الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

جـــامعـــة محمد الصديق بن يحيى جـيـــجـــل

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

كليـة عـــلوم الطـــبيعـة والحـــياة
قســـم المكروبيولوجيا التطبيقية
وعلوم التغذية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**
Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Screening de l'activité anti-inflammatoire des exopolysaccharides de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 *in vitro*

Membres de Jury Présenté par

Présidente : D^{r}. AMIRA Samia
Examinateur : P^{r}. IDOUI Tayeb
Encadrant : P^{r}. SIFOUR Mohamed

Melle : BOUAZIZ Imane
Melle : BOUSBIA Wissame
Melle : BOUFERROUM Aya

Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) : ……..

Remerciements

On remercie Allah le Tout Puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et surtout la patience pour accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de notre ***Pr. SIFOUR Mohamed****. On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

Nos vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail malgré leurs charges académiques et professionnelles :

Nous remercions ***Dr. AMIRA Samia*** *qui a accepté de présider ce jury.*
Nos sincères remerciements vont à ***Pr. IDOUI Tayeb*** *d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos remerciements s'adressent également à la doctorante ***Melle. ALIOUCHE Nadia*** *pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.*

Nos remerciements vont aussi à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve.

On souhaite également remercier l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de Microbiologie Appliquée ainsi que le personnel du département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires qui ont contribué pour mener à bien ce travail.

Dédicaces

Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert que je dédie ce travail

A ma chère mère Meriem, *ta présence, ton amour, ton affection, tes conseils, ta patience, et tes prières m'ont été un grand soutient pour obtenir les meilleurs résultats dans mes études et une source de ma force et de ma réussite. Puisse le Tout Puissant te donner santé, bonheur et longue vie.*

A mon cher père Mourad, *qui m'a toujours encouragée et donnée envie d'aller plus loin. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être. Qu'Allah t'accorde bonne santé et longue vie.*

A ma chère sœur, mes chers frères et mon adorable petite nièce *pour leur présence constante dans ma vie, pour leur affection et les moments agréables que je passe en leur compagnie. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

A toutes mes amies*, en particulier* ***mon trinôme Wissame*** *et* ***Aya,*** *qui ont partagé avec moi tous les moments de ce travail. En témoignage de l'amitié qui nous a réunis et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

BOUAZIZ Imane

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail

A mon très cher père*, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

A ma très chère mère*, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Celle qui m'a accompagné tout au long de mon parcours d'études et qui est resté éveillée pour nous enseigner et donner des conseils.*

A mes frères *et* ***mes sœurs*** *et toute ma famille.*
A mon adorable Meriem, *la petite sœur qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

A ceux que j'aime beaucoup, qui m'ont toujours soutenue et qui étaient toujours à mes côtés, mon meilleur ***trinôme Imane*** *et* ***Aya****.*

Tous mes enseignants tout au long de mes études.
Je serais toujours reconnaissante à tous pour leur appui sans faille et je sais que je pourrais toujours compter sur eux et qu'ils me sont d'une grande aide. Je prie Allah de les protéger et de les garder.

BOUSBIA Wissame

Mes remerciements s'adressent d'abord à Allah qui m'a donnée la connaissance et m'avoir guidée pour atteindre ce stade.

Avec foie, fierté et respect je dédie cet évènement marquant de ma vie

A la mémoire de ma très chère mère *qui m'a toujours fait preuve d'amour et d'affection. J'espère qu'elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Allah, le Tout Puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.*

A mon très cher père*, source d'espoir et de motivation. Je lui dédie ce mémoire pour tous ses dévouements et ses incommensurables sacrifices consentis pour toute ma vie. Tu n'as jamais épargné aucun effort pour me rendre heureuse. Que ce travail traduit ma gratitude et mon profond amour.*

A mon très cher frère *qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'épauler. Tu sais toujours comment procurer la joie et le bonheur pour moi. Puisse Allah te protège et te donne le bonheur, la réussite et le courage dans ta vie.*

A ma très chère grand-mère *dont le soutien moral m'a toujours été précieux. Qu'Allah lui offre santé, et longue joyeuse vie.*

Sans oublier ***mon trinôme, Imane*** *et* ***Wissame****, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.*

BOUFERROUM Aya

Sommaire

Liste des abréviations i

Liste des figures ii

Liste des tableaux iii

Introduction 1

Partie I Synthèse bibliographique

I. Bactéries Lactiques 3

I.1. Généralités 3

I.2. Intérêts et activités biologiques 4

II. Inflammation et activité anti-inflammatoire 5

II.1. Réaction inflammatoire 5

II.2. Médiateurs inflammatoires 5

II.3. Activité anti-inflammatoire 7

II.4. Anti-inflammatoires 7

III. Exopolysaccharides des bactéries lactiques 8

III.1. Généralités 8

III.2. Structure et Classification 9

III.3. Applications 10

III.4. Pouvoir Anti-inflammatoire 11

Partie II Matériel et méthodes

II. 1. Matériel 13

II. 1.1. Souche bactérienne 13

II.1.2. Appareillage 13

II.1. 3. Solutions et Milieux de cultures 13

II.2. Méthodes 14

II. 2.1. Revivification et purification de la souche bactérienne 14

II.2.2. Production des EPS 14

II.2.3. Extraction des EPS 14

II.2.4. Quantification des EPS 14

II.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des EPS *in vitro* 15

II.2.5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines 15

II.2.5.2. Inhibition des protéases 15

II.2.5.3. Stabilisation des membranes érythrocytaires 16

II.2.6. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur la bioaccessibilité des EPS 16

II.2.6.1.Digestion salivaire 16

II.2.6.2. Digestion gastrique 17

II.2.6.3. Digestion intestinale 18

II.2.6.4. Méthode DNS 18

II.2.6.5. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'activité anti-inflammatoire des EPS 18

II.2.7. Analyse statistique 18

Partie III Résultats et discussion

III.1. Revivification et purification de la souche bactérienne 20

III.1.1. Aspect macroscopique 20

III.1.2. Aspect microscopique 20

III.2. Production et quantification des EPS 21

III.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des EPS *in vitro* 21

III.3.1. Inhibition de la dénaturation des protéines 21

III.3.2. Inhibition des protéases 23

III.3.3. Stabilisation des membranes érythrocytaires 24

III.4. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur la bio-accessibilité des EPS 25

III.4.1. Digestion salivaire 25

III.4.2. Digestion gastrique 26

III.4.3. Digestion intestinale 26

III.4.4. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'activité anti-inflammatoire des EPS 27

III.4.4.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine 27

III.4.4.2. Inhibition des protéinases.....28

Conclusion.....30

Références bibliographiques.....31

Annexes

BSA : Bovine Serum Albumin

C : Cytosine

C3a : Complement 3a

CCL2 : Chemokine (C-C motif) Ligand 2

COX : Cyclooxygenase

CPS : Capsular polysaccharides

DNS : Dinitrosalicyclic acid

EPS : Exopolysaccharide

FAO: Food and agriculture organization

G : Guanosine

GCs : Glucocorticoids

GRAS : Generally Recognized As Safe

HePS : Heteropolysaccharides

HoPS : Homopolysaccharides

IL : Interleukine

iNOS : inductible Oxyde Nitrique Synthase

LPS : Lipopolysaccharide

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinases

MRS : Man-Rogosa Sharp

NF-kB : Nuclear Factor-kappa B

NO : Nitric Oxide

NSAID : Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P38 : Transcription Factor p38

PBS : Phosphate Buffer Saline

PGE2 : Prostaglandin E2

rpm : Revolutions per minute

STAT : Signal Transducer and Activators of Transcription

TCA : Trichloroacetic acid solution

TLR : Toll-like receptors

TNF-α : Tumor Necrosis Factor-α

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

Figures	Titres	P
Figure 1	Arbre phylogénétique des principaux genres des bactéries lactiques, dont *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Leuconostoc* et *Weissella* sont les plus répandus	4
Figure 2	Plan descriptif des deux classes des exopolysaccharides	10
Figure 3	Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur milieu MRS	20
Figure 4	Aspect microscopique des colonies bactériennes après la coloration de Gram (×40)	20
Figure 5	Inhibition de la dénaturation de l'albumine par différentes concentrations d'EPS	22
Figure 6	Inhibition de l'activité des protéinases par différentes concentrations d'EPS	23
Figure 7	Activité anti-hémolytique de différentes concentrations d'EPS	24
Figure 8	Digestion bucco-gastro-intestinale des EPS	27
Figure 9	Inhibition de la dénaturation des protéines après la digestion bucco-gastro-intestinale	28
Figure 10	Inhibition des protéases après la digestion bucco-gastro-intestinale	29

Tableaux	Titres	P
Tableau 1	Principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire et leurs rôles biologiques	6
Tableau 2	Quelques exemples des médicaments anti-inflammatoires et leurs effets secondaires	8
Tableau 3	Exemples de quelques souches des bactéries lactiques et leurs pouvoirs anti-inflammatoires	12

Introduction

Les bactéries lactiques sont bien connues pour leur capacité à produire une large gamme de polysaccharides **(Jurášková et al., 2022)**. Il s'agit d'un groupe de composés de poids moléculaire élevé constitués d'unités mono-saccharidiques reliées par une liaison glycosidique et présentent un large éventail de formes, de caractéristiques fonctionnelles et d'activités biologiques **(Berthold-Pluta et al., 2019)**. Les polysaccharides sont parmi les composants les plus importants dans le développement de la matrice des biofilms extracellulaires. Ils sont essentiels non seulement pour protéger les bactéries des conditions environnementales nocives, mais également pour l'adhésion des cellules microbiennes aux surfaces solides **(Werning et al., 2022)**.

Les exopolysaccharides (EPS) ont des qualités physicochimiques particulières qui offrent un potentiel pour les industries alimentaires et pharmaceutiques, compte tenu des mécanismes de protection des cellules microbiennes, tels que la protection contre le stress abiotique ou biotique, la concurrence, le pH et la température **(Prete et al., 2021)**. Néanmoins, en raison des caractéristiques structurelles à savoir l'émulsification, la texturation, l'édulcoration, la gélification, la capacité de liaison à l'eau ou les qualités bioactives, la majorité des recherches se concentrent sur l'application de l'EPS dans le secteur alimentaire **(Abarquero et al., 2022)**.

Des recherches récentes ont également révélé que les EPS ont des propriétés bénéfiques pour la santé, notamment en tant que propriétés immuno-modulatrices, prébiotiques, anti-inflammatoires, anti-biofilms et antioxydants **(Saadat et al., 2019)**. Les polysaccharides sont considérés comme excellents médicaments anti-inflammatoires naturels dans de nombreuses études. L'activité anti-inflammatoire des polysaccharides a été largement étudié, et qui exerce une inhibition de la sécrétion des cytokines inflammatoires (TNF-α, IL-1β et iNOS) en réponse à une stimulation externe par le lipopolysaccharide (LPS) **(Hou et al., 2020 ; Liu et al., 2021)**. Les variations des fonctions biologiques des polysaccharides sont généralement dues aux différences de poids moléculaire, degré de ramification, liaisons glycosidiques et à d'autres structures chimiques. Par conséquent, les caractéristiques structurelles des polysaccharides sont à la base de l'activité biologique **(Daba et al., 2021)**.

La consommation des EPS à travers le tube digestif est soumise à plusieurs conditions physico-chimiques caractéristiques de chaque cavité digestive (buccale, gastrique et intestinale) y compris les enzymes digestives qui peuvent altérer la structure et la conformation des carbohydrates et affecter par la suite leur absorption au niveau de l'intestin

grêle **(Wang et al., 2018)**. De plus, les exopolysaccharides sont impliqués dans les interactions bactérie-hôte et l'immuno-modulation microbienne et aident les bactéries pour résister face au stress gastro-intestinal et persister plus longtemps dans l'intestin. Ces bienfaits pour la santé permettent la production de produits fonctionnels à valeur en accord avec la demande des consommateurs pour des produits sains **(Prete et al., 2021)**.

L'objectif de notre travail consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire des EPS produits par la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1. De plus, la digestion simulée pour illustrer leur résistance et stabilité vis-à-vis les différentes conditions du tractus bucco-gastro-intestinal *in vitro* sera étudié. Le manuscrit est structuré en deux parties, la première porte sur une synthèse bibliographique qui comporte un aperçu général sur les EPS et l'activité anti-inflammatoire, alors que la deuxième est consacrée pour l'étude expérimentale des activités anti-inflammatoires des EPS de la souche bactérienne.

Partie I

Synthèse bibliographique

I. Bactéries Lactiques

I.1. Généralités

Les bactéries lactiques désignent un groupe de multiples espèces bactériennes généralement organotrophes, qui se diffèrent les unes des autres mais qui partagent en commun la production de l'acide lactique comme produit final principal du métabolisme homo ou hétérofermentaire des carbohydrates **(Xu et al., 2019)**. Ce sont des bâtonnets ou des coques, à Gram positif, catalase négative, non-sporulées, capables de croitre à des températures de 10°C à 45°C, souvent immobiles, acidotrophes, aérotolérantes qui se développent dans des conditions anaérobies strictes et exigent des facteurs de croissance à savoir les vitamines, les acides aminés et les précurseurs des acides nucléiques **(König et Fröhlich, 2017 ; Sauer et al., 2017)**.

Ces bactéries sont classées selon des critères phénotypiques (classification classique), par des tests morphologiques et biochimiques, et des critères phylogénétiques (classification moderne) par des tests moléculaires en particulier, l'amplification du gène de l'ADNr16S avec une teneur de (G+C) inférieure à 50% **(König et Fröhlich, 2017)**. Les genres les plus fréquemment connus des bactéries lactiques sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*, mais il existe encore d'autres genres qui sont moins exploités comme *Aerococcus*, *Enterococcus* et *Weissella* **(Ayivi et al., 2020)**. Les principaux genres des bactéries lactiques sont incarnés sous forme d'un arbre phylogénétique dans la **figure 1 (Vinderola et al., 2019)**.

Elles sont ubiquitaires et qui se trouvent à l'état libre dans de nombreuses niches écologiques riches en nutriments supplémentaires telles que le sol, l'eau, les végétaux et la viande mais également dans des niches de produits laitiers fermentés, ou en association avec une cellule hôte à savoir les diverses cavités (buccales, respiratoires, intestinales et vaginales) de l'homme et de l'animal où la fermentation peut se produire **(König et Fröhlich, 2017 ; Ayivi et al., 2020 ; Szutowska, 2020)**.

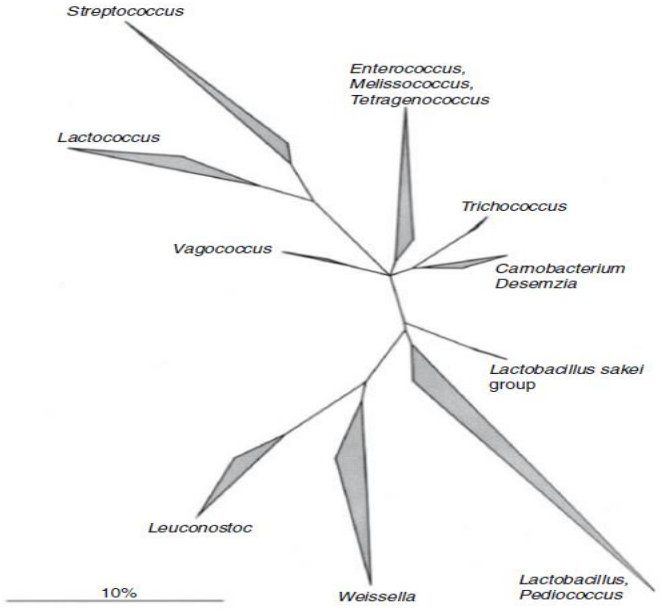

Figure 1 : Arbre phylogénétique des principaux genres des bactéries lactiques, dont *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Leuconostoc* et *Weissella* sont les plus répandus **(Vinderola et al., 2019)**.

I.2. Intérêts et activités biologiques des bactéries lactiques probiotiques

Selon la définition de l'OMS et la FAO : "les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte" **(OMS / FAO, 2002)**. Les bactéries lactiques constituent la majorité des microorganismes utilisés en tant que probiotiques, notamment les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* **(Moradi et al., 2021)**, car elles sont reconnues comme des GRAS (Generally Recognized As Safe), en raison de leur caractère inoffensif (non pathogène) **(Abid et al., 2018 ; Daba et al., 2021)**.

Diverses bactéries lactiques présentent un comportement intéressant lorsqu'il s'agit d'exprimer leurs capacités à démontrer des propriétés bénéfiques pour la santé à travers leurs polysaccharides. Les exopolysaccharides (EPS) produits par ces probiotiques lactiques ont été choisis grâce à leurs caractéristiques attrayantes pour une variété d'utilisations alimentaires (additifs naturels de la fermentation in situ pour promouvoir les propriétés physico-chimiques tels que stabilisants, émulsifiants et fournissants de la texture) **(Liu et al., 2017)** et thérapeutiques y compris les activités biologiques *in vitro* ainsi qu'*in vivo* **(Angelin et Kavitha, 2020)**. Pour cela, la recherche scientifique sur les actions anti-microbiennes, anti-oxydantes, anti-cancéreuses, anti-biofilms, anti-virales, immuno-modulatrices et anti-inflammatoires a reçu une

attention croissante **(Angelin et Kavitha, 2020 ; Jurášková et al., 2022)**. Le rôle des EPS dans l'activité anti-inflammatoire sera d'une grande importance dans cette étude.

II. Inflammation et activité anti-inflammatoire

II.1. Réaction inflammatoire

L'inflammation est l'un des mécanismes capitaux de défense de l'organisme **(Chen et al., 2018)**. C'est le processus par lequel le système immunitaire détecte et élimine les stimuli nocifs et les divers inflammogènes délétères permettant la guérison du corps et ainsi de reprendre le fonctionnement tissulaire **(Pahwa et al., 2018 ; Angelin et Kavitha, 2020 ; Petreski et al., 2021)**. L'élimination des inflammogènes d'origines physiques, chimiques ou biologiques est réalisée via une série de processus coordonnés par de nombreuses molécules spécifiques dites médiateurs inflammatoires **(Abdulkhaleq et al., 2018)**.

Selon l'étendue des symptômes, l'inflammation peut être aigue ou chronique **(Abdulkhaleq et al., 2018 ; Zhao et al., 2021)**. L'inflammation aigue représente la réaction immédiate qui dure quelques jours et est représentée sous forme des lésions tissulaires dues à un traumatisme, une invasion microbienne ou des substances nuisibles. Cependant, la persistance des agents inflammogènes et les médiateurs inflammatoires conduit à une inflammation chronique qui est la cause possible de plusieurs maladies en particulier les troubles neurodégénératifs, le cancer et les maladies cardiovasculaires **(Chen et al., 2018 ; Nwosu et al., 2020)**.

II.2. Médiateurs inflammatoires

Il existe plusieurs médiateurs chimiques provenant du système circulatoire, des cellules inflammatoires et des tissus lésés, qui sont impliqués activement dans les divers processus de la réaction inflammatoire et aboutissent à la guérison de l'organisme **(Abdulkhaleq et al., 2018 ; Zhao et al., 2021)**. Les principaux médiateurs contribués dans la réponse inflammatoire ainsi que leurs rôles biologiques sont représentés dans le **tableau 1** ci-dessous :

Tableau 1 : Principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire et leurs rôles biologiques.

Groupes	Origines	Exemples	Rôles	Références
Amines vasoactives	Mastocytes Basophiles	Histamine	Maintenir la réponse en phase aigüe et augmenter la perméabilité vasculaire	**(Abdulkhaleq et al., 2018 ; da Cruz et al., 2021)**
Peptides vasoactives	Neurones sensoriels	Bradykinine	Augmenter la perméabilité vasculaire et participer à la vasodilatation	**(Zhao et al., 2021)**
Cytokines	Macrophages Mastocytes	TNF-α	Activer des cytokines inflammatoires et induire la synthèse d'oxyde nitrique	**(Abdulkhaleq et al., 2018 ; Zhao et al., 2021)**
Chimiokines	Cellules immunitaires innées	CCL2	Assurer le recrutement des monocytes en réponse aux stimuli	**(Raniet al., 2019 ; Zhao et al., 2021)**
Eicosanoïdes	Nécrophages Eosinophiles Lymphocytes	Prostaglandines	Augmenter la perméabilité vasculaire, renfoncer le résultat de l'histamine, contribuer à la rougeur et augmenter le flux sanguin	**(Abdulkhaleq et al., 2018 ; da Cruz et al., 2021)**
Enzymes protéolytiques	Leucocytes	iNOS	Intervenir dans l'inflammation et la calcification cardiovasculaire	**(Chen et al., 2018)**
Fragments de composants du complément	Leucocytes	C3a	Avoir une activité anaphlatoxine et participer à la production des cytokines pro-inflammatoires	**(Zhao et al., 2021)**

II.3. Activité anti-inflammatoire

Bien que l'inflammation soit une réaction protectrice et bénéfique pour l'organisme, elle peut conduire à une production excessive des médiateurs inflammatoires provoquant ainsi une inflammation continue de faible intensité dans et autour du tissu ou de l'organe affecté et une variété de maladies chroniques telles que le cancer, le diabète, les problèmes cardiovasculaires, des maladies auto-immunes et les troubles neurodégénératifs **(Ginwala et al., 2019 ; Hou et al., 2020)**. Par conséquent, l'organisme élabore une réaction anti-inflammatoire pour atténuer les symptômes de l'inflammation et réguler la réaction inflammatoire **(Nwosu et al., 2020)**. Restreindre et gérer le processus inflammatoire avec des médicaments anti-inflammatoires est crucial pour contrôler et limiter l'évolution de la maladie **(Hou et al., 2020)**.

II.4. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont utilisés afin d'éliminer les divers troubles indésirables issus d'une réaction inflammatoire prolongée **(Dhingra et al., 2018 ; Kovačević, 2020 ; Nwosu et al., 2020)**. Ils inhibent la production d'acide arachidonique, un intermédiaire clé dans la synthèse des prostaglandines et des thromboboxanes, qui sont responsables de la vasodilatation et de l'agrégation plaquettaire, deux processus fondamentaux dans l'inflammation **(Nwosu et al., 2020)**. Ces médicaments ciblent les systèmes enzymatiques de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) qui sont des inducteurs inflammatoires importants avec les TNF-α, PGE2, IL-1β et VEGF **(Monteiro et Steagall, 2019 ; Nwosu et al., 2020)**.

Une variété d'agents anti-inflammatoires efficaces sont disponibles y compris les médicaments anti-inflammatoires dont les plus prescrits appartiennent à deux classes : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAIDs) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticostéroïdes / GCs) **(Dhingra et al., 2018 ; Hou et al., 2020 ; Kovačević, 2020 ; Nwosu et al., 2020)**. Les NSAIDs sont des médicaments analgésiques caractérisés par leurs grands pouvoirs sur le système COX-2 qui est spécifique de l'inflammation et la fièvre **(Monteiro et Steagall, 2019 ; Hou et al., 2020 ; Kovačević, 2020 ; Nwosu et al., 2020)**, alors que les GCs ne sont pas considérés comme des médicaments analgésiques, mais ils ont un grand effet anti-inflammatoire et immunosuppresseur **(Monteiro et Steagall, 2019 ; Kovačević, 2020 ; Nwosu et al., 2020)**.

Bien que ces médicaments apportent plusieurs intérêts, mais ils peuvent induire des effets secondaires néfastes pour l'organisme **(tableau 2) (Monteiro et Steagall, 2019 ; Hou et al.,**

2020). Pour cette raison, plusieurs recherches ont développé des alternatives anti-inflammatoires d'origines naturelles (biologiques) à moindre risque par rapport aux anti-inflammatoires classiques **(Hou et al., 2020)**.

Tableau 2 : Quelques exemples des médicaments anti-inflammatoires et leurs effets secondaires.

Types des anti-inflammatoires	Exemples	Effets secondaires	Références
Stéroïdiens	Prednisolone	Une ostéoporose, une suppression de la réponse à une infection ou à une blessure, une euphorie	**(Grzybowski et Kanclerz, 2018 ; Monteiro et Steagall, 2019)**
	Bétaméthasone		
	Dexaméthasone		
Non stéroïdiens	Aspirine	Des ulcères peptiques, des bronchospasmes en raison du blocage des prostaglandines physiologiques et inflammatoires, une production simultanée de leucotriènes	**(Waller et Sampson, 2018)**
	Diclofénac		
	Ibuprofène		

III. Exopolysaccharides des bactéries lactiques

III.1. Généralités

Les exopolysaccharides (EPS) sont des molécules de carbohydrates de longues chaines polymérisées **(Yang et al., 2022)** composées principalement d'unités des sucres notamment le glucose, le galactose et le rhamnose, qui sont métabolisées par divers microorganismes (bactéries, levures ou champignons) pendant leurs croissances et sécrétées dans le milieu environnant **(Zhou et al., 2019 ; Angelin et Kavitha, 2020 ; Abarquero et al., 2022)**.

Ils peuvent être associés aux microorganismes par la formation d'une capsule autour de la paroi cellulaire externe et prennent alors le nom des polysaccharides capsulaires (CPS), ou libres dans le milieu extérieur en constituant une muqueuse, d'où leur nom des mucopolysaccharides **(Prete et al., 2021 ; Yang et al., 2022)**. Dans ce dernier cas, les EPS peuvent être synthétisés par des

enzymes excrétées dans l'extérieur par la bactérie, ou métabolisés à l'intérieur (dans le cytoplasme) puis sécrétés **(Jurášková et al., 2022)**.

La plupart des exopolysaccharides sont produits par les bactéries, plus précisément les bactéries lactiques, en particulier les genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* et *Weissella* **(Angelin et Kavitha, 2020 ; Nguyen et al., 2020 ; Prete et al., 2021)**. Ces polymères de grand poids moléculaire, sont dotés par des caractéristiques significatives y compris la solubilité, la biodégradabilité, la biocompatibilité, la non-toxicité et la viscosité. Ils sont présents abondamment dans la nature et ont la capacité de résister aux stress environnementaux (la température, l'osmose, les faibles teneurs du pH, les jus gastriques et la bile) **(Angelin et Kavitha, 2020 ; Prete et al., 2021)**.

Les EPS offrent une structure protectrice des bactéries lactiques, sous forme d'un biofilm, qui maintient l'aptitude des bactéries de résister aux différents agents de pression physico-chimiques, ainsi qu'aux mécanismes antibactériens, comme la phagocytose, et les médicaments y compris les antibiotiques **(Angelin et Kavitha, 2020 ; Nguyen et al., 2020 ; Korcz et Varga, 2021 ; Prete et al., 2021 ; Yang et al., 2022)**.

De plus, ils ont une forte capacité de rétention et de liaison à l'eau aussi bien qu'un immense potentiel de gonflement et de gélification. Ils ont été également déterminés comme des agents anticoagulants, antiallergiques, anti-thrombotiques, immuno-modulateurs, hypocholestérolémiants, nutraceutiques et anti-inflammatoires (**Angelin et Kavitha, 2020 ; Prete et al., 2021 ; Jurášková et al., 2022 ; Yang et al., 2022)**. En raison de leurs grands intérêts, ces polymères sont qualifiés comme excellentes molécules de choix pour plusieurs applications.

III.2. Structure et Classification

Les EPS se répartissent en deux catégories : homopolysaccharides (HoPS) constitués des unités identiques de monosaccharides et hétéropolysaccharides (HePS) formés de chaines de différents monosaccharides **(Ripari, 2019 ; Prete et al., 2021 ; Cázares et al., 2021 ; Korcz et Varga, 2021 ; Jurášková et al., 2022)**. Cette répartition est aussi bien fondée sur d'autres critères à savoir la voie de biosynthèse (les enzymes et les gènes impliqués), la structure et le poids moléculaire, la nature des liaisons glucidiques et des chaines latérales, le type de la production et les propriétés biologiques **(Ripari, 2019 ; Zhou et al., 2019 ; Angelin et Kavitha, 2020 ; Nguyen et al., 2020 ; Cázares et al., 2021 ; Prete et al., 2021 ; Jurášková et al., 2022)**.

Les HoPS ont un poids moléculaire qui s'étend de 10^4 à 10^9 Da **(Nabot et al., 2022)**, et sont produits par plusieurs bactéries lactiques à savoir : *Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus* et *Weissella* **(Korcz et Varga, 2021**). Ils sont synthétisés dans le milieu extracellulaire et jouent un rôle de prébiotiques **(Abarquero et al., 2022)**.

Les HePS, plus complexes que les HoPS, peuvent contenir des constituants non glucidiques **(Jurášková et al., 2022)**. Ils sont dérivés de nombreuses bactéries lactiques, en particulier : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* et ont un poids moléculaire varié entre 10^4 et 10^6 Da **(Ripari, 2019 ; Jurášková et al., 2022)**. De plus, ces polymères sont synthétisés dans le milieu intracellulaire et interviennent comme des immuno-modulateurs **(Korcz et Varga, 2021 ; Abarquero et al., 2022)**. Les caractéristiques des deux classes des exopolysaccharides sont récapitulées dans le plan ci-dessous **(Figure 2)**.

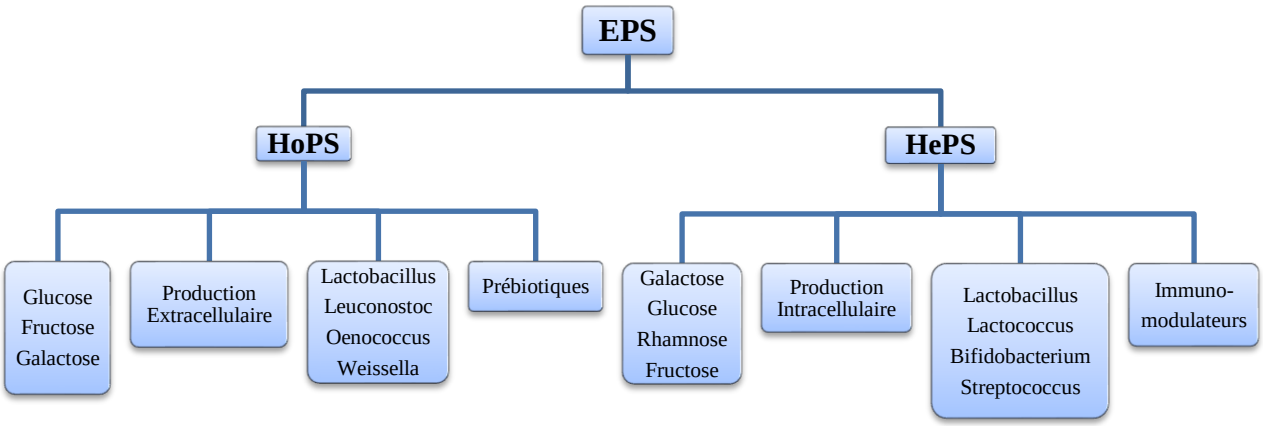

Figure 2 : Plan descriptif des deux classes des exopolysaccharides.

III.3. Applications

En termes d'application dans les nombreux secteurs de l'industrie, les EPS dérivés des bactéries lactiques apportent des propriétés très avantageuses en vue d'optimiser le rendement et la qualité des produits **(Korcz et Varga, 2021 ; Jurášková et al., 2022 ; Mende et al., 2022 ; Kumar et al., 2022 ; Yang et al., 2022)**. Sur le plan agro-alimentaire, les EPS agissent comme des épaississants biologiques et des émulsifiants en raison de leurs activités de gélification, de floculation et de viscosité qui ajustent la texture et réduisent la synérèse dans les produits fermentés **(Angelin et Kavitha, 2020 ; Jurášková et al., 2022 ; Mende et al., 2022 ; Prete et al., 2021)**. Quant au domaine médical, ces polymères exercent de multiples intérêts thérapeutiques y compris l'effet antioxydant, anticancéreux, anti-inflammatoire, immuno-

modulateur et antimicrobien. Ils participent aussi dans la diminution du taux de cholestérol et peuvent être utilisés comme des prébiotiques **(Szutowska, 2020 ; Prete et al., 2021 ; Jurášková et al., 2022)**.

III.4. Pouvoir Anti-inflammatoire

L'interaction des bactéries lactiques avec le système immunitaire a été identifiée comme un élément critique dans le développement du système gastro-intestinal pour la tolérance aux plusieurs maladies inflammatoires **(Santiago-López et al., 2021)**. Les probiotiques lactiques contiennent des molécules qui peuvent réduire les cytokines pro-inflammatoires, améliorer la production d'IL-10 anti-inflammatoire, produire des cellules T régulatrices et protéger contre les dommages causés par les radiations. Les exopolysaccharides sont l'un des composés probiotiques anti-inflammatoires les plus étudiés **(Zamora-Pineda et al., 2022)**.

Les micro-organismes provoquent une inflammation en sécrétant l'endotoxine lipopolysaccharide (LPS), qui active le récepteur de type Toll-4 (TLR-4) et stimule également la production de médiateurs et de cytokines comme l'oxyde nitrique (NO), les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF), tout en supprimant la production de cytokines anti-inflammatoires (IL-10). Par conséquent, les divers troubles tels que les lésions tissulaires et les maladies inflammatoires de l'intestin sont causés par une production excessive de cytokines pro-inflammatoires résultant de l'activation de la voie NF-κB **(Hou et al., 2020 ; Angelin et Kavitha, 2020)**.

Dans ce cas, la réponse immunitaire se déclenche et les EPS produits par les bactéries lactiques considérés comme inducteurs de la réponse immunitaire innée, contrôlent le mécanisme inflammatoire des cellules immunitaires et activent des macrophages qui tuent les microbes en émettant des cytokines, dirigent l'insensibilité, renforcent la phagocytose et présentent des antigènes bactériens pour aider les cellules T à initier leurs actions cytotoxiques **(Angelin et Kavitha, 2020)**.

De nombreuses souches de bactéries lactiques ont été étudiées *in vivo* afin d'évaluer leurs pouvoirs anti-inflammatoires. Le **tableau 3** ci-dessous présente quelques exemples de ces souches :

Tableau 3 : Exemples de quelques souches de bactéries lactiques et leurs pouvoirs anti-inflammatoires.

Souches	Pouvoirs anti –inflammatoires	Références
***Lactiplantibacillus acidophilus* ATCC4356**	Avoir un contrôle efficace contre la maladie de carcinome hépatocellulaire par la régulation de la voie MAPK - TLR2/STAT-3/P38.	**(Panthavee et al., 2017)**
***Lactiplantibacillus amylovorus* PY45**	Inhiber les hyaluronidases par la sécrétion des agents anti-inflammatoires.	**(Khedr et al., 2021)**
***Lactiplantibacillus fermentum* Lf2**	Améliorer la production des acides gras dotés des effets anti-inflammatoires.	**(Angelin et Kavitha, 2020)**
***Lactiplantibacillus rhamnosus* 4B15**	Stimuler le traitement par les macrophages RAW 264.7 avec les LPS en empêchant la sécrétion des médiateurs inflammatoires.	**(Oh et al., 2018)**
***Lactiplantibacillus pentosus* LZ-R-17**	Renforcer les macrophages en améliorant la phagocytose et favorisant la libération de NO, TNF-α, Il-1β, IL-6 et IL- 10.	**(Angelin et Kavitha, 2020)**
Bifidobacterium animalis Supsb. lactis	Stimuler le récepteur TLR4.	**(Angelin et Kavitha, 2020)**
***Bifidobacterium longum* BCRC**	Exercer un effet immuno-modulateur sur le macrophage J77A.1 et renforcer la sécrétion d'IL-10 tout en réduisant le niveau de TNF- α.	**(Angelin et Kavitha, 2020)**
***Pediococcus parvulus* 2.6**	Réguler la production et l'expression de l'IL-8 et IL-10 par les cellules.	**(Notararigo et al., 2022)**

Partie II

Matériel et méthodes

Partie II : Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Jijel.

Elle a été mise en place afin de tester les propriétés anti-inflammatoires des exopolysaccharides des bactéries lactiques ainsi que la biodisponibilité des EPS après la digestion bucco-gastro-intestinale.

II. 1. Matériel

II. 1.1. Souche bactérienne

Une bactérie lactique du genre *Lactiplantibacillus* codée O_7S_1 fournie par Mme Roula Hanane (Laboratoire de Toxicologie Moléculaire, Université de Jijel) a été utilisée, cette dernière a été isolée à partir des olives fermentées et est sélectionnée comme étant une bactérie productrice des exopolysaccharides.

II.1.2. Appareillage

Le matériel suivant a été utilisé pour réaliser les différentes parties de ce travail :

Autoclave (pbi brand), Bain-marie (Memmert), Balance (KERN), Balance analytique (KERN), Centrifugeuse (SIGMA), Étuve (Memmert), Incubateur à agitation (INFOS HT Ecotron), Plaque chauffante (Stuart), Spectrophotomètre (Spectro® 50 plus) et Vortex (VWR).

II.1. 3. Solutions et Milieux de cultures

- Bouillon MRS (peptone, Extrait de levure, Extrait de viande, Glucose, Phosphate dipotassique, Acétate de sodium, Citrate d'ammonium, Sulfate de manganèse, Sulfate de magnésium et Tween 80) autoclavé à 120°C pendant 20 min et ajusté à pH = 6,2.
- Gélose MRS (contient la même composition que le bouillon MRS mais additionnée d'agar).
- PBS (NaCl, KCl, $NaHPO_4$, K_2HPO_4) ajusté à pH = 6,3 et pH = 7,4.
- Pancréatine (Amylase, protéase, lipase) (Swiss Herbal Remedies Ltd, Canada).
- TCA (80% , 5%), Ethanol (95%), Acide sulfurique, NaOH, DNS, α-amylase, Phénol (6%), BSA (1%), $MgCl_2$, K_2HPO_4 ,KH_2PO_4 ,Caséine, Tris- HCl, Trypsine, Pancréatine, Sels biliaires, Kcl, Nacl, Cacl2, Na2HPO4, NaH_2PO_4, Tartrate de sodium et de potassium

II.2. Méthodes

II. 2.1. Revivification et purification de la souche bactérienne

La revivification consiste à cultiver la bactérie lactique sur bouillon MRS, puis incuber à 37°C pendant 24h. Après cette période d'incubation, un ensemencement par stries a été réalisé sur la gélose MRS préalablement coulée dans des boites de Pétri. A partir d'une culture jeune (18h), la pureté de la souche a été vérifiée après incubation à 37°C pendant 48h par observation macroscopique (aspects des colonies sur gélose) et observation microscopique (coloration de Gram) (Annexe1).

II.2.2. Production des EPS

La production des EPS a été réalisée sur milieu MRS liquide. Pour cette raison, des erlenmeyers de 100 ml contenant 50 ml de bouillon MRS ont été ensemencé par un inoculum de 1% (10^9 UFC/ml), puis incubés dans un incubateur sous agitation (140 rpm) à 37°C pendant 24h.

II.2.3. Extraction des EPS

Après la période d'incubation, l'extraction des EPS a été faite selon le protocole décrit par **Li et al. (2012)** avec légères modifications. La suspension bactérienne a été chauffée dans un bain-marie à 95°C pendant 10min pour inactiver les enzymes potentiellement capables de dégrader le polymère. Après refroidissement, l'acide trichloracétique à 80% (p/v) a été ajouté jusqu'à une concentration finale de 4%. L'élimination des cellules et des protéines a été réalisée par centrifugation (12000g pendant 30 min à 4°C), le surnageant clair a été mélangé avec un double volume d'éthanol pure froid (96%), agité vigoureusement puis maintenu à 4°C pendant 12h. Les EPS précipités ont été séparés par centrifugation (15000g pendant12min) et le culot contenant l'EPS brut a été mis en suspension dans 3ml de l'eau distillée.

II.2.4. Quantification des EPS

L'extrait des EPS obtenu a été quantifié par la technique au phénol-acide sulfurique décrite par **Xu et al. (2010)** avec légères modifications tout en basant sur le traçage d'une courbe standard de glucose. Cette dernière a été réalisée à partir de plusieurs dilutions d'une solution de glucose (1mg/ml) en utilisant un procédé analogue à celui des EPS.

Dans des tubes à essai et dans les conditions d'obscurité, 0,5 ml de la solution d'EPS a été mélangé avec 0,5 ml du phénol 6% (p/v) et 2 ml d'acide sulfurique. Les tubes ont été ensuite agités immédiatement à l'aide du vortex puis l'absorbance (couleur orange) a été mesurée à 490 nm contre un blanc contenant 0,5 ml d'eau distillée à la place des EPS. La concentration des EPS a été calculée en se servant à la courbe d'étalonnage de glucose et les résultats ont été exprimés en milligrammes (mg) d'EPS par litre.

II.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des EPS *in vitro*

II.2.5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été estimée suivant la procédure de **Abbou et al. (2019)**. 0,05 ml de la solution d'EPS à différentes concentrations (0,1, 0,5 et 1 mg/ml) ont été additionnés à 0,45 ml de BSA (1%) ajusté à un pH = 6,3. Parallèlement, le contrôle a été préparé par 0,05 ml de l'eau distillée au lieu de l'EPS.

Les tubes ont été par la suite incubés au bain marie à 37°C pendant 20 min, puis la température a été augmentée pour incuber les échantillons à 57°C pendant 3 minutes. Après refroidissement, 2,5 ml de PBS (pH = 6,3) ont été ajoutés aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été mesurée à 416 nm en utilisant l'eau distillée comme blanc. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été déterminé comme suit :

$$\textbf{Pourcentage d'inhibition } (\%) = \frac{\textbf{A. contrôle} - \textbf{A. Echantillon}}{\textbf{A. contrôle}} \times \textbf{100}$$

II.2.5.2. Inhibition des protéases

L'inhibition des protéases a été évaluée selon la méthode décrite par **Kar et al. (2012)**. Le mélange réactionnel (1ml) contenant la trypsine (0,06 mg de trypsine, 1 ml de Tris-HCl 20mM) et 0,5 ml de la solution d'EPS à différentes concentrations (0,1, 0,5 et 1 mg/ml) a été incubé à 37°C pendant 5min. Puis, 0,5 ml de la caséine 8% (p/v) ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 20 min supplémentaires à la même température. Par la suite, 1 ml de TCA (5%) a été ajouté pour arrêter la réaction, suivie ainsi d'une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant résultant a été récupéré pour mesurer l'absorbance à 210 nm contre un blanc (tampon tris-HCl).

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la relation suivante :

$$\textbf{Pourcentage d'inhibition } (\%) = \frac{\textbf{A. contrôle} - \textbf{A. Echantillon}}{\textbf{A. contrôle}} \times \textbf{100}$$

II.2.5.3. Stabilisation des membranes érythrocytaires

La stabilisation des membranes érythrocytaires a été déterminée selon le protocole de **Vidhyalakshmi et al. (2016)**.

Préparation des cellules érythrocytaires

La préparation de la suspension des globules rouges (GR) se fait par le mélange de 4 ml du sang humain avec un volume égal de la solution Alsevers (2% de dextrose, 0,8% de citrate sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% de NaCl dissous dans l'eau distillée) afin de réduire la coagulation du sang. Ce mélange a été recueilli et transféré à des tubes qui ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Le culot a été récupéré et lavé trois fois avec de l'eau physiologique (0,9%). Le volume du sang a été mesuré et reconstitué en suspension à 10% (v/v) avec la même solution (eau physiologique).

Réalisation du test

Le mélange réactionnel (2 ml) contenant 1 ml de la solution d'EPS à différentes concentrations (0,1, 0,5 et 1mg/ml) et 1 ml de la solution érythrocytaire a été préparé. Dans le contrôle, l'eau distillée a été ajoutée à la place d'échantillon. L'incubation a été faite à 56°C pendant 30 min. Après cette période, les tubes ont été refroidis puis centrifugés à 3000 rpm pendant 5 min afin de récupérer le surnageant et mesurer l'absorbance par le spectrophotomètre à 560 nm.

Le pourcentage d'inhibition a été déterminé comme suit :

$$\textbf{Pourcentage d'inhibition } (\%) = \frac{\textbf{A. contrôle} - \textbf{A. Echantillon}}{\textbf{A. contrôle}} \times \textbf{100}$$

II.2.6. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'absorption des EPS

II.2.6.1. Digestion salivaire

La résistance des EPS pour l'α-amylase a été déterminée par la méthode de **Wang et al. (2015)** avec légères modifications. Brièvement, la salive simulée (100 ml) a été préparée avec 12 mg de NaCl, 15 mg de KCl, 200 mg d'α-amylase et le pH a été ajusté à 7 avec une solution de HCl. Le tube test contenait 10 ml de la solution d'EPS (3 mg/l) et 10 ml de la solution salivaire simulée et

le tube contrôle contenait 10 ml de l'eau distillée et 10 ml de la solution salivaire simulée. Tous les tubes ont ensuite été incubés à 37°C pendant 5min sous agitation (140 rpm) puis, maintenus dans de l'eau bouillante pendant 5 min pour arrêter la réaction. La teneur en sucres réducteurs et sucres totaux (exprimés en glucose équivalents) a été mesurée à T0 et T5 min. La réduction de la teneur en sucres réducteurs dans l'échantillon a été déterminée par la méthode du DNS (voir II.2.6.4) et la teneur en sucres totaux a été déterminée par la méthode du phénol-acide sulfurique (voir II.2.4).

Le degré d'hydrolyse a été calculé par la formule suivante :

$$\textbf{Degré d'hydrolyse}(\%) = \frac{\textbf{sucres réducteurs libérés}}{\textbf{sucres totaux} - \textbf{sucres réducteurs initiaux}} \times \mathbf{100}$$

Où, le sucre réducteur libéré était la différence entre la teneur du sucre réducteur dans un temps spécifié et la teneur initiale en sucre réducteur.

II.2.6.2. Digestion gastrique

Les EPS ont été testés pour leur résistance aux acides selon **Wichienchot et al. (2010)**. Le suc gastrique humain artificiel a été imité en utilisant le tampon acide chlorhydrique (100ml) contenant 825 mg de Na_2HPO_4, 1430 mg de NaH_2PO_4, 800 mg de NaCl, 20 mg de KCl, 10 mg de $CaCl_2$, 18 mg de $MgCl_2$ et la solution a été ajustée à un pH = 2,5. Un aliquote de 5 ml résultant de la digestion salivaire a été mélangé avec le suc gastrique artificiel et incubé à 37°C pendant 2h sous agitation (140 rpm) pour imiter les conditions de la digestion. La méthode du phénol-acide sulfurique et celle du DNS ont été employées pour tester la réduction des sucres totaux et réducteurs respectivement à T0 et T2h.

Le degré d'hydrolyse a été calculé par la relation suivante :

$$\textbf{Degré d'hydrolyse}(\%) = \frac{\textbf{sucres réducteurs libérés}}{\textbf{sucres totaux} - \textbf{sucres réducteurs initiaux}} \times \mathbf{100}$$

II.2.6.3. Digestion intestinale

La digestion simulée de l'intestin grêle a été réalisée selon à la méthode rapportée par **Rui et al. (2019)**. En bref, 100 ml de la solution intestinale composée de 540 mg de NaCl, 65 mg de KCl et 24 mg de $CaCl_2$ a été préparée et le pH est ajusté à 7 avec 0,1 mol/l de NaOH. Le suc intestinal est composé de 6,5 mg de trypsine, 100 mg de pancréatine et 300 mg de sels biliaires. Ensuite, 5 ml du suc gastrique ont été mélangés avec la solution intestinale et incubés à 37°C pendant 4h supplémentaires sous agitation (140 rpm). Des échantillons ont été prélevés à T0 et T4h et bouillis pendant 5 min afin d'arrêter la réaction. La réduction des sucres totaux et réducteurs a été testée par les méthodes du phénol-acide sulfurique et de DNS respectivement.
Le degré d'hydrolyse a été calculé par la relation suivante :

$$\textbf{Degré d'hydrolyse}(\%) = \frac{\textbf{sucres réducteurs}}{\textbf{sucres totaux} - \textbf{sucres réducteurs initiaux}} \times \mathbf{100}$$

II.2.6.4. Méthode DNS

En utilisant la technique colorimétrique de l'acide 3,5-dinitrophosalicylique (DNS), les sucres réducteurs des EPS ont été identifiés. Dans un tube à essai, 1ml de l'échantillon et 1 ml d'agent DNS ont été ajoutés, puis le tube a été placé dans le bain-marie pendant 5 min. Le mélange résultant a été laissé refroidir à température ambiante (25°C) avant d'ajouter 5ml d'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 540 nm et les résultats ont été extrapolés à l'aide de normes reconnues pour le niveau du glucose **(Ujiroghene et al., 2019)**.

II.2.6.5. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'activité anti-inflammatoire des EPS

Après la réalisation de la digestion bucco-gastro-intestinale, l'activité inflammatoire des EPS (l'inhibition de la dénaturation des protéines et l'inhibition des protéases) a été testée de nouveau suivant la même procédure citée au-dessus pour établir la différence entre les résultats avant et après la digestion des EPS.

II.2.7. Analyse statistique

Pour les expériences qui ont été menées au moins trois fois de manière indépendante, une analyse statistique des données a été réalisée. Les résultats sont représentés sous forme de moyenne et d'écart type (le Microsoft Excel 2010 a été utilisé pour calculer la moyenne et l'écart type). Le test « Student » qui permet la comparaison des moyennes, a été utilisé pour évaluer

l'effet significatif. Lorsque « P < 0,05 », les résultats sont considérés comme statistiquement distincts avec un niveau de signification supérieur à 95%.

(P > 0,05) : Effet non significatif (NS).

(P < 0,05) : Effet significatif *.

(P < 0,01) : Effet très significatif **.

(P < 0,001) : Effet hautement significatif ***.

Partie III

Résultats et discussion

III.1. Revivification et purification de la souche bactérienne

Après revivification et purification des isolats de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 sur le milieu MRS, la pureté a été vérifiée par son aspect macroscopique et microscopique.

III.1.1. Aspect macroscopique

L'aspect des colonies, qui apparaissait conventionnel et homogène, a pu être décrit grâce à la caractérisation macroscopique. Les colonies semblaient être lisses, légèrement bombées, de forme ronde avec des marges régulières, de taille plus ou moins grande et d'un éclat blanchâtre ou laiteux **(figure 3)**.

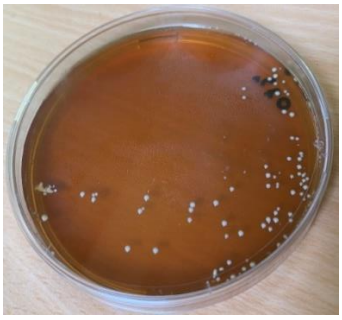

Figure 3 : Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur milieu MRS.

III.1.2. Aspect microscopique

La coloration de Gram a permis d'observer sous microscope optique des cellules sous forme de bacilles, à Gram positif, isolées ou disposées par des paires ou des petites chaînettes (**figure 4**).

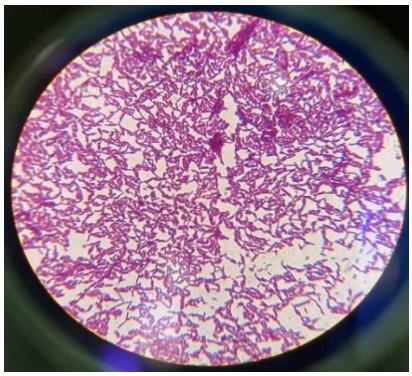

Figure 4 : Aspect microscopique des colonies bactériennes après la coloration de Gram (x40).

III.2. Production et quantification des EPS

Après la production des EPS sur le milieu MRS, la quantité des EPS a été évaluée par la technique au phénol-acide sulfurique en se servant du glucose comme un étalon. Le principe de ce procédé est que lorsque les glucides sont déshydratés à l'aide d'acide sulfurique concentré, des dérivés de furfural sont produits. La réaction des dérivés du furfural avec le phénol produit une teinte orange visible. Cette méthode colorimétrique, implique la mesure de la densité optique à 490 nm et l'identification de la quasi-totalité des glucides **(Albalasmeh et al., 2013)**.

Dans la présente étude, la concentration des EPS produits par la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 a été estimée de 488,25 mg/l. Des études similaires ont obtenu une concentration proche d'EPS par rapport à nos résultats. **Savogadro et al. (2004)** ont estimé un taux de production de 100-600 mg/l d'EPS par *Lc. lactis subsp lactis*. La concentration des EPS a été inférieure à celle obtenue par **N'tcha et al. (2016)** avec *Lb. casei* (1130 mg/l) et *Lb. fermentum* (700 mg/l). Cependant, d'autres études ont rapporté des concentrations inferieures à celle observée dans notre étude. **Mostefaoui et al. (2014)** ont trouvé un taux d'EPS de 160 mg/l produit par *Lactobacillus*, ainsi que 116 mg/l produits par *Lb. brevis* D7 ont été obtenus d'après **Lai et al. (2014)**. Selon **Xu et al. (2010)** la concentration d'EPS produite par *Lb. paracasei* HCT a été de 238,23 mg/l.

La quantité d'EPS produite varie selon les espèces, et ces variations dépendent probablement des conditions de production telles que la température, le pH et la composition du milieu **(Lai et al., 2014 ; Mostefaoui et al., 2014)**.

III.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des EPS *in vitro*

III.3.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

La dénaturation des protéines tissulaires, qui est due souvent à la destruction des liaisons qu'elles constituent (liaisons hydrogènes, électrostatiques, hydrophobes et disulfures), conduit à la production d'auto-antigènes **(Henneh et al., 2018)**. Cette altération est l'une des causes les plus connues des maladies inflammatoires et arthritiques **(Manukumar et Umesha, 2015)**. La capacité de l'EPS à empêcher la dénaturation des protéines a été explorée en utilisant l'albumine comme une protéine modèle **(Vidhyalakshmi et al., 2016)**.

Les résultats de l'inhibition de la dénaturation des protéines par l'EPS ont été résumés dans la **figure 5**. Dans notre étude, les EPS ont montré une meilleure activité inhibitrice avec un pourcentage de 58,33% à une concentration de 1 mg/ml. Un faible pourcentage d'inhibition de l'ordre de 44,72% a été observé pour une concentration de 0,1 mg/ml, alors que la concentration 0,5 mg/ml présente un pourcentage d'inhibition de 48,75%.

Vu ces résultats, il a été remarqué que plus la concentration d'EPS est élevée, plus le pourcentage d'inhibition est important.

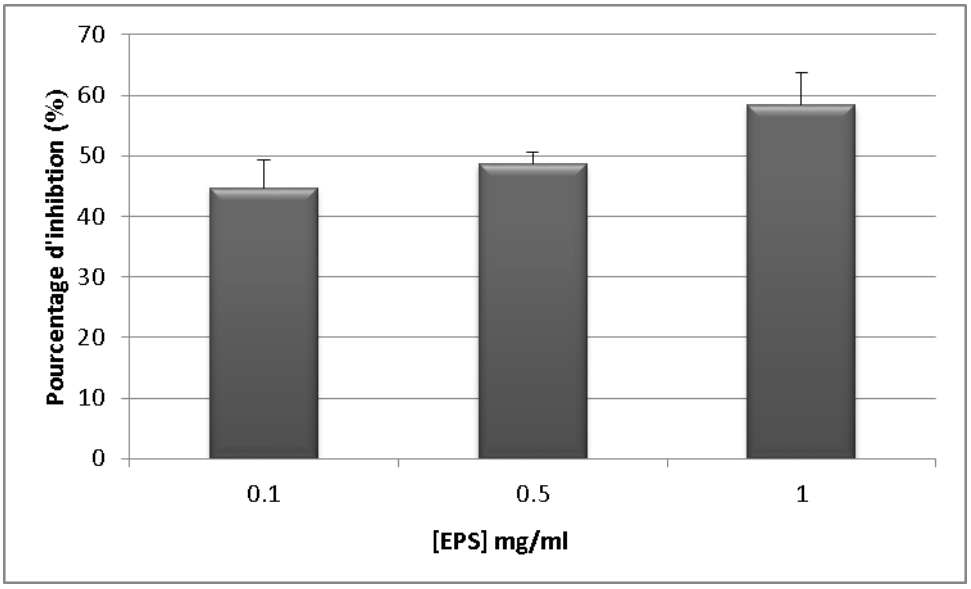

Figure 5 : Inhibition de la dénaturation de l'albumine par différentes concentrations d'EPS.

Selon **Khan et al. (2021)**, la dénaturation de l'albumine a été inhibée par les EPS de la souche *Lb. agilis* NMCC-15 avec un pourcentage de l'ordre de 61,6% à une concentration de 0,5 mg/l. Il a été rapporté que la viscosité des solutions des protéines augmente lorsqu'elles sont dénaturées par les anti-inflammatoires **(Chandra et al., 2012)**. Etant donné que la dénaturation a été inhibée, l'activité anti-inflammatoire était remarquable. Cette inhibition a pu être due à la liaison des EPS à certains sites actifs des protéines, ce qui conserverait leur structure et conformation, empêchant ainsi leur dénaturation **(Abbou et al., 2019)**. L'effet inhibiteur contre la dénaturation des protéines diffère d'une souche bactérienne à une autre selon plusieurs paramètres, dont la composition et la nature des EPS jouent un rôle crucial dans leur activité anti-inflammatoire **(Leelaprakash et Dass**, **2011)**.

À la suite des résultats de cette recherche préliminaire, on peut affirmer que les EPS de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 ont un impact anti-inflammatoire significatif *in vitro* contre la dénaturation des protéines.

III.3.2. Inhibition des protéases

Les résultats d'inhibition des protéases par les EPS ont été récapitulés dans la **figure 6**. L'activité anti-protéinase a été marquée avec 2,44% pour la plus faible concentration (0,1mg/ml). Le pourcentage d'inhibition a été augmenté à 6,56% avec la concentration 0,5 mg/ml. Enfin, l'activité a été révélée avec un pourcentage plus important (10,57%) pour une plus grande concentration (1mg/ml). Suite à ces résultats, on voit que l'inhibition des protéinases augmente en proportion avec la concentration des EPS. En regard de notre étude, **Kim et al. (2012)** ont trouvé que le pourcentage d'inhibition chez *E. faecium* a été très élevé, d'environ 88,1% pour une concentration de 0,1 mg/l.

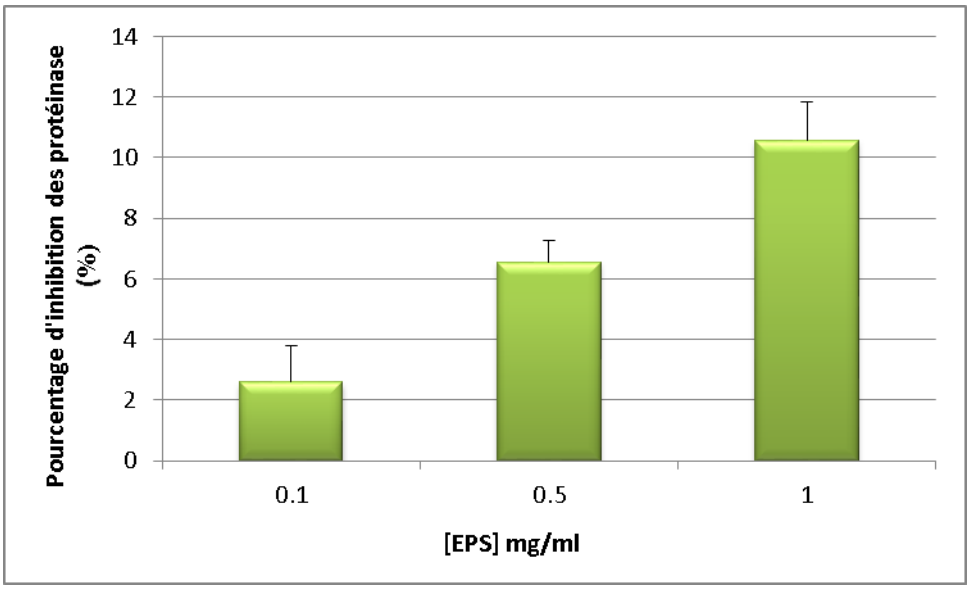

Figure 6 : Inhibition de l'activité des protéinases par différentes concentrations d'EPS.

Les protéinases leucocytaires, d'origines neutrophiles, affectent le développement des tissus provoquant ainsi des réactions arthritiques inflammatoires. Les lésions tissulaires ainsi engendrées, peuvent être réduites grâce aux inhibiteurs des protéinases, ce qui se traduit en un processus anti-inflammatoire **(Vidhyalakshmi et al., 2016 ; Truong et al., 2019)**. Ce processus peut se révéler par la compétition qui se manifeste entre les EPS et la caséine sur les sites actifs

de la trypsine, ce qui va altérer l'affinité du substrat pour son enzyme, inhibant ainsi l'activité protéolytique **(Abbou et al., 2019)**.

Par conséquent, on peut soutenir le fait que les EPS de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 ont un effet anti-inflammatoire modéré sur l'inhibition de l'activité des protéases *in vitro*.

III.3.3. Stabilisation des membranes érythrocytaires

En bloquant la libération d'éléments lysosomiques des neutrophiles activés tels que les enzymes bactéricides et les protéases, qui induisent une inflammation et des dommages tissulaires supplémentaires lors de la libération extracellulaire, ou en maintenant la membrane lysosomale, la réponse inflammatoire peut être limitée **(Kar et al., 2012 ; Truong et al., 2019)**. Etant donné que la membrane érythrocytaire est similaire à la membrane lysosomale (elles partagent l'analogie signifiée par une bicouche lipidique riche en protéines (50%) et en oligosaccharides), les EPS peuvent également être en mesure de stabiliser les membranes lysosomales **(Umapathy et al., 2010)**.

Les résultats regroupés dans la **figure 7** montrent que pour la concentration 1 mg/ml d'EPS, l'activité anti-hémolytique a été la plus élevée (46,35%). Par contre, une concentration de 0,5 mg/ml a donné un pourcentage d'inhibition de 19,15%, alors que la concentration 0,1 mg/ml a présenté un faible pourcentage d'inhibition de 16,62%. Ces résultats montrent que l'augmentation de l'activité anti-hémolytique est en fonction de la concentration d'EPS. **Vidhyalakshmi et al. (2016)** ont estimé le taux d'inhibition des protéines par les EPS de la souche *B. circulans* à 84%.

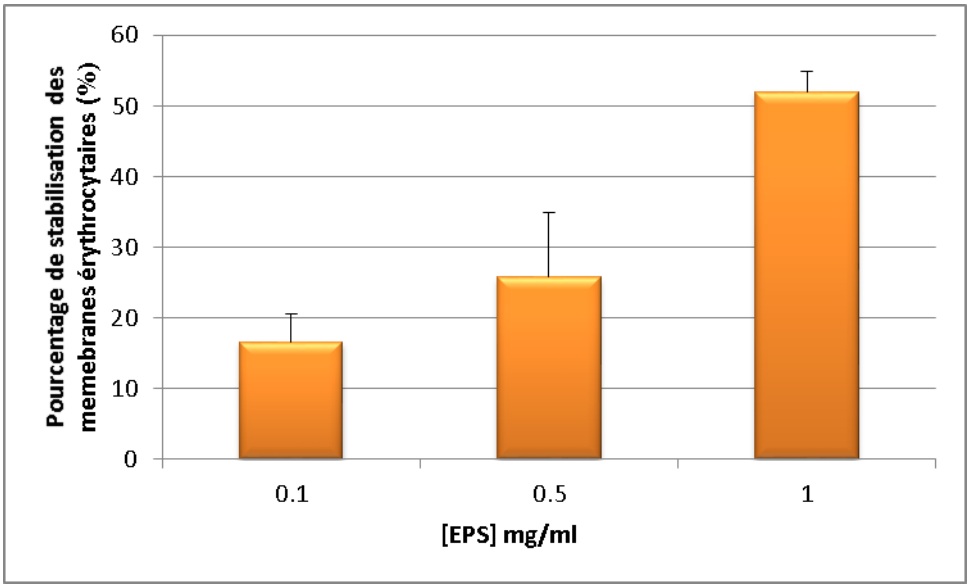

Figure 7 : Activité anti-hémolytique de différentes concentrations d'EPS.

La stabilisation de la membrane consiste en sa maintenance vis-à-vis l'hémolyse induite par la chaleur et la conservation des constituants intracellulaires dans le cytoplasme y compris les phospholipases dont leur sécrétion exagérée provoque l'aggravation des réactions inflammatoires. Il a été estimé que certaines substances ont cette capacité de stabilisation et interfèrent avec l'activation des phospholipases, diminuant ainsi les processus inflammatoires **(Oyeleke et al., 2018 ; Truong et al., 2019)**.

Sur la base de nos résultats, on peut conclure que les EPS ont des propriétés anti-inflammatoires considérables sur la stabilisation des membranes des cellules érythrocytaires.

Ces trois tests réalisés confirment que les EPS de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 exercent un effet direct par leur activité anti-inflammatoire. Ils ont la capacité de l'inhibition de la dénaturation des protéines, l'inhibition des protéases et la stabilisation des membranes érythrocytaires.

III.4. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'absorption des EPS

III.4.1. Digestion salivaire

La digestion buccale a été déterminée par la conversion de l'amidon et des carbohydrates par les α-amylases, des enzymes primordiales de la salive, en hydrolysant les liaisons glycosidiques α-(1→4) **(Rui et al., 2019)**. L'étude de cette digestion a été réalisée avec la salive simulée riche en α-amylases. Les résultats de cette digestion sont présentés sur la **figure 8**. Le degré d'hydrolyse a été de 0,36% pour le tube témoin et a été augmenté d'une valeur infime à 1,03% pour l'échantillon. Statistiquement, la différence est non significative ($p > 0,05$), cela montre que la digestion buccale n'a pas d'effet sur les EPS produits par notre souche et que les EPS n'ont pas pu être digérés par les α-amylases de la salive simulée.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Das et al. (2014)**, qui ont obtenu un pourcentage d'hydrolyse de 0,32% des EPS de la souche *Lb. plantarum* DM5. La résistance des EPS à l'hydrolyse a pu être accordée à leur structure et les liaisons glycosidiques qui n'ont pas pu être affectés par l'action des α-amylases **(Wang et al., 2015 ; Zhou et al., 2020)**.

III.4.2. Digestion gastrique

La digestion gastrique, considérée comme la deuxième étape de la dégradation des aliments, a été caractérisée sous des conditions simulées d'acidité du suc gastrique (sous l'action des acides, pH = 2,4) pendant 2 heures **(Wichienchot et al., 2010)**. Les résultats de cette digestion sont schématisés dans la **figure 8**. Il a été remarqué qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux degrés d'hydrolyse ($p > 0,05$), où ils ont été très faibles avec des valeurs de 0,87% et 1,12%, respectivement. Ceci dévoile que les EPS n'ont pas subi l'hydrolyse gastrique.

Hongpattarakere et al. (2012) ont évalué le degré d'hydrolyse des EPS des souches *Weissella cibaria* A2, *W. confusa* A9, *Lb. plantarum* A3 et *Pediocuccus pentosaceus* 5S4 avec un pourcentage de 0,35%, 2,51%, 0,55% et 1,59%, respectivement. Ces auteurs ont indiqué ainsi que ces EPS n'ont pas pu être digérés par le suc gastrique, contrairement aux EPS des souches de *St. thermophilus* CRL 1190 et *Lb. casei* CRL 87 qui ont été dégradés partiellement et ceci à cause des conditions sévères du suc gastrique employé (**Mozzi et al., 2009)**.

Il a été supposé que la digestion des EPS par le suc gastrique pu être influencée par les conditions physico-chimiques du milieu telles que l'acidité et la température, ainsi que par le poids moléculaire des carbohydrates, la conformation et la composition en monosaccharides y compris les liaisons glycosidiques **(Wang et al., 2015 ; Zhou et al., 2020)**.

III.4.3. Digestion intestinale

La digestion intestinale, effectuée dans l'intestin grêle, a été contribuée également à la dégradation et l'assimilation de multiples nutriments, des acides organiques et des vitamines. Cela se déroule dans le liquide intestinal très abondant en sels biliaires et sous l'effet de plusieurs enzymes **(Kastl Jr et al., 2020 ; Pereira et al., 2021)**. La digestion simulée des EPS a été étudiée sous l'action du suc intestinal artificiel.

Les résultats de cette digestion sont présentés dans la **figure 8**. Il a été observé que seulement 0,35% des EPS ont été hydrolysés dans le tube contrôle et que 1,47% dans l'échantillon. Ces valeurs expliquent que les EPS n'ont pas pu être dégradés par le liquide intestinal simulé car il n'y a pas une différence significative entre les deux valeurs ($p > 0,05$). Dans des études préalables, **Hongpattarakere et al. (2012)** ont remarqué la résistance au suc intestinal simulé des EPS produits par les souches *W. cibaria* A2, *W. confusa* A9, *Lb. plantarum* A3 et *P. pentosaceus* 5S4 avec un pourcentage de 0,17%, 0%, 0,14% et 0,03%, respectivement.

Toutefois, les résultats de **Mozzi et al. (2009)** ont montré que les EPS de *St. thermophilus* CRL 1190 et *L. casei* CRL 87 ont subi une digestion partielle, qui a été due à l'effet de l'hydrolyse acide par les conditions sévères des liquides digestifs artificiels.

Il a été présumé que la résistance des EPS au suc intestinal peut être due principalement au poids moléculaire de polysaccharides et le pH du milieu, ainsi qu'à la longue durée d'incubation, la composition et la rupture de liaisons glycosidiques **(Wang et al., 2018)**.

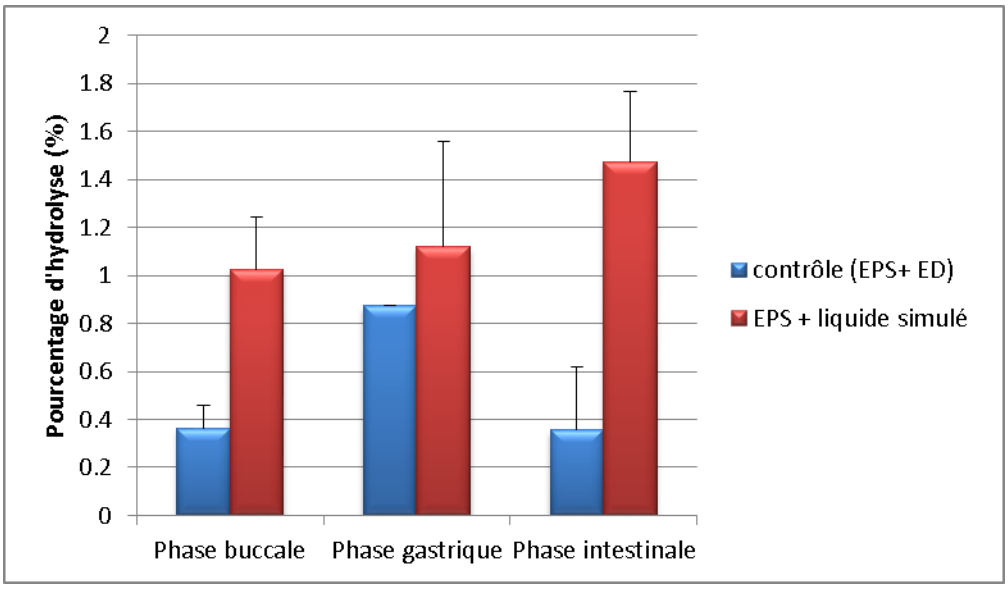

Figure 8 : Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur les EPS de *Lactipantibacillus* O_7S_1.

A travers ces résultats, on peut déduire que les EPS produits par la souche *Lactipantibacillus* O_7S_1 n'ont pas pu être digérés par le suc salivaire, gastrique et intestinal, et donc pourrait résister à l'hydrolyse des enzymes digestives humaines et passer tout au long du tube digestif. Ces EPS ont un effet indirect sur la flore intestinale et jouent le rôle de prébiotiques **(Mozzi et al., 2009).**

III.4.4. Effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'activité anti-inflammatoire des EPS

III.4.4.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

L'impact de la digestion bucco-gastro-intestinale simulée sur l'inhibition de la dénaturation de l'albumine des EPS a été établi dans la **figure 9**. A l'égard de la phase buccale, le taux d'inhibition a été constaté de 54,54% pour le tube contrôle et de 51,16% pour l'échantillon. Quant à la phase gastrique, le pourcentage d'inhibition a été diminué de 54,54% à 51,08% pour le tube témoin et l'échantillon, respectivement. En ce qui concerne la phase intestinale, le taux

d'inhibition a été réduit de 54,54% à 50,97% pour le tube contrôle et l'échantillon, respectivement. Les analyses statistiques du pourcentage d'inhibition après la digestion ont été non significatifs ($p > 0,05$), indiquant ainsi que l'inhibition de la dénaturation de l'albumine n'a pas été affectée par la digestion bucco-gastro-intestinale.

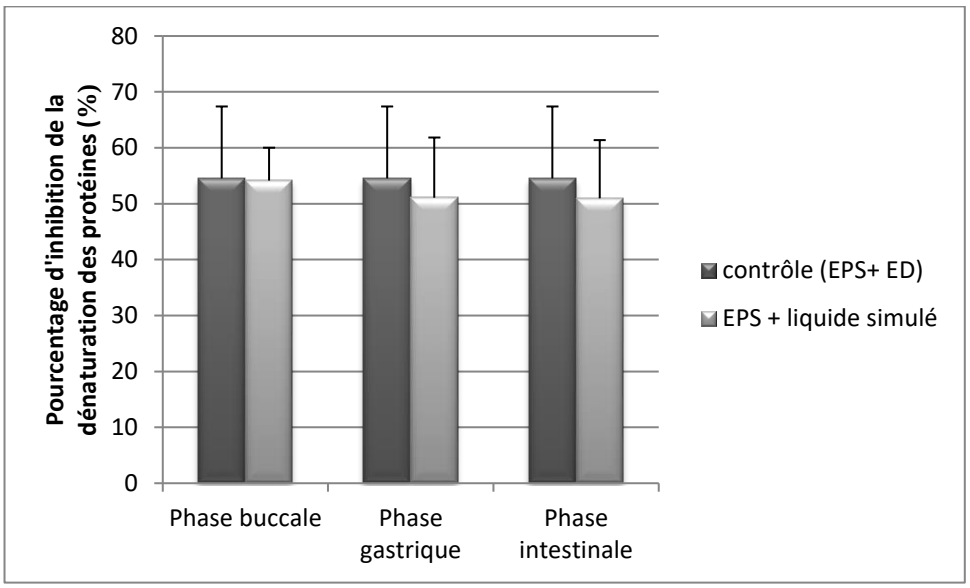

Figure 9 : Inhibition de la dénaturation des protéines après la digestion bucco-gastro-intestinale des EPS.

III.4.4.2. Inhibition des protéinases

Les résultats obtenus de l'effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur l'inhibition des protéinases ont été présentés sur la **figure 10**. Le taux d'inhibition, dans la phase buccale, a été estimé de 70,83% pour le tube témoin et de 66,66% pour l'échantillon. Concernant la phase gastrique, le pourcentage d'inhibition a été réduit de 86,57% à 63,88% pour le tube témoin et l'échantillon, respectivement. Toutefois, les résultats de la phase intestinale ont montré une diminution du taux d'inhibition de 90,62% pour le contrôle à 52,50% pour l'échantillon.

Après l'analyse statistique des pourcentages d'inhibition, il a été montré que les différences entre le contrôle (EPS non digéré) et l'échantillon (EPS digéré) ont été non significatives ($p > 0,05$). Cela démontre que l'inhibition des protéases par les EPS n'a pas été influencée par la digestion bucco-gastro-intestinale.

Malgré la différence a été non significative, la diminution du pourcentage d'inhibition des protéases a été remarquée.

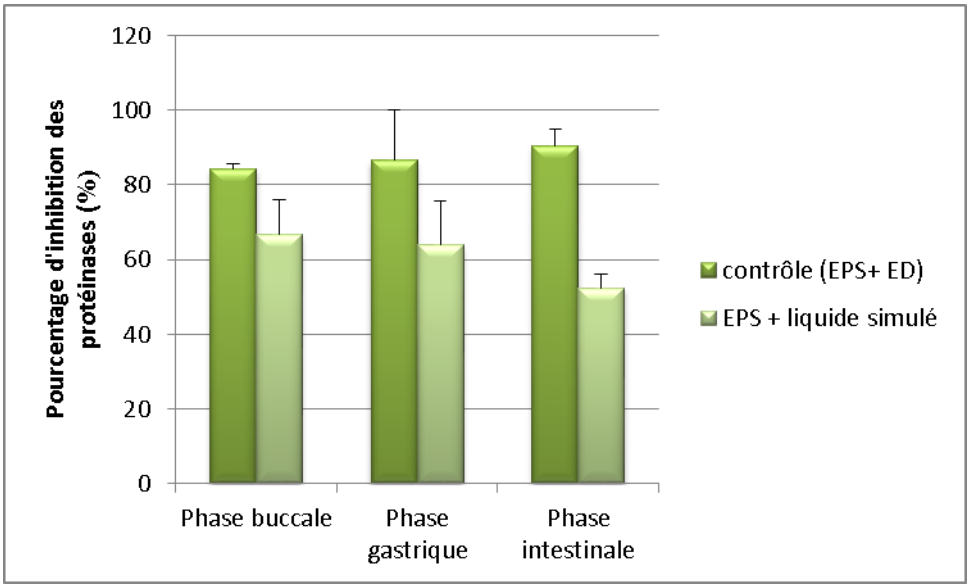

Figure 10 : Inhibition des protéases par les EPS après la digestion bucco-gastro-intestinale.

Pour cette raison, des hypothèses ont été établies, indiquant la présence des ligands qui peuvent s'associer avec les sites actifs de l'α-amylase ce qui provoque la dénaturation de la conformation des EPS tout en diminuant leur dissociation en oligosaccharides réduisant ainsi leurs fonctions et activités biologiques. Cela explique la baisse du taux d'inhibition des protéases par les EPS après la digestion salivaire, dont la stabilité de l'α-amylase est impliquée dans cette inhibition **(Mattio et al., 2019)**.

De plus, il a été rapporté que la forte acidité du suc gastrique engendre une dénaturation des EPS signifiée par la modification de leur conformation résultant ainsi une rupture des liaisons glycosidiques et la formation des liaisons hydrogènes. Ce changement de structure conduit à la diminution de l'effet de leur activités biologiques y compris les activités anti-inflammatoires **(Popov et al., 2014 ; Zhu et al., 2019)**.

Des études ont montré que la digestion intestinale peut être réalisée par l'enzyme α-amylase pancréatique qui possède une activité similaire à celle de la salive (rupture de la liaison α-(1→4) glycosidique, mais leur mécanisme n'a pas été encore déterminé **(Han et al., 2021)**.

Conclusion

Cette étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et l'effet de la digestion simulée des EPS produits par la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 isolée des olives fermentés. Afin de tester l'activité anti-inflammatoire et la digestion des EPS au niveau du tractus bucco-gastro-intestinal, on a réalisé une série des tests déterminants des activités biologiques. La souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 a donné une production importante d'EPS avec une concentration de 488,25 mg/l. A l'égard de l'activité anti-inflammatoire, les EPS de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 ont présenté une meilleure activité avec la concentration 1mg/ml. L'inhibition de la dénaturation des protéines et l'inhibition des protéases ainsi que la stabilisation des membranes érythrocytaires ont été d'un pourcentage significatif de l'ordre de 58,33%, 10,57% et 46,35%, respectivement. Les résultats de l'effet de la digestion sur les EPS indiquent qu'il n'y a pas une différence significative entre les valeurs des trois phases, ce qui explique que les conditions simulées des cavités bucco-gastro-intestinales n'ont pas affecté leur bio-accessibilité. De plus, il a été remarqué que les activités anti-inflammatoires des EPS réalisées après la digestion simulée ne diffèrent pas significativement de celles réalisées avant la digestion ce qui montre que l'activité anti-inflammatoire n'est pas affectée par la digestion bucco-gastro-intestinale.

Ces résultats rapportés pourraient fournir de perspectives intéressantes pour l'impact de la digestion sur l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des EPS produits par les bactéries lactiques et mieux comprendre leurs mécanismes d'action. Pour compléter ce travail, d'autres recherches sont nécessaires pour mener à bien cette étude, telles que la détermination de la composition et de la structure des EPS et l'étude *in vivo* de leurs effets.

Références bibliographiques

A

Abarquero, D., Renes, E., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E. **(2022)**. Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, *57*(1), 16-26.

Abbou, A., Kadri, N., Debbache, N., Dairi, S., Remini, H., Dahmoune, F., ... & Madani, K. **(2019)**. Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinus halepensis* Mill. seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, *141*, 663-670.

Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., &Hezmee, M. N. M. **(2018)**. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World*, *11*(5), 627.

Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., ...&Azabou, S. **(2018).** Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, *108*, 719-728.

Aguilar-Toalá, J. E., Santiago-López, L., Peres, C. M., Peres, C., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., ...& Hernández-Mendoza, A. **(2017)**. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *Journal of Dairy Science*, *100*(1), 65-75.

Albalasmeh, A. A., Berhe, A. A., & Ghezzehei, T. A. **(2013)**. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, *97*(2), 253-261.

Angelin, J., & Kavitha, M. **(2020)**. Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, *162*, 853-865.

Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., ...& Ibrahim, S. A. **(2020)**. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications. *Dairy*, *1*(3), 202-232.

B

Berthold-Pluta, A. M., Pluta, A. S., Garbowska, M., & Stasiak-Różańska, L. **(2019)**. Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria–health-promoting properties and application in the dairy industry. *Postępy Mikrobiologii-Advancements of Microbiology*, *58*(2), 191-204.

C

Cázares-Vásquez, M. L., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C. N., Sáenz-Galindo, A., Solanilla-Duque, J. F., Contreras-Esquivel, J. C., & Flores-Gallegos, A. C. **(2021**). Microbial exopolysaccharides in traditional Mexican fermented beverages. *Fermentation*, *7*(4), 249.

Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. **(2012)**. Evaluation of anti-inflammatory effect of ashwagandha: a preliminary study in vitro. *Pharmacognosy Journal*, *4*(29), 47-49.

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ...& Zhao, L. **(2018)**. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, *9*(6), 7204.

D

Daba, G. M., Elnahas, M. O., &Elkhateeb, W. A. **(2021)**. Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *173*, 79-89.

da Cruz, R. M. D., Mendonça-Junior, F. J. B., de Mélo, N. B., Scotti, L., de Araújo, R. S. A., de Almeida, R. N., & de Moura, R. O. **(2021)**. Thiophene-Based Compounds with Potential Anti-Inflammatory Activity. *Pharmaceuticals*, *14*(7), 692.

Das, D.,Baruah, R., & Goyal, A. **(2014)**. A food additive with prebiotic properties of anα-d-glucan from *Lactobacillus plantarum* DM5. *International Journal of Biological Macromolecules*, *69*, 20-26.

Dhingra, A. K., Chopra, B., & Bonthagarala, B. **(2018)**. Natural Anti-Inflammatory Agents: Recent Progress and Future Perspectives. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, *3*(5), 1158.

F

FAO/WHO, (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. *London, Ontario, Canada*.

G

Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. G. I., Jain, P., & Khan, Z. K. **(2019)**. Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants*, *8*(2), 35.

Grzybowski, A., & Kanclerz, P. **(2018)**. The role of steroids and NSAIDs in prevention and treatment of postsurgical cystoid macular edema. *Current Pharmaceutical Design*, *24*(41), 4896-4902.

H

Han, S., Lu, Y., Xie, J., Fei, Y., Zheng, G., Wang, Z., ...& Li, L. **(2021)**. Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 609722.

Henneh, I. T., Ameyaw, E. O., Biney, R. P., Armah, F. A., Obese, E., Konjah, D., & Teye, E. **(2018)**. Ziziphusabyssinica hydro-ethanolic root bark extract attenuates acute inflammation possibly through membrane stabilization and inhibition of protein denaturation and neutrophil degranulation. *West African Journal of Pharmacy*, *29*(2), 81-94

Hongpattarakere, T., Cherntong, N., Wichienchot, S., Kolida, S., & Rastall, R. A. **(2012)**. In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, *87*(1), 846-852.

Hou, C., Chen, L., Yang, L., & Ji, X. **(2020)**. An insight into anti-inflammatory effects of natural polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, *153*, 248-255.

J

Jurášková, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. **(2022).** Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, *11*(2), 156.

K

Kar, B., Kumar, R. S., Karmakar, I., Dola, N., Bala, A., Mazumder, U. K., & Hadar, P. K. **(2012).** Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(2), S976-S980.

Kastl Jr, A. J., Terry, N. A., Wu, G. D., & Albenberg, L. G. **(2020)**. The structure and function of the human small intestinal microbiota: current understanding and future directions. *Cellular and Molecular Ggastroenterology and Hepatology*, *9*(1), 33-45.

Khan, A. N.,Yasmin, H., Ghazanfar, S., Hassan, M. N., Keyani, R., Khan, I., ...& Ahmad, A. **(2021)**. Antagonistic, Anti-oxidant, Anti-inflammatory and Anti-diabetic Probiotic Potential of *Lactobacillus agilis* Isolated from the Rhizosphere of the Medicinal Plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(11), 6069-6076.

Khedr, O. M., El-Sonbaty, S. M., Moawed, F. S., Kandil, E. I., & Abdel-Maksoud, B. E. **(2021)**. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 exopolysaccharides suppresses mediators of inflammation through the inhibition of TLR2/STAT-3/P38-MAPK pathway in DEN-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Nutrition and Cancer*, 1-11.

Kim, Y. R., Kim, E. Y., Choi, S. Y., Hossain, M. T., Oh, R. K., Heo, W. S., ... & Kong, I. S. **(2012)**. Effect of a probiotic strain, *Enterococcus faecium*, on the immune responses of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *22*(4), 526-529.

König, H., & Fröhlich, J. **(2017)**. Lactic acid bacteria.In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 3-41).Springer, Cham.

Korcz, E., & Varga, L. **(2021)**. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, *110*, 375-384.

Kovačević, A. B. **(2020)**. Nanotechnological approaches for delivery of anti-inflammatory drugs. In *Drug Delivery Aspects*.Vijay Mishra, Prashant Kesharwani, Mohd Cairul Mohd Amin, Arunlyer (Eds) (pp. 211-226). Elsevier.

KUMAR, S., KUMAR, S., BUMBADIA, M., & SINGH, S. K. **(2022)**. Prospects and functionality of bacterial exopolysaccharides in dairy foods: A Review: Bacterial exopolysaccharides in dairy. *Journal of AgriSearch*, *9*(1), 1-5.

L

Lai, Y. J., Tsai, S. H., & Lee, M. Y. **(2014)**. Isolation of exopolysaccharide producing *Lactobacillus* strains from sorghum distillery residues pickled cabbage and their antioxidant properties. *Food Science and Biotechnology*, *23(4)*, 1231-1236.

Leelaprakash, G., & Dass, S. M. (2011). In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*, *3*(3), 189-196.

Li, W., Mutuvulla, M., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. **(2012)**. Isolation and identification of high viscosity-producing lactic acid bacteria from a traditional fermented milk in Xinjiang and its role in fermentation process. *European Food Research and Technology*, *235*(3), 497-505.

Liu, Y., Ye, Y., Hu, X., & Wang, J. **(2021)**. Structural characterization and anti-inflammatory activity of a polysaccharide from the lignified okra. *Carbohydrate Polymers*, *265*, 118081.

Liu, Z., Zhang, Z., Qiu, L., Zhang, F., Xu, X., Wei, H., & Tao, X. **(2017)**. Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *Journal of Dairy Science*, *100*(9), 6895-6905.

M

Manukumar, H. M. G., & Umesha, S. (2015). Assessment of membrane stabilizing activity from honey.An in-vitro approach. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, *14*(1), 85-90.

Mattio, L. M., Marengo, M., Parravicini, C., Eberini, I., Dallavalle, S., Bonomi, F., ...& Pinto, A. **(2019)**. Inhibition of Pancreatic α-amylase by Resveratrol derivatives: Biological activity and molecular modelling evidence for cooperativity between viniferin enantiomers. *Molecules*, *24*(18), 3225.

Mende, S., Rohm, H., & Jaros, D**. (2022)**. Lactic Acid Bacteria: Exopolysaccharides.160-167.

Monteiro, B., & Steagall, P. V. **(2019)**. Anti-inflammatory drugs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, *49*(6), 993-1011.

Moradi, M., Molaei, R., & Guimarães, J. T. **(2021)**. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, *143*, *109722*.

Mostefaoui, A., Hakem, A., Yabrir, B., Boutaiba, S., & Badis, A. **(2014)**. Screening for exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from, Algerian raw camel milk. *African Journal of Microbiology Research*, *8*(22), 2208-2214.

Mozzi, F., Gerbino, E., Font de Valdez, G., & Torino, M. I. **(2009)**. Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in an in vitro gastric system. *Journal of Applied Microbiology*, *107*(1), 56-64.

N

Nabot, M., Guérin, M., Sivakumar, D., Remize, F., & Garcia, C. **(2022)**. Variability of bacterial homopolysaccharide production and properties during food processing. *Biology*, *11*(2), 171.

Nguyen, P. T., Nguyen, T. T., Bui, D. C., Hong, P. T., Hoang, Q. K., & Nguyen, H. T. **(2020)**. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: the manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS microbiology*, *6*(4), 451.

Notararigo, S., Varela, E., Otal, A., Antolín, M., Guarner, F., & López, P. **(2022)**. Anti-inflammatory effect of an O-2-substituted (1-3)-β-D-glucan produced by *Pediococcus parvulus*

2.6 in a Caco-2 PMA-THP-1 co-culture model. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 1527.

N'tcha, C., Haziz, S., Agbobatinkpo, P., Vieira-Dalodé, G., Boya, B., Codjia, J. C., Kayodé, P., Baba-Moussa, L., & Baba-Moussa, L. **(2016)**. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from a beninese traditional beer's ferment. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, *7*(2), 314-330.

Nwosu, O. K., Keskin, M., Lohani, H., Egbuna, C., & Haider, S. Z. **(2020)**. Bioactive lead compounds and molecular targets for the development of anti-inflammatory drugs. In *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery.*Chukwuebuka Egbuna, Shashank Kumar, Jonathan C Ifemeje, Shahira M. Ezzat, SaravananKaliyaperumal (Eds) (pp. 317-331). Elsevier.

O

Oh, N. S., Joung, J. Y., Lee, J. Y., & Kim, Y. **(2018)**. Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces. *PloS one*, *13*(2), e0192021.

Oyeleke, S. A., Ajayi, A. M., Umukoro, S., Aderibigbe, A. O., & Ademowo, O. G. **(2018)**. Anti-inflammatory activity of *Theobroma cacao L.* stem bark ethanol extract and its fractions in experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, *222*, 239-248.

P

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. **(2018)**. Chronic inflammation. [Updated 2021 Sep 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/.

Panthavee, W., Noda, M., Danshiitsoodol, N., Kumagai, T., & Sugiyama, M. **(2017)**. Characterization of exopolysaccharides produced by thermophilic lactic acid bacteria isolated from tropical fruits of Thailand. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *40*(5), 621-629.

Pereira, R. P., Jadhav, R., Baghela, A., & Barretto, D. A. **(2021)**. In Vitro Assessment of probiotic potential of *Saccharomyces cerevisiae* DABRP5 isolated from bollo batter, a traditional Goan fermented food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *13*(3), 796-808.

Petreski, T., Piko, N., Ekart, R., Hojs, R., & Bevc, S. **(2021)**. Review on inflammation markers in chronic kidney disease. *Biomedicines*, *9*(2), 182.

Popov, S. V., Ovodova, R. G., Golovchenko, V. V., Khramova, D. S., Markov, P. A., Smirnov, V. V., ... & Ovodov, Y. S. **(2014)**. Pectic polysaccharides of the fresh plum *Prunus domestica* L. isolated with a simulated gastric fluid and their anti-inflammatory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, *143*, 106-113.

Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. **(2021)**. Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: A sustainable tool for functional foods. *Foods*, *10*(7), 1653.

R

Rani, A., Dasgupta, P., & Murphy, J. J. **(2019)**. Prostate cancer: the role of inflammation and chemokines. *The American Journal of Pathology*, *189*(11), 2119-2137.

Ripari, V. (2019). Techno-functional role of exopolysaccharides in cereal-based, yogurt-like beverages. *Beverages*, *5*(1),16.

Rui, Y., Wan, P., Chen, G., Xie, M., Sun, Y., Zeng, X., & Liu, Z. **(2019)**. Simulated digestion and fermentation in vitro by human gut microbiota of intra and extra-cellular polysaccharides from *Aspergillus cristatus*. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, *116*, 108508.

S

Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., & Gargari, B. P. **(2019)**. A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, *217*, 79-89.

Santiago-López, L., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Wall-Medrano, A., & González-Córdova, A. F. **(2021)**. Th17 immune response in inflammatory bowel disease: Future roles and opportunities for lactic acid bacteria and bioactive compounds released in fermented milk. *Trends in Food Science & Technology*, *112*, 109-117.

Sauer, M., Russmayer, H., Grabherr, R., Peterbauer, C. K., & Marx, H. **(2017)**. The efficient clade: lactic acid bacteria for industrial chemical production. *Trends in Biotechnology*, *35*(8), 756-769.

Savadogo, A., Ouattara, C. A., Savadogo, P. W., Barro, N., Ouattara, A. S., & Traoré, A. S. **(2004)**. Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples. *African Journal of Biotechnology*, *3*(3), 189-194.

Szutowska, J. (2020). Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: A systematic literature review. *European Food Research and Technology*, *246*(3), 357-372.

T

Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. **(2019)**. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and *in vitro* anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, *2019*.

U

Ujiroghene, O. J., Liu, L., Zhang, S., Lu, J., Zhang, C., Pang, X., & Lv, J. **(2019)**. Potent α-amylase inhibitory activity of sprouted quinoa-based yoghurt beverages fermented with selected anti-diabetic strains of lactic acid bacteria. *Royal Society of Chemistry Advances*, *9*(17), 9486-9493.

Umapathy, E., Ndebia, E. J., Meeme, A., Adam, B., Menziwa, P., Nkeh-Chungag, B. N., & Iputo, J. E. **(2010)**. An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *The Journal of Medicinal Pants Research*, *4*(9), 789-795.

V

Vidhyalakshmi, R., Valli, N. C., Kumar, G. N., & Sunkar, S. **(2016)**. *Bacillus circulans* exopolysaccharide: Production, characterization and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *87*, 405-414.

Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S., & von Wright, A. (Eds.). **(2019)**. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Crc Press.4.

W

Waller, D. G., & Sampson, A. P. **(2018)**. Non-steroidal anti-inflammatory drugs-ScienceDirect. *Medical Pharmacology and Therapeutics [Internet].5th ed. Elsevier*, 363-72.

Wang, C., Li, W., Chen, Z., Gao, X., Yuan, G., Pan, Y., & Chen, H. **(2018)**. Effects of simulated gastrointestinal digestion in vitro on the chemical properties, antioxidant activity, α-amylase and α-glucosidase inhibitory activity of polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *Food Research International*, *103*, 280-288.

Wang, X., Huang, M., Yang, F., Sun, H., Zhou, X., Guo, Y., ...& Zhang, M. **(2015)**. Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics in vitro. *Carbohydrate Polymers*, *125*, 232-240.

Werning, M. L., Hernández-Alcántara, A. M., Ruiz, M. J., Soto, L. P., Dueñas, M. T., López, P., & Frizzo, L. S. **(2022)**. Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria and Their Potential Benefits for Humans and Farmed Animals. *Foods*, *11*(9), 1284.

Wichienchot, S., Jatupornpipat, M., & Rastall, R. A. **(2010)**. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food chemistry*, *120*(3), 850-857.

X

Xu, R., Ma, S., Wang, Y., Liu, L., & Li, P. **(2010)**. Screening, identification and statistic optimization of a novel exopolysaccharide producing *Lactobacillus paracasei* HCT. *African Journal of Microbiology Research*, *4*(9), 783-795.

Xu, Y., Cui, Y., Yue, F., Liu, L., Shan, Y., Liu, B., ...& Lü, X. **(2019)**. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and Bifidobacteria: Structures, physiochemical functions and applications in the food industry. *Food Hydrocolloids*, *94*, 475-499.

Y

Yang, X., Ren, Y., & Li, L. **(2022)**. The relationship between charge intensity and bioactivities/processing characteristics of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, *153*, 112345.

Z

Zamora-Pineda, J., Kalinina, O., Osborne, B. A., & Knight, K. L. **(2022)**. Probiotic Molecules That Inhibit Inflammatory Diseases. *Applied Sciences*, *12*(3), 1147.

Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. **(2021)**. Inflammation and tumor progression: Signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *6*(1), 1-46.

Zhou, X., Zhang, Z., Huang, F., Yang, C., & Huang, Q. **(2020)**. *In vitro* digestion and fermentation by human fecal microbiota of polysaccharides from flaxseed. *Molecules*, *25*(19), 4354.

Zhou, Y., Cui, Y., & Qu, X**. (2019)**. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate Polymers*, *207*, 317-332.

Zhu, K., Yao, S., Zhang, Y., Liu, Q., Xu, F., Wu, G., ...& Tan, L. **(2019)**. Effects of *in vitro* saliva, gastric and intestinal digestion on the chemical properties, antioxidant activity of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) Pulp. *Food Hydrocolloids*, *87*, 952-959.

Annexes

Annexe 1:

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis bactérien à partir d'un échantillon puis fixer à la chaleur.
- Couvrir le frottis avec le violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute puis rincer la lame avec l'eau de robinet.
- Recouvrir la lame avec de lugol et laisser agir pendant 1 minute. Ensuite, rincer la lame avec l'eau de robinet.
- Décolorer à l'alcool pendant 30 secondes et rincer avec l'eau de robinet jusqu'à disparition de la couleur violette. (L'étape la plus importante).
- Couvrir la lame avec un contre colorant, la fushine, et laisser agir pendant 1 minute. Rincer doucement avec l'eau de robinet et sécher avec du papier absorbant.
- Observer à l'aide d'huile à immersion avec un objectif x40.

Annexe 2 :

Courbes d'étalonnage

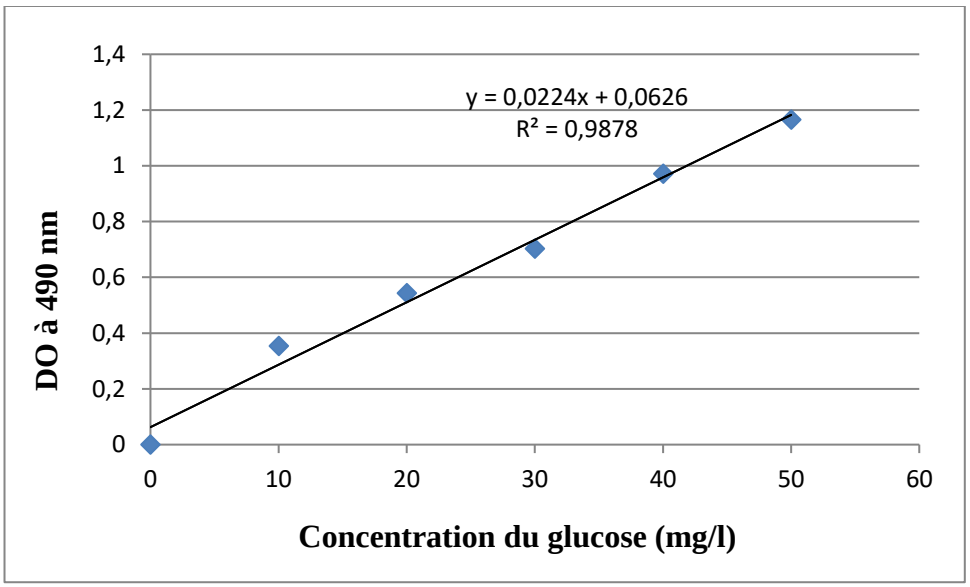

Figure 1. La courbe d'étalonnage du glucose.

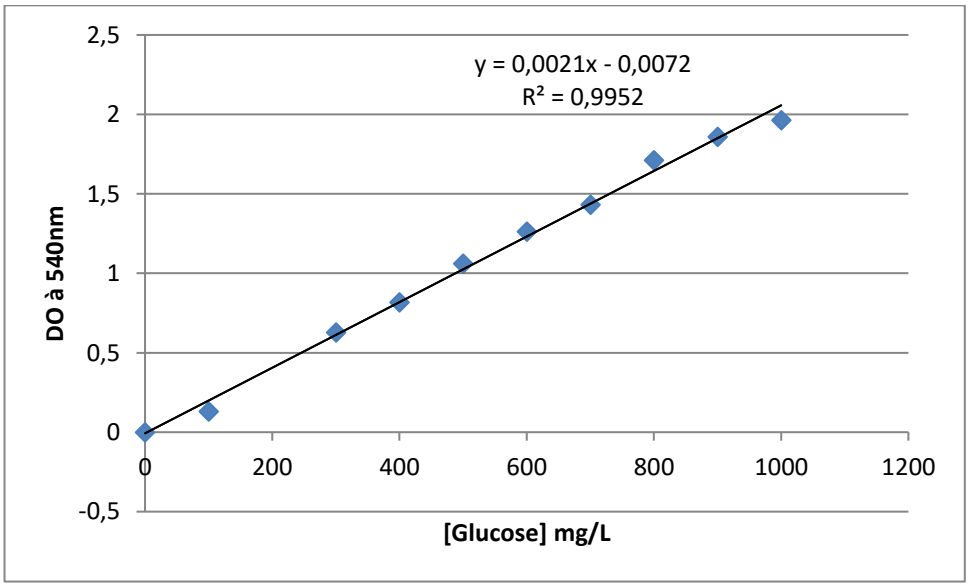

Figure 2. La courbe d'étalonnage des sucres réducteurs.

Annexe 3 :

Tableaux de résultats

Tableau 1 : Résultats obtenus à partir du test d'inhibition de la dénaturation des protéines.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1							
[EPS] mg/ml	0,1			0,5		1		
Pourcentage d'inhibition (%)	41,66	50	42,5	50	47,5	50	48,33	58,33
Moyenne	44,72			48,75		58,33		

Tableau 2 : Résultats obtenus à partir du test d'inhibition des protéases.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1							
[EPS] mg/ml	0,1			0,5		1		
Pourcentage d'inhibition (%)	2,46	3,38	1,48	7,05	6,07	11,08	11,50	9,15
Moyenne	2,44			6,56		10,57		

Tableau 3 : Résultats obtenus à partir du test de stabilisation des membranes érythrocytaires.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1						
[EPS] mg/ml	0,1			0,5		1	
Pourcentage d'inhibition (%)	17,37	12,41	20,08	19,26	32,24	54,06	50,06
Moyenne	16,62			25,75		52,06	

Tableau 4 : Résultats obtenus après la digestion buccale des EPS.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1			
Tubes	Eau distillée +EPS		Liquide salivaire +EPS	
Degré d'hydrolyse (%)	0,29	0,43	1,18	0,87
Moyenne	0,36		1,025	

Tableau 5 : Résultats obtenus après la digestion gastrique des EPS.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1			
Tubes	Eau distillée +EPS		Liquide gastrique +EPS	
Degré d'hydrolyse (%)	0,87	0,876	1,43	0,81
Moyenne	0,87		1,12	

Tableau 6 : Résultats obtenus après la digestion intestinale des EPS.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1			
Tubes	Eau distillée +EPS		Liquide gastrique +EPS	
Degré d'hydrolyse (%)	0,17	0,54	1,68	1,27
Moyenne	0,35		1,47	

Tableau 7 : Résultats obtenus du test d'inhibition de la dénaturation des protéines après la digestion des EPS.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1											
Phases	Buccale				Gastrique				Intestinale			
Tubes	Eau distillée +EPS		Liquide salivaire +EPS		Eau distillée +EPS		Liquide gastrique +EPS		Eau distillée +EPS		Liquide intestinal +EPS	
Pourcentage d'inhibition (%)	63,63	45,45	58,33	50	80	85,71	43,47	58,69	94,44	88,88	33,3	68,62
Moyenne	54,54		51,16		54,54		51,08		54,54		50,97	

Tableau 8 : Résultats obtenus du test d'inhibition des protéases après la digestion des EPS.

Souche	*Lactiplantibacillus* O_7 S_1											
Phases	Buccale				Gastrique				Intestinale			
Tubes	Eau distillée +EPS		Liquide salivaire +EPS		Eau distillée +EPS		Liquide gastrique +EPS		Eau distillée +EPS		Liquide intestinal +EPS	
Pourcentage d'inhibition (%)	83,33	58,33	60	73,33	96,22	76,92	72,22	55,55	93,75	87,5	55	50
Moyenne	70,83		66,66		86,57		63,88		90,62		52,5	

Réalisé par : Imane BOUAZIZ
Wissame BOUSBIA
Aya BOUFERROUM

Encadrant : Pr. Mohamed SIFOUR

Date de soutenance : 06/07/2022

Thème : Screening de l'activité anti-inflammatoire des exopolysaccharides de la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1 *in vitro.*

Résumé

Les bactéries lactiques ont été considérées comme une excellente source d'EPS avec des activités biologiques et thérapeutiques, dont l'activité anti-inflammatoire était le choix de cette étude. L'objectif de ce travail consiste à tester l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des EPS produits par la souche *Lactiplantibacillus* O_7S_1, ainsi, la mise en évidence de l'effet de la digestion bucco-gastro-intestinale sur les capacités des EPS. Les résultats ont montré que les EPS de cette souche ont présenté une meilleure activité anti-inflammatoire en utilisant les méthodes de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine, l'inhibition des protéases et la stabilisation des membranes érythrocytaires avec une concentration de1 mg/ml. En outre, une résistance des EPS à la digestion simulée bucco-gastro-intestinale a été observée, ce qui explique que la digestion n'affecte par leur bio-accessibilité dans le tube digestif, alors qu'une diminution non significative de l'activité anti-inflammatoire après la digestion a été remarquée.

Mots clés : Activité Anti–inflammatoire, Bactéries lactiques**,** Digestion, *Lactiplantibacillus* O_7S_1**,** Exopolysaccharides.

Abstract

Lactic acid bacteria have been considered as an excellent source of EPS with biological and therapeutic activities, the anti-inflammatory activity is the choice of this study. The objective of our work is to test the anti-inflammatory activity of EPS *in vitro* produced by the strain *Lactiplantibacillus* O_7S_1, thus highlighting the effect of simulated oral –gastrointestinal digestion on the anti-inflammatory capacities of EPS *in vitro*. The results showed that the EPS of this strain presented a better anti-inflammatory activity using the inhibition albumin denaturation, inhibition of proteases and the stabilization of erythrocyte membranes methods with a concentration of 1 mg/ml. In addition, the resistance of EPS to simulated oral -gastrointestinal digestion has been found which explain that the digestion did not affect their bio-accessibility in the digestive tract. Although, a non-significant decrease in anti-inflammatory activity after digestion was observed.

Key words: Anti-inflammatory activity**,** Digestion, Exopolysaccharides**,** Lactic acid bacteria**,** *Lactiplantibacillus* O_7S_1**.**

الملخص

تعتبر بكتيريا حمض اللبن مصدرا ممتازًا للسكريات المتعددة الخارجية التي تمتلك أنشطة بيولوجية وعلاجية، وقد كان نشاطها المضاد للالتهابات هو اختيار هذه الدراسة. الهدف من عملنا هو اختبار النشاط المضاد للالتهابات للسكريات المتعددة الخارجية الذي تنتجها سلالة Lactiplantibacillus O_7S_1 و تسليط الضوء على تأثير محاكاة الهضم عن طريق الفم والجهاز الهضمي على القدرات المضادة للالتهابات لهذه السكريات في المختبر. أظهرت النتائج أن السكريات المتعددة الخارجية لهذه السلالة تمتلك أفضل نشاط مضاد للالتهابات باختبار قدرتها على تثبيط تفكك بروتين الألبومين، تثبيط إنزيم البروتياز وتثبيت أغشية كريات الدم الحمراء مع تركيز 1مغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، تم إثبات مقاومة السكريات المتعددة الخارجية بمحاكاة الهضم عن طريق الفم والجهاز الهضمي، و بالتالي لن تؤثر على إمكانية امتصاصها البيولوجي في الجهاز الهضمي. كما لوحظ انخفاض غير معنوي في النشاط المضاد للالتهابات بعد الهضم.

كلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللبن، سكريات متعددة خارجية ، سلالة *Lactiplantibacillus* O_7S_1 ، النشاط المضاد للالتهابات، الهضم.