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 يحي-جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie Appliquée et

Des Sciences Alimentaires

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de Fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme :

Master Académique en Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THÈME

Mécanismes et rôles de l'adhésion des souches de bactéries lactiques sur une surface biotique

MEMBRE DE JURY :

Président : Mr Rahmoune Y.

Examinatrice : Dr Alioua S.

Encadrant : Dr Ait Meddour A.

PRÉSENTÉ PAR :

Melle : Alalouche Hamida

Melle : Hezouat Aya

Melle : Rechak Lydia

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Numéro d'ordre (bibliothèque)……..

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

On remercie Dieu qui nous a donné le courage, la volonté et la santé d'entamer et de terminer ce travail

Un merci plein de respect à « Mme Ait Meddour Amel », pour sa qualité d'encadrement exceptionnelle.

Merci à tous les enseignants qui nous ont guidés, orientés et transmis leurs savoirs.

Et d'une voix pleine de reconnaissance on remercie les membres du jury qui nous ont honorés pour juger et évaluer notre travail.

Je remercie mes parents ; qui je ne pourrais cerner l'hommage dans des mots, vue ce qu'ils apportent à ma vie, que Dieux leur procure bonne santé et longue vie.

Merci à ma sœur ; mon icône, ma coéquipière, un immense d'espoir qui me motive à continuer et ne pas baisser les bras, et qui partage avec moi ma joie et ma peine.

Aux personne qui dans l'ombre ont toujours étaient à mes côtés, par leur encouragement et leur aides aussi modestes qu'elle soient.

Mida

"ذلك فضل الله يؤتيه من يشاء والله واسع عليم"

Loué soit Dieu toujours et à jamais, qui nous a aidé à traverser le long chemin et dont j'ai ressenti la bienveillance à chaque étape de ce mémoire.

Je remercie mes parents, les bougies qui illuminent ma vie, et je leur dédie le fruit de mon travail.

. Je remercie Dieu pour ma famille, sans laquelle je n'aurais pas atteint ce que je suis.

Je remercie ma sœur mon soutien dans la vie pour tous ses sacrifices et tout ce qu'elle a donnée pour moi malgré ce que nous avons traversé durant cette année.

Je remercie énormément notre promotrice Mme Ait Meddour Amel, qui nous a soutenus malgré les difficultés et les obstacles qui ont été présentés, je la remercie pour ses conseils et j'apprécie son travail acharné avec nous afin d'atteindre ce moment.

Enfin, j'envoie un mot de remerciement à tous ceux qui m'ont soutenu pour terminer mon chemin et ne pas abandonner.

Aya

Avant tout, je remercie notre créateur « Allah » le tout puissant qui m'a donné la force, la santé, l'amour du savoir et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Dr AIT Meddour Amel notre promotrice qui sans elle ce travail n'aurait pas pu aboutir : merci Madame pour votre assistance durant la réalisation de notre mémoire, vos conseils, votre patience, votre disponibilité et votre humanisme, je ne vous remercieriez jamais assez.

Je tiens à remercier tous les enseignants du Département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires durant ces deux années de master, pour tout ce qu'on a appris de leur part, tout particulièrement le Pr Idoui Tayeb et le Pr Sifour Mohamed pour qui j'ai beaucoup de respect et d'estime.

Je remercie toute ma famille qui m'a soutenue et encourager pendant ces années d'études, tout particulièrement mon père et mon unique sœur qui m'a précédé à avoir son diplôme de quelques mois.

Je remercie tous les étudiants de notre promotion qui m'ont accueilli parmi eux dès le premier jour.

Lydia

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction…….…….....1

Chapitre I. Bactéries lactiques

1. Définition et caractéristiques générales…….....……...3
2. Habitat……...…….……..4
3. Classification et identification……...……..…….4
4. Principaux genres…….…..…….…….6
5. Biomolécules d'action……..……...…….6
   5.1. Acides organiques……..……..…….7
   5.2. Peroxyde d'hydrogène…….…..…...7
   5.3. Dioxyde de carbone…….…….....7
   5.4. Diacétyl…….……7
   5.5. Bactériocine…….…….7
6. Utilisations……....8
   6.1. Dans l'industrie agroalimentaire……..…….…8
   6.2. Dans le domaine thérapeutique……..…….....10

Chapitre II. Adhésion et formation de biofilms

1. Historique et définition…….……..……..……..13
2. Composition et architecture…….……..…..……...14
3. Etapes de formation…….……...15
   3.1. Conditionnement.……...……..15
   3.2. Transport et adhésion…….…….……15
   3.3. Maturation……16
   3.4 Dispersion…….……...……16
4. Facteurs influençant l'adhésion….…….……16
5. *Quorum sensing* chez les bactéries à Gram positf.....……..……17
6. Les méthodes d'étude de biofilm *in vitro*.....……..……18

Chapitre III. Bactéries lactiques et la muqueuse intestinale

1. Adhésion sur une surface biotique……..……...…….20

1.1 Muqueuse intestinale humaine.……...…….……...……..20

1.2 Mécanismes d'adhésion……...……..21

2. Rôles des biofilms de bactéries lactiques…….....22

Conclusion……..……...…….……...25

Références bibliographiques

Résumé-Abstract- الملخـــــص

Listes des figures

N° de figure	Titre	N° de page
Fig.1.	Voies de dégradation du glucose par les bactéries lactiques	**4**
Fig.2.	Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre *Lactobacillales*	**5**
Fig.3.	Micrographie électronique d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* sur une surface métallique dans un système de distribution d'eau	**13**
Fig.4.	Image en forme de tours d'un biofilm bactérien	**14**
Fig.5.	Etapes de formation et du développement du biofilm	**15**
Fig.6.	Représentation schématique des constituants de la muqueuse intestinale humaine	**20**

Liste des tableaux

N° du tableau	Titre	N° de page
Tableau I.	Principaux genres de bactéries lactiques et leurs principaux produits de fermentation	**6**
Tableau II.	Principales souches de bactéries lactiques exploitées dans le développement de nouveaux aliments laitiers enrichis en Bioprotéines	**12**
Tableau III.	Composition de biofilm	**14**

Liste des abréviations

ACEIs : Angiotensin-converting enzyme inhibitiors.

AHL : Acylhomosérine lactone.

AIP : Auto-inductibles polypeptides

Caco-2 : Cancer du côlon deuxième ligne.

CmbA: Mucus binding proteins.

DPP-IV : Dipeptidyl-peptidase IV.

FbpA : Fibronectin-binding peptide.

GIP : Glucose insulinotropic polypeptide.

GLP-1 : Gucagon-like peptide 1.

GAPDH : Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.

GtfG / GtfH : Glucosyltransferase gene.

GRAS : Aenerally recognized as safe.

HOPS : Homopolysaccharides

IgA : Immunoglobulines de type A.

IPP : Isoleucine-poline-poline.

IL4 : Interleukin 4.

IL10 : Interleukin 10.

LDL : Low-density lipoprotein

LPXTG : Leu-Pro-any-Thr-Gly.

MAPs : Microtubule-associated proteins.

MUB : Mucus binding.

VPP : Valine-poline-poline

pI : Point isoélectrique.

RADP : Random amplified polymorphic DNA.

SrtpA : *Staphylococcus aureus* sortase transpeptidase

SDPs : Protéines dépendantes de la sortase.

SrpB : Surface-exposed protein B.

TCS : Two-component system.

Introduction

L'une des façons les plus courantes pour que les bactéries vivent est d'adhérer aux surfaces et de former des communautés organisées appelées biofilms. Le terme biofilm a été proposé pour désigner une communauté de microorganismes enrobés d'une matrice hydratée, riche en polymères extracellulaires et en contact avec une surface biotique ou abiotique, présentant un phénotype spécifique et différent de celui de l'état planctonique **(Otto, 2018).**

La majorité des biofilms sont dit négatifs ou néfastes, car ils sont formés de bactéries pathogènes, tandis que certains sont considérés comme positifs ou bénéfiques car ils sont formés de bactéries utiles comme ceux formés de bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat, muqueuses respiratoires, gastro-intestinales et génitales des humains et des animaux, produits laitiers, produits céréaliers, viandes et produits de la pêche… **(Linares et *al.,* 2017).** Elles sont considérées comme non pathogènes car elles bénéficient en effet du statut GRAS (Generally Recognized As Safe) qui autorise officiellement leur usage dans les applications alimentaires **(Klaenhammer et *al.*, 2005).** Les bactéries lactiques sont utilisées de différentes manières : ferments ou starters de fermentation **(Mugula et *al.,* 2003),** agents de bioconservation **(Vermeiren et *al.,* 2004),** probiotiques **(Fuller, 1989)**.

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte. Pour répondre à cette définition, les microorganismes doivent posséder diverses propriétés. L'une des propriétés cruciales des probiotiques est l'adhésion aux cellules épithélialespour qu'elles puissent exercer certains effets thérapeutiques sur l'hôte **(Macdonald et *al.,* 2011).** Pour cela, un intérêt considérable s'est développé autour de cette propriété à travers le monde.

L'objectif du travail présenté est l'étude des différents mécanismes d'adhésion des souches de bactéries lactiquessur une surface biotique, la muqueuse intestinale étant l'exemple qu'on a pris, ainsi que les rôles joués par ces bactéries lors de cette adhésion.

Ce manuscrit est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre traitant les différents aspects des bactéries lactiques (caractéristiques, habitat, classification, utilisation...).

Le deuxième chapitre réservé à présenter l'adhésion et la formation de biofilms incluant l'architecture de ces derniers, les étapes de leur formation ainsi que leurs spécificités chez les bactéries lactiques.

Le troisième chapitre portant sur la muqueuse intestinale, les mécanismes d'adhésion et les rôles joués lors de cette adhésion.

En conclusion générale, cela permet d'englober l'essentiel de cette étude ainsi que les perspectives envisagées de cette thématique au futur.

Chapitre I

1. Définition et caractéristiques générales

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes hétérotrophes formant un groupe hétérogène constitué de coques et de bacilles à Gram positif. Elles sont caractérisées par l'absence de catalase (à l'exception de quelques souches qui ont une pseudo-catalase), de nitrate réductase et de cytochrome oxydase. Ces bactéries sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, ne forment ni l'indole ni l'hydrogène sulfureux et incapables de fermenter le glycérol. Elles sont capables de croître à des températures comprises entre 10-45°C et à des pH allant de 4,0 à 4,5. Généralement immobiles, asporulées, anaérobies à aéro-tolérantes, avec un pourcentage faible en Guanine-Cytosine (varie de 33 à 54%), à métabolisme fermentaire et acido-tolérantes **(Tailliez, 2001 ; Badis et *al*., 2005 ; Novik et *al*., 2017 ; Mora-Villalobos et *al.,* 2020).** Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les vitamines, les sels… Elles ont le statut GRAS (Generally Recognised As Safe) et sont recommandées pour les applications alimentaires ou médicales **(Gupta et *al*., 2018).** Elles sont utilisées pour la production de plus de 3500 aliments fermentés tels que les légumes marinés, les poissons fermentés et les boissons **(Anebelle et *al*., 2019).**

Selon les genres ou les espèces, les bactéries lactiques utilisent généralement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit de la voie d'Emden-Meyerhof-Panas/«homofermentaire» ou de la voie des pentoses phosphate/«hétérofermentaire» (Fig.1).Selon le produit final, les homofermentaires produisent de l'acide lactique comme principal métabolite (deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP/molécule de glucose), une voie empruntée par toutes les bactéries lactiques à l'exception des genres : *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certaines espèces du genre *Lactobacillus*. Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire car une molécule du glucose conduit à la production de l'acide lactique (une molécule de lactate), du CO_2, de l'éthanol et un seul ATP **(Novik et *al*., 2017).** Le métabolisme des bactéries du genre *Bifidobacterium* a une voie particulière appelée voie fermentaire bifide ou voie de la fructose-6-phosphocétolase **(Atlan et *al.,* 2008).**

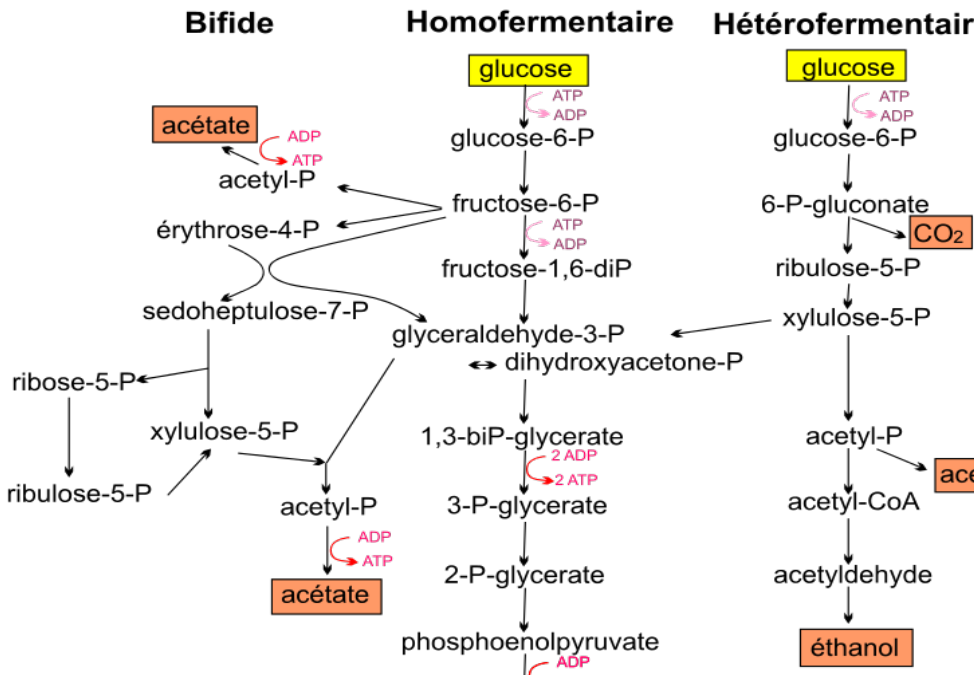

Fig.1. Voies de dégradation du glucose par les bactéries lactiques
(Perry et *al*., 2009).

2. Habitat

Les bactéries lactiques sont pour habitats de nombreux milieux naturels. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. On les trouve dans le lait et les produits laitiers, dans les produits carnés frais et maturés, dans les poisons conservés, dans les végétaux et les céréales, sur la peau, dans le tractus digestif humain et animal, dans les cavités buccales, sur la muqueuse vaginale où elles accomplissent de nombreuses fonctions. Elles créent surtout un environnement hostile pour les bactéries pathogène **(Roméo et *al.*, 2001).** La capacité des bactéries lactiques à coloniser plusieurs environnements est la conséquence de leur métabolisme polyvalent **(Klaenharmmer et *al.*, 2005).**

3. Classification et identification

La classification des bactéries lactiques est souvent basée sur les caractéristiques phénotypiques et biochimiques. L'étude de la morphologie des bactéries est une étape clé pour une pré-identification **(Woese, 1987),** ainsi les bactéries lactiques peuvent êtres divisées en bacilles c'est le cas du genre *Lactobacillus* et *Carnobacterium* ou cocci comme le cas des autres genres (*Lactococcus*, *Streptococcus*…) à l'exception du genre *Weissella* qui peut inclure les deux formes **(Collins et *al.*, 1993).** La formation des tétrades lors de la division cellulaire est utilisée comme une caractéristique clé pour différencier les différentes coques, c'est le cas de : *Aerococcus*, *Pediococcus* et *Tetragenococcus*. Ces caractéristiques sont parfois insuffisantes

pour l'identification des isolats en espèce particulière. Avec les méthodes génotypiques telles, qu'une analyse RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), le séquençage de gène 16S ARNr…etc., l'identification des espèces est devenue une pratique plus simple et rapide et ne dépendent nullement des conditions de cultures tel que la méthode de L'analyse par électrophorèse sur gel de gradient dénaturant (DGGE) qui représente l'une des méthodes les plus appropriées et les plus largement appliquées pour étudier les communautés bactériennes complexes provenant de divers environnements, cette technique basée sur la PCR permet la séparation dépendante de la séquence d'un mélange de fragments d'ADN amplifiés, tous de taille identique, sur un gel d'acrylamide contenant un gradient bien défini de composants dénaturants. **(Muyzer, 1999 ; Temmerman et *al*., 2004 ; Zhang et *al*., 2011 ; Novik et *al*., 2017 ; Gupta et *al*., 2018).** Les bactéries lactiques se trouvent dans deux phylums distincts : *Firmicutes* et *Actinobacteria*. Le phylum des *Firmicutes*dont les principaux genres sont : *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*et *Weissella,* ces derniers appartiennent à l'ordre des *Lactobacillales* et sont caractérisés par une faible teneur en GC%. Le phylum des *Actinobacteria* renferme le genre *Bifidobacterium*est caractérisé par une teneur élevée en GC% **(Novik et *al*., 2017).**

Les bactéries lactiques sont groupées en six familles et 40 genres (Fig.2) : *Aerococcaceae* (7 genres), - *Carnobacteriaceae* (16 genres), - *Enterobacteriaceae* (7 genres), - *Lactobacillaceae* (3 genres), - *Leuconostocaceae* (4 genres) et *Streptococcaceae* (3 genres).

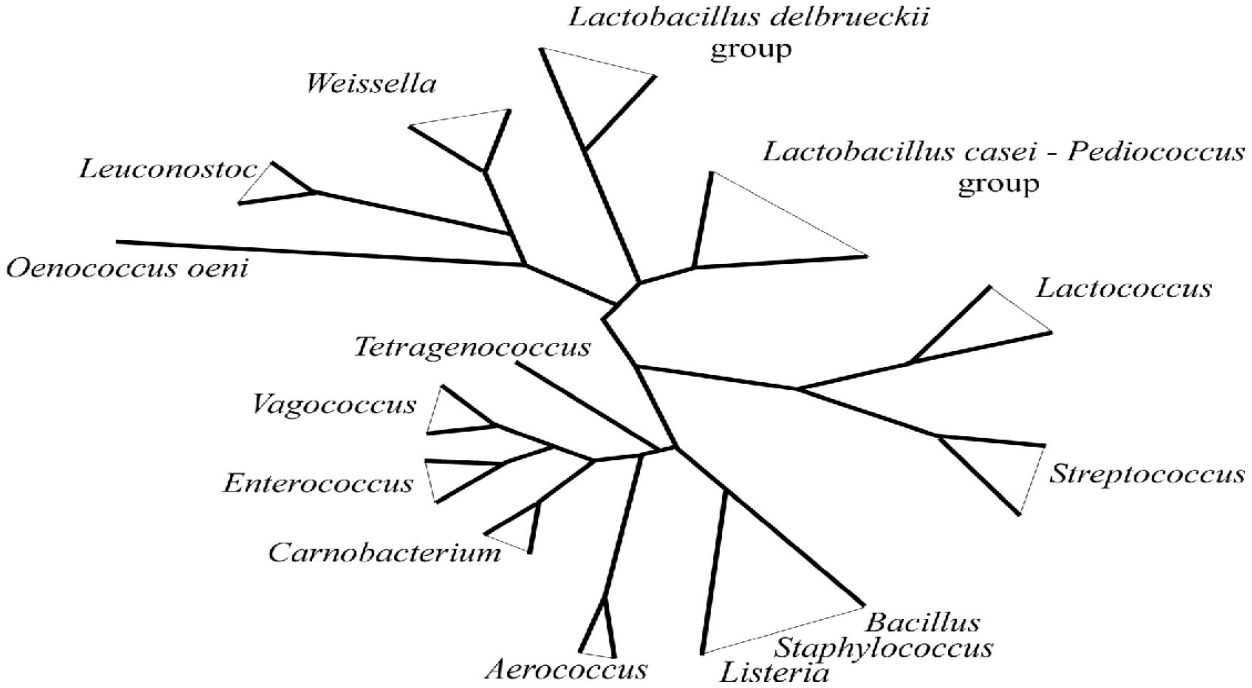

Fig.2. Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre *Lactobacillales* **(Axelsson, 2004).**

4. Principaux genres

Les principaux genres des bactéries lactiques sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I. Principaux genres des bactéries lactiques et leurs principaux produits de fermentation **(Dunod, 2006 ; Bintsis, 2018).**

Genres	Substrat	Produits
Lactobacillus	Lait-Viande-Légumes	Fromages, yaourts, laits fermentés, saucisses sèches, saucisses grecques fermentées à sec, Chorizo, Salami, Olives, Concombre et Choucroute.
Lactococcus	Lait	Fromages, beurre, babeurre et kefir.
Leuconostoc	Lait-Végétaux	Fromages, beurre, babeurre, kefir et olives.
Pediococcus	Viande	Saucisses semi-séchées.
Streptococcus	Lait	Fromage, yaourt et lait fermentés.
Weissella	Viande-Céréales	Saucisse grecque fermenté à sec, pain et levain
Oenococcus	Végétaux	Vin.
Bifidobacterieum	Lait	Yaourts et laits fermentés.
Enterococcus	Végétaux- Poissons	Saumure d'anchois, sauce de soja et miso.

5. Biomolécules d'action

Les bactéries lactiques peuvent produire des substances antimicrobiennes actives *in vitro* et in *vivo* sur les microorganismes pathogènes.

5.1.Acides organiques : les principaux produits du métabolisme des bactéries lactiques sont les acides organiques. Grâce à cette production d'acides, les bactéries diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore indésirables. La diminution du pH du milieu et l'effet antagoniste des acides organiques résulte de l'action de leur forme non dissociée. En effet, la forme non dissociée de l'acide peut traverser passivement la membrane et acidifier le cytoplasme par libération du proton, ce qui affecte le métabolisme cellulaire en inhibant certaines fonctions **(Caplice et Fitzgerald, 1999).**

5.2.Peroxyde d'hydrogène : les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase, de ce fait, il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents microorganismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires **(Zalan et *al.*, 2005).** Certaines bactéries lactiques peuvent néanmoins se protéger contre le peroxyde d'hydrogène qu'elles produisent par les pseudo-catalases **(Strus et *al.*, 2006).**

5.3.Dioxyde de carbone: le CO_2 est formé essentiellement, au cours de la fermentation hétérolactique et crée un environnement anaérobie qui inhibe les microorganismes aérobies. L'accumulation de CO_2 dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de sa perméabilité **(Ammor et *al.,* 2006).**

5.4.Diacétyl : ou 2,3-butanedione est un composé aromatique possédant aussi une activité antibactérienne. Il a des effets inhibiteurs plus importants sur la croissance des bactéries à Gram négatif que sur celles des bactéries à Gram positif **(Jay, 1982).**

5.5.Bactériocine : ces dernières sont définies comme étant des protéines ou peptides d'origine bactérienne ayant une action bactéricide à l'égard d'espèces ou de souches taxonomiquement liées à l'organisme producteur et contre les quelles la souche productrice possède une immunité **(Kleanhammer, 1993).** Cependant, avec le temps, il est devenu claire que ces critères de définition des bactériocines ne sont valables que pour les bactériocines prototypes et pour colicines. Le terme bactériocine a depuis été généralisé pour inclure tous les inhibiteurs produits par les microorganismes de nature protéique et n'ayant aucune action contre les cellules productrices. En effet, certaines bactériocines sont capables d'inhiber la croissance de microorganismes pathogènes ou d'altération non phylogéniquement liés à l'espèce productrice et d'autre sont douées d'activité bactériostatique et non bactéricide à l'égard de certaines souches sensibles **(Lewus et *al.,* 1992).** Les bactériocines représentent une large classe de substances

antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action **(Klaenhammer, 1988).** Elles sont classées en quatre classes :

- **Classe I :** lantibiotiques, peptides contenant de la lanthionine, la mieux connue et utilisée de ce groupe est la nisine, notamment produite par plusieurs souches de *Lactococcus lactis* et reconnue comme agent de conservation des aliments.
- **Classe II :** peptides thermostables, les différentes sous classes dépendent de leur activité, parmi eux on trouve la pediocine ; une bactériocine anti-listrienne produite par *Pdiococcus.*
- **Classe III :** peptides de grandes tailles, thermolabiles et pas assez caractérisés, exemple : l'helvéticine.
- **Classe IV :** ces bactériocines sont complexes, composées d'une protéine plus un ou plusieurs fragments chimiques (leuconocine S) **(Heita, 2014 ; Langa et *al.,* 2014 ; Mora-villalobos et *al*., 2020).**

6. Utilisation

6.1. Dans l'industrie agroalimentaire : dans l'industrie, les bactéries lactiques sont de réelles usines cellulaires, grâce à leur robustesse face aux différents stress environnementaux et leurs différents caractères. Elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire, comme cultures de démarrage (starters), ainsi que pour la texture, la saveur et la valeur nutritionnelle **(Wu et *al*., 2017).** L'acide lactique est d'une importance cruciale en industrie alimentaire, c'est une molécule à deux énantiomères L (+) et D (-), produit par deux voies : chimique ou biologique. En biotechnologie, l'utilisation des bactéries lactiques s'oriente sur la production de l'énantiomère L (+) du fait que le D (-) ne peut être utilisé par les cellules animales limitant donc son utilisation. Récemment, les nouveaux procédés visent à produire de l'acide lactique tout en essayant d'atteindre une concentration élevée en biomasse, qui peut être utilisé comme un aliment de haute qualité ou un complément alimentaire probiotique **(Mora-Vilallobos et *al*., 2020).**

Les bactéries lactiques productrices de polysaccharides (EPS) sont souvent sollicitées dans l'industrie alimentaire essentiellement dans la production des produits laitiers fermentés et les produits de boulangerie fermentés. Ces derniers permettent de réduire la quantité d'ingrédients et de stabilisateurs ajoutés. Souvent utilisés pour améliorer les

propriétés texturales des produits laitiers et céréaliers, ils sont considérés comme ingrédients fonctionnels vu les effets bénéfiques qu'ils exercent sur la santé. *Oenococcus oeni* synthétise des homo et hétéro-polysaccharides, parmi eux les β-glucanes libres ou associés aux cellules via différentes voies métaboliques **(Zeiden et *al*., 2017).** Les *Leuconostocs* sont présents naturellement dans les fromages surtout au lait frai, ou ajoutés délibérément comme starters. *Leuconostoc mesentoroides* et *Lactococcus lactis* métabolisent le citrate en produisant des composés aromatiques, tels que di-acétyle et l'acétone qui contribuent au goût du fromage. *Leuconostoc mesentoroides* produit un polymère, le dextran HoPS utilisé comme ingrédient/additif **(Zeid et *al*., 2017 ; Yang et *al*., 2020).**

Les bactéries lactiques sont très importantes dans le processus de vinification, responsables de la fermentation malolactique. Elles utilisent les sucres résiduels et les transforment en plusieurs composants du vin, les nouveaux aromes qui en résultent peuvent améliorer ce dernier. Cette fermentation se produit après la fermentation alcoolique effectuée par les levures **(Novik et *al*., 2017).**

Les champignons modifient, l'apparence, l'odeur et même le goût des denrées alimentaires, mais plus grave encore, ils produisent de nombreuses mycotoxines rendant ces aliments inconsommables et causent des effets indésirables pouvant aller jusqu'à la mort. Les bactéries lactiques ont la capacité d'inhiber la croissance fungique par divers mécanismes, tels que : la production de nombreux métabolites antifongiques notamment les acides organiques, le diacétyle, les antimycotiques bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO_2 et la reutérine qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique, ces mécanismes impliquent plusieurs facteurs tels que l'état physiologique des cellules, le milieu de croissance et d'autres facteurs comme le nombre de cellules de bactéries lactiques, le temps d'incubation et la capacité des bactéries lactiques à ce lier aux mycotoxines en dépendant fortement de la concentration initiale de mycotoxines **(Crowley et *al*., 2013 ; Sadiq et *al*., 2019)**. Les bactéries lactiques bloquent la détérioration fungique des fruits et légumes frais, des produits laitiers, de boulangerie et de l'ensilage. Les bactéries lactiques les plus prometteuses à inhiber la croissance fungique sont celles appartenant aux genres : *Lactococcus, Pediococcus, Leuconostoc* et *Lactobacillus* **(Novik et *al*., 2017).**

La plus ancienne des utilisations des bactéries lactiques en particulier des *Lactococcus* est celle de starter des produits laitiers fermentés. La souche de *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* est la plus utilisée et est reconnue être la meilleure pour la fabrication du

cheddar, impliquée dans le développement de la texture en produisant des EPS et de la saveur en produisant, des arômes, d'alcools, de la cétone et des aldéhydes résultant du métabolisme du citrate, d'acides aminés et des lipides. Les *Lactococcus* produisent plusieurs bactériocines de classe I et II, la nisine étant la plus connue, utilisée pour la conservation des aliments **(Kim, 2014).**

Des études ont prouvé que certaines bactéries lactiques sont relativement tolérantes aux concentrations élevées en éthanol essentiel pour la production d'alcool lui-même qui rentre dans l'industrie alimentaire, particulièrement les lactobacilles, par exemple : *Lactobacillus plantarum* peut croitre à pH 3,2 et tolère jusqu'à 13% d'éthanol, *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus vini* peuvent se développer dans des milieux contenant jusqu'à 10% d'éthanol. Des souches d'*Oenococcus oeni* restées viables a des concentrations d'éthanol atteignant les 13% **(Mazzoli et *al*., 2014 ; Mora et *al*., 2020).**

6.2. Dans le domaine thérapeutique : grâce à leurs propriétés (statut GRAS et l'absence de lipopolysaccharides qui éliminent le risque du choc endotoxique), les bactéries lactiques sont utilisées pour la production des molécules bio-thérapeutiques aux surfaces des muqueuses et adjuvants de vaccins. *Lactobacillus lactis* par exemple produit le fragment B de la toxine diphtérique, alors que des souches recombinantes de la même espèce produisent des interleukines avec effet adjuvant **(Szatraj et *al*., 2017 ; Vilander et Dine, 2019).**

La production de vitamines B, en particulier le folate et la riboflavine B2 par plusieurs espècesde bactéries lactiques (*Lactococcus lactis, Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus reuteri*) a été démontrée dans plusieurs études **(Mazzoli et *al*., 2014).** Des études réalisées sont démontré que les bio-peptides dérivés de produits laitiers fermentés tels que le lait fermenté, le fromage et le yaourt ont une activité anti-hypertensive importante. Les lacto-tripeptides ; VPP (Valine-Proline-Proline) et IPP (Isoleucine-Proline-Proline) étant les plus importants, ils sont retrouvés dans les produits laitiers fermentés par *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* et *Lactobacillus rhamnosus* et commercialisés sous forme de boissons hypotensives, d'où l'approche nutraceutique suggérée par la Société Européenne de Cardiologie pour la Gestion de l'Hypertension **(Tagliazucchi et *al*., 2019).**

Les traitements pharmacologiques du diabète type 2 ciblent l'augmentation de la disponibilité de l'insuline, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et à retarder l'absorption du glucose dans le tube digestif. Actuellement, les scientifiques se penchent

sur l'inhibition de la dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV), comme nouvelle cible pour le traitement du diabète type 2qui est responsable de la dégradation rapide et de l'inactivation des incrétines [le glucagon-like peptide 1 (GLP-1) et le glucose-dépendent insulinotropic polypeptide (GIP)]. Cette inhibition par des protéines alimentaires venant du lait ou de produits laitiers tout particulièrement le « Gouda » serait une option thérapeutique efficace pour le traitement de cette maladie **(Tagliazucchi et *al*., 2019 ; Kumari et *al*., 2021).**

Selon plusieurs auteurs, les bactéries lactiques ou leurs métabolites peuvent agirent sur diverses tumeurs malignes **(Meenkashi, 2015 ; Desalegn-Amenu-Delesa, 2017 ; Karpinski et Adamczak, 2018 ; Garbacz, 2022).**

Un intérêt accru de la communauté scientifique à ce groupe de bactéries est l'utilisation des cultures vivantes de bactéries lactiques comme probiotiques. La définition officielle du terme probiotique fourni par les experts de l'OMS et de la FAO est la suivante « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, confèrent à l'hôte un bénéfice pour la santé ». Souvent ajoutés aux aliments sous forme de complément **(Azaïs-Braesco et *al.,* 2010 ; Wyszyńska et *al*., 2015 ; Mojgani et *al*., 2020).** Le tableau II, résume les principales souches de bactéries lactiques exploitées dans le développement de nouveaux aliments laitiers enrichis en Bioprotéines **(Rayan et *al*., 2015 ; Tagliazucchi et *al*., 2019).**

Tableau II. Principales souches de bactéries lactiques exploitées dans le développement de nouveaux aliments laitiers enrichis en Bioprotéines **(Rayan et *al*., 2015 ; Tagliazucchi et *al*., 2019).**

Souches de bactéries lactiques	Nouveau produit laitier	Activités médiées par les bioprotéines
Streptococcus thermophilus	Laits fermentés : de chèvre et de chamelle et fromage Manchego.	ACEi et antioxydant.

Tableau II. Principales souches de bactéries lactiques exploitées dans le développement de nouveaux aliments laitiers enrichis en Bioprotéines **(Rayan et *al*., 2015 ; Tagliazucchi et *al*., 2019).**

Souches de bactéries lactiques	Nouveau produit laitier	Activités médiées par les bioprotéines
Lactobacillus helveticus	Lait fermenté écrémé, lait fermenté, yaourt, cheddar, Gouda et caséinate fermenté.	Enzyme de conversion de l'angiotensine inhibition (ACEi) médicaments anti-hypertensifs, antioxydant, opioïde, stimulant, hypotenseur, immunomodulateur, antibactérien et antithrombotique.
Lactobacillus casei	Lait fermenté et lait écrémé fermenté, yaourt, boisson lactée et Cheddar.	ACEi, antioxydant et anticancéreux.
Lactobacillus casei	Lait de chamelle et boisson lactée.	Réduction de l'α-lactalbumine et de la β-lactoglobuline et antioxydant ACEi
Lactobacillus plantarum	Laits fermentés : de vache de chamelle, de chèvre, lait écrémé, fromage Akawi faible en matières grasses	Antioxydant, antihémolytique, anti-inflammatoire et ACEi
Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus	Lait fermenté, yaourt greque, et fromage Fetta.	Antibactérien, anti-inflammatoire, ACEi.

Chapitre II

1. Historique et définition

Les bactéries sont des êtres unicellulaires, mais elles ne vivent pas toujours de manière isolée. Au contraire, elles construisent des communautés multicellulaires appelées biofilms, qui sont leur habitat privilégié. Van Leeuwenhoek ait été le premier à examiner des biofilms bactériens sur la surface de ses propres dents au XVIIème siècle, la première étude scientifique consacrée aux biofilms date de 1943 **(Zobell, 1943).** Le terme biofilm (Fig.3) a été proposé en 1978 par Costerton et est défini comme une entité de microorganismes (bactéries, champignons…) qui vivent entre euxet attachés sur différents types de surfaces inertes ou vivantes, grâce à la matrice polymérique autoproduite représentée par des exopolymères qui renferment en majorité des polysaccharides macromoléculaires et en moindre mesure des protéines, des lipides et des acides nucléiques **(Sutherland, 2001 ; Shakibaie et *al.,* 2014).** Ces exopolymères ont pour rôle principal la formation du biofilm et sa protection contre les différentes conditions défavorables telles que la température, le pH, le stress osmotique… qui peuvent affecter la survie des individus **(Percival et *al.,* 2011 ; Sarjit et *al.,* 2015 ; Hurlow et *al.,* 2015 ; Gupta et *al.,* 2016 ; Caggianiello et *al.,* 2016).** Les biofilms sont souvent très résistants à l'irradiation ultraviolette, à la dessiccation et au traitement avec des agents antibactériens tels que les antibiotiques **(Maris, 1992 ; Schwank et *al.,* 1998 ; Sutherland, 2001 ; Jefferson, 2004 ; Diggle et *al.,* 2007).** Le biofilm des bactéries lactiques est utilisé comme une stratégie puissante pour contrôler la colonisation des germes pathogènes et inhiber leur développement sur les surfaces biotiques comme les tissues épithéliales ou abiotiques comme les matériaux industriels **(Hossain et *al*., 2020).**

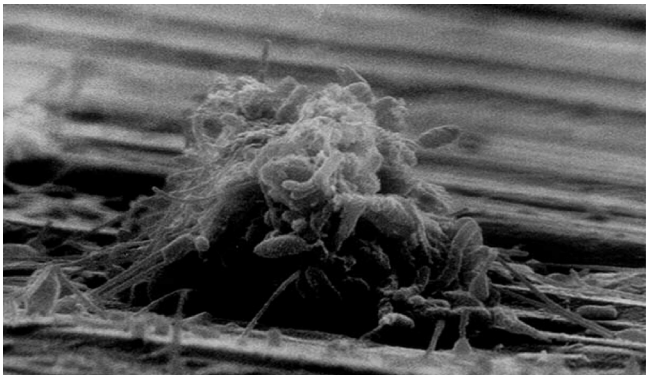

Fig.3. Micrographie électronique d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* sur une surface métalliquedans un système de distribution d'eau **(Donlan et Costerton, 2002).**

2. Composition et architecture

Les biofilms sont des groupements microbiens établis dans une structure tridimensionnelle, constitués de communautés multicellulaires, ces dernières sont composées par des cellules eucaryotes et/ou procaryotes. Chez la majorité des biofilms, les microorganismes représentent moins de 10% de la matière sèche, alors que la matrice représente plus de 90%, qui est produite par les micro-organismes eux-mêmes et dans laquelle ils sont emboités. Elle est souvent composée d'exopolysaccharides, d'ADN, de protéines… **(Lopez et *al*., 2010).** La nature des polymères extracellulaires varie suivant la souche, les conditions de croissance, le milieu et le substrat **(Lopez et *al*., 2010 ; Pierce et *al*., 2017).** De plus, cette structure contient souvent des canaux d'importation de nutriments et d'élimination des déchets et peuvent même contenir des cellules spécialisées, qui semblent avoir des rôles spécifiques au sein du biofilm **(Flemming et Wingender, 2010 ; Azaredo et *al.,* 2016).** Le tableau III présente la composition d'un biofilm.

Tableau III. Composition de biofilms **(Vasudevan, 2014).**

N°	Composition	Pourcentage
1	Eau	Jusqu'à 97 %
2	Cellules microbiennes	2-5 %
3	Polysaccharides	1-2 %
4	Protéines	<1-2 % (y compris les enzymes)
5	ADN et ARN	<1-2 %
6	Ions	Liés et libres

L'image la plus courante d'un biofilm (Fig.4) se présente sous la forme de champignons ou de tours **(Donlan et Costerton, 2002).** Suivant les conditions environnementales, les microorganismes présents, le type du support, la forme et l'épaisseur du biofilm varient considérablement **(Stoodley et *al.,* 1997).**

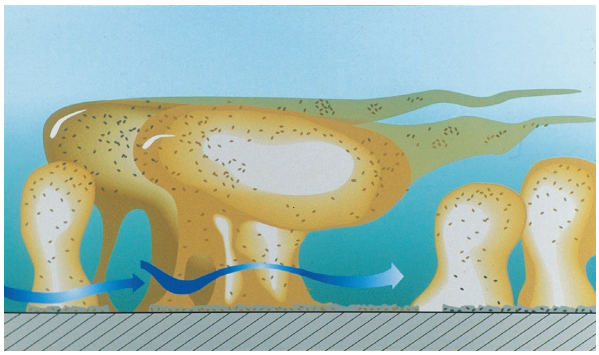

Fig.4. Image en forme de tours d'un biofilm bactérien
(Donlan et Costerton, 2002).

3. Etapes de formation

La formation de biofilm est le mécanisme qui permet aux bactéries de se coller et de croitre de manière définitive sur différentes surfaces, cette capacité varie d'une espèce ou une souche à l'autre selon le génotype, le sérotype. Pour de nombreuses espèces bactériennes, le processus de formation d'un biofilm se déroule en plusieurs étapes successives telles qu'illustrées sur la figure 5. **(Donlan, 2001 ; ÜnalTurhan et *al.,* 2019).**

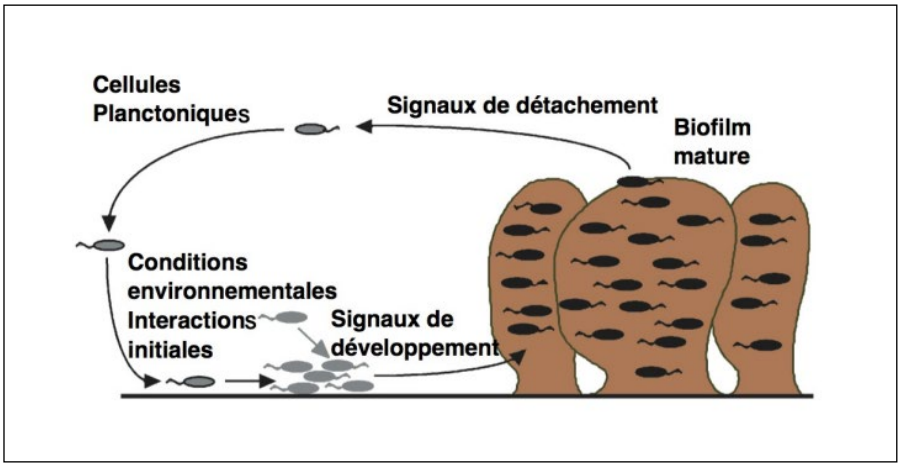

Fig.5. Etapes de formation et du développement du biofilm
(Vasudevan, 2014).

- **Conditionnement :** quand les composés du milieu, tels que les molécules organiques, notamment les macromolécules, les hydroxydes métalliques, les particules minérales très fines… s'adsorbent sur les surfaces conduisent à l'apparition d'un film conditionnant qui représente une source nutritive concentrée pour les cellules du biofilm aidant à sa formation **(Melo et *al.,* 2012).**

- **Transport et adhésion :** les bactéries planctoniques, se déplacent grâce aux différents appendices bactériens, tels que les flagelles et les cils **(Gavin et *al.,* 2003),** ou transportées à proximité de la surface par mouvement brownien ou par sédimentation. Il existe deux types d'adhésion ; une adhésion réversible effectuée principalement par des liaisons non covalentes (liaisons électrostatiques, hydrophobes, de van der Waals et acide/base de Lewis) et une adhésion irréversible qui est effectuée par l'intervention de nouveaux mécanismes chimiques et physiques **(Toyofuku et *al.,* 2016).**

- **Maturation :** après l'adhésion irréversible, les cellules bactériennes commencent à s'agréger les unes aux autres puis proliférer pour former des microcolonies, ainsi que se multiplier en produisant des exopolymères qui vont entourer le biofilm pour lui fournir de la protection contre les conditions de stress et maintenir son hydratation. Les exopolymères comprennent principalement des exopolysaccharides, des acides nucléiques, des protéines et de lipides et chaque espèce bactérienne possède des gènes spécifiques responsables de promouvoir la production de ces polymères. Le biofilm se développe et acquiert une structure tridimensionnelle complexe. Les cellules de biofilm communiquent entre elles par le mécanisme de signalisation qui s'appelle le « *Quorum Sensing* » en permettant le bon fonctionnement cellulaire **(Toyofuku et *al.,* 2016 ; Mukherjee et Bassler, 2019).**

- **Dispersion :** cependant, à mesure que la disponibilité du substrat devient limitée en raison de l'augmentation des distances de diffusion, la croissance diminuera et le développement du biofilm atteindra un état stable, et au moment de l'apparition de conditions défavorables telles qu'un manque d'oxygène dans le cas de biofilm aérobie ou l'épuisement de nutriments… la dispersion de biofilm est provoquée **(Hentzer et *al.,* 2003 ; Khatoon et *al.,* 2018).**

4. Facteurs influençant l'adhésion

Selon la littérature, l'adhésion dépend des propriétés physicochimiques de la surface de la paroi bactérienne (charge, hydrophobie…), de sa composition (polysaccharides, protéines…), de sa structure et de son organisation **(Sengupta et *al.,* 2013),** ainsi qu'aux conditions et à l'âge de la culture **(An et Friedman, 1998).** Les acides teichoïques, composants spécifiques des bactéries à Gram positif, semblent exercer un effet sur l'adhésion. La fixation des bactéries peut être influencée également par la nature de la surface/support (abiotique : métal, plastique, bois… ou biotique : tissus épithéliale, tissus parenchyme, dents…) et de ses propriétés (hydrophobicité, la rugosité de surface…). La plupart des études réalisées ont montré que les microorganismes adhèrent plus facilement aux supports hydrophobes **(Bos et *al.*, 1999 ; An et Friedman, 1998).**

Sur une surface biotique telle que la muqueuse intestinale, l'adhésion des bactéries est influencée par sa composition et sa structure. D'autres facteurs peuvent également influer sur la capacité d'adhésion et le temps de résidence au niveau intestinal comme les mouvements péristaltiques, la compétition des bactéries pour les éléments nutritifs et la disponibilité des sites d'adhésion au niveau de la muqueuse **(Huang et *al.,* 2011 ; Schwab et *al.,* 2014).**

5. *Quorum sensing* chez les bactéries à Gram positif

Au sein d'un biofilm, les bactéries se communiquent entre elles avec un système de communication, appelé le *Quorum Sensing*, ce dernier consiste à l'expression de gènes spécifiques, à l'aide de molécules appelées les auto-inducteurs synthétisés tout le long du développement bactérien et peuvent être libérés dans le milieu environnant. La concentration des auto-inducteurs dans le milieu est proportionnelle avec la densité des cellules dans un biofilm ; la concentration augmente avec l'augmentation de nombre de cellules dans une colonie. Par conséquent, la détection des auto-inducteurs donne aux bactéries un mécanisme pour se compter les unes les autres et estimer la densité et la population et le nombre de cellules formant le biofilm **(Taga et Bassler, 2003 ; Galloway et *al.,* 2011).** Ce mécanisme de communication intracellulaire est médié par quatre signaux venant de quatre molécules qui sont le signal synthase de type LuxI une molécule signal de la N-acylhomosérine lactone (AHL), un récepteur de signal de type LuxR et les gènes cibles. Grâce à ces signaux, et comme cité précédemment, les bactéries peuvent détecter l'accumulation d'une concentration minimale de stimulation seuil de ces auto-inducteurs et modifient l'expression des gènes, et donc le comportement, en réponse. Les bactéries utilisent ces systèmes de communication pour répondre aux changements de conditions environnementales particuliers par un feedback auto-induit pour synchroniser rapidement des comportements particuliers et des phénotypes appropriés demandés à l'échelle de la population et fonctionnent ainsi comme des organismes multicellulaires (**Kjelleberg et Molin, 2002 ; Hentzer et *al*., 2003 ; Waters et Bassler, 2005).**

- ***Quorum sensing* chez les bactéries à Gram positif :** d'une manière générale, les bactéries à Gram positif utilisent des peptides modifiés post-traductionnellement comme signaux de *Quorum Sensing* qui sont détectés via des systèmes de phosphorélation à deux composants constitués d'une protéine kinase capteur liée à la membrane cytoplasmique et d'une protéine régulatrice de réponse cytoplasmique. Les peptides de signalisation de *Quorum Sensing* sont d'origine cytoplasmique puis ils vont subir des modifications lors de leur sécrétion. L'accumulation de la molécule signal à la surface de la cellule bactérienne entraîne l'activation du système de phosphorélation par liaison directe à une protéine kinase capteur ce qui va entraîner l'activation ou l'inhibition de l'expression de gènes multiples **(Chhabra et *al.,* 2005).** Les bactéries à faibles à GC% utilisent généralement des oligopeptides modifiés comme auto-inducteurs. Ces signaux sont génériquement appelés polypeptides auto-inductible (AIP). Les AIP sont produits dans le cytoplasme comme peptides précurseurs et sont ensuite clivés, modifiés et exportés hors de la cellule. Les AIP interagissent spécifiquement avec les domaines externes des

protéines kinases à deux composants liées à la membrane. L'interaction de l'auto-inducteur avec son capteur apparenté stimule l'activité kinase de la protéine kinase du capteur entraînant la phosphorylation de sa protéine de régulateur de réponse partenaire. La protéine de régulateur de réponse phosphorylé se lie à l'ADN et modifie la transcription des gènes cibles **(Taga et Bassler, 2003).**

- **Exemples de *Quorum sensing* chez les bactéries les bactéries lactiques :** *Lactobacillus plantarum* a la capacité d'activer des systèmes de régulation de composants spécifiques impliqués dans l'antagonisme microbien, tel que le système plantaricine qui est régulé par la voie de *Quorum Sensing*. La phéromone sécrétée par plantaricine A (PlnA) sert d'outil pour mesurer la densité cellulaire de la culture. À une certaine densité cellulaire, PlnA déclenche une série de réactions de phosphorylation de la protéine histidine kinase (HPK) et de régulateur de réponse (RR), aboutissant au RR phosphorylé. Le RR phosphorylé se lie aux promoteurs du régulons de la bactériocine et active tous les gènes impliqués dans la biosynthèse des bactériocines **(Di Cagno et *al.*, 2010).**

  Des études ont démontré que chez *Lactococcus lactis,* la régulation de la production de la nisine dépend de l'expression de l'opéron nisine qui se compose en total de 11 gènes codés par des protéines. Les gènes biosynthétiques de la nisine sont situés sur un transposon conjugatif (TN5276) et sont généralement organisés en quatre opérons : NisABTCIPRK, NisI, NisRK et NisFEG **(Lubelski et *al.*, 2008)**. Cet opéron est autorégulé par un système NisRK Histidine kinase, un capteur de régulation à deux composantes (TCS) qui permet l'auto-induction du promoteur NisA par le produit nisine mature exogène **(Chatterjee et *al.*, 2005 ; Kuipers et *al.*, 1995)**. A faible concentration de la nisine exogène, le NisR est inactif, il se retrouve sous forme déphosphorylé. La protéase NisP est impliquée en clivant sa séquence N-terminale pour donner un peptide mature qui sera excrété à l'extérieur de la cellule par le transporteur NisT. Lorsque la concentration de la nisine atteint un niveau critique, elle provoque l'activation du domaine intracellulaire de NisK, ce qui entraîne la phosphorylation de NisR. Cette cascade de phosphorylation va stimuler la transcription de tous les gènes nécessaires à la production de la nisine, ainsi que les gènes de l'auto-immunité qui protègent la souche contre sa propre bactériocine **(Patton et Van Der Donk, 2005 ; Kareb et Aïder, 2020).**

6. Méthodes d'étude de biofilm in vitro

L'étude de la croissance bactérienne au sein d'un biofilms peut être réalisée par différentes techniques, parmi les méthodes classiques on trouve les mesures directes par

la détermination du poids sec ou humide, ou les mesures indirectes en mesurant la turbidité, la densité optique DO. Ces techniques permettent seulement d'observer le comportement global d'une communauté microbienne dans un environnement donné **(Medeiros, 2016).**

La détection de biofilm in vitro s'effectue par plusieurs méthodes, Celles-ci comprennent des méthodes quantitatives telles que la méthode de la plaque de culture tissulaire (TCPM) par laquelle les biofilms mono-espèces peuvent se former sur des supports en polystyrènes en utilisant des microplaques à 96 puits **(O'Toole et *al.*, 2000)**. Mais aussi des méthodes qualitatives comme la méthode du tube (TM) dans laquelle la formation du biofilm est représenté par un film visible recouvre le mur et le bas du tube utilisé dans le test **(Bellifa, 2014)**, comme on trouve la méthode de culture sur Milieu Rouge Congo (CRA) (**Sultan et Nabiel, 2019**).

On peut trouver aussi d'autres techniques notamment le dosage bioluminescent, les capteurs piézoélectriques et l'examen au microscope fluorescent **(Hassan et *al.*, 2011)**.

Chapitre III

1. Adhésion sur une surface biotique

Parmi les endroits où on peut trouver les biofilms, il y'a le matériel médical, les systèmes naturels aquatiques, les surfaces tissulaires comme le tube digestif…. L'intestin est un e xemple d'organe possédant une structure parfaitement bien adaptée aux rôles qu'il occupe. Il comporte quatre couches fonctionnelles distinctes : (i) la muqueuse étant la couche la plus importante pour l'adhésion, (ii) la sous-muqueuse (iii) la musculeuse et (iv) la séreuse **(Vélez et *al*., 2007).**

1.1. Muqueuse intestinale humaine

- **Composition :** la muqueuse intestinale est constituée de différentes composantes pouvant jouer un r ôle crucial dans l'adhésion des bactéries (Fig.6). Les entérocytes sont les plus dominantes portant des microvillosités sur leurs pôles apicaux. Les cellules caliciformes productrices de mucus : une substance viscoélastique principalement composée de glycoprotéines à haut poids moléculaire qui s'organisent selon un squelette protéique, liées à un réseau complexe de chaînes latérales oligosaccharidiques. Le mucus constitue la première barrière interagissant avec les microorganismes. Parmi les glycoprotéines se trouvent les mucines, ces dernières offrent les propriétés viscoélastiques au mucus. Les cellules de Paneth qui ont pour rôle la protection et la sécrétion des lysozymes, les cellules entéroendocrines qui produisent des hormones régulatrices et enfin les cellules souches qui participent au renouvellement tissulaire **(Vélez et *al*., 2007).**

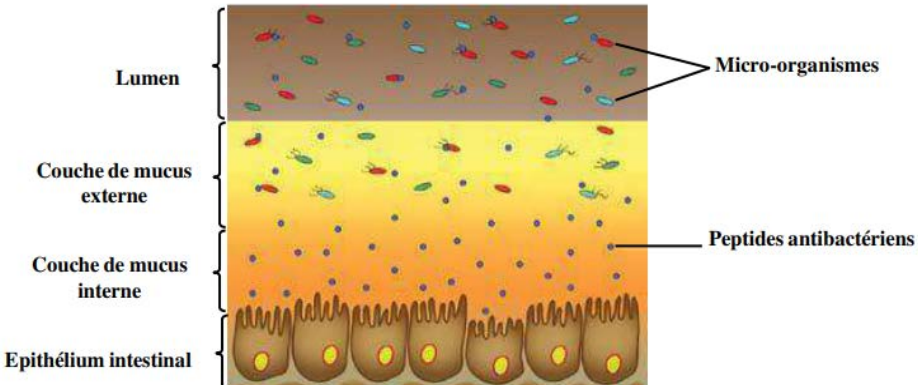

Fig.6. Représentation schématique des constituants de la muqueuse intestinale humaine **(Nuding et *al*., 2013).**

- **Fonction :** la muqueuse intestinale possède de nombreuses fonctions particulières dans l'ensemble du t ube digestif, telle que la perméabilité sélective qui permet le passage et le transfert des petites particules et des nutriments, et la protection de l'épithélium contre les menaces luminales. Cette barrière a comme rôle aussi d'empêcher l'invasion des

microorganismes pathogènes par ses propriétés physiques et chimiques ; comme la sécrétion des β-défensines, lysozymes, avidines et IgA **(Duangnumsawang et *al*., 2021).** Elle assure aussi le péristaltisme intestinal et le renouvellement rapide des cellules intestinales **(Sandborn, 2004 ; McGuckin et *al.*, 2011).**

1.2. Mécanismes d'adhésion : afin d'exercer leurs effets bénéfiques, les bactéries lactiques doivent adhérer à la muqueuse intestinale et persister dans l'intestin **(Collado et *al.*, 2005 ; Xiaodong et *al*., 2009).** Cette adhésion peut se faire d'une manière spécifique ou non [faisant appel à plusieurs interactions (citées précédemment dans le chapitre II) et aux propriétés structurales de la surface] **(Walsham et *al*., 2016).** Vu la difficulté d'étudier l'adhésion des bactéries lactiques, *in vivo*, différentes méthodes ont été utilisées, *in vitro* comme les lignés cellulaires intestinales d'origine humaine en culture comme modèle de l'épithélium intestinal, la lignée Caco-2 est l'un des meilleurs modèles pour étudier l'adhesion **(Vesterlund et *al.*, 2005 ; Gueimonde et *al.*, 2006).**

Les données de la littérature ont rapporté que chez certaines espèces de *Lactobacillus,* l'adhésion à la surface des cellules épithéliales est connue pour être spécifique de l'hôte et plusieurs facteurs sont impliqués, une spéculation typique est que les lactobacilles peuvent adhérer aux cellules épithéliales comme les lectines par des interactions entre les glucides à la surface des cellules bactériennes et/ou la glycoprotéine à la surface des cellules intestinales de l'hôte **(Yamada et *al*., 1994).** Les protéines de la couche S (S-layer proteins) sont importantes dans l'adhésion des lactobacilles **(Lebeer et *al*., 2008).** Toutefois ces protéines ne sont pas présentes chez tous les lactobacilles.

Les protéines à domaines MUB (Mucus Binding/protéines de la couche S), observées et caractérisées chez certaines souches de *Lactobacillus* joueraient un rôle prépondérant dans l'adhésion **(Deepika et *al*., 2009 ; Deepika et *al*., 2012).** Cette couche représente la structure la plus externe de l'enveloppe cellulaire avec un pourcentage de 10 à 15% de protéines hautement basiques (pH> 9,4) qui sont censées interagir avec les groupes de têtes phospholipides chargées négativement **(Avall-Jaaskelainen et Palva, 2005 ; Rykov et *al*., 2018 ; Rocha-Mendoza et *al*., 2020).** D'autre part cette couche porte deux types de glycoprotéines, les domaines N-terminal et C-terminal qui sont responsables de l'attachement et de l'auto-assemblage **(Khaleghi et Kermanshahi, 2012 ; Rykov et *al*., 2018).** Chez *Lactobacillus acidophilus,* la suppression des gènes qui expriment la protéine Slp entraîne une diminution de l'adhésion aux cellules épithéliales *in vitro*, ce qui suggère leur rôle important dans l'adhésion intestinale **(Buck et *al*., 2005 ; Goh et *al*., 2009).** Chez *Lactobacillus johnsonii*, la protéine chaperonne GroEL semble agir comme facteur d'adhésion aux cellules épithéliales

intestinales humaines **(Bergonzelli et *al*., 2006).** Il a été démontré par certains auteurs que *Lactobacillus casei* possède une protéine de liaison, la fibronectine (FbpA) qui lui permet l'adhésion à la surface des cellules épithéliales **(Lalioui et *al*., 2005 ; Souza et *al*., 2017).** De plus, cette espèce montre une meilleur adhésion aux cellules Caco-2 par la participation des transpeptidases et de sortases A (SrtpA) connue sous le nom de «housekeeping-sortase» et est responsable de l'ancrage des protéines contenant LPXTG (protéine de surface) au lipide II (une peptydoglécane précurseur dans la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries) **(Lalioui et *al*., 2005 ; Souza et *al*., 2017).** Chez *Lactobacillus reuteri*, la protéine CmbA est importante pour améliorer l'adhésion aux cellules Caco-2, cette protéine fait partie de la famille des protéines dépendantes de la sortase (SDPs) y compris : MapA et Mub qui augmentent la liaison des bactéries lactiques aux cellules intestinales. Les mutations au niveau des gènes qui codent pour la CmbA ont présenté une perte d'adhésion significative chez ces bactéries **(Jensen et *al*., 2014 ; Singh et *al*., 2016 ; Rocha-Mendoza et *al*., 2020).**

Chez *Lactobacillus plantarum*, les protéines Mub et MapA sont connues par leurs capacités de former des liaisons covalentes à la couche de peptidoglycane bactérien **(Ramiah et *al*., 2009 ; Singh et *al*., 2017).** On trouve aussi certaines protéines comme les GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) qui sont capables de participer au processus d'adhésion aux mucines et aux cellules Caco-2 **(Kinoshita et *al*., 2008 ; Zhang et *al*., 2015).** Chez *Lactobacillus paracasei*, les molécules non pr otéiques (fractions saccharidiques) ont été décrites comme favorisant l'adhésion notamment l'exopolysaccharide spécifique EPS-SJ qui se trouve à la surface cellulaire en contribuant à l'adhésion et améliore la communication entre les bactéries et l'épithélium afin de coloniser l'intestin et augmenter le potentiel d'auto-agrégation **(Živković et *al*., 2016 ; Koryszewska-Bagińska et *al*., 2019).** Chez *Streptococcus salivarius* ; un colonisateur du tractus gastro-intestinal humain, l'auto-agrégation est influencée par une variété de facteurs en impliquant douze protéines, parmi elles l'adhésine exposée à la surface, SrpB (Protéines répétées riches en sérine B), qui médie l'auto-agrégation, la fixation et la formation de biofilm. On trouve aussi deux autres facteurs d'auto-agrégation chez cette espèce : les glycosyltransférases GtfG et GtfH. Les glycosyltransférases participent à l'adhésion et à la maturation de biofilm **(Couvigny et *al*., 2018 ; Latousakis et *al*., 2020).**

2. Rôle des biofilms de bactéries lactiques

Le comportement des bactéries lactiques change selon leurs états, plusieurs recherches ont démontré des changements fonctionnels et métaboliques de ces bactéries à l'état sessile. Elles montrent une plus grande résistance aux conditions défavorables de croissance et présentent

différentes stratégies pour protéger la barrière épithéliale contre les microorganismes pathogènes par la régulation de système immunitaire, l'élimination des toxines et la réduction de stresse gastro-intestinale **(Zhang et *al*., 2022).**

La formation de biofilm intestinal renforce les couches du mucus et du glycocalyx qui revête l'épithélium en occupant les sites de liaisons microbiens conférant ainsi une protection contre l'invasion par les microorganismes pathogènes, ou en produisant plus de mucines pour améliorer la fonction barrière et exclure le microorganisme pathogène comme dans le cas de certaines espèces de *Lactobacillus* notamment *Lactobacillus acidophilus* **(Weiss et *al*., 1996 ; Collado et *al*., 2005 ; Bermudez-Brito et *al*., 2012).** Il a été démontré que les espèces de *Lactobacillus* améliorent la barrière intestinale par la régulation de certains gènes qui codent pour des protéines d'adhésion pour exclure le pathogène **(Bermudez-Brito et *al*., 2012).** D'autre mécanismes sont utilisés pour exclure les microorgansimes pathogènes, tel que la création d'une microécologie défavorable pour leur croissance, l'élimination des sites récepteurs bactériens disponibles ou la sécrétion des substances antimicrobiennes **(Bermudez-Brito et *al*., 2012).** Il a été rapporté que chez les enfants, *Lactobacillus* spp, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* et *Streptococcus thermophilus* pourraient entrer en compétition avec les pathogènes en les empêchant de se lier aux cellules épithéliales ou en produisant des bactériocines comme la nisine **(Amara et Shibl, 2015).**

Selon certains auteurs, les souches appartenant aux genres *Pediococcus* et de *Lactobacillus* ont la capacité de synthétiser des substances antibactériennes à l'égard des bactéries pathogènes comme *Pseudomonas* et *Escherichia coli* **(Skyttä et *al*., 1993 ; Arena et *al*., 2017)** pour protéger la muqueuse intestinale. Les biofilms de bactéries lactiques peuvent stimuler la réponse immunitaire, qui a comme rôle d'améliorer la protection des muqueuses qui est souvent corrélée avec les exopolysaccharides de la matrice qui interviennent comme substituants aux agents antitumoraux et donc développer l'intégrité de l'épithélium, favoriser le transport de protéines et aussi l'absorption de glucose intestinal **(Arena et *al*., 2017).** Les barrières physiques, biochimiques et immunologiques sont nécessaires pour bloquer l'entrée des antigènes extérieurs et des toxines et en cas d'anomalies au niveau de la barrière intestinale, plusieurs phénomènes peuvent apparaitre tel que l'hyperperméabilité intestinale, et dans ce cas-là les *Lactobacillus reuteri* à l'état biofilms sont connus pour leurs capacités à améliorer la fonction barrière de la muqueuse **(Mu et *al*., 2017).**

Les bactéries lactiques en sein de biofilms peuvent induisent une réponse immunitaire mucosale au niveau des tissus lymphoïdes comme chez *Lactobacillus reuteri*, par l'activation des cellules dendritiques qui peuvent augmenter la libération des cytokines anti-inflammatoires (L'IL4 et l'IL10) et la synthèse des immunoglobulines A (IgA). Des études ont montré que les biofilms de

Bifidobacterium et de *Lactobacillus* améliorent considérablement l'efficacité thérapeutique de la chimiothérapie ou de l' immunothérapie anti-mutagène et anticancéreuse de l'hôte, en activant les réponses immunitaires médiées par les cellules dendritiques **(Fanning et *al*., 2012).** Les espèces de *Lactobacillus reuteri* modulent le microbiote intestinal et sont capables d'inhiber *Escherichia coli* en formant un biofilm au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse par le biais de la synthèse des exopolysaccharides. Les souches de *Pediococcus pentosaceus* réduisent significativement les taux sériques de cytokines pro-inflammatoires et confèrent une résistance aux microorganismes pathogènes **(Mu et *al*., 2018 ; Zhang et *al*., 2022).** Selon **Bendali et *al*., (2017),** les *Lactobacillus pentosus* sont capables de former des biofilms au niveau du mucus intestinal et ils ont montré une capacité à réduire les taux de cholestérol total, de LDL-cholestérol, de triglycérides et le risque de maladie cardiovasculaire.

Certaines souches de bactéries lactiques au niveau de la muqueuse intestinale peuvent assurer la prévention et la prise en charge des diarrhées aiguës (bactériennes) mais aussi le contrôle des diarrhées associées aux antibiotiques et la diarrhée des voyageurs. Selon certaines études, *Lactobacillus* GG, *Lactobacilus reuteri*, et des espèces de *Bifidobacterieum* agissent sur les diarrhées virales suggérant un mécanisme immunologique en secrétant plus d'IgA **(Drisko et *al*., 2003 ; Amara et Shibl, 2015).** Plusieurs études confirment que certaines souches de *Lactobacillus* seules ou associées à celles de *Bifidobactérium* au sein d'un biofilm améliore la digestion du lactose et réduisent les diarrhées et les troubles intestinaux **(Fassio et *al*., 2018 ; Ibrahim et *al*., 2021).**

Conclusion

Notre étude a porté sur le biofilm comme mode de vie qui prédomine dans le monde du vivant (propriétés, formation, mode de communication de ces composants…) et sur l'importance de certains groupes bactériens tels que le groupe des bactéries lactiques en faisant le point sur leurs caractéristiques ainsi que leurs principales applications dans différents domaines.

Les bactéries lactiques adhérées à la muqueuse intestinale font intervenir plusieurs mécanismes, avec une meilleure adhésion pour les souches du genre *Lactobacillus* en comparaison avec les autres genres tels que *Pediococcus, streptococcus*. Cette adhésion est accompagnée de beaucoup d'effets bénéfiques pour l'Homme, dont certains ont été confirmés comme dans le cas de réduire certaines pathologies ou les éradiquer.

Au final et en guise de conclusion, nous pouvons dire que l'adhésion sur la muqueuse intestinale est un bon critère de sélection des bactéries probiotiques.

En perspective, il serait intéressant de compléter cette partie théorique avec une partie pratique qui pourra être une étude comparative entre adhésion de quelques souches de bactéries lactiques sur microplaque de polystyrène comme support abiotique et l'adhésion de ces mêmes souches in vitro aux cellules épithéliales comme support biotique au niveau de nos laboratoires.

Références bibliographiques

A

- **Amara, A. A., & Shibl, A**. (2015). Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi pharmaceutical journal, 23(2), 107-114.
- **Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., & Chevallier, I**. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. Food control, 17(6), 454-461.
- **An, Y. H., & Friedman, R. J.** (1998). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. Journal of biomedical materials research, 43(3), 338-348.
- **Annabelle, S. S**. (2019). Recent advances in buffalo research: The philippine experience.
- **Arena, M. P., Capozzi, V., Spano, G., & Fiocco, D**. (2017). The potential of lactic acid bacteria to colonize biotic and abiotic surfaces and the investigation of their interactions and mechanisms. Applied microbiology and biotechnology, 101(7), 2641-2657.
- **Åvall-Jääskeläinen, S., & Palva, A.** (2005). *Lactobacillus* surface layers and their applications. FEMS microbiology reviews, 29(3), 511-529.
- **Axelsson, L.** (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. Food science and technology. New York. Marcel dekker, *139*, 1-66.
- **Azaïs-Braesco, V., Bresson, J. L., Guarner, F., & Corthier, G.** (2010). Not all lactic acid bacteria are probiotics… but some are. British journal of nutrition, 103(7), 1079-1081.
- **Azeredo, J., Azevedo, N. F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A. R & Sternberg, C.** (2016). Review on biofilm methods. Review in microbiology, 43(3), 313–351.

B

- **Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R**. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et Kabyle". Sciences et technologie, 30-37.
- **Bellifa S.** (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au centre hospitalo universitaire tlemcen. Thèse de doctorat .Université abou bekr belkaid, Tlemcen.
- **Bendali, F., Kerdouche, K., Hamma-Faradji, S & Drider, D.** (2017). In vitro and in vivo cholesterol lowering ability of *Lactobacillus pentosus* KF923750. Beneficial microbes, 8(2), 271-280.

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

- **Bergonzelli, G. E., Granato, D., Pridmore, R. D., Marvin-Guy, L. F., Donnicola, D., & Corthésy-Theulaz, I. E.** (2006). GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Infection and immunity, 74(1), 425- 434.
- **Bermudez-Brito, M., Muñoz-Quezada, S., Gomez-Llorente, C., Matencio, E., Bernal, M. J., Romero, F., & Gil, A**. (2012). Human intestinal dendritic cells decrease cytokine release against *Salmonella* infection in the presence of *Lactobacillus paracasei* upon TLR activation.
- **Bintsis, T**. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. AIMS microbiology, 4(4), 665.
- **Bos, R., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J.** (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions–its mechanisms and methods for study. FEMS microbiology reviews, 23(2), 179-230.
- **Bron, P. A., Van Baarlen, P., & Kleerebezem, M**. (2012). Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa. Nature reviews microbiology, 10(1), 66-78.
- **Buck, B. L., E. Altermann, T. Svingerud, & T. R. Klaenhammer**. (2005). Functional analysis of putative adhesion factors in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. Journal of applied and environmental microbiology, 71(12), 8344-8351.

C

- **Caggianiello, G., Kleerebezem, M., & Spano, G.** (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. Applied microbiology and biotechnology, 100(9), 3877-3886.
- **Caplice, E., & Fitzgerald, G. F**. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International journal of food microbiology, 50(1-2), 131-149.
- **Chatterjee, C., Paul, M., Xie, L., & Van Der Donk, W. A**. (2005). Biosynthesis and mode of action of lantibiotics. Chemical reviews, 105(2), 633-684.
- **Chhabra, S. R., Philipp, B., Eberl, L., Givskov, M., Williams, P., & Cámara, M.** (2005). Extracellular communication in bacteria. The chemistry of pheromones and other semio chemicals II, 1, 279-315.
- **Crowley S., Mahony J., & van Sinderen**. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. Trends in food science and technology, P33(2), 93–109

- **Collado, M. C., Gueimonde, M., Hernàndez, M., Sanz, Y., & Salminen, S.** (2005). Adhesion of selected *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus and the role of adhesion in enteropathogen exclusion. Journal of food protection, 68(12), 2672–2678.
- **Collado, M. C., Gueimonde, M., &Salminen, S**. (2010). Probiotics in adhesion of pathogens: mechanisms of action. In bioactive foods in promoting health, Academic press, 353-370.
- **Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., & Wallbanks, S**. (1993). Taxonomic studies on some Leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *leuconostoc paramesenteroides* group of species. Journal of applied bacteriology, 75(16), 595-603.
- **Couvigny, B., Kulakauskas, S., Pons, N., Quinquis, B., Abraham, A. L., Meylheuc, T., & Guédon, E.** (2018). Identification of new factors modulating adhesion abilities of the pioneer commensal bacterium *Streptococcus salivarius*. Frontiers in microbiology, 9, 273.

D

- **Daliri, E. B. M., & Lee, B. H**. (2015). New perspectives on probiotics in health and disease. Food science and human wellness, 4(2), 56-65.
- **Deepika, G., Green, R. J., Frazier, R. A., & 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.
- **Deepika, G., Karunakaran, E., Hurley, C. R., Biggs, C. A., & Charalampopoulos, D.** (2012). Influence of fermentation conditions on the surface properties and adhesion of *Lactobacillus rhamnosus GG*. Microbial cell factorises, 11(1), 1-12.
- **Desalegn-Amenu-Delesa**. (2017). Overview of anticancer activity of lactic acid bacteria. International journal of advanced research in biological science, 4(12): 166-177.
- **Diggle, S. P., Crusz, S. A., & Cámara, M.** (2007). Quorum sensing. Current biology, 17(21), R907-R910.
- **De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. & Whitman W. B**. (2009). The firmicute. Springer. New York. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2 ed., 63-67.
- **Di Cagno, R., De Angelis, M., Calasso, M., Vincentini, O., Vernocchi, P., Ndagijimana, M., & Gobbetti, M.** (2010). Quorum sensing in sourdough *Lactobacillus plantarum* DC400: induction of plantaricin A (PlnA) under co-cultivation with other lactic acid bacteria and effect of PlnA on bacterial and Caco-2 cells. Proteomics, 10(11), 2175-2190**.**

- **Donlan, R. M.** (2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Clinical infectious diseases, 33(8), 1387-1392.
- **Donlan, R. M., & Costerton, J. W.** (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical microbiology reviews, 15(2), 167-193.
- **Drisko, J. A., Giles, C. K., & Bischoff, B. J**. (2003). Probiotics in health maintenance and disease prevention. Alternative medicine review, 8(2), 143-155.
- **Duangnumsawang, Y., Zentek, J., & Boroojeni, F. G**. (2021). Development and functional properties of intestinal mucus layer in poultry. Frontiers in immunology 2021, 12 : 745849.

F

- **Fanning, S., Hall, L. J., & van Sinderen, D**. (2012). *Bifidobacterium breve* UCC2003surface exopolysaccharide production is a beneficial trait mediating commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. Gut microbes, 3(5), 420-425.
- **Fassio, F., Facioni, M. S., & Guagnini, F**. (2018). Lactose maldigestion, malabsorption, and intolerance: a comprehensive review with a focus on current management and future perspectives. Nutrients, 10(11), 1599.
- **Flemming, H. C., & Wingender, J.** (2010). The biofilm matrix. Nature reviews microbiology, 8(9), 623-633.
- **Fuller, R**. (1999). Probiotics. In colonic microbiota, Nutrition and health. Springer. Dordrecht, 89-99

G

- **Galloway, W. R., Hodgkinson, J. T., Bowden, S. D., Welch, M., & Spring, D. R**. (2011). Quorum sensing in Gram-negative bacteria: small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways. Chemical reviews, 111(1), 28-67.
- **Garbacz, K**. (2022). Anticancer activity of lactic acid bacteria. In seminars in cancer biology. Academic press.
- **Gavín, R., Merino, S., Altarriba, M., Canals, R., Shaw, J. G., & Tomás, J. M.** (2003). Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas spp*. FEMS microbiology letters, 224(1), 77-83.
- **Goh, Y. J., M. A. Azcarate-Peril, S. O'Flaherty, E. Durmaz, F. Valence,J. Jardin, S. Lortal, & T. R. Klaenhammer**. (2009). Development and application of an up-based counter selective gene replacement system for the study of the S-layer protein SlpX of *Lactobacillus acidophilus* NCFM. Applied and environmental microbiology, 75(10), 3093-3105.

- **Gueimonde, M., Jalonen, L., He, F., Hiramatsu, M., & Salminen, S**. (2006). Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected *Lactobacilli*. Food research international, 39(4), 467-471.
- **Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P.** (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention a journey to break the wall: a review. Archives of microbiology, 198(1), 1-15.
- **Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A**. (2018). 'Lactic acid bacteria: probiotic characteristic, selection criteria, and its role in human health (A review)'. International journal of emerging technologies and innovative research (www. jetir. org), 5(10).

H

- **Heita, L**. (2014). Antimicrobial activity profile of traditional fermented milk starter cultures from North-Eastern Namibia (Thèse de doctorat. Université de namibia).
- **Huang, R., Li, M., & Gregory, R. L**. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence reviews, 2(5), 435-444.
- **Hentzer, M., Eberl, L., Nielsen, J., & Givskov, M.** (2003). Quorum sensing. Bio drugs, 17(4), 241-250.
- **Hossain, M. I., Mizan, M. F. R., Ashrafudoulla, M., Nahar, S., Joo, H. J., Jahid, I. K., & Ha, S. D**. (2020). Inhibitory effects of probiotic potential lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Listeria monocytogenes* biofilm on lettuce, stainless-steel surfaces, and MBEC™ biofilm device. LWT, 118, 108864.
- **Huang, R., Li, M., & Gregory, R. L.** (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence, 2(5), 435-444.
- **Hurlow, J., Couch, K., Laforet, K., Bolton, L., Metcalf, D., & Bowler, P.** (2015). Clinical biofilms: a challenging frontier in wound care. Advances in wound care, 4(5), 295-301.

I

- **Ibrahim, S. A., Gyawali, R., Awaisheh, S. S., Ayivi, R. D., Silva, R. C., Subedi, K., ... & Krastanov, A**. (2021). Fermented foods and probiotics: An approach to lactose intolerance. Journal of dairy research, 88(3), 357-365.

J

- **Jay, J. M**. (1982). Antimicrobial properties of diacetyl. Applied and environmental microbiology, 44(3), 525-532.

- **Jefferson, K. K.** (2004). What drives bacteria to produce a biofilm?. FEMS microbiology letters, 236(2), 163-173.
- **Jensen, H., S. Roos, H. Jonsson, I. Rud, S. Grimmer, J.-P. van Pijkeren, R. A. Britton, & L. Axelsson.** (2014). Role of *Lactobacillus reuteri* cell and mucus-binding protein A (CmbA) in adhesion into intestinal epithelial cells and mucus in vitro. Microbiology, 160(Pt 4), 671.
- **Justé, A., Lievens, B., Rediers, H., & Willems, K. A**. (2014). The genus *Tetragenococcus*. Lactic acid bacteria, 213–227.

K

- **Kareb, O., & Aïder, M.** (2020). Quorum sensing circuits in the communicating mechanisms of bacteria and its implication in the biosynthesis of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. Probiotics and antimicrobial proteins, 12(1), 5-17.
- **Karpiński, T., & Adamczak, A**. (2018). Anticancer activity of bacterial proteins and peptides. Pharmaceutics, 10(2), 54.
- **Khaleghi, M., & Kermanshahi, R. K.** (2012). Effect of environmental stresses on S-layer production in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Advances in applied biotechnology, 21, 1-17.
- **Khatoon, Z., McTiernan, C. D., Suuronen, E. J., Mah, T. F., & Alarcon, E. I**. (2018). Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. Heliyon, 4(12), 1-9.
- **Kim, W**. (2014). The genus *Lactococcus*. Lactic acid bacteria, 429–443.
- **Kinoshita, H., Uchida, H., Kawai, Y., Kawasaki, T., Wakahara, N., Matsuo, H., & Saito, T.** (2008). Cell surface *Lactobacillus plantarum* LA 318 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) adheres to human colonic mucin. Journal of applied microbiology, 104(6), 1667-1674.
- **Kjelleberg, S., & Molin, S.** (2002). Is there a role for quorum sensing signal in bacterial biofilms?. Current opinion in microbiology, 5(3), 254-258.
- **Klaenhammer, T. R**. (1988). The bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie, 70(3), 337-349.
- **Klaenhammer, T. R**. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS microbiology reviews, 12(1-3), 39-85.
- **Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A., & Altermann, E**. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. FEMS microbiology reviews, 29(3), 393-409.

- **Koryszewska-Bagińska, A., Gawor, J., Nowak, A., Grynberg, M., & Aleksandrzak-Piekarczyk, T**. (2019). Comparative genomics and functional analysis of a highly adhesive dairy *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* IBB3423 strain. Applied microbiology and biotechnology, 103(18), 7617-7634.
- **Kuipers, O.P., Beerthuyzen, M.M., de Ruyter, P.G., Luesink, E.J. & de Vos, W.M**. (1995) Auto regulation of nisin biosynthesis in *Lactococcus lactis* by signal transduction. Journal of biological chemistry, 270, 27299–27304.
- **Kumari, M., Kokkiligadda, A., Dasriya, V., & Naithani, H**. 2021 Functional relevance and health benefits of soymilk fermented by lactic acid bacteria. Journal of applied microbiology, 8-10.

L

- **Lalioui, L., Pellegrini, E., Dramsi, S., Baptista, M., Bourgeois, N., Doucet-Populaire, F., & Trieu- Cuot, P**. (2005). The SrtA sortase of *Streptococcus agalactiae* is required for cell wall anchoring of proteins containing the LPXTG motif, for adhesion to epithelial cells, and for colonization of the mouse intestine. Infection and immunity, 73(6), 3342-3350.
- **Langa, S., Martín-Cabrejas, I., Montiel, R., Landete, J. M., Medina, M., & Arqués, J. L**. (2014). Combined antimicrobial activity of reuterin and diacetyl against foodborne pathogens. Journal of dairy science, 97(10), 6116-6121.
- **Latousakis, D., MacKenzie, D. A., Telatin, A., & Juge, N**. (2020). Serine-rich repeat proteins from gut microbes. Gut microbes, 11(1), 102-117.
- **Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C.** (2010). Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. Nature microbiology reviews, 8(3), 171-184.
- **Lewus, C. B., Sun, S., & Montville, T. J**. (1992). Production of an amylase-sensitive bacteriocin by an atypical *Leuconostoc paramesenteroides* strain. Applied and environmental microbiology, 58(1), 143-149.
- **Linares, D. M., Gómez, C., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., Ross, R. P., & Stanton, C**. (2017). Lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. Frontiers in microbiology, 8, 846.
- **López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R.** (2010). Biofilms. Cold spring harbor perspectives in biology, 2(7).

- **Lubelski J, Rink R, Khusainov R, Moll GN & Kuipers OP**. (2008) Biosynthesis, immunity, regulation, mode of action and engineering of the model lantibiotic nisin. Cellular and molecular life sciences 65:455–476.

M

- **MacDonald, A., Cochrane, B., Wopereis, H., & Loveridge, N**. (2011). Specific prebiotics in a formula for infants with phenylketonuria. Molecular genetics and metabolism, 104, S55-S59.
- **Maris, P**. (1992). Biofilms and disinfection: development of a microorganism carrier-surface method. Sciences des aliments, 12(4), 721-728.
- **Mazzoli, R., Bosco, F., Mizrahi, I., Bayer, E. A., & Pessione, E**. (2014). Towards lactic acid bacteria-based biorefineries. Biotechnology advances, 32(7), 1216-1236.
- **McGuckin, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H.** (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. Nature reviews microbiology, 9(4), 265-278.
- **Medeiros, A. C. D. A. P.** (2016). Etude expérimentale de la formation des biofilms sous conditions hydrodynamiques contrôlées (Doctoral dissertation, Université grenoble alpes).
- **Meenakshi, I. K**. (2015). In-Vitro characterization of the anti-cancer activity of the probiotic bacterium *Lactobacillus Fermentum* NCIMB 5221 and potential against colorectal cancer. Journal of cancer science et therapy, 07(07).
- **Melo, L., Bott, T. R., Fletcher, M. A. D. I. L. Y. N., & Capdeville, B.** (Eds.). (2012). Biofilms-science and technology (Vol. 223). Springer science and business media.
- **Mojgani, N., Shahali, Y., & Dadar, M**. (2020). Immune modulatory capacity of probiotic lactic acid bacteria and applications in vaccine development. Beneficial microbes, 11(3), 213-226.
- **Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., ...& López-Gómez, J. P**. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: a review. Fermentation, 6(1), 23.
- **Mu, Q., Tavella, V. J., & Luo, X. M**. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. Frontiers in microbiology, 9, 757.
- **Mugula, J. K., Narvhus, J. A., & Sørhaug, T**. (2003). Use of starter cultures of lactic acid bacteria and yeasts in the preparation of togwa, a tanzanian fermented food. International journal of food microbiology, 83(3), 307-318.
- **Mukherjee, S., & Bassler, B. L**. (2019). Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. Nature reviews microbiology, 17(6), 371-382.

- **Muyzer, G**. (1999). DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. Current opinions in microbiology, 2, 317–322.

N

- **Novik, G., Meerovskaya, O., & Savich, V**. (2017). Waste degradation and utilization b lactic acid bacteria: use of lactic acid bacteria in production of food additives, bioenergy and biogas. Food additives,105-125.
- **Nuding, S., Antoni, L., & Stange, E. F**. (2013). The host and the flora. Digestive diseases, 31(3-4), 286-292.

O

- **Oak, S. J., & Jha, R**. (2018). The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. Review in food science and nutrition, 1–9.
- **Otto, M**. (2018). Staphylococcal biofilms. Microbiology spectrum, 6(4), 1-2.
- **O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R.** (2000). Biofilm formation as microbial development. Annual review of microbiology, 54, 49.
- **Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E**. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, 279-289.

P

- **Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., & Zhao, Z**. (2009). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. Food control, 20(6), 598-602.
- **Patton, G. C., & Van Der Donk, W. A**. (2005). New developments in lantibiotic biosynthesis and mode of action. Current opinion in microbiology, 8(5), 543-551.
- **Percival, S. L., Malic, S., Cruz, H., & Williams, D. W.** (2011). Introduction to biofilms. In biofilms and veterinary medicine. Springer. Berlin heidelberg, 6, 41-68.
- **Perry JJ, Staley JT & Lory S**. (2004). Bactéries Gram-positives: *Firmicutes* et *Actinobacteria*. In: «microbiologie ». Dunodéd., Paris. France, 471-50.
- **Pierce, C. G., Vila, T., Romo, J. A., Montelongo-Jauregui, D., Wall, G., Ramasubramanian, A., & Lopez-Ribot, J. L**. (2017). The *Candida albicans* biofilm matrix : composition, structure and function. Journal of fungi, 3(1), 14.

R

- **Ramiah, K., Van Reenen, C. A., & Dicks, L. M. T**. (2009). Expression of the mucus adhesion gene mub, surface layer protein slp and adhesion-like factor EF-TU of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 under digestive stress conditions, as monitored with real-time PCR. Probiotics and antimicrobial proteins, 1(1), 91-95.
- **Rocha-Mendoza, D., Kosmerl, E., Miyagusuku-Cruzado, G., Giusti, M. M., Jiménez-Flores, R., & García-Cano, I**. (2020). Growth of lactic acid bacteria in milk phospholipids enhances their adhesion to Caco-2 cells. Journal of dairy science, 103(9), 7707-7718.
- **Romeo, Y., Bouvier, J., & Gutierrez, C**. (2001). La réponse au stress osmotique des bactéries lactiques *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus plantarum* (²mini-revue). Le lait, 81(1-2), 49-55.
- **Russo, P., Arena, M. P., Fiocco, D., Capozzi, V., Drider, D., & Spano, G**. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: a promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. International journal of food microbiology, 24,48-54.
- **Ryan, P. M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Caplice, N. M., & Stanton, C**. (2015). Sugarcoated: exopolysaccharide producing lactic acid bacteria for food and human health applications. Food and function, 6(3), 679–693.
- **Rykov, S. V., Yegorov, Y. E., Vishnyakova, H. S., & Berezina, O. V.** (2018). Designing a cell surface display system of protein domains in *Lactobacilli* based on S-layer proteins of *Lactobacillus brevis* ATCC 367. Russian journal of bioorganic chemistry, 44(2), 199-209.

S

- **Sadiq, F. A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W**. (2019). Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents. Comprehensive reviews in food science and food safety, 18(5), 1403-1436.
- **Sandborn, W**. (2004). Kirsner's inflammatory bowel diseases. Philadelphia
- **Sarjit, A., Tan, S. M., & Dykes, G. A**. (2015). Surface modification of materials to encourage beneficial biofilm formation. AIMS bioengineering, 2(4), 404-422.
- **Schwab, C., Tveit, A. T., Schleper, C., & Urich, T**. (2014). Gene expression of lactobacilli in murine for stomach biofilms. Microbial biotechnology, 7(4), 347-359.
- **Schwank, S., Rajacic, Z., Zimmerli, W., & Blaser, J**. (1998). Impact of bacterial biofilm formation on in vitro and in vivo activities of antibiotics. Antimicrobial agents and chemotherapy, 42(4), 895-898.

- **Sengupta, R., Altermann, E., Anderson, R. C., McNabb, W. C., Moughan, P. J., & Roy, N. C**. (2013). The role of cell surface architecture of *Lactobacilli* in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. Mediators of inflammation.
- **Shakibaie, M. R., Golkari, Y., & Salagegheh, G**. (2014). Antimicrobial susceptibility, virulence factors and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* isolates from hospital infections in Kerman, Iran. Journal of microbiology and infectious diseases, 4(04), 152-158.
- **Singh, T. P., Malik, R. K., & Kaur, G**. (2016). Cell surface proteins play an important role in probiotic activities of *Lactobacillus reuteri.* Nutrire, 41(1), 1-10.
- **Singh, K. S., Choudhary, R., Bisht, S., Grover, S., Kumar, S., Mohanty, A. K., & Kaushik, J. K**. (2017). Expression of recombinant truncated domains of mucus-binding (Mub) protein of *Lactobacillus plantarum* in soluble and biologically active form. Protein expression and purification, 135, 54-60.
- **Skyttä, E., Haikara, A., & Mattila-Sandholm, T.** (1993). Production and characterization of antibacterial compounds produced by *Pediococcus damnosus* and *Pediococcus pentosaceus*. Journal of applied bacteriology, 74(2), 134-142.
- **Stoodley, P., Boyle, J. D., Dodds, I., & Lappin-Scott, H. M**. (1997). Consensus model of biofilm structure, 1-9.
- **Strus, M., Brzychczy-Włoch, M., Gosiewski, T., Kochan, P., & Heczko, P. B**. (2006). The in vitro effect of hydrogen peroxide on vaginal microbial communities. FEMS Immunology and medical microbiology, 48(1), 56-63.
- **Sutherland, I. W**. (2001). The biofilm matrix–an immobilized but dynamic microbial environment. Trends in microbiology, 9(5), 222-227.
- **Szatraj, K., Szczepankowska, A. K., & Chmielewska-Jeznach, M**. (2017). Lactic acid bacteria - promising vaccine vectors: possibilities, limitations, doubts. Journal of applied microbiology, 123(2), 325–339.

T

- **Taga, M. E., & Bassler, B. L**. (2003). Chemical communication among bacteria. Proceedings of the national academy of sciences, 100(suppl_2), 14549-14554.
- **Tagliazucchi, D., Baldaccini, A., Martini, S., Bianchi, A., Pizzamiglio, V., & Solieri, L**. (2020). Cultivable non-starter *Lactobacilli* from ripened parmigiano reggiano cheeses with different salt content and their potential to release anti-hypertensive peptides. International journal of food microbiology, 330, 108688.

- **Tailliez, P**. (2001). Mini-revue : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. Le lait 81, 1–11.
- **Temmerman, R., Huys, G., & Swings, J**. (2004). Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. Trends in food science and technology, 15(7-8), 348-359.
- **Toyofuku, M., Inaba, T., Kiyokawa, T., Obana, N., Yawata, Y., & Nomura, N.** (2016). Environmental factors that shape biofilm formation. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 80(1), 7-12.

U

- **ÜnalTurhan, E., Erginkaya, Z., Korukluoğlu, M., & Konuray, G.** (2019). Beneficial biofilm applications in food and agricultural industry. In health and safety aspects of food processing technologies. Springer. Cham, 445-469.

V

- **Vasudevan, R.** (2014). Biofilms: microbial cities of scientific significance. Journal of microbiology and experimentation, 1(3), 1-7.
- **Vélez, M. P., De Keersmaecker, S. C., & Vanderleyden, J**. (2007). Adherence factors of *Lactobacillus* in the human gastrointestinal tract. FEMS microbiology letters, 276(2), 140-148.
- **Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Debevere, J**. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the bio preservation of cooked meat products. International journal of food microbiology, 96(2), 149-164.
- **Vesterlund, S., Paltta, J., Karp, M., & Ouwehand, A. C.** (2005). Adhesion of bacteria to resected human colonic tissue: quantitative analysis of bacterial adhesion and viability. Research in microbiology, 156(2), 238-244.
- **Vilander, A. C., & Dean, G. A**. (2019). Adjuvant strategies for lactic acid bacterial mucosal vaccines. Vaccines, 7(4), 150.

W

- **Walsham, A. D., MacKenzie, D. A., Cook, V., Wemyss-Holden, S., Hews, C. L., Juge, N., & Schüller, S.** (2016). *Lactobacillus reuteri* inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* adherence to human intestinal epithelium. Frontiers in microbiology, 7, 244.
- **Waters, C. M., & Bassler, B. L.** (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annual review of cell and developmental biology, 21(1), 319-346.
- **Weiss, A. A., Babyatsky, M. W., Ogata, S., Chen, A., & amp; Itzkowitz, S. H**. (1996). Expression of MUC2 and MUC3 mRNA in human normal, malignant, and inflammatory intestinal tissues. Journal of histochemistry and amp; cytochemistry, 44(10), 1161-1166.
- **Woese, C. R**. (1987). Bacterial evolution. microbiological reviews, 51(2), 221-271.
- **Wu, C., Huang, J., & Zhou, R**. (2017). Genomics of lactic acid bacteria: Current status and potential applications. Review in microbiology, 43(4), 393–404.
- **Wyszyńska, A., Kobierecka, P., Bardowski, J., & Jagusztyn-Krynicka, E.K**. (2015). Erratum to: lactic acid bacteria, 20 years exploring their potential as live vectors for mucosal vaccination. Applied microbiology and biotechnology. 99, 4531.

Y

- **Yamada, M., Saito, T., Toba, T., Kitazawa, H., Uemura, J., & Itoh, T.** (1994). Hemagglutination activity of *Lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 58(5), 910-915.
- **Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., Yang, X., Sarengaowa, & Feng, K**. (2020). Microbial dynamics and volatilome profiles during the fermentation of chinese north east sauerkraut by *Leuconostoc mesenteroides* ORC 2 and *Lactobacillus plantarum* HBUAS51041 under different salt concentrations. Food research international, 130, 108926.

Z

- **Zeidan, A. A., Poulsen, V. K., Janzen, T., Buldo, P., Derkx, P. M., Øregaard, G., & Neves, A.R**. (2017). Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. FEMS microbiology reviews, 41(Supp_1), S168-S200.
- **Zhang, Z. G., Ye, Z. Q., Yu, L., & Shi, P**. (2011). Phylogenomic reconstruction of lactic acid bacteria: an update. BMC evolutionary biology, 11(1), 1-12.

- **Zhang, L., Meng, Y., Li, J., Yu, J., Mu, G., & Tuo, Y**. (2022). *Lactiplantibacillus plantarum* Y42 in Biofilm and planktonic states improves intestinal barrier integrity and modulates. Gut microbiota of balbic mice foods, 11(10), 1451.
- **Zhang, W. M., Wang, H. F., Gao, K., Wang, C., Liu, L., & Liu, J. X**. (2015). *Lactobacillus reuteri* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase functions in adhesion to intestinal epithelial cells. Canadian journal of microbiology, 61(5), 373-380.
- **Živković, M., Miljković, M. S., Ruas-Madiedo, P., Markelić, M. B., Veljović, K., Tolinački, M., & Golić, N.** (2016). EPS-SJ exopolisaccharide produced by the strain *Lactobacillus paracasei subsp*. *Paracasei* BGSJ2-8 is involved in adhesion to epithelial intestinal cells and decrease on *Escherichia coli* association to Caco-2 cells. Frontiers in microbiology, 7, 286.
- **Zobell, C. E.** (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. Journal of bacteriology, 46(1), 39-56.

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Résumé

Le biofilm est le mode de vie le plus couramment rencontré chez les bactéries, il désigne une communauté de microorganismes enrobés dans une matrice hydratée en contact avec une surface biotique ou abiotique. La communication et l'échange d'information sont assurés par le «*Quorum sensing*». Les bactéries lactiques qui colonisent le tube digestif de l'Homme vivent suivant ce mode, elles s'adhèrent à l a muqueuse intestinale selon plusieurs mécanismes. Cette adhésion apporte plusieurs effets positifs sur la santé humaine, les plus importants étant l'inhibition de l'invasion des agents pathogènes, l'élimination des toxines et la modulation de l'immunité épithéliale. Cela rend cette adhésion l'un des critères les plus importants pour qualifier une bactérie de probiotique.

Mots clés : biofilm, bactéries lactiques, probiotique et adhésion.

Abstract

The biofilm is the most commonly encountered mode of life in bacteria, it designates a community of microorganisms coated in a hydrated matrix in contact with a biotic or abiotic surface. The communication and the exchange of information are ensured by «*Quorum sensing*». The lactic acid bacteria which colonize the human digestive tract live according to this mode, they adhere to the intestinal mucosa according to several mechanisms. This adhesion brings several positive effects on human health, the most important being the inhibition of the invasion of pathogens, the elimination of toxins and the modulation of epithelial immunity. This makes this adhesion one of the most important criteria for qualifying a probiotic bacterium.

Key words: biofilm, lactic acid bacteria, probiotics and adhesion.

الملخص

الغشاء الحيوي هو النمط الأكثر شيوعًا للحياة عند البكتيريا، فهو يحدد مجتمعًا من الكائنات الحية الدقيقة المغلفة في مصفوفة رطبة تلامس سطحا حيويا أو غير حيوي، ويتم ضمان الاتصال وتبادل المعلومات عن طريق استشعار النصاب. تعيش بكتيريا حمض اللبن التي تستعمر الجهاز الهضمي للإنسان وفقًا لهذا الوضع، فهي تلتصق بالغشاء المخاطي المعوي وفقًا لعدة آليات. يجلب هذا الالتصاق العديد من الآثار الإيجابية على صحة الإنسان، أهمها تثبيط غزو مسببات الأمراض والقضاء على السموم وتعديل مناعة الغشاء الطلائي. هذا ما يجعل هذا الالتصاق أحد أهم المعايير لتأهيل بكتيريا بروبيوتيك.

الكلمات المفتاحية :الغشاء الحيوي, بكتيريا حمض اللبن, بروبيوتيك, الالتصاق.