adhèrent mieux aux cellules épithéliales intestinales, comme les cellules bactériennes modifient leur fluidité de la membrane dans diverses conditions environnementales, les conditions de croissance peuvent avoir un effet profond sur la composition des acides gras de leurs lipides et par la suite sur la capacité d'hydrophobicité et d'adhésion des souches bactériennes (**Karimi Torshizi et al., 2008**). Les probiotiques efficaces doivent être capables

de coloniser le tube digestif pour fournir une protection contre les microbes pathogènes et confèrent leurs effets bénéfiques. Les bactéries lactiques avec des surfaces de cellules hydrophobes peuvent le faire lorsqu'ils se fixent au tractus gastro-intestinal de l'hôte. L'hydrophobicité de surface cellulaire élevée de la bactérie pourrait indiquer son potentiel pour se fixer sur les cellules épithéliales de l'intestin et résister au mouvement de tube digestif (Melia *et al.*, 2018).

Tableau 3 : Hydrophobicité des isolats cultivés sur bouillon MRS et MRS modifiée¹

Isolats	Pourcentage d'hydrophobicité (%)	
	Milieu MRS	Milieu MRS modifié ¹
Isolat 1	6,01 ± 0,68	7,11 ± 1,49
Isolat 5	5,99 ± 0,67	4,41 ± 0,84
Isolat 9	2,56 ± 2,06	8,30 ± 0,57
Isolat 16	14,61 ± 2,08	7,32 ± 1,74
Isolat 17	9,73 ± 2,21	2,63 ± 1,10
Isolat 18	11,16 ± 3,71	6,73 ± 1,65
Isolat 19	10,48 ± 1,08	0,00

¹MRS modifié : MRS contenant du saccharose au lieu du glucose.

Ces résultats sont en accord avec les résultats de Meryandini *et al.*, (2020), qui indiquaient que les isolats de bactéries lactiques (*Lactobacillus* MA15, MC1 et MC7) et *L. rhamnosus* R23 ne sont pas hydrophobes. Contrairement à l'étude menée par Sadeghi *et al.*, (2022), où ils ont montré que des souches de *L. plantarum* S57 (67,4±1,3%), *L. plantarum* S70 (63,9±1,4%) et *L. casei* S81(62,8 ± 1,6 %) présentait des propriétés d'hydrophobicité remarquables, faisant de ces souches des candidats intéressants pour des applications probiotiques. Alors que, les souches *Enterococcus durans* S10 et *L. brevis* S105 ont montré les taux d'hydrophobicité cellulaire les plus faibles avec des pourcentages de 2,2 ± 0,9 % et 3,1 ± 1,4 % respectivement. Du même Anjali Sharma *et al.*, (2021), ont démontré que les souches *Enterococcus lactis* cam 14, *L. plantarum* cam15 et *Lactococcus lactis* cam12 ont une forte hydrophobicité avec le xylène.

D'une autre part les résultats obtenus (Tableau 3) montrent que la source de carbone exerce une influence remarquable sur l'hydrophobicité des sept isolats des bactéries lactiques et que le glucose est la meilleure source de carbone par rapport au saccharose.

Selon Branger, (2007), « La variation de l'hydrophobie de surface est due à la capacité des sucres à capturer plus ou moins d'eau et à interagir ou non avec les sites lectiniques des bactéries. Cette fonctionnalisation permet de former une couche d'eau plus ou moins épaisse, limitant l'adhérence des

bactéries ». De plus, l'hydrophobie des bactéries peut varier entre les espèces selon l'état physiologique des cellules et la composition des milieux de culture surtout que, la nature et la concentration adéquates de la source de carbone dans le milieu peuvent moduler l'hydrophobie des souches (Nwanyanwu *et al.*, 2012).

Des études similaires réalisées par Kimoto-Nira *et al.*, (2010), ont montré que le pourcentage d'hydrophobicité de la souche *Lactococcus lactis* G50 était plus élevé en présence du glucose (4,20%) par rapport au saccharose (2,80 %).

D'autre part, Hernandez-Hernandez *et al.*, (2012), ont trouvé que le pourcentage d'hydrophobicité pour les souches de *Lactobacillus* (*L. bulgaricus* ATCC7517, *L. casei* ATCC11578, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ATCC4797, *L. plantarum* ATCC8014, *L. plantarum* WCFS1 et *L. sakei* 23K) atteint 80,09% dans le milieu riche en saccharose, alors que dans le milieu riche en glucose, il ne dépasse pas 46,76%.

4.3.2 Autoagrégation

Le tableau 4 montre les résultats d'autoagrégation des isolats. On remarque que le pourcentage d'autoagrégation est relativement faible et compris entre 0 et 41,15% sur le milieu MRS pendant 4h d'incubation (Tableau 4), la valeur de l'isolat 16 est la valeur maximale ($41,15 \pm 2,66\%$) par rapport aux isolats 17, 18 et 19. Donc les isolats ont un faible pourcentage d'autoagrégation ($< 20\%$) selon les critères décrits par Rodríguez-Sánchez *et al.*, (2021). Après 18h d'incubation, La plupart des isolats ont montré un pourcentage plus élevé à celui de 4h d'incubation, pour la majorité des cas le pourcentage est supérieur à $>20\%$.

Tableau 4 : Autoagrégation des isolats cultivés sur milieu MRS et MRS modifié¹

Isolats	Pourcentage de l'autoagrégation (%)			
	MRS (4h)	MRS modifié (4h)	MRS (18h)	MRS modifié ¹ (18h)
Isolat 1	18,77 ± 2,05	29,13 ± 7,19	70,88 ± 2,01	77,59 ± 3,49
Isolat 5	22,10 ± 4,78	29,54 ± 4,36	69,34 ± 1,88	79,07 ± 4,36
Isolat 9	18,56 ± 6,40	27,18 ± 4,36	70,81 ± 1,26	84,03 ± 2,26
Isolat 16	41,15 ± 2,66	26,24 ± 5,75	54,42 ± 1,44	81,09 ± 1,12
Isolat 17	2,61 ± 2,96	05,39 ± 3,02	18,32 ± 2,28	25,55 ± 0,27
Isolat 18	0,00	27,89 ± 6,10	53,49 ± 3,92	78,85 ± 2,04
Isolat 19	0,00	02,13 ± 0,60	18,98 ± 4,37	7,69

¹MRS modifié : MRS contenant du saccharose au lieu du glucose

Des valeurs d'autoagrégation élevées ont été observées après la culture des isolats sur MRS modifié, les meilleures valeurs sont enregistrées avec les isolats 1, 5, 9, 16 et 18 avec un pourcentage supérieur à 20%. Cependant les isolats 17 et 19 présentent un faible pourcentage (<10%). Après 18h d'incubation on observe que tous les isolats présentent un pourcentage supérieur à 20%, à l'exception de l'isolat 19 (Tableau 4).

Les résultats ont montré que le temps est un paramètre important et peut influencer l'autoagrégation des isolats. La capacité d'autoagrégation est considérée comme étant une propriété importante pour la sélection des isolats bactérienne à utiliser comme probiotiques, pour pouvoir coloniser la muqueuse épithéliale de l'hôte et exercer leurs effets. Nos résultats indiquent que dans certaines conditions de culture comme (temps, la nature du milieu), les isolats présentent des valeurs d'autoagrégation variable.

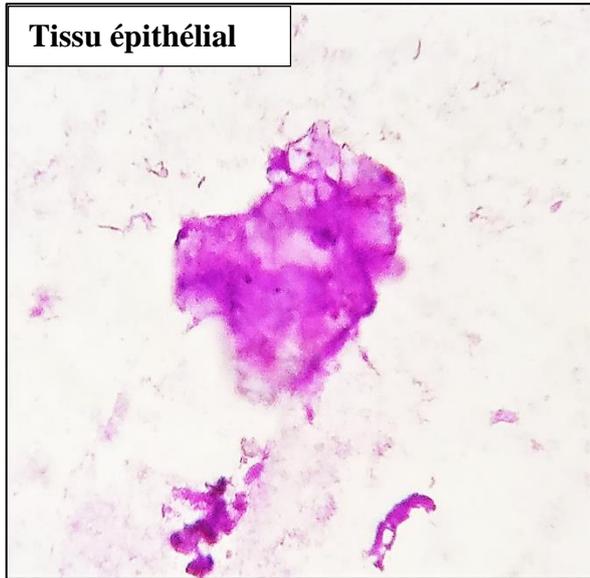
Les mêmes résultats sont trouvés par **Breyer et al., (2021)**, où ils sont isolés deux souches de bactéries lactiques : *Lb. rhamnosus* LB1.5 et *Lb. Paracasei* LB6.4 avec un taux d'autoagrégation relativement faibles, inférieure à 33.2% et 19.40% respectivement après 4h incubation. Contrairement, **Juárez Tomás et al., (2005)** ont trouvés une bonne autoagrégation de souche de *Lb. Johnsonii* CRL1294 avec un pourcentage supérieur à 60%. Du même **Suwannaphan, (2021)** a trouvé également une bonne agrégation des souches d'*Enterococcus thailandicus* et de *Lb. fermentum* où les pourcentages étaient compris entre 93,40 et 94,83%, 94,57 et 95,01% respectivement. Globalement, nous pouvons dire que le paramètre d'autoagrégation des bactéries lactiques varie d'une souche à l'autre et peut être influencé par le temps.

Nos résultats montrent également que les pourcentages d'autoaggrégation sont différents entre les deux milieux de culture (MRS et MRS modifié) avec un meilleur pourcentage observé sur le milieu saccharosé. Ces résultats sont en accord à celles trouvés par **Tareb et al., (2013)**, qui montrent que le pourcentage d'autoaggrégation de la souche *L. farciminis* 3699 était plus élevée en présence du saccharose (49%) par rapport au glucose (30%). **Tareb et al., (2013)** ont expliqué ces résultats « Nos données suggèrent que l'autoagrégation de *L. farciminis* 3699 peut être dû à la présence d'interactions carbohydate–lectine et/ou des composants protéiques présents à la surface ».

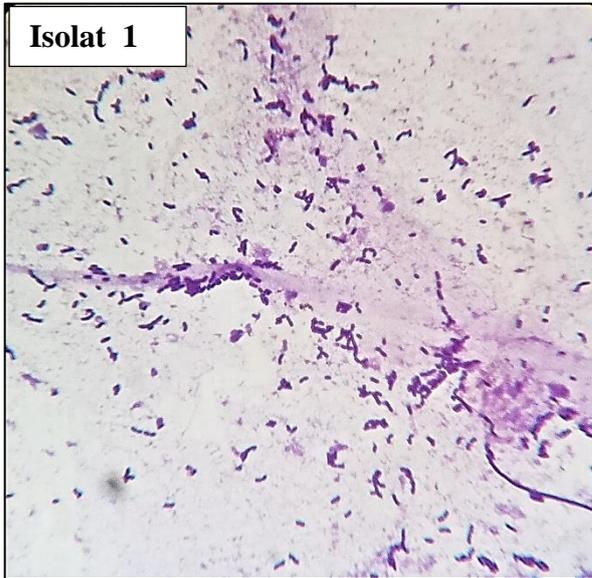
4.4 Adhésion aux cellules épithéliales

Les résultats de l'adhésion au tissu épithélial sont présentés par la figure 6. L'observation microscopique a montré clairement une bonne capacité d'adhésion des isolats à l'épithélium intestinale. Avec une meilleure adhésion observée chez des isolats 5, 9, 16 et 17. Tandis que le reste des isolats ont montré une capacité d'adhésion acceptable. Selon les critères de (Lin et al., 2007) Nos résultats ont montré en générale une bonne adhésion au tissu épithélial.

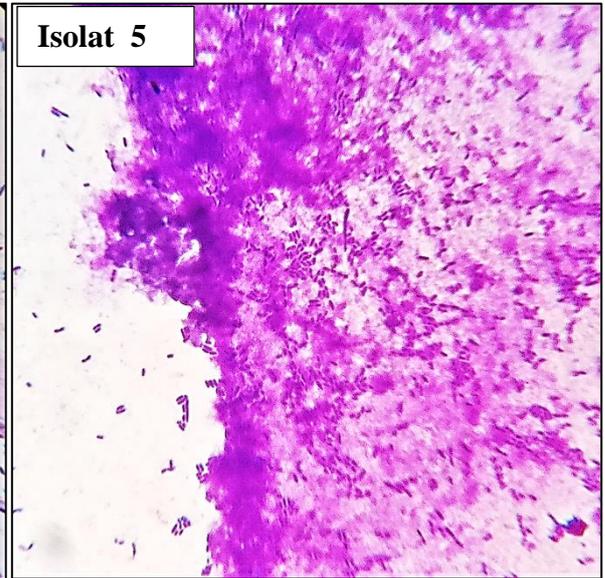
Tissu épithélial



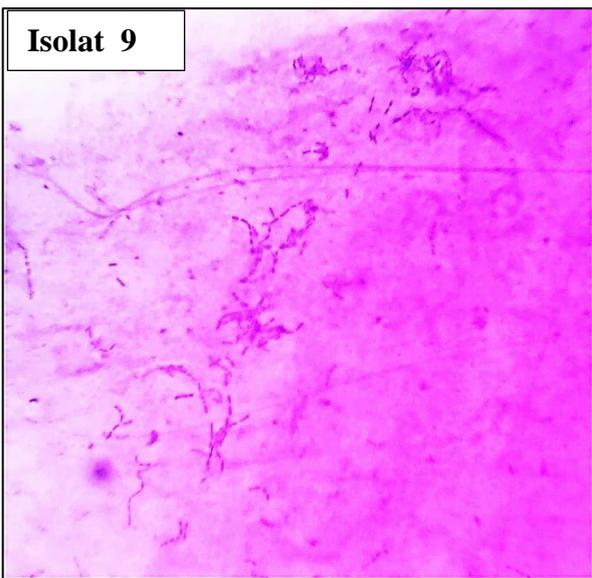
Isolat 1



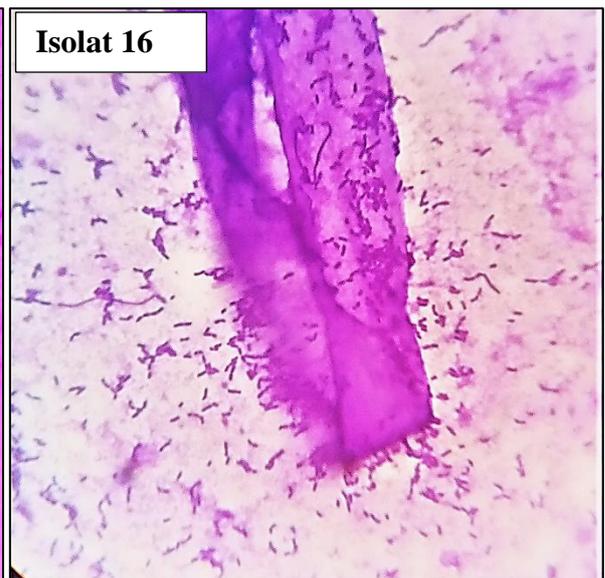
Isolat 5



Isolat 9



Isolat 16



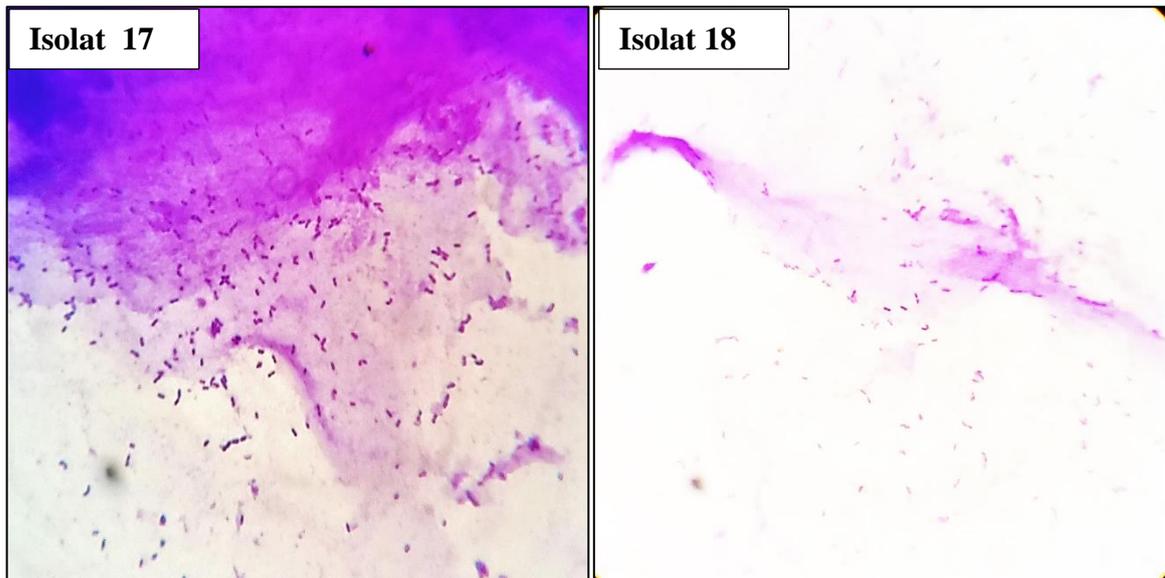


Figure 6 : Adhésion des isolats bactériens aux cellules épithéliales (×100).

La capacité d'adhésion aux surfaces de la muqueuse intestinale de l'hôte est l'un des caractéristiques cruciales des microorganismes probiotiques est considérée comme un critère de sélection importante pour les bactéries lactiques (**Tallon et al., 2007**).

Des études similaires ont démontré la capacité des bactéries lactiques de s'adhérer au tissu épithélial. **Chen et al., (2021)** et **Tuo et al., (2013)**, ont isolé des souches de bactéries lactiques avec une forte adhésion. De même **Anjali Sharma et al., (2021)** ont isolé des souches *Lb. plantarum* et *Enterococcus lactis* avec une bonne adhésion aux cellules épithéliales.

Une explication possible de notre étude est que toutes les souches possèdent des molécules de surface cellulaire spécifique pour l'adhésion, ces molécules peuvent faire un attachement à la muqueuse intestinale. **Lozano et al., (2022)** ont souligné que la spécificité de l'adhérence des bactéries lactiques à l'hôte est étroitement liée à la présence de certaines molécules spécifiques sur les cellules hôte. Ces molécules peuvent être des protéines, d'exopolysaccharides, des glycoprotéines, des acides téichoïques et les acide lipoteichoïques à la surface de la paroi cellulaire des bactéries.

4.5 Corrélation entre la production des EPS et les propriétés de surface des isolats

D'après les résultats affichés dans les tableaux 5 et 6, on remarque qu'il n'y a pas une relation directe entre la quantité d'EPS produite et l'hydrophobicité des isolats cultivés dans les deux milieux MRS et MRS modifié à l'exception de l'isolat 16 dont le facteur de corrélation est de 0,897 et 0,509 dans le milieu MRS et MRS modifié respectivement.

Tableau 5 : Corrélacion entre l'hydrophobicité et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS.

	Isolat 1	Isolat 5	Isolat 9	Isolat 16	Isolat 17	Isolat 18	Isolat 19
	EPS						
	MRS¹						
Isolat1 HMRS ²	-0,791						
Isolat5 HMRS ²		0,180					
Isolat9 HMRS ²			-0,723				
Isolat16 HMRS ²				0,897			
Isolat17 HMRS ²					0,162		
Isolat18 HMRS ²						-0,983	
Isolat19 HMRS ²							-1,000

¹EPSMRS : Exopolysaccharides produits sur milieu MRS.

²HMRS : Hydrophobicité des isolats cultivés sur milieu MRS.

Tableau 6 : Facteur de corrélacion entre l'hydrophobicité et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS modifié.

	Isolat 1	Isolat 5	Isolat 9	Isolat 16	Isolat 17	Isolat 18	Isolat 19
	EPS						
	MRSM¹						
Isolat 1 HMRSM ²	CI						
Isolat 5 HMRSM ²		-0,977					
Isolat 9 HMRSM ²			-0,970				
Isolat 16 HMRSM ²				0,509			
Isolat 17HMRSM ²					-0,724		
Isolat 18HMRSM ²						CI	
Isolat 19HMRSM ²							CI

¹EPSMRSM : Exopolysaccharides produits sur milieu MRS modifié (MRS contenant du saccharose au lieu du glucose).

²HMRSM : Hydrophobicité des isolats cultivés sur milieu MRS modifié (MRS contenant du saccharose au lieu du glucose).

CI : Calcule impossible.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Skrzypczak et al., (2020)** qui montrent qu'il n'y avait aucune relation entre l'hydrophobicité et la production d'exopolysaccharides de toutes leurs isolats (*Lactiplantibacillus plantarum* EK12, EK55 et EK5). Les résultats concordent aussi avec les résultats de **Zavala et al., (2016)** qui ont indiqué qu'aucune corrélation n'a été observée entre la quantité d'EPS et l'hydrophobicité. Contrairement à ces résultats **Adesulu-Dahunsi et al., (2018)** ont trouvé une corrélation significative entre la production d'exopolysaccharides et l'hydrophobicité de cinq isolats des bactéries lactiques (*Lactobacillus plantarum* YO175, *Lactobacillus plantarum* OF101, *Lactobacillus pentosaceus* OF31, *Weissella confusa* OF126 et *Weissella confusa* WS90).

Les résultats présentés dans le Tableau 7 montrent qu'aucune relation n'est enregistrée entre l'autoagrégation et la production d'EPS chez toutes les isolats (1, 5, 9, 17, 18 et 19) cultivées sur MRS à l'exception de l'isolat 16 dont le facteur de corrélation est de 0.992.

Le tableau 8 représente les valeurs de facteurs de corrélation d'autoagrégation et la production des EPS par les isolats cultivés sur milieu MRS modifié, ils montrent qu'il n'y a aucune relation directe entre les deux paramètres à l'exception chez l'isolat 5 avec un facteur de corrélation de 0.947 et qui a un pourcentage acceptable d'autoagrégation et une production d'EPS modéré.

Tableau 7 : Facteur de corrélation entre l'autoagrégation et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS.

	Isolat 1	Isolat 5	Isolat 9	Isolat 16	Isolat 17	Isolat 18	Isolat 19
	EPS MRS ¹						
Isolat 1 AGMRS ²	-0,944						
Isolat 5 AGMRS ²		-1,000					
Isolat 9AGMRS ²			-1,000				
Isolat 16AGMRS ²				0,992			
Isolat 17AGMRS ²					CI		
Isolat 18AGMRS ²						CI	
Isolat 19AGMRS ²							CI

¹EPS MRS : Exopolysaccharides produits sur milieu MRS.

²AGMRS : Autoagrégation des isolats cultivés sur milieu MRS.

CI : Calcule impossible.

Tableau 8 : Facteur de corrélation entre l'autoagrégation et la production d'EPS des isolats cultivées sur milieu MRS modifié.

	Isolat 1	Isolat 5	Isolat 9	Isolat 16	Isolat 17	Isolat 18	Isolat 19
	EPS MRSM ¹						
Isolat 1 AGMRSM ²	CI						
Isolat 5 AGMRSM ²		0,947					
Isolat 9 AGMRSM ²			0,181				
Isolat 16 AGMRSM ²				-0,671			
Isolat 17 AGMRSM ²					-0,824		
Isolat 18 AGMRSM ²						CI	
Isolat 19 AGMRSM ²							CI

¹EPSMRS : Exopolysaccharides produits sur milieu MRS.

²AGMRSM : Autoagrégation des isolats cultivés sur milieu MRS modifié. CI : Calcule impossible.

Des résultats similaires ont été trouvés par **Khalil et al., (2018)** où, sur les sept souches de *Lactobacillus* isolées aucune corrélation n'a été enregistrée entre la production des EPS et l'autoagrégation bien qu'elles produisent une quantité acceptable d'EPS, 850 mg/l produite par *Lactobacillus pentosus* DUR20 et 100 mg/l produite par la souche de *Lactobacillus plantarum* DUR5 et un pourcentage d'autoagrégation de 39,98% et 48,10% respectivement. **Mercan et al., (2015)** ont trouvé également une corrélation négative chez des souches de *Lactobacillus* isolées sauf pour une souche de *Lactobacillus salivarius* où ils ont constaté que cette dernière avait un pourcentage d'autoagrégation élevé ($89.01 \pm 0.23\%$) avec une production importante d'EPS. Ils ont expliqué également le taux élevé d'autoagrégation par la présence d'autres molécules sur la surface cellulaire (protéines) et qui peuvent contribuer avec les EPS à une bonne agrégation cellulaire.

L'étude de la corrélation entre les valeurs d'hydrophobicité et l'autoagrégation avec la production d'exopolysaccharides montre qu'il n'y a pas de relation entre ces derniers, mais l'observation microscopique représentée par la figure 6 montre clairement que les isolats de bactéries lactiques ont la capacité d'adhérer aux cellules épithéliales. On peut donc dire que la production d'exopolysaccharides peut être n'a pas d'incidence directe sur l'adhésion de nos isolats de bactéries lactiques aux cellules épithéliales. Ainsi, l'adhésion des isolats de bactéries lactiques aux cellules

épithéliales peut être influencée par d'autres composants présents sur la surface des cellules et peut être en combinaison avec l'EPS.

Notre présent travail a été consacré pour isoler les bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharides à partir du lait. Dans la première partie pratique nous avons isolé, purifié et identifié les bactéries lactiques à partir de lait de chèvre et grâce au screening mis en place dans ce travail nous avons pu sélectionner sept isolats productrices d'exopolysaccharides. La deuxième partie est dédiée à l'étude de la capacité d'autoagrégation, d'hydrophobicité, et d'adhésion suivi par l'extraction et la quantification des EPS. Nous avons étudié également la relation des EPS avec le pouvoir adhésif des souches.

Nous avons constaté que :

- ❖ Les sept isolats ne sont pas hydrophobes ;
- ❖ La capacité d'autoagrégation des isolats montrés qu'il y a un pourcentage d'autoagrégation modéré ;
- ❖ Le rendement de production des sept isolats a montré qu'il y a une capacité de production des exopolysaccharides modéré ;
- ❖ Concernant la corrélation entre la production des EPS avec l'autoagrégation et l'hydrophobicité dans les 2 milieux, MRS normal et MRS modifié est une corrélation négative (pas de corrélation) pour la plupart des isolats.
- ❖ D'autres études approfondies sont nécessaires pour connaître les meilleures conditions de production des EPS et la relation avec le pouvoir adhésif des isolats des bactéries lactiques.

Références bibliographiques

- Abarquero, D., Renes, E., Fresno, J. M., and Tornadijo, M. E. (2022). Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, **57**(1), 16-26.
- Abdellah, M., Ahcne, H., Benalia, Y., Saad, B., and Abdelmalek, B. (2014). Screening for exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian raw camel milk. *African Journal of Microbiology Research*, **8**(22), 2208-2214.
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., and Sanni, A. I. (2018). Probiotic and technological properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from cereal-based nigerian fermented food products. *Food Control*, **92**, 225-231.
- Angelin, J., and Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, **162**, 853-865.
- Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In S. Salminen, A. V. Wright and A. Ouwehand (Eds.), *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects* (Third Edition ed.). 270 Madison Avenue, New York, NY 10016, U.S.A.: Marcel Dekker, Inc.
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. d., and Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, **1**(3), 202-232.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., and Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales" arabia et kabyle" *Sciences and Technologie*, 30-37.
- Bangar, S. P., Sharma, N., Kumar, M., Ozogul, F., Purewal, S. S., and Trif, M. (2021). Recent developments in applications of lactic acid bacteria against mycotoxin production and fungal contamination. *Food Bioscience*, **44**, 101444.
- Bangar, S. P., Suri, S., Trif, M., and Ozogul, F. (2022). Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience*, **46**, 101615.
- Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F. N., Rantsiou, K., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A., and Cocolin, L. (2013). Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented table olives with probiotic potential. *Food Research International*, **50**(1), 135-142.
- Bouacha, C., Alouache, S., Benkhaled, A., and Zaidat, L. M. (2021). Etude du potentiel probiotique des bactéries lactiques isolées à partir d'*Artemia* sp. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, **11**(1), 15-23.

- Bouzaid, M., Chatoui, R., Hasib, A., and Mennane, Z. (2012). Qualité hygiénique du lait de colportage prélevé des points de vente de la ville de Rabat. *Les technologies de Laboratoire*, **7**(26).
- Branger, A. (2007). *Microbiochimie et alimentation*. Paris: Educagri Editions.
- Breyer, G. M., Arechavaleta, N. N., Siqueira, F. M., and de Souza da Motta, A. (2021). Characterization of Lactic Acid Bacteria in Raw Buffalo Milk: a Screening for Novel Probiotic Candidates and Their Transcriptional Response to Acid Stress. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **13**(2), 468-483.
- Buksa, K., Kowalczyk, M., and Boreczek, J. (2021). Extraction, purification and characterisation of exopolysaccharides produced by newly isolated lactic acid bacteria strains and the examination of their influence on resistant starch formation. *Food Chemistry*, **362**, 130221.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A., Cailliez-Grimal, C., and Gaiani, C. (2014). Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in Colloid Interface Science*, **213**, 21-35.
- Caplice, E., and Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, **50**(1-2), 131-149.
- Cerning, J. (1990). Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, **87**(1-2), 113-130.
- Chen, D.-w., Chen, C.-m., Qu, H.-x., Ren, C.-y., Yan, X.-t., Huang, Y.-j., Guan, C.-r., Zhang, C.-c., Li, Q.-m., and Gu, R.-x. (2021). Screening of *Lactobacillus* strains that enhance SCFA uptake in intestinal epithelial cells. *European Food Research and Technology*, **247**(5), 1049-1060.
- Colliec-Jouault, S., Zanchetta, P., Helley, D., Ratiskol, J., Sinquin, C., Fischer, A. M., and Guezenec, J. (2004). Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. *Pathologie Biologie*, **52**(3), 127-130.
- Daba, G. M., Elnahas, M. O., and Elkhateeb, W. A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, **173**, 79-89.
- Dave, S., Vaishnav, A., Upadhyay, K., and Tipre, D. (2016). Microbial exopolysaccharide-an inevitable product for living beings and environment. *Journal of Bacteriology and Mycology*, **2**(4), 109-111.
- Deepika, G., Green, R. J., Frazier, R. A., and Charalampopoulos, D. (2009). Effect of growth time on the surface and adhesion properties of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Journal of Applied Microbiology*, **107**(4), 1230-1240.

- Drider, D., and Hervé, P. (2009). Bactéries lactiques: physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles: Economica.
- Drouault, S., and Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary research*, **32**(2), 101-117.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, **28**(3), 350-356.
- Erginkaya, Z., and Konuray-Altun, G. (2022). Potential biotherapeutic properties of lactic acid bacteria in foods. *Food Bioscience*, **46**, 101544.
- Gareau, M. G., Sherman, P. M., and Walker, W. A. (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology Hepatology*, **7**(9), 503-514.
- Hasnaoui, I. (2022). Étude de l'impact du lactosérum électro-activé sur la croissance des bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et leur pouvoir antibactérien contre *Salmonella enterica*. Maîtrise en sciences des aliments, Université de Laval, Québec, Canada.
- Hernandez-Hernandez, O., Muthaiyan, A., Moreno, F. J., Montilla, A., Sanz, M. L., and Ricke, S. C. (2012). Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. *Food Microbiology*, **30**(2), 355-361.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., and Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **73**(2), 365s-373s.
- Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., and Karam, N.-E. (2009). Lactic acid bacteria from " Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, **60**(2), 177-183.
- Idoui, T., and Karam, N.-E. (2008). Lactic acid bacteria from Jijel's traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites*, **59**(4), 361-367.
- Ismail, B., and Nampoothiri, K. M. (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of Microbiology*, **192**(12), 1049-1057.
- Iyer, R., Tomar, S. K., Kapila, S., Mani, J., and Singh, R. (2010). Probiotic properties of folate producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Food Research International*, **43**(1), 103-110.
- Jan, G. (2014). Les bactéries propioniques laitières: une source de probiotiques encore inexplorée? *Cholé-Doc*.
- Jolly, L., Vincent, S. J. F., Duboc, P., and Neeser, J.-R. (2002). Exploiting exopolysaccharides from lactic acid bacteria. In R. J. Siezen, J. Kok, T. Abee and G. Schasfsma (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications: Proceedings of the seventh Symposium on*

- lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, 1–5 September 2002, Egmond aan Zee, the Netherlands* (pp. 367-374). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Juárez Tomás, M. S., Wiese, B., and Nader-Macías, M. E. (2005). Effects of culture conditions on the growth and auto-aggregation ability of vaginal *Lactobacillus johnsonii* CRL 1294. *Journal of Applied Microbiology*, **99**(6), 1383-1391.
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C., and Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, **11**(2).
- Kanmani, P., Satish kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V., and Arul, V. (2011). Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* PI80 and its functional characteristics activity *in vitro*. *Bioresource Technology*, **102**(7), 4827-4833.
- Karimi Torshizi, M., Rahimi, S., Mojgani, N., Esmaeilkhani, S., and Grimes, J. (2008). Screening of indigenous strains of lactic acid bacteria for development of a probiotic for poultry. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **21**(10), 1495-1500.
- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, **1**(3), 1-13.
- Khalil, E. S., Abd Manap, M. Y., Mustafa, S., Alhelli, A. M., and Shokryazdan, P. (2018). Probiotic Properties of Exopolysaccharide-Producing *Lactobacillus* Strains Isolated from Tempoyak. *Molecules*, **23**(2), 398.
- Kimoto-Nira, H., Suzuki, C., Sasaki, K., Kobayashi, M., and Mizumachi, K. (2010). Survival of a *Lactococcus lactis* strain varies with its carbohydrate preference under *in vitro* conditions simulated gastrointestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, **143**(3), 226-229.
- König, H., Uden, G., and Fröhlich, J. (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Korc, E., and Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, **110**, 375-384.
- Korc, E., Varga, L., and Kerényi, Z. (2021). Relationship between total cell counts and exopolysaccharide production of *Streptococcus thermophilus* T9 in reconstituted skim milk. *LWT-Food Science and Technology*, **148**, 111775.
- Lai, Y.-J., Tsai, S.-H., and Lee, M.-Y. (2014). Isolation of exopolysaccharide producing *Lactobacillus* strains from sorghum distillery residues pickled cabbage and their antioxidant properties. *Food Science and Biotechnology*, **23**(4), 1231-1236.

- Laubach, J., Joseph, M., Brenza, T., Gadhamshetty, V., and Sani, R. K. (2021). Exopolysaccharide and biopolymer-derived films as tools for transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, **329**, 971-987.
- Lin, W. H., Yu, B., Jang, S. H., and Tsen, H. Y. (2007). Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*, **13**(3-4), 107-113.
- Loubiere, P., and Cocaign-Bousquet, M. (2008). Metabolisme des bacteries lactiques. In D. Drider and H. Prevost (Eds.), *Bacteries lactiques* Paris: Economica.
- Lozano, J., Fernández-Ciganda, S., González Revello, Á., Hirigoyen, D., Martínez, M., Scorza, C., and Zunino, P. (2022). Probiotic potential of GABA-producing lactobacilli isolated from Uruguayan artisanal cheese starter cultures. *Journal of Applied Microbiology*, PMID: 35699653.
- Lynch, K. M., Zannini, E., Coffey, A., and Arendt, E. K. (2018). Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides in Foods and Beverages: Isolation, Properties, Characterization, and Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, **9**, 155-176.
- Melia, S., Yuherman, J., and Purwati, E. (2018). Selection of buffalo milk lactic acid bacteria with probiotic potential. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **11**(6), 186-189.
- Mercan, E., İspirli, H., Sert, D., Yilmaz, M. T., and Dertli, E. (2015). Impact of exopolysaccharide production on functional properties of some *Lactobacillus salivarius* strains. *Archives of Microbiology*, **197**(9), 1041-1049.
- Meryandini, A., Karyawati, A. T., Nuraida, L., and Lestari, Y. (2020). Lactic Acid Bacteria from *Apis dorsata* Hive Possessed Probiotic and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Activity. *Makara Journal of Science*, **24**(1), 50-57.
- Naessens, M., Cerdobbel, A., Soetaert, W., and Vandamme, E. J. (2005). *Leuconostoc dextransucrase* and dextran: production, properties and applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **80**(8), 845-860.
- Nguyen, P.-T., Nguyen, T.-T., Bui, D.-C., Hong, P.-T., Hoang, Q.-K., and Nguyen, H.-T. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: the manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, **6**(4), 451-469.
- Nwanyanwu, C., Alisi, C., Nweke, C., and Orji, J. (2012). Cell surface properties of phenol-utilizing bacteria isolated from petroleum refinery wastewater. *Journal of Research in Biology*, **2**, 383-391.
- Palaniraj, A., and Jayaraman, V. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, **106**(1), 1-12.
- Reiner, K. (2010). Catalase test protocol. *American Society for Microbiology*, 1-6.

- Rodríguez-Sánchez, S., Fernández-Pacheco, P., Seseña, S., Pintado, C., and Palop, M. L. (2021). Selection of probiotic *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity to be used as biocontrol agents in food industry. *LWT-Food Science and Technology*, **143**, 111142.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., and Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, **12**(2), 163-171.
- Sadeghi, M., Panahi, B., Mazlumi, A., Hejazi, M. A., Komi, D. E. A., and Nami, Y. (2022). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria with antimicrobial properties and selection of superior bacteria for application as biocontrol using machine learning models. *LWT-Food Science and Technology*, **162**, 113471.
- Sanalibaba, P., and Çakmak, G. A. (2016). Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria. *Applied Microbiology*, **2**(115), 10.4172.
- Sharma, A., Gupta, G., Ahmad, T., Kaur, B., and Hakeem, K. R. (2020). Tailoring cellular metabolism in lactic acid bacteria through metabolic engineering. *Journal of Microbiological Methods*, **170**, 105862.
- Sharma, A., Lavania, M., Singh, R., and Lal, B. (2021). Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **28**(3), 1622-1632.
- Shene, C., Canquil, N., Bravo, S., and Rubilar, M. (2008). Production of the exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus*: Effect of growth conditions on fermentation kinetics and intrinsic viscosity. *International Journal of Food Microbiology*, **124**(3), 279-284.
- Skrzypczak, K., Gustaw, K., Jabłońska-Ryś, E., Sławińska, A., Gustaw, W., and Winiarczyk, S. (2020). Spontaneously Fermented Fruiting Bodies of *Agaricus bisporus* as a Valuable Source of New Isolates of Lactic Acid Bacteria with Functional Potential. *Foods*, **9**(11), 1631.
- Stiles, M. E., and Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, **36**(1), 1-29.
- Suwannaphan, S. (2021). Isolation, identification and potential probiotic characterization of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented food. *AIMS Microbiology*, **7**(4), 431-446.
- Tallon, R., Arias, S., Bressollier, P., and Urdaci, M. C. (2007). Strain- and matrix-dependent adhesion of *Lactobacillus plantarum* is mediated by proteinaceous bacterial compounds. *Journal of Applied Microbiology*, **102**(2), 442-451.
- Tareb, R., Bernardeau, M., Gueguen, M., and Vernoux, J.-P. (2013). *In vitro* characterization of aggregation and adhesion properties of viable and heat-killed forms of two probiotic *Lactobacillus* strains and interaction with foodborne zoonotic bacteria, especially *Campylobacter jejuni*. *Journal of Medical Microbiology*, **62**(4), 637-649.

- Torino, M. I., Font de Valdez, G., and Mozzi, F. (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 834-834.
- Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B., and Chen, W. (2013). Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science*, **96**(7), 4252-4257.
- Wang, X., Wang, W., Lv, H., Zhang, H., Liu, Y., Zhang, M., Wang, Y., and Tan, Z. (2021). Probiotic Potential and Wide-spectrum Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Infant Feces. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **13**(1), 90-101.
- Wee, Y.-J., Yun, J.-S., Kim, D., and Ryu, H.-W. (2006). Batch and repeated batch production of L (+)-lactic acid by *Enterococcus faecalis* RKY1 using wood hydrolyzate and corn steep liquor. *Journal of Industrial Microbiology*, **33**(6), 431.
- Werning, M. L., Hernández-Alcántara, A. M., Ruiz, M. J., Soto, L. P., Dueñas, M. T., López, P., and Frizzo, L. S. (2022). Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria and Their Potential Benefits for Humans and Farmed Animals. **11**(9), 1284.
- Wright, A. v., and Axelsson, L. (2019). Lactic acid bacteria: An introduction. In G. Vinderola, A. C. Ouwehand, S. Salminen and A. v. Wright (Eds.), *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects* (Fifth Edition ed.): CRC Press, Taylor and Francis.
- Yuksekdag, Z. N., and Aslim, B. (2008). Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian archives of Biology Technology*, **51**, 581-585.
- Zavala, L., Golowczyc, M. A., Hoorde, K. v., Medrano, M., Huys, G., Vandamme, P., and Abraham, A. G. (2016). Selected *Lactobacillus* strains isolated from sugary and milk kefir reduce *Salmonella* infection of epithelial cells *in vitro*. *Beneficial Microbes*, **7**(4), 585-595.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., O'toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., and Walter, J. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, **70**(4), 2782-2858.

Annexes

Gélose hypersaccharosée

Extrait de viande.....	10 g
Extrait de levure.....	3 g
Bactopeptone	2,5 g
Saccharose.....	150 g
K ₂ HPO ₄	2 g
NaCl.....	1 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,2 g
Agar.....	1,5 g
Eau distillée qsp	1000 ml
PH=6,8-7	
Stérilisation 20 min 120°C	

Milieu MRS

Polypeptone.....	10 g
Extrait de viande.....	10 g
Extrait autolytique de levure.....	5 g
Glucose.....	20 g
Tween 80.....	1,08 g
Phosphate dipotassique.....	2 g
Acétate de sodium.....	5 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Sulfate de manganèse.....	0,05 g
Eau distillée qsp	1000 ml
Stérilisation 20 min 120°C	

Phosphate Buffers Saline (PBS)

8 g NaCl
0,2 g KCl
1,44g Na ₂ HPO ₄
0,24g KH ₂ PO ₄
Eau distillée 1000 ml
Ajuster le pH a 7, 5
Stérilisation 20 min 120°C

Milieu MRS modifié

Polypeptone.....	10 g
Extrait de viande.....	10 g
Extrait autolytique de levure.....	5 g
Saccharose.....	20 g/l
Tween 80.....	1,08 g
Phosphate dipotassique.....	2 g
Acétate de sodium.....	5 g

Citrate d'ammonium.....	2 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Sulfate de manganèse.....	0,05 g
Eau distillée qsp	1000 ml
Stérilisation 20min a 120°C	

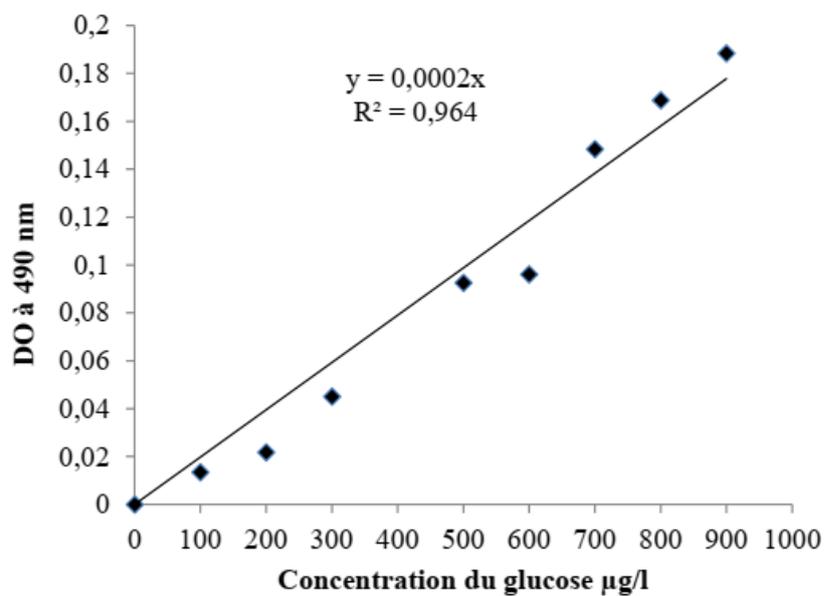


Figure 7 : Courbe d'étalonnage



ملخص

تعد البكتيريا اللبنية كائنات دقيقة مهمة لإنتاج أنواع مختلفة من متعدد السكاريد. الهدف من هذا العمل هو عزل سلالات من البكتيريا اللبنية من حليب الماعز والتي لها القدرة على إنتاج مختلف متعددات السكاريد. تم استخدام السلالات المعزولة من هذه البكتيريا لدراسة التجمع الخلوي الذاتي، خاصية الكراهة للماء والالتصاق البكتيري بالخلايا المعوية وكذلك إنتاج عديد السكاريد مع دراسة العلاقة بين هذه الخصائص للسلالات في وسطين مختلفين الـ MRS العادي والـ MRS المعدل. أظهرت النتائج التي تحصلنا عليها بالنسبة للبكتيريا المزروعة في الـ MRS العادي ان النسبة المئوية للخاصية الكراهة للماء تتراوح بين 2,56 و 14,61% وبين 0 و 8,30% للسلالات المزروعة في الـ MRS المعدل اما النسبة المئوية للتجمع الذاتي فهي مقبولة وتتراوح بين 2,61% و 41,15% بالنسبة للسلالات المزروعة في الـ MRS العادي و 13,2% و 29,51% بالنسبة للسلالات المزروعة في الـ MRS المعدل. بالنسبة لعديد السكاريد فتتراوح الكمية المنتجة بين 14,20 مغ/لتر و 16,20 مغ/لتر للسلالات المزروعة في الـ MRS العادي و 15,10 مغ/لتر و 16,77 مغ/لتر بالنسبة للسلالات المزروعة في الـ MRS المعدل. الدراسة بينت انه لا توجد أي علاقة بين كمية عديد السكاريد المنتجة والخصائص الأخرى.

الكلمات المفتاحية: الالتصاق، التجمع الخلوي الذاتي، البكتيريا اللبنية، متعدد السكاريد، خاصية الكراهة للماء.

Abstract

Lactic acid bacteria are important microorganisms to produce different types of exopolysaccharides, we are interested to isolating, identifying lactic acid bacteria from goat milk producing EPS. We are studied the hydrophobicity, autoaggregation, production exopolysaccharides and adhesion of bacterial cells to epithelial tissue. A correlation between these parameters was studied on two different media, MRS and modified MRS. The results found show that the hydrophobicity percentages were between 2,56% and 14,61% for strains grown on MRS and between 0,00% and 8,30% for strains grown on modified MRS. The percentage of autoaggregation was acceptable and was between 18,56% and 14,15% for the strains cultured on MRS and 2,13% and 29,13% for the strains cultured on modified MRS. The exopolysaccharide production was between 14,20% mg/l and 15,73 mg/l on MRS, 15,10% mg/l and 15,73 mg/l for strains cultured on modified MRS with a strong ability to adhere to epithelial cells. On the other hand, there was no significant correlation between adhesion bacterial cells and the other parameters.

Keywords: Adhesion, autoaggregation, lactic acid bacteria, exopolysaccharide, hydrophobicity.

Résumé

Les bactéries lactiques sont des microorganismes importants pour la production de différents types d'exopolysaccharide (EPS). Dans le cadre de ce travail, nous sommes intéressés à isoler et à sélectionner des bactéries lactiques provenant à partir du lait de chèvre, productrices d'EPS. Nous avons étudié l'autoagrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion bactérienne aux cellules intestinales et la production des EPS. Une corrélation entre ces paramètres a été étudié pour ces isolats, cultivées sur deux milieux différents (MRS et MRS modifiée). Les résultats trouvés montrent que l'hydrophobicité est comprise entre 2.56 % et 14.61% pour les isolats cultivés sur MRS et entre 0.00 % et 8.30% pour les isolats cultivés sur MRS modifié. Le pourcentage d'autoagrégation est acceptable varie entre 18,56% et 41,15% pour les isolats cultivés sur MRS et entre 2,13% et 29,13% pour les isolats cultivés sur MRS modifié. La production d'exopolysaccharide comprise entre 14,20 mg/l et 15,73 mg/l sur MRS et 15,10 mg/l et 15,73 mg/l sur MRS modifié avec une forte capacité adhésion aux cellules épithéliales. L'étude a également montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre les valeurs d'hydrophobicité et d'autoagrégation avec la production d'exopolysaccharides.

Mots clés : adhésion, autoagrégation, bactéries lactiques, exopolysaccharides, hydrophobicité.