

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie Moléculaire et  
Cellulaire

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم : البيولوجية الجزئية و  
الخلوية

## Mémoire de Fin d'Etudes

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

Filière: Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

## Thème

**Etude de l'effet du stress oxydatif provoqué par le plomb  
chez quelques souches de bactéries lactiques isolées du blé  
fermenté traditionnellement**

### Membres de Jury

Présidente : Dr. BELLI Nassima

Examinatrice: Dr. KRIBECHE Aicha

Encadrante : Dr. BENHAMADA Nabila

### Présenté par

M<sup>elle</sup> BEGHOUL Wiam

M<sup>elle</sup> BOURBIA Zineb

M<sup>elle</sup> ROUIDI Aida

Année Universitaire 2021-2022



## ***Remerciements***

*Nous exprimons tout d'abord, nos profonds remerciements à **DIEU** le tout Puissant, qui nous a guidé sur le droit chemin et nous a donné le courage et la volonté de finir ce mémoire.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre profonde gratitude et nos remerciements à Madame **Benhamada Nabila** pour avoir accepté la responsabilité de diriger ce travail, pour ses conseils avisés et pour ses encouragements, ainsi sa patience.*

*Nous tenons à exprimer notre grande considération et nos profonds remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.*

*En particulier*

*À Madame **Belli Nassima** pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Et à Madame **Kribeche Aicha** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce Travail.*

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

*Nos remerciements vont aussi à l'équipe du laboratoire de Microbiologie Appliquée, en particulier Mademoiselle **Bouhali Soumia** et **Alioua Nassiha** de nous avoir apporté toute l'aide possible pour arriver à ces résultats satisfaisants*

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>I. Le plomb.....</b>	<b>3</b>
I.1. Généralités .....	3
I.2. Définition du plomb.....	3
I.3. Les différentes sources d'exposition au plomb.....	4
I.3.1 Exposition professionnelle .....	4
I.3.2. Exposition domestique.....	4
I.3. 3. Exposition d'origine alimentaire .....	4
I.3.4. Autres sources d'exposition .....	4
I.4. Mécanisme de toxicité du plomb.....	5
I.5. Toxicité du plomb.....	5
I.5.1. Toxicité Sur la santé humain.....	5
I.5.1.1. Le saturnisme.....	5
I.5.1.2. Toxicité neurologique.....	6
I.5.1.3. Toxicité hématologique.....	6
I.5.1.4. Toxicité par la reproduction.....	6
I.6. Toxicocinétique du plomb.....	7
<b>II. Stress Oxydatif.....</b>	<b>8</b>
II.1.1. Définition du stress oxydatif.....	8
II.1.2. Les radicaux libres.....	8
II.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène.....	8
II.2. Les principales sources des espèces réactives d'oxygène.....	9
II .2.1. Sources endogènes.....	9
II.2.1.1 La mitochondrie.....	9
II.2.1.2. Le réticulum endoplasmique.....	10
II.2.1.3. Les peroxysomes.....	10
II.2.1.4. La membrane plasmique (NADPH) .....	10
II.2.2. Sources exogènes.....	10
II. 3. Les conséquences du stress oxydatif .....	11
II.3.1. Conséquences au niveau cellulaire .....	11
II.3.1.1. Oxydation de l'ADN.....	11
II.3.1.2. Oxydation des protéines et des acides aminés.....	11
II. 3.1.3. Oxydation des lipides.....	11
II.3.2. Pathologie liées au stress oxydatif.....	12
II.4.1. Système antioxydant enzymatique.....	12
II.4.2. Système antioxydant non enzymatique.....	13
II.4.2.1. Système non enzymatique endogène .....	13
II.4.2.2. Système non enzymatique exogène.....	14
<b>III. Les bactéries lactiques.....</b>	<b>14</b>
III.1. Historique.....	14
III.2. Définition des bactéries lactiques.....	14
III.3. Habitat.....	15

III.4. Classification des bactéries lactiques.....	15
III.4.1. Classification classique.....	15
III.4.2. Classification moderne.....	15
III.5. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	15
III.5.1. Le genre <i>Streptococcus</i> .....	16
III.5.2. Le genre <i>Lactococcus</i> .....	16
III.5.3. Le genre <i>Enterococcus</i> .....	16
III.5.4. Le genre <i>Pediococcus</i> .....	16
III.5.5. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	16
III.5.6. Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	16
III.6. Métabolisme des bactéries lactiques.....	17
III.6.1. La protéolyse.....	17
III.6.2. Le métabolisme du glucose.....	17
III.6.2.1. Les bactéries lactiques homofermentaires.....	17
III.6.2.2. Les bactéries lactiques hétérofermentaires.....	17
III.6.3. La lipolyse.....	17
III.7. Bactérie lactique et métaux lourds.....	18
III.8. Activité antioxydante des bactéries lactiques.....	18
III.9. Le pouvoir antioxydant des exopolysaccharides des bactéries lactiques.....	19

### **Etude expérimentale**

<b>I. Matériel et méthodes.....</b>	<b>19</b>
I.1. Objectif.....	19
I.2. Matériel.....	19
I.2.1. Matériel biologique.....	19
I.2.2. Produits chimiques et milieux de culture.....	19
I.2.3. Appareillages.....	20
I.3. Méthodes.....	20
I.3.1. Repiquage et réactivation des souches lactiques.....	20
I.3.2. Préparation de la solution mère du plomb et traitement des souches.....	20
I.3.3. Préparation des cellules intactes.....	21
I.3.4. Résistance des bactéries lactiques au plomb.....	21
I.3.5.1. Effet du plomb sur la résistance au peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	21
I.3.6. Dosage des polyphénols totaux.....	22
I.3.7. Effets du plomb sur l'activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	22
I.3.8. Effet du plomb sur l'activité de piégeage des radicaux anions superoxydes.....	23
I.3.9. Effet du plomb sur le pouvoir réducteur des bactéries lactiques.....	24
I.3.10. Caractérisation de la capacité des bactéries lactiques à fixer le plomb.....	25
I.3.11. Analyse statistique.....	25
<b>II. Résultats et discussion.....</b>	<b>25</b>
II.1. Résistance des isolats lactiques au plomb.....	25
II.2. Effet du plomb sur la résistance des isolats lactiques au peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 0,5 mM).....	27
II.3. Dosage de la teneur totale en polyphénols.....	29
II.4. Piégeage de l'anion superoxyde.....	30
II.5. Effet du plomb sur la capacité des bactéries lactiques à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	31
II.6. Effet du plomb sur le pouvoir réducteur des bactéries lactiques.....	33
II.7. Caractérisation de la capacité des bactéries lactiques à fixer le plomb.....	34

Conclusion .....	37
Références bibliographiques .....	39
Annexe	

### **Liste des abréviations**

AA : Acide ascorbique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AG : Acide gallique

BHE : Barrière hémato-encéphalique

BL : Bactéries lactiques

CAT : Catalase

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

GSH : Le glutathion du groupe tripeptide sulfhydryle

HAT : Le transfert d'atomes d'hydrogène

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène non radicalaire

L : Lactobacillus

LAB : Lactic Acid Bacteria

MRS : Le milieu de culture Man-Rogosa et Sharp

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : Carbonate de sodium

O<sub>2</sub><sup>•-</sup> : L'anion superoxyde

•OH : Le radical hydroxyle

Pb : Plomb

PBS : Phosphate Buffer Saline

RE : Réticulum endoplasmique

RL : Radical libre

RNI : Intermédiaires azotés réactifs

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SAA : Spectrophotomètre à absorption atomique

SET : Le transfert d'électron unique

SOD : Superoxyde dismutase

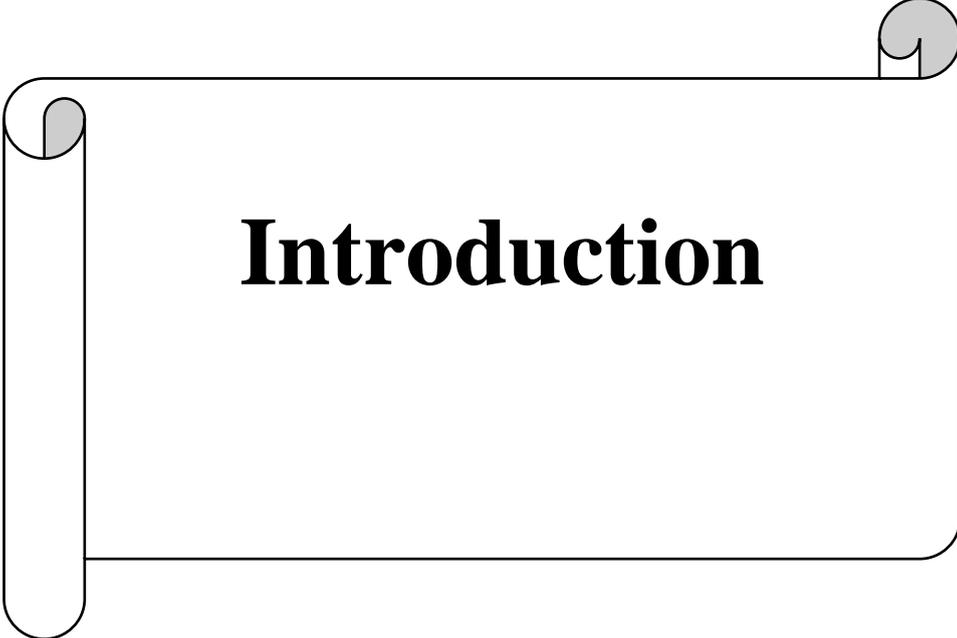
TCA : L'acide trichloracétique

### Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
Toxicocinétique du plomb	<b>7</b>
Les différentes sources des radicaux libres	<b>9</b>
Effet du plomb sur la résistance des bactéries lactiques au peroxyde d'hydrogène (0.5 mM)	<b>28</b>
Courbe d'étalonnage des polyphénols des souches lactiques	<b>30</b>
Taux de piégeage de l'anion super oxyde des souches lactiques étudiées	<b>31</b>
Résultats de piégeage du radical DPPH par les quatre souches de bactérie lactique	<b>32</b>
Résultats du pouvoir réducteur des souches lactiques étudiées	<b>33</b>
Résultats de la capacité des souches lactiques à fixer le plomb	<b>35</b>

### Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
Résultats de la recherche de catalase et de la coloration de Gram des bactérie lactiques étudiées	20
Taux de survie des souches de bactéries lactiques dans le milieu MRS contenant 100 mg/g du plomb.	26



# **Introduction**

Ces dernières années, la pollution par les métaux lourds est devenue l'un des problèmes environnementaux les plus graves (**Elkhawaga, 2011**). La découverte des métaux constitue une étape fondamentale de l'histoire humaine, ils sont présents dans toutes les parties de l'environnement, notamment dans les aliments et l'eau, et leurs concentrations varient selon l'élément considéré (**Maud, 2005**).

Les activités humaines ont fortement augmenté le rejet de diverses molécules dans l'environnement, dont certaines sont toxiques non seulement pour la flore et la faune, mais aussi pour l'espèce humaine (**Moussavou, 2010**). Ces métaux sont souvent toxiques à faible concentration et les micro-organismes ont été les premiers organismes à être affectés par cette toxicité (**Habi, 2009**).

Le mécanisme de la toxicité des métaux est l'induction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS : reactive oxygen species) (**Habi, 2009**) et des molécules réactives contenant de l'oxygène produites dans les réactions redox (**Meghnous et Meghraoui, 2011**). La formation de ROS est causée par le stress oxydatif, qui crée un déséquilibre entre les défenses antioxydantes et la production de radicaux libres (**Crosnier et Delolme, 1994**). Ces derniers peuvent causer des dommages oxydatifs aux membranes lipidiques, ADN et protéines, et leur oxydation peut entraîner un dysfonctionnement cellulaire et des lésions tissulaires (**Varrault, 2012**).

Le corps possède son propre système de défense contre les ROS basé sur des enzymes antioxydantes ainsi que sur des composés antioxydants non enzymatiques de faible poids moléculaire. Ces systèmes de défense ne sont pas suffisants pour prévenir complètement les dommages, de sorte que des compléments alimentaires contenant des antioxydants peuvent être utilisés pour aider le corps à réduire les dommages oxydatifs (**Zommara et al., 1996 ; Oxman et al., 2000 ; Terahara et al., 2001 ; Kullisaar et al., 2003**).

Les composés antioxydants agissent par plusieurs mécanismes chimiques : le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT), le transfert d'électron unique (SET) et la capacité de chélater les métaux de transition. L'importance des mécanismes antioxydants est de comprendre la signification biologique des antioxydants, leurs utilisations possibles, leur production par synthèse organique ou par des méthodes biotechnologiques, ou pour la standardisation de la détermination de l'activité antioxydante (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

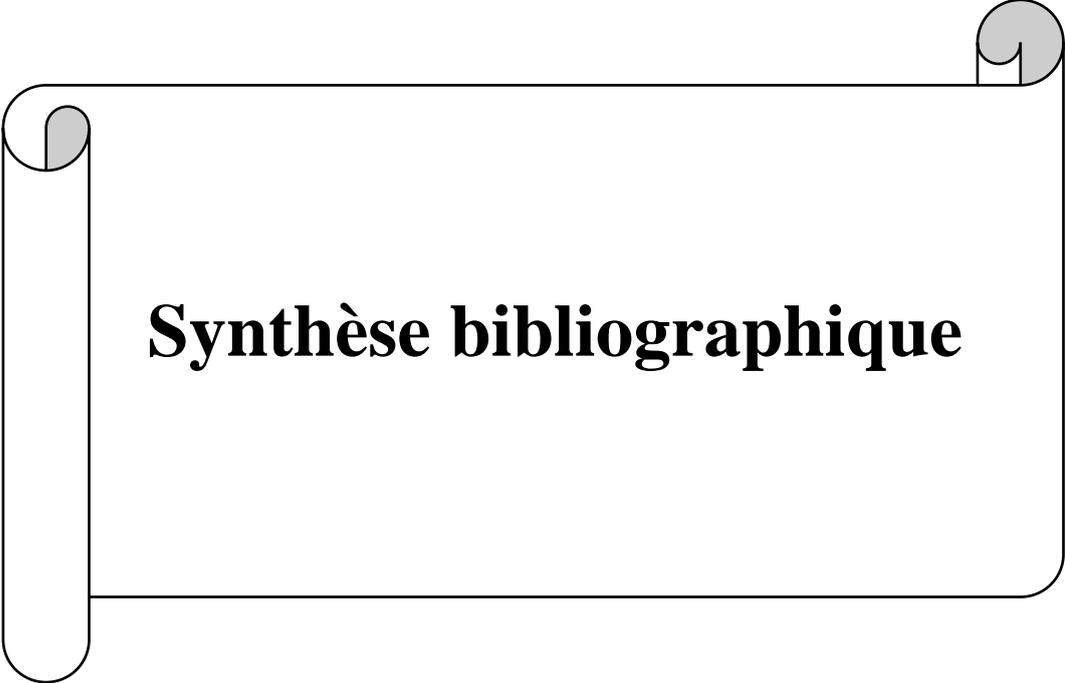
Plusieurs sources biologiques telles que les plantes médicinales, les légumes, les épices et les fruits ont été évaluées comme sources d'antioxydants naturels potentiellement sûrs. Outre les

plantes, les micro-organismes sont la source potentielle de nouveaux composés bioactifs à utiliser dans les secteurs médical, agricole et industriel. Par rapport aux plantes, les microbes peuvent être cultivés dans des conditions contrôlées à un rythme plus rapide, ce qui en fait une source potentielle de molécules bioactives naturelles pour les applications alimentaires et nutraceutiques (**Chandra et al., 2020**).

Plusieurs études ont été menées pour étudier les propriétés antioxydantes des bactéries lactiques *in vivo* et *in vitro*. Des études ont montré que la maladie intestinale inflammatoire entraîne une réduction du GSH, et sa supplémentation a montré des effets bénéfiques (**Coşkun et al., 2010 ; Kullisaar et al., 2012**). Le genre *Lactobacillus* est l'une des espèces les plus importantes du microbiome humain, et certains de ces lactobacilles ont une activité antioxydante qui réduit le risque d'accumulation de ROS tels que le peroxyde d'hydrogène, les radicaux superoxydes et les radicaux hydroxyles, réduisant ainsi le risque de mutations et risque de cancer (**Kullisaar et al., 2002**).

Ce travail de fin d'études a pour objectif d'évaluer *in vitro*, la toxicité du plomb sur quelques souches de bactéries lactiques isolées du blé fermenté traditionnellement, via l'étude de son effet sur leurs capacités antioxydantes.

Notre manuscrit débute par une introduction générale, ensuite une synthèse bibliographique, qui rassemble les connaissances sur le plomb et sa toxicité, le stress oxydatif et les systèmes antioxydants, et les bactéries lactiques. Suivies par une étude expérimentale qui expose le matériel et des méthodes utilisées, les résultats obtenus, et l'analyse de ces résultats. Enfin, le manuscrit est achevé par une conclusion générale et les perspectives envisagées.



# **Synthèse bibliographique**

## I. Le plomb

### I.1. Généralités sur les métaux lourds

Les métaux lourds sont des éléments du tableau périodique qui forment des cations en solution (Nouri et Haddioui, 2016). Ils constituent un groupe très hétérogène d'éléments aux propriétés chimiques et aux fonctions biologiques très variables (Raikwar et al., 2008). Les métaux lourds se caractérisent par une densité élevée supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup>, une conductivité électrique, une ductilité et un lustre élevés (Jaishankar, 2014). Certains métaux lourds, dont l'arsenic, le cadmium, le plomb et le mercure, sont des substances toxiques cumulatives. Ils sont persistants, s'accumulent et ne se biodégradent pas, et leur élimination dans l'environnement n'est pas aisée (Raikwar et al., 2008). Les humains les utilisent depuis longtemps pour fabriquer des alliages métalliques et des pigments pour la peinture, le ciment, le papier, le caoutchouc et d'autres matériaux. Aujourd'hui encore, l'utilisation de métaux lourds augmente dans certains pays malgré leurs effets toxiques bien connus (Oves et al., 2016).

Les métaux lourds proviennent de deux sources : naturelles et artificielles. Ils peuvent être divisés en trois groupes selon leur rôle biologique et leur impact sur les micro-organismes :

- ✓ Métaux essentiels (Na, Ca, K, Mn, Mg, V, Fe, Cu, Co, Mo, Ni, Zn et W) : ils ont des rôles biologiques bien établis, cependant, à des concentrations élevées, leurs ions changent de toxicité.
- ✓ Métaux toxiques (Ag, Sn, Cd, Au, Ti, Hg, Pb, Al et métalloïdes Ge, Sb, As et Se) : n'ont aucun effet biologique et interfèrent avec les processus cellulaires.
- ✓ Non essentiel (Rb, Sr, Cs et T) : Aucun effet biologique clair et aucune toxicité.

Les métaux essentiels agissent comme cofacteurs pour les enzymes, stabilisateurs de la structure des protéines et des parois cellulaires bactériennes, et aident à maintenir l'équilibre osmotique (Donati, 2018).

### I.2. Définition du plomb

Le plomb (Pb) est un métal lourd répondu, considéré comme substance du groupe 2A par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) (Flora et al., 2012 ; Wani et al., 2015). Il est potentiellement toxique qui est absorbé par l'organisme et s'accumule dans le sang et les os, ainsi que dans le foie, les reins, le cerveau et la peau. Ses effets néfastes sur la santé peuvent être à la fois aigus et chroniques, car le corps humain excrète mal le Pb (Krzywy et al., 2010).

Des études récentes ont suggéré que l'exposition au plomb pendant l'enfance est un facteur de risque pour le développement de maladies neurodégénératives à l'âge adulte (**Reuben, 2018**). Le plomb est rarement trouvé sous forme native dans la nature, mais il se combine avec d'autres éléments pour former une variété intéressante (**Pinho et Ladeiro, 2012**).

### **I.3. Les différentes sources d'expositions au plomb**

#### **I.3.1. Exposition professionnelle**

C'est une source majeure d'empoisonnement au plomb chez les adultes. Aux États-Unis, les produits contenant du plomb sont concernés (**Ji et al., 2014**) en raison des équipements de travail (radioprotection, certains équipements chirurgicaux, développement des films radiographiques dentaires, traitement numérique des rayons X et moniteurs fœtaux électroniques). Les travailleurs qui sont régulièrement exposés à ces types d'équipements courent un plus grand risque de toxicité (**Wani et Ara, 2015**).

#### **I.3.2. Exposition domestique**

Au fil des siècles, le plomb a été couramment utilisé pour couvrir les toits, les cadres de fenêtres, les tuyaux, les couverts, les bijoux, les poids, la fabrication du verre, les balles de tir, la peinture, les polices de caractères, etc. Les industries de l'imprimerie et du jouet sont utilisées pour produire des soldats de plomb (**szyczewski et al., 2009 ; krzywy et al., 2010 ; wieczorek et al., 2018**).

#### **I.3.3. Exposition d'origine alimentaire**

Les procédés techniques sont une source importante de contamination des aliments.

Les sources de plomb peuvent être des ustensiles utilisés dans la production alimentaire et peuvent provenir de divers types de couverts, d'emballages, d'ustensiles de cuisine, de boîtes de conserve, de bocal soudés et d'articles en céramique tels que la porcelaine (principalement décorative) (**Staniak et al., 2014**).

#### **I.3.4. Autres sources d'exposition**

Un empoisonnement au plomb a été constaté dans certains cas lors de l'utilisation de produits cosmétiques tels que les khôls, qui sont utilisés depuis l'Égypte ancienne comme pigment noir et qui sont encore parfois fortement contaminés par le plomb à ce jour (**Filella et al., 2020**). Le tabac est également une importante source d'exposition pour les fumeurs (**Fresquez et al., 2013**).

#### **I.4. Mécanisme de toxicité du plomb**

Dans le corps humain, l'empoisonnement au plomb se produit lorsque les cellules sont stressées. La production accrue de radicaux libres et la surcharge des mécanismes antioxydants peuvent entraîner un stress oxydatif et des dommages ultérieurs (**Flora et al., 2012**). Les antioxydants protègent principalement le corps et neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites. Le glutathion du groupe tripeptide sulfhydryle (GSH) est l'antioxydant le plus important dans les cellules et le responsable pour le piégeage des radicaux libres (**Nemsadze et al., 2009**). Le plomb se lie au groupe sulfhydryle du GSH, inactivant le GSH et augmentant le stress oxydatif. Il bloque aussi l'activité des enzymes (acide 8-aminolévulinique, déshydratase (ALAD), glutathion réductase, glutathion peroxydase et glutathion-S-transférase) et réduit davantage les niveaux de GSH. L'induction de plomb chez l'homme à des niveaux élevés provoque une peroxydation lipidique qui déstabilise les membranes cellulaires, entraînant une anémie hémolytique (**Kim et al., 2015**). La neurotoxicité du plomb est due à un mécanisme ionique qui permet aux ions de traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) (**Tobwala et al., 2014**).

La concentration en ions sodium est également affectée par la toxicité du plomb, ce qui entrave la communication intercellulaire et l'absorption des neurotransmetteurs. Même en très petites quantités, il affecte la protéine kinase C, qui est responsable de l'excitation neurale prolongée et du stockage de la mémoire (**Neal et al., 2012**).

#### **I.5. Toxicité du plomb**

Une exposition aiguë au plomb peut entraîner une perte d'appétit, des maux de tête, une hypertension artérielle, des douleurs abdominales, une insuffisance rénale, de la fatigue, de l'insomnie, de l'arthrite, des hallucinations et des étourdissements, tandis qu'une exposition à long terme au plomb peut entraîner une altération du développement intellectuel, des problèmes de comportement, une déficience auditive et croissance Handicap, malformations congénitales, psychose, autisme, allergies, dyslexie, perte de poids, hyperactivité, paralysie, faiblesse musculaire, lésions cérébrales, lésions rénales et même la mort (**Arif et al., 2015**).

##### **I.5.1. Le saturnisme**

C'est une maladie décrite pour la première fois par le physicien grec Hippocrate. Chez l'adulte, le saturnisme désigne toutes les manifestations de l'intoxication au plomb. Chez l'enfant, le risque d'empoisonnement au plomb est plus élevé car il est plus digéré et absorbé avec les dérivés du plomb que chez les adultes. Des troubles neurologiques moins sévères sont généralement observés chez les enfants dont la plombémie est comprise entre 500 et 700

µg/l : diminution de l'activité motrice, irritabilité, troubles du sommeil, modifications du comportement, retard mental (**Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Plomb, 1999 ; Picard, 2002 ; Cecchi, 2008**).

### **I.5.2. Toxicité neurologique**

La neurotoxicité fait référence à une exposition systémique à des poisons toxiques au plomb et à des déséquilibres neurophysiologiques. Il existe deux principaux symptômes neurocognitifs. Elle affecte principalement le système nerveux central, généralement le cerveau en développement, et affecte presque tous les systèmes organiques. Par conséquent, les enfants souffrent plus d'effets neurotoxiques que les adultes et sont plus à risque d'empoisonnement au plomb (**Rehman et al., 2018**). Un récepteur puissant, le N-méthyl-D-aspartate, est impliqué dans la maturation de la plasticité cérébrale qui se produit dans le tissu cérébral. Le plomb bloque ce récepteur et conduit à l'amélioration de nouvelles connaissances et à la perturbation du stockage à long terme (**Sanders et al., 2009**).

### **I.5.3. Toxicité hématologique**

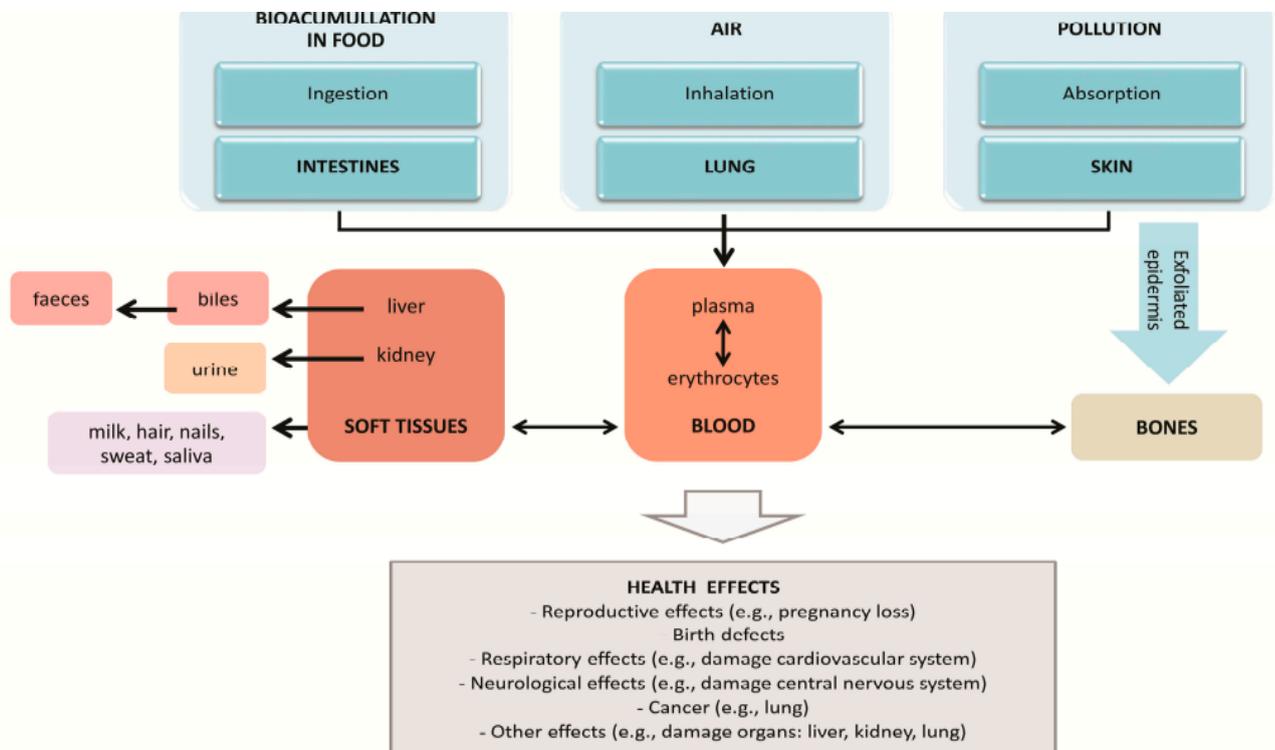
L'anémie est une manifestation clinique typique des globules rouges due à la toxicité du plomb. Les jeunes enfants carencés en fer sont plus susceptibles de développer une anémie clinique induite par le plomb. Une forte exposition au plomb chez l'homme peut entraîner une anémie hémolytique. Plus de 99 % du plomb est distribué dans les globules rouges plutôt que dans le plasma. Le plomb provoque l'anémie en bloquant l'activité de la ferrochélatase, de l'aminolévulinate synthase et de l'ALAD. Le plomb inhibe également les enzymes impliquées dans la synthèse de l'hème (**Baker et Greer, 2010 ; Kim et al., 2015**).

### **I.5.4. Toxicité pour la reproduction**

Le plomb provoque des effets néfastes sur le système de reproduction chez les hommes et les femmes. Les effets communs chez l'homme sont : une réduction de la libido, une spermatogenèse anormale (motilité et nombre réduits), des dommages chromosomiques, l'infertilité, fonction anormale de la prostate ainsi que des changements dans la testostérone sérique. Les femmes sont les plus sensibles à ce métal, qui peut provoquer l'infertilité, une fausse couche, une rupture prématurée des membranes, une pré-éclampsie, une hypertension artérielle et un accouchement prématuré. De plus, des effets directs du plomb sur les stades de développement du fœtus pendant la grossesse ont également été signalés (**Flora et al., 2012**).

## I.6. Toxicocinétique du plomb

L'absorption du plomb (Pb) se fait principalement par le tube digestif. Son ingestion se produit par la consommation d'aliments et d'eau contaminés par le plomb et par l'inhalation puis l'absorption de substances contenant du plomb (**Fig. 1**). Le plomb tétraéthyle et tétraméthyle est absorbé par le système digestif et transporté dans le sang, où il est distribué dans divers tissus en une heure (**Giel-pietraszuk et al., 2012 ; Tamayo y Ortiz et al., 2016**). Après absorption, les concentrations de plomb dans le sang atteignent l'équilibre environ 3 mois après l'exposition. La majeure partie du plomb est stockée dans le foie et, dans une moindre mesure, dans les reins. Le plomb restant est dispersé dans tout le corps (cortex, moelle épinière, ovaire, pancréas, rate, prostate, glande surrénale, cerveau, tissu adipeux, testicule, cœur et muscle squelettique) (**Sirivarasai et al., 2015**).



**Figure 1** Toxicocinétique du plomb (**Lee et al., 2019**). Absorption, distribution et excrétion du Pb de l'organisme (flèches fines-chemins d'absorption ; flèches grasses-chemins d'excrétion ; flèches en pointillés-mouvement à l'intérieur du corps. Principaux emplacements du plomb dans le corps (sang, os, tissus mous).

L'élimination du plomb se fait en deux étapes : la première (élimination du sang et des tissus mous) prend environ 20 à 30 jours ; la seconde (l'élimination lente du plomb du sang) implique un stockage par les os. La demi-vie biologique du plomb est estimée à un an dans l'os trabéculaire et à 10-20 ans dans l'os cortical (**Jakubowski, 2014**). La plupart du plomb

inorganique est excrété dans l'urine (environ 2/3), et un autre 1/3 est excrété dans la bile intestinale puis excrété dans les fèces. De petites quantités du plomb peuvent être sécrétées dans la sueur, le lait et la salive, et peuvent également s'accumuler dans les cheveux et les ongles (Giel-Pietraszuk *et al.*, 2012 ; Tamayo y Ortiz *et al.*, 2016).

## II. Le stress oxydatif

### II.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif décrit l'état dans lequel le corps réagit à divers stimuli nocifs et produit un excès d'espèces réactives libres de l'oxygène (réactive oxygène spécifiques: ROS) et de radicaux azotés réactifs (réactive oxygène spécifiques: RNS) (Duan *et al.*, 2016). Il se définit également par un déséquilibre entre la production d'espèces oxydatives, principalement des ROS, et la capacité de l'organisme à les neutraliser et à isoler les dommages oxydatifs (Belkhiri et Bouab, 2018). Ces effets pourraient conduire à toutes sortes de maladies (Duan *et al.*, 2016).

### II.2. Les radicaux libres (RL)

Un radical libre est une espèce chimique (molécule) avec un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbitale externe, la molécule est très instable, elle est capable de réagir avec d'autres molécules chimiques autour d'elle, et de piéger les éléments nécessaires à la stabilité des électrons, une réaction en chaîne commence lorsque le radical libre attaque la molécule stable la plus proche et enlève ses électrons, et la molécule elle-même devient un radical libre (Boudjouref, 2018).

Ainsi, un radical libre peut donner son électron non apparié à une autre molécule, ou voler un électron à une autre molécule pour former une paire. Par conséquent, une caractéristique importante des réactions induites par les radicaux libres est qu'elles ont tendance à se produire en tant que réaction en chaîne (Subrata, 2016). Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles à l'organisme à des doses raisonnables. Dans des conditions normales, la balance antioxydant/pro-oxydant est dite en équilibre. Si ce n'est pas le cas, soit en raison d'une carence en antioxydants, soit en raison d'une surproduction massive de RL, un état de "stress oxydatif" est signalé (Kadri, 2017).

### II.3. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des molécules hautement réactives dérivées de nombreuses sources cellulaires, y compris le métabolisme oxydatif dans les mitochondries. À de faibles niveaux, ils peuvent bénéficier aux cellules en activant les voies de signalisation qui favorisent la prolifération ou la survie. À des niveaux plus élevés, les ROS peuvent

endommager ou tuer les cellules en oxydant les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Ounis *et al.*, 2018).

Les ROS comprennent les radicaux libres tels que le radical anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ) et le peroxyde d'hydrogène non radicalaire ( $H_2O_2$ ). Les intermédiaires azotés réactifs (RNI) sont également considérés comme des radicaux libres importants. Il s'agit notamment de différentes formes d'oxyde nitrique ( $NO\bullet$ ) : d'anions nitroxyle ( $NO^-$ ), de nitrosonium ( $NO^+$ ) et de peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ) (Benayoun *et al.*, 2019).

#### II.4. Les principales sources des espèces réactives d'oxygène

Les principales sources de ROS intracellulaires sont les mitochondries, le réticulum endoplasmique (RE), les peroxysomes, les microsomes et les complexes NOX (sept isoformes distinctes) dans la membrane cellulaire (Abdal Dayem *et al.*, 2017) (Fig. 2).

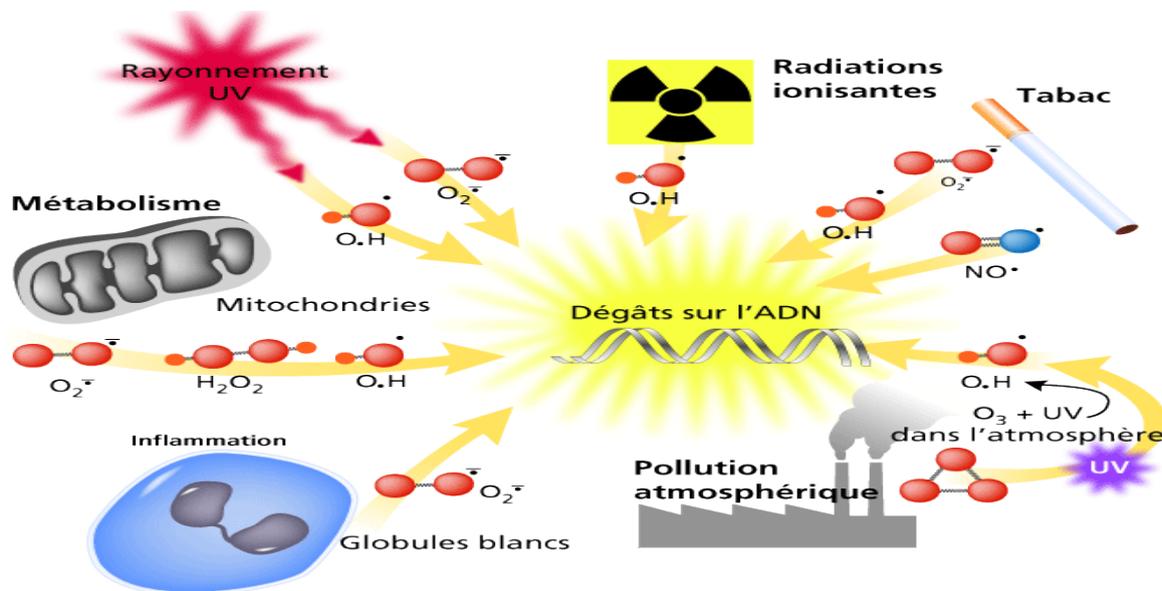


Figure 2 : Les différentes sources des radicaux libres (Di Mio *et al.*, 2016).

#### II.4.1. Sources endogènes

##### II.4.1.1. La mitochondrie

Les mitochondries fournissent l'énergie nécessaire à de nombreux processus biologiques vitaux. Elles sont considérées comme une source majeure de ROS d'origine cellulaire (Zhou *et al.*, 2015). L'accumulation accrue de calcium ( $Ca^{2+}$ ) dans le cytoplasme conduit à l'activation de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale et à la production de ROS. De faibles concentrations d'oxygène sont produites lors de la production mitochondriale d'adénosine triphosphate (ATP) et d'eau, conduisant à un stade précoce de la production de

ROS. L'anion superoxyde est le premier élément ROS produit par les mitochondries dans la matrice mitochondriale et l'espace intermembranaire (**Abdal Dayem et al., 2017**).

#### **II.4.1.2. Le réticulum endoplasmique**

Le réticulum endoplasmique (RE) lisse possède une chaîne de transport d'électrons composée de deux systèmes, et également capables de générer des ROS. Un autre système microsomique doté de cette capacité permet le repliement oxydatif des protéines. Et joue également un rôle clé dans la génération de ROS (**Di Meo et al., 2016**). De plus, une variété d'enzymes cellulaires comme l'oxyde nitrique (NO) synthase, la monooxygénase du cytochrome P450, la lipoxygénase et la cyclooxygénase,...etc., sont impliquées dans le processus de génération de ROS (**Dayem et al., 2017**).

#### **II.4.1.3. Les peroxysomes**

Les peroxysomes sont formés par deux voies de biogenèse distinctes et potentiellement complémentaires. La perturbation de l'un de ces processus entraîne des changements dans l'accumulation de ROS. Bien que les mécanismes et les composants impliqués dans la reconnaissance et la transmission d'informations au noyau soient inconnus, l'accumulation spécifique de ROS dans les compartiments cellulaires génère des signatures de ROS qui peuvent déclencher des réponses spécifiques (**Ilihoum et al., 2018**).

#### **II.4.1.4. NADPH**

La NADPH oxydase est une enzyme productrice de superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) identifiée dans les phagocytes et essentielle à son activité bactéricide. Plus tard, dans les cellules non phagocytaires, la production d' $O_2^{\bullet-}$  s'est également révélée dépendante du NADPH (**Katsuyama et al., 2012**).

#### **II.4.2. Sources exogènes**

Les sources exogènes sont présentés par : les rayonnements, les polluants atmosphériques et certaines substances exogènes, qui subissent des cycles successifs de réduction et d'oxydation, appelés cycles redox. Les niveaux de ROS dans les systèmes biologiques dépendent non seulement de la productivité mais aussi de la présence et de l'activité des défenses antioxydants cellulaires. Les électrophiles qui appauvrissent le GSH cellulaire peuvent entraîner un stress oxydatif secondaire et les médicaments sont métabolisés pour former des métabolites électrophiles (**Bhattacharyya et al., 2014**).

## **II.5. Les conséquences du stress oxydatif**

### **II.5.1. Conséquences au niveau cellulaire**

#### **II.5.1.1. Oxydation de l'ADN**

L'oxydation de l'ADN produit des mutations. La guanosine, l'une des quatre bases qui composent l'ADN. L'oxydation de l'ADN peut affecter la méthylation de l'ADN en raison de l'oxydation de l'ADN sur les cytosines ou les guanines méthylées dans les séquences CpG. La formation d'adduits d'ADN au niveau des guanines dans les séquences CpG inhibe la liaison des ADN méthyltransférases aux résidus de cytosine adjacents, entraînant une hypométhylation de l'ADN. La méthylation de l'ADN joue un rôle important dans la régulation des gènes (surexpression ou silençage). L'hypométhylation de l'ADN se produit dans de nombreux cancers, y compris le cancer colorectal (**Perše, 2013**).

#### **II.5.1.2. Oxydation des protéines et des acides aminés**

Les protéines cellulaires solubles légèrement oxydées sont sélectivement et rapidement dégradées par le protéasome, tandis que les protéines fortement oxydées (sous-produits carbonylés) sont de mauvais substrats pour la dégradation et s'accumulent dans les cellules. On a émis l'hypothèse que l'accumulation de cette substance endommagée au fil du temps peut entraîner divers troubles liés à l'âge chez l'homme. Autrement dit, l'accumulation de protéines endommagées dans les cellules agit comme un inhibiteur du protéasome, réduisant la capacité à éliminer les protéines oxydées, accélérant l'accumulation de protéines mal repliées et endommagées et affectant le système lysosomal cellulaire. Cela entrave à son tour le renouvellement des protéines et conduit progressivement à d'autres changements structurels et fonctionnels dans l'organite. (**Perše, 2013**).

#### **II.5.1.3. L'oxydation des Lipides**

L'oxydation enzymatique ou non enzymatique des lipides ou lipoprotéines membranaires polyinsaturés conduit à la formation de nombreux composés qui ont été impliqués dans le développement de maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose et les accidents vasculaires cérébraux (**Michel et al., 2008**).

L'attaque des radicaux libres sur les lipoprotéines circulantes conduit à la formation de LDL oxydées, qui seront capturées par des récepteurs spécifiques des macrophages. De plus, ces LDL oxydées sont immunogènes et les complexes immuns formés peuvent activer la voie classique du complément et produire des macrophages qui sécrètent des cytokines pro-inflammatoires (**Haleng, 2007**). L'oxydation non enzymatique des lipides (via les ROS),

appelée "peroxydation lipidique", est un processus complexe allant de la formation de produits primaires (hydroperoxydes) à la formation de produits finaux (aldéhydes, isoprostanes). Une introduction générale au produit résultant mettra en évidence la grande complexité de ces mécanismes et la difficulté de sélectionner des marqueurs répondant à la fois à des critères analytiques et pronostiques (Michel *et al.*, 2008).

### II.5.2. Pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est une cause majeure de plusieurs maladies. Il joue un rôle important dans la pathogenèse des maladies chroniques, l'oxydation enzymatique ou non enzymatique des lipides membranaires polyinsaturés ou des lipoprotéines conduit à la formation de nombreux composés qui sont impliqués dans les maladies cardiovasculaires, maladies neurodégénératives et les accidents vasculaires cérébraux, le diabète ... (Michel *et al.*, 2008).

Une production excessive de ROS peut également provoquer un cancer dans les cellules normales (Mao *et al.*, 2017). Cette production accrue a été impliquée dans la tumorigenèse, car les ROS sont un puissant cancérigène qui cause des dommages à l'ADN et des mutations génétiques, entraînant finalement une instabilité génomique et une transformation cellulaire (Andrisic *et al.*, 2018). Il provoque également la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque, la drépanocytose, le lichen plan, le vitiligo, des infections, le syndrome de fatigue chronique et d'autres maladies liées au vieillissement (Duan *et al.*, 2016).

### II.6. Le système antioxydant

Le système de régulation se compose d'enzymes antioxydants et d'antioxydants non enzymatiques (Bachkat *et al.*, 2017) :

#### II.6.1. Système antioxydant enzymatique

Les antioxydants enzymatiques ont des centres métalliques, qui leur permettent d'acquérir différentes valences en transférant des électrons pour équilibrer la molécule pour le processus de détoxification (Agarwal *et al.*, 2012). Les organismes du corps humain et les cellules sont équipés de réseaux de défense antioxydants pour limiter l'accumulation excessive de ROS (Höhn A *et al.*, 2017).

Parmi les enzymes antioxydantes on cite (Bhattacharyya, 2014) :

- ✓ La superoxyde dismutase SOD qui catalyse la dismutation de  $O_2^-$  en  $O_2$  et  $H_2O_2$  ;
- ✓ La glutathion peroxydase (GPx) existant dans le corps sous cinq isoformes : GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 et GPx. GPx 4, et qui détoxifie spécifiquement les hydroperoxydes de

phospholipides dans les biofilms. Elle inhibe l'accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les cellules ;

- ✓ La catalase (CAT) qui dispropotionne  $H_2O_2$  en  $H_2O$ , que l'on trouve principalement dans les peroxysomes. Chez l'homme, elle se trouve principalement dans le foie, les reins et les globules rouges, bien que tous les organes expriment l'enzyme ;
- ✓ La glutathion réductase (GR ou GSR) réduit le disulfure de glutathion oxydé (GSSG) en GSH. Le GR protège les globules rouges, l'hémoglobine et les membranes cellulaires du stress oxydatif en produisant du GSH ;
- ✓ L'hème oxygénase catalyse la dégradation de l'hème et produit du CO, de la biliverdine et du fer. Deux isomères différents de HO,  $HO^{-1}$  et  $HO^{-2}$ , ont été signalés.  $HO^{-2}$  est exprimé de manière constitutive et  $HO^{-1}$  est inductible.

### II.6.2. Système antioxydant non enzymatique

#### II.6.2.1. Système non enzymatique endogène

Il est représenté par les molécules suivantes :

- ✓ Le glutathion (GSH) : c'est un tripeptide soluble dans l'eau (l- $\gamma$ -glutamyl-l-cystéinyglycine) qui peut utiliser son groupe thiol pour réagir avec les ROS et s'oxyder pour former du disulfure de glutathion (GSSG) (**Duan et al., 2016**). Le GSH est essentiellement impliqué dans l'activation d'autres antioxydants, il réduit les radicaux libres de plusieurs molécules. De plus, le glutathion est un cofacteur et un substrat pour plusieurs enzymes (GRx) impliquées dans la défense contre le stress oxydatif (**Samoylenko et al., 2013**).
- ✓ La thiorédoxine : le système thiorédoxine est constitué de thiorédoxine (Trx) et de thiorédoxine réductase (TrxR). Trx est une oxydoréductase contenant du disulfure qui régule l'activité des facteurs de transcription sensibles à l'oxydoréduction (**Bhattacharyya et al., 2014**).
- ✓ La mélatonine : la mélatonine est produite par le corps. Une fois oxydée, la mélatonine ne peut pas être restaurée à son état réduit car elle forme un produit final stable après la réaction (**Agarwal et al., 2012**). Elle neutralise efficacement les radicaux  $HO^*$  et peroxy,  $CO_3^*$ ,  $NO_2$ ,  $O_2^*$  et HOCl dans les phases aqueuse et lipidique, et peut facilement traverser la barrière hémato-encéphalique. La mélatonine en tant qu'antioxydant est oxydée de manière irréversible et ne peut pas être réduite. Ainsi, il est appelé un antioxydant suicidaire ou terminal (**Bhattacharyya et al., 2014**).

### II.6.2.2. Système non enzymatique exogène

✓ La vitamine C (acide ascorbique) : est un catalyseur redox connu qui réduit et neutralise les ROS. Sa forme réduite est maintenue par réaction avec le GSH et peut être catalysée par la protéine disulfure isomérase et la glutaredoxine (**Bhattacharyya et al., 2014**).

✓ La vitamine E : elle a la capacité d'inhiber les espèces réactives de l'oxygène dans les membranes cellulaires et d'autres environnements lipidiques, empêchant ainsi l'oxydation des acides gras polyinsaturés. La forme la plus connue de la vitamine E est l'alpha-tocophérol, très actif pour neutraliser les radicaux libres peroxydes (**Samoylenko et al., 2013**).

## III. Les bactéries lactiques (BL)

### III.1. Historique

Les bactéries lactiques sont des microbes très anciens dont les ancêtres sont probablement apparus il y a 3 milliards d'années (avant les cyanobactéries). Ils sont utilisés dans la fermentation alimentaire depuis plus de 4 000 ans sans comprendre la base scientifique de leur utilisation, dans le but de produire des aliments mieux conservés et de meilleure qualité (**Boudersa et al., 2017**).

Au début du XXe siècle, Elie Metchnikoff a remarqué que la longévité et la santé des agriculteurs bulgares étaient liées à leur consommation de produits laitiers fermentés et a suggéré que certains micro-organismes pouvaient avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine. (**Daudi et al., 2018**). Aujourd'hui, les bactéries lactiques représentent le deuxième marché de production de biomasse après la levure. Principalement utilisé dans l'industrie alimentaire, pour la production et la fermentation des aliments, mais aussi dans l'industrie chimique, pour la production d'acide lactique et de biopolymères, et a joué un rôle croissant dans la santé humaine et animale ces dernières années (**Brahimi, 2015**).

### III.2. Définition des bactéries lactique

Les Bactéries Lactiques (LAB : Lactic Acid Bacteria) sont des cellules procaryotes organiques nutritives qui forment un groupe hétérogène (**Badis et al., 2005 ; Yang et al., 2015 ; Ismail et al., 2016**). Elles peuvent avoir différentes formes : sphériques, en bâtonnets ou encore ovoïdes (**Luquet et Corrieu., 2005 ; Galvez et al., 2011**).

Les caractéristiques morphologiques, physiologiques et métaboliques de ces bactéries sont recherchées pour une large gamme d'activités métaboliques et de propriétés à usage industriel, telle que l'acidification, la protéolyse, la production de polysaccharides, ... (**Aibeche, 2020**).

Certaines LAB sont largement utilisées comme probiotiques en raison de leurs bienfaits pour la santé, comme *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* (**Bouguerra, 2021**).

### III.3. Habitat

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ubiquitaires qui peuvent exister dans tous les types d'habitats (**Belyagoubi, 2014**). Ils sont souvent associés aux matières premières végétales et animales et aux aliments fermentés correspondants, notamment les produits laitiers, les viandes, les légumes et les céréales, dans lesquels la fermentation peut avoir lieu (**Bouguerra, 2021**). Ils poussent avec la levure dans le vin, la bière et le pain (**Menad, 2018**). Ils existent dans l'environnement à l'état libre ou vivent avec des hôtes tels que les humains ou les animaux (**Belyagoubi, 2014**). Certaines espèces sont également présentes dans les voies respiratoires, intestinales et reproductives des humains et des animaux (**Bouguerra, 2021**).

### III.4. Classification des bactéries lactique

Basé sur des caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques. Des marqueurs de classification chimique, tels que la composition en acides gras et la composition de la membrane cellulaire, ont également été utilisés pour la classification (**Belyagoubi, 2014**).

Il existe deux classifications : la classification classique et la classification moderne

#### III.4.1 Classification classique

Basé sur la morphologie, les schémas de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, la configuration de l'acide lactique produit et la tolérance aux concentrations élevées de sel et aux acides ou bases (**Bouguerra, 2021**).

Les autres caractéristiques phénotypiques et biochimiques utilisées pour identifier les espèces de BL sont : gamme de glucides fermentescibles, hydrolyse de l'arginine, production d'acétone, tolérance aux sels biliaires, type d'hémolyse, Production d'exopolysaccharides, besoins en facteurs de croissance, présence de certaines enzymes, caractéristiques de croissance et sérotypage dans le lait (**Axelsson, 2004**).

#### III.4.2 Classification moderne

La classification des bactéries lactiques peut être affinée sur la base de l'hybridation ADN-ADN et du séquençage du gène de l'ARNr 16S. En créant de nouveaux genres (**Mermouri, 2018**), il est possible de regrouper des espèces et de séparer d'autres espèces (en séparant *Streptococcus* en : *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*).

### III.5. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques

#### III.5.1. Le genre *Streptococcus*

La première classification des streptocoques était principalement basée sur l'hémolyse et les antigènes du groupe Lansfield. Le streptocoque est présent chez les humains, les animaux, l'environnement et les sources alimentaires (Mas-De-Xaxars et al., 2009). Ce genre représente les bactéries Gram-positives sphériques ou ovoïdes (Gao et al., 2014 ; Martín, 2016). Ils sont généralement disposés en chaînes ou en paires (Holzapfel, 1995).

#### III.5.2. Le genre *Lactococcus*

Les cellules de *Lactococcus* sont des sphéroïdes ovoïdes, séparés par paires ou chaînes, généralement allongées dans le sens de la chaîne, Gram-positives, anaérobies (Gänzle, 2015).

#### III.5.3. Le genre *Entérocooccus*

Ce sont des bactéries anaérobies facultatives Gram-positives, catalase-négatives, non sporulantes, avec un métabolisme homofermentaire qui produit du lactate L(+) à partir du glucose (García-Solache, 2019).

#### III.5.4. Le genre *Pediococcus*

Les pédiocoques se présentent sous la forme de cocci sphériques ou lenticulaires à Gram positif, de spores, immobiles, le plus souvent catalase négative, à fermentation lactique hétérogène, et éventuellement anaérobies (Holzapf et Wood, 1995 ; Philippon et Poyart, 2008 ; Dicks Endo, 2014).

#### III.5.5. Le genre *Lactobacillus*

Ces bactéries sont associées aux humains ou utilisées dans la fermentation industrielle des produits laitiers et d'autres aliments (Kant et al., 2011 ; Salvetti et al., 2012). Ils peuvent être isolés du tractus gastro-intestinal, des plantes, de la viande et des produits laitiers (Savado et al., 2011). Les cellules sont de longs bâtonnets fins ou très courts, courbés voire ovales, généralement en forme de chaîne, ne forment pas de spores et sont généralement immobiles (Tailliez, 2004 ; Salvetti et al., 2012).

#### III.5.6. Le genre *Bifidobacterium*

Action probiotique pour l'industrie alimentaire. Ils existent dans différentes niches écologiques ; l'intestin, la bouche, les eaux usées, le sang et la nourriture des animaux (humains, bovins, lapins, souris, poulets et insectes) (Turroni et al., 2011). À l'exception des astéroïdes *Bifidobacterium* et *Bifidobacterium* et *Bifidobacterium*, bactéries anaérobies

obligatoires ou facultatives, elles sont actives, amotiles, non bactéricides enzymatiquement négatives (Rodríguez et al., 2015; Matejceková. Lee et al., 2011).

### **III.6. Métabolisme des bactéries lactiques**

#### **III.6.1. La protéolyse**

Le système protéolytique des bactéries lactiques est constitué de protéases associées à la paroi cellulaire qui catalysent l'hydrolyse initiale des protéines en peptides. Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou des exopeptidases en acides aminés et oligopeptides qui sont facilement transloqués à travers la paroi cellulaire. Dans le lait, la dénaturation des caséines laitières les fait se déposer en petits flocons, qui forment ensuite un caillé, provoquant le caillage du lait. La protéolyse dans les aliments est d'abord assurée par des enzymes microbiennes de ferments mésophiles (*Lactococcus lactis* et *Leuconostoc*) ou thermophiles (*Lactobacillus*, *Streptococcus thermophilus*). Cependant, la majeure partie de l'activité protéolytique est constituée d'enzymes tardives libérées dans le fromage par homofermentation stricte (*Lb. farciminis*), hétérofermentation facultative (*Lb. casei...*) ou hétérofermentation stricte (*Lb. fermentum...*) (Belkhir, 2017).

#### **III.6.2. Métabolisme du glucose**

Les bactéries lactiques n'ont pas de système respiratoire fonctionnel et leur énergie est obtenue par phosphorylation au niveau du substrat. Le schéma de fermentation du glucose fournit une caractéristique importante pour la différenciation du genre, ce qui permet de les diviser en deux grandes catégories (Belhamra, 2017).

##### **III.6.2.1. Bactéries lactiques homofermentaires**

Convertir tout excès de glucose en lactate. Le transport du glucose ou du lactose vers les cellules varie selon les espèces. Ils ont utilisé la voie EMP dans la dernière étape de la glycolyse, convertissant le pyruvate en lactate, régénérant ainsi le NAD<sup>+</sup> à partir du NADH précédemment formé. Dans cette dernière étape, les bactéries impliquent le lactate déshydrogénase (Bekhouche, 2006).

##### **III.6.2.2. Bactéries lactiques hétérofermentaires**

Ce groupe de LAB utilise la voie des pentoses phosphates consistant en la phosphorylation pour générer du 6-phosphogluconate, qui subira une décarboxylation. Les sucres pentoses résultants sont clivés en phosphate de glycéraldéhyde, qui suit la voie glycolytique, déshydrogénation du glucose, donnant du lactate et de l'acétylphosphate, ce dernier étant

réduit en éthanol. Du dioxyde de carbone, de l'éthanol ou de l'acétate étant produit en plus de l'acide lactique, cette fermentation est appelée acide isolactique (**Djellouli, 2018**).

### **III.6.3. La lipolyse**

Les enzymes produites par les bactéries lactiques sont très importantes dans l'industrie alimentaire. La lipolyse joue un rôle crucial dans l'affinage du fromage, où les acides gras sont convertis en méthylcétones, lactones et thioesters, qui, en plus des acides gras, contribuent à la saveur du produit fermenté (**Ouali, 2010**). Bien que les bactéries lactiques possèdent une grande variété d'enzymes lipolytiques capables d'hydrolyser divers substrats d'esters d'acides gras, de triacylglycérols, de diacylglycérols et de monoacylglycérols, elles sont généralement considérées comme des enzymes lipolytiques faibles (**Belhamra, 2017**).

### **III.7. Bactéries lactiques et plomb**

Les bactéries ont utilisé de nombreux mécanismes pour tolérer ou résister aux composés du plomb (Pb). Restreindre le mouvement des métaux à travers les parois cellulaires est un mécanisme utilisé par les bactéries pour prévenir l'empoisonnement. La paroi cellulaire est une barrière aux ions plomb. Chez les bactéries Gram-positives en particulier, le plomb se lie à la couche de peptidoglycane et aux acides teichoïques présents sur la paroi cellulaire (**Huët et al., 2017**). De plus, les métabolites macromoléculaires produits par LAB possèdent des groupes chargés qui permettent au Pb de se lier et de se séquestrer à la surface cellulaire par des interactions électrostatiques. Les LAB sécrètent des polysaccharides extracellulaires (EPS) dans l'environnement extracellulaire pendant la croissance, qui sont considérés comme des biosorbants pour l'élimination des métaux lourds (**Derong et al., 2017**).

Les lactobacilles et les bifidobactéries peuvent lier le plomb et le cadmium en solution. Ils ont observé une liaison rapide chez les espèces étudiées, avec les plus grandes quantités de plomb et de cadmium immobilisées entre 5 minutes et 1 heure (**Monachese et al., 2012**). La liaison des bactéries lactiques aux métaux lourds dépend de la souche, de la température et du pH. En raison de l'adsorption rapide du Pb des solutions aqueuses, Des mécanismes de liaison passive des ions métalliques aux surfaces bactériennes plutôt que l'accumulation dans les cellules ont été proposés ; la liaison de Lb au Cd et au Pb implique plusieurs mécanismes réversibles tels que l'échange d'ions et la précipitation (**Kirillova et al., 2017**).

### **III.8 Activité antioxydante des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques ont de puissantes propriétés antioxydantes qui peuvent maintenir un équilibre normal dans le corps, et peuvent également protéger le corps contre le

vieillesse, l'inflammation et même le cancer, réduire le cholestérol sérique et plusieurs autres troubles de santé (**Ding et al., 2017**).

Le système antioxydant des probiotiques est diversifié, y compris la production et la sécrétion d'enzymes telles que la SOD, la CAT et la glutathion peroxydase (GSHPx), et favorise également la production d'antioxydants non enzymatiques tels que le glutathion (GSH), le glutathion (GSH) joue un rôle majeur dans la régulation du redox, du tocophérol (vitamine E), de l'acide ascorbique (vitamine C), et de certaines biomolécules connues pour leurs effets antioxydants, comme l'EPS (**Coşkun et al, 2010; Afify et al., 2012**). La réponse antioxydante des bactéries lactiques a divers mécanismes, notamment la prévention de la formation de radicaux libres, le piégeage des radicaux libres capacité réductrice, activité de chélation des ions métalliques (**Abubakr et al., 2012 ; Ding et al., 2017**).

### **III.9 Le pouvoir antioxydant des Exopolysaccharides des bactéries lactiques**

La production d'EPS par les bactéries lactiques serait l'un des mécanismes par lesquels ces bactéries exercent leurs activités bénéfiques, notamment l'activité antioxydante (**Lopez et al., 2012 ; Hidalgo-Cantabrana et al., 2014 ; Tahoun et al., 2017**). Ce mécanisme élimine les substances réactives formées dans l'intestin, ces EPS jouent donc un rôle important dans le stress anti-oxydant. L'un de ces mécanismes est le piégeage des radicaux libres (**Li et al., 2014**).

En tant qu'oxydants nocifs, les radicaux libres hydroxyles et peroxyde peuvent causer des dommages oxydatifs aux biomolécules et sont à l'origine de nombreuses maladies humaines. L'effet antioxydant de l'EPS peut être dû à sa capacité à capter ces radicaux libres en libérant des hydrogènes actifs des fonctions hydroxyles de l'EPS ou par leur association avec ces derniers, aboutissant à des formes stables (**Pan et al., 2010 ; Li et al., 2014**).

Par conséquent, l'activité de chélation des métaux est considérée comme une propriété antioxydante de l'EPS pour exercer sa capacité antioxydante (**Li et al., 2014 ; Trabelsi et al., 2017**). Le fer (Fe<sup>+2</sup>) et le cuivre (Cu<sup>+2</sup>) sont parmi les espèces métalliques les plus efficaces connues comme pro-oxydants et jouent un rôle important dans la catalyse des réactions d'oxydation (**Wang et al., 2017**).

# Etude expérimentale



## **I. Matériel et méthodes**

L'ensemble de notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel, durant la période du Mai-Juin 2022.

### **I.1. Objectif**

Ce travail vise à étudier l'effet toxique du plomb sur quelques souches de bactéries lactiques isolées à partir du blé dur fermenté, via l'évaluation de son effet sur leurs capacités antioxydants.

Pour cela nous avons réalisé les tests suivants :

- Test de résistance au plomb ;
- Test de résistance au peroxyde d'hydrogène en présence du plomb ;
- Dosage de la teneur totale en polyphénols ;
- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en présence du plomb ;
- Capacité de piégeage de l'anion superoxyde en présence du plomb ;
- Etude du pouvoir réducteur en présence du plomb ;
- Etude de la capacité de fixer le plomb.

### **I.2. Matériel**

#### **I.2.1. Matériel biologique**

Des échantillons du blé fermenté traditionnellement ont été utilisés pour l'isolement de bactéries lactiques. En bref ; des solutions mères et des dilutions décimales ont été préparées en utilisant l'eau physiologique stérile. A partir de la dilution  $10^{-3}$  des boîtes de Pétri contenant la gélose MRS préalablement coulée et solidifiée ont étéensemencées. L'incubation a été faite à 37 °C pendant 24 heures. 10 % des colonies obtenues dans chaque boîte de Pétri ont été prélevésensemencés dans le bouillon MRS, les isolats font ensuite l'objet pour la coloration de Gram et le test de catalase. Tous les isolats sont Gram +, catalase – (tableau 1).

#### **I.2.2. Produits chimiques et milieux de culture**

Pour notre étude expérimentale, divers produits chimiques ont été utilisés ; Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ; Folin-Ciocalteu ; Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) ; pyrogallol ; Ferricyanure de potassium ; Acide trichloracétique (TCA) ; Trichlorure de fer ; Acide gallique (AG), Acide ascorbique (AA) ; Tampon Phosphate Buffer Saline (PBS) à pH 6.6 ; Tampon

Tris-HCL à pH 8.2 ; Le milieu de culture Man-Rogosa et Sharp (MRS) bouillon.

**Tableau. 1.** Résultats de la recherche de catalase et de la coloration de Gram des bactéries lactiques étudiées

<b>Isolat</b>	<b>Test de catalase</b>	<b>Coloration de Gram</b>
LB1 à LB7	-	Cocci +
LB8	-	Bacille +
LB9	-	Cocci +
LB10	-	Bacille +
LB11 à LB14	-	Cocci +
LB15-LB16	-	Bacille +

Les bactéries lactiques isolées sont par la suite conservé dans du MRS bouillon à 30 % du glycérol à une température de – 20 °C.

### **I.2.3. Appareillages**

Les appareils utilisés dans les différentes étapes de notre travail sont : étuve de 37°C (MEMMERT) ; autoclave ; réfrigérateur (ENIEM) ; balance (SARTORIUS) ; pH-mètre (HANNA) ; bain Marie (Gerhardt) ; plaque chauffante ; centrifugeuse (Hettich) ; Spectrophotomètre (Specord 50 plus).

## **I.3. Méthodes**

### **I.3.1. Repiquage et réactivation des souches lactiques**

Les 16 souches de bactéries lactiques préalablement isolées du blé fermenté traditionnellement, conservées dans le milieu liquide MRS à 30 % glycérol à une température de -20 °C, sont réactivées et repiquées dans le milieu MRS (bouillon et gélose) et conservées au réfrigérateur jusqu'au moment de réalisation des différents tests.

### **I.3.2. Préparation de la solution mère du plomb et traitement des souches**

Les souches lactiques sont standardisées par spectrophotomètre à 600 nm, ensuite elles sont traitées par 100 mg/L du plomb (annexe 2). L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 heures.

### **I.3.3. Préparation des cellules intactes**

Pour chaque analyse, 0,5 ml de la souche lactique traitée ou non par le plomb ont été

transférés dans des tubes Eppendorf et centrifugés à 13 000 tr/min pendant 15 min. Après la centrifugation, le culot suspendu dans 1 ml de la solution saline tamponnée au phosphate (PBS) a été utilisé pour la réalisation des différents tests. Tandis que le surnageant obtenu a été utilisé pour le dosage des polyphénols (**Duz et al., 2020**).

### I.3.4. Résistance des bactéries lactiques au plomb

Les souches lactiques isolées du blé fermenté traditionnellement ont étéensemencées dans le milieu MRS à 100 mg/L du plomb. Elles ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation la densité optique à une longueur d'onde de 600 nm a été enregistrée.

Après ce test, 04 souches lactiques présentant le taux de survie et de résistance le plus élevé ont été sélectionnées pour la suite des autres tests (**Kirillova et al., 2017**).

### I.3.5. Effet du plomb sur la résistance des bactéries lactiques au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

#### ➤ Principe

C'est l'une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité de résistance des bactéries lactique au peroxyde d'hydrogène. Certaines bactéries lactiques produisent en milieu humide du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui inhibe de nombreuses souches bactériennes pathogènes (**Ouwehand et Vesterlund, 2004**). Cette méthode consiste à incuber les souches lactiques dans un milieu contenant des concentrations différentes en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puis déterminer le pourcentage de survie.

#### ➤ Mode opératoire

La résistance des souches lactiques à H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence et en absence du plomb, a été déterminée comme décrit par (**Li et al., 2012**), avec quelques modifications. Les cultures d'une nuit des souches lactiques ont été inoculées à 2 % dans du MRS à la fois comme groupe témoin (bouillon MRS), dans du bouillon MRS contenant 0,5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et dans le milieu MRS contenant à la fois 0.5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 100 mg/L du plomb. Le groupe témoin et les groupes échantillon ont été incubés à 37 °C pendant 8 heures. La croissance des souches lactiques dans chaque cas a été mesurée en double en utilisant le spectrophotomètre à la longueur d'onde 600 nm.

On calcule la survie en % des souches endommagées par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et/ou Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> comme suit :

$$\text{La survie en \%} = (A_e / A_t) \times 100$$

**Ae** : L'absorbance de l'échantillon.

**At** : l'absorbance de témoin.

### **I.3.6. Dosage des polyphénols des bactéries lactiques**

#### **➤ Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMoO_{12}O_{40}$ ) du réactif du Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{28}$ ) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques contenus dans l'extrait (**Boizot et Charpentier, 2006**).

#### **➤ Mode opératoire**

Une aliquote (1 ml) de surnageant de la souche lactique préparé précédemment, traitée ou non par 100 mg/L du plomb, a été introduite dans un tube à essai avec 5 ml de la solution  $Na_2CO_3$  0,5 M et a été mélangé brièvement avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. La solution a été agitée et laissée au repos pendant 30 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 725 nm et les données ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique de polyphénols (EAG)/g (**Livinska et al., 2016**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique.

### **I.3.7. Effet du plomb sur l'activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)**

#### **➤ Principe**

La méthode de piégeage des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est couramment utilisée dans les études d'activité antioxydante en raison de sa facilité, rapidité, sensibilité et reproductibilité par rapport aux autres méthodes (**Kouassi, 2017**). L'activité antioxydant augmente proportionnellement à la suppression de couleur pourpre formé lorsque le radical DPPH a été ajouté au milieu (**Atoui et al., 2005**).

Le DPPH est un radical libre stable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène, il devient stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un atome d'hydrogène. La réduction de DPPH est déterminée par le changement de couleur du violet vers le jaune.

### ➤ Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été déterminée selon la procédure de (Li et al., 2012) 1 ml de la solution fraîche de DPPH (0,05 mM, dans de l'éthanol) a été ajouté aux échantillons des cellules intactes (traitées ou non par le plomb) préparés avec une suspension dans 1 ml de PBS dans des tubes Eppendorf. Les échantillons ont été conservés dans l'obscurité et à température ambiante pendant 1 heure. Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 13000 tr/min pendant 10 minutes et le pourcentage de piégeage du radicale DPPH a été mesuré en déterminant l'absorbance des surnageants par spectrophotométrie à 517 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

L'activité de piégeage radicalaire DPPH (%) des souches est calculée comme suit :

$$\text{Activité de piégeage (\%)} = [1 - (A_e - A_b) / A_t] \times 100$$

**A<sub>e</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

**A<sub>b</sub>** : Absorbance du blanc.

**A<sub>t</sub>** : Absorbance de témoin.

### I.3.8. Effet du plomb sur l'activité de piégeage des radicaux anions superoxydes

#### ➤ Principe

Le pyrogallol est un tri-hydroxy-phénol. En milieu acide, cette molécule est stable. Mais lorsqu'elle est placée en milieu basique (pH > 7), elle se dégrade. Elle produit alors des anions superoxydes qui vont oxyder le pyrogallol. On parle d'auto-oxydation du pyrogallol (Kullisaar et al., 2002). Le test au pyrogallol est utilisé en routine, en raison de son faible coût et de sa facilité de mise en œuvre, pour tester des produits antioxydants, et plus particulièrement anti-anions superoxydes (Li et al., 2012).

#### ➤ Mode opératoire

L'analyse de l'activité de piégeage des radicaux anions superoxyde (O<sup>2-</sup>) a été réalisée par spectrophotométrie avec une méthode améliorée d'auto-oxydation au pyrogallol (Wu et al., 2014). Le radical anion superoxyde a été produit avec des systèmes d'auto-oxydation au pyrogallol (1, 2, 3-benzentriol) dans des conditions alcalines. Initialement, 0,1 ml de la souche lactique (traitée ou non par le plomb), ajustée à la concentration McFarland 5, a été ajouté à

4,5 ml de solution de Tris-HCl (0,05 M, pH 8,2) et le mélange réactionnel a été incubé pendant 20 minutes dans un bain Marie à 25 °C. Ensuite, 0,4 ml de pyrogallol (0,25 M, préchauffé à 25 °C) a été ajouté et le mélange a été incubé à 25 °C pendant 4 minutes. 0,1 ml de HCl (8M) a été ajouté pour arrêter la réaction.

L'absorbance a été mesurée à 320 nm. Le contrôle comprenait une quantité égale de tampon Tris-HCl 0,05 M (pH 8,2) pour remplacer l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

L'activité de piégeage du radical anion superoxyde est calculée comme suit :

$$\text{Piégeage de l'anion superoxyde \%} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

**Ae** : Absorbance de l'échantillon

**At** : Absorbance du témoin



### I.3.9. Effet du plomb sur le pouvoir réducteur des bactéries lactiques

#### ➤ Principe

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance, et présente souvent un profil comparable à celui des teneurs en substances anti-oxydantes dont la nature et la concentration modulent le pouvoir réducteur (Arasu et al., 2016). Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols présents dans nos échantillons (les bactéries lactiques) à réduire le complexe ferrique ( $Fe^{3+}$ ) de couleur jaune en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) de couleur bleu verdâtre, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur.

#### ➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été mesuré selon la technique décrite par (Bae et al., 2016) avec quelques modifications. 0,5 ml de la souche lactique (traitée ou non par le plomb) a été mélangé avec 0,5 ml de la solution saline tamponnée au phosphate (PBS, 0,2 M ; pH 6,6) et 0,5 ml de solution de ferricyanure de potassium (1%, P/V). Le mélange a été incubé dans un bain Marie à 50 °C pendant 20 min, rapidement refroidi à température ambiante, et une solution d'acide trichloroacétique (10 %, P/V) a ensuite été ajoutée. Après centrifugation à

1399 × g pendant 5 min, une aliquote du surnageant (1 mL) a été mélangée avec 1 mL d'eau distillée et 0,2 mL de solution de trichlorure ferrique (0,1 %, P/V). L'absorbance du mélange a été mesurée à 700 nm ( $A_e$ ) par rapport à un blanc avec du PBS remplaçant l'échantillon ( $A_b$ ).

Le pourcentage de pouvoir réducteur est calculé comme suit :

$$\text{Le pouvoir réducteur (\%)} = (A_e - A_b) / A_b \times 100$$

**$A_e$**  : Absorbance de l'échantillon

**$A_b$**  : Absorbance du blanc.

### **I.3.10. Caractérisation de la capacité des bactéries lactiques à fixer le plomb**

Ce test consiste à traiter les souches lactiques étudiées par 100 mg/L du plomb. Après incubation à 37 °C, chaque souche lactique est transférée dans un eppendorf puis centrifugée à 13 000 tr/min pendant 15 min. Le surnageant est injecté dans l'appareil de la spectrométrie d'absorption atomique (SAA). La concentration en plomb dans le surnageant a été déterminée à partir de T0 jusqu'à 72 heures.

### **I.3.11. Analyse statistique**

Les résultats sont présentés comme une moyenne ± écart type, le calcul de la moyenne et de l'écart type sont réalisés avec Microsoft Excel 2010. L'effet significatif a été évalué par le test « ANOVA » qui permet la comparaison des moyennes ; celui-ci a été effectué avec le logiciel « SPSS.22 ». Les résultats sont jugés statistiquement différents avec un seuil de signification supérieur à 95 % lorsque «  $P < 0.05$  ».

## **II. Résultats et discussion**

### **II.1. Résistance des isolats lactiques au plomb**

Les résultats de la résistance des différents isolats lactiques au plomb sont montrés dans le tableau suivant :

**Tableau 2.** Taux de survie des souches de bactéries lactiques dans le milieu MRS contenant 100 mg/g du plomb.

Souches	Résistance au plomb à 100 mg/L (%)
BL1	96.30 ± 3.78
BL2	88.38 ± 4.50
BL3	92.11 ± 3.87
BL4	88,03 ± 3.26
BL5	97.735 ± 5.09
BL6	94.355 ± 4.06
BL7	93.16 ± 4.75
BL8	96.085 ± 0.81
BL9*	70.07 ± 9.46
BL10***	99.645 ± 0.82
BL11	88.88 ± 0.31
BL12	91.49 ± 2.90
BL13	91.85 ± 5.87
BL14	82.99 ± 1.44
BL15	78.71 ± 4.46
BL16	94.3 ± 2.68

Nous avons remarqué une différence hautement significative dans les résultats de résistance des souches lactiques étudiées au plomb (à 100 mg/L). Selon le tableau, toutes les souches lactiques étudiées ont la capacité de résister au plomb, car le pourcentage de résistance est très élevé (au-delà de 70 %). Ce pourcentage variait entre 70.07 ± 9.46 % et 99.645 ± 0.82 %.

Selon les résultats, on observe que les 04 souches codées BL1, BL5, BL8 et BL10 sont les plus résistantes avec des pourcentages de 96.30 ± 3.78 %, 97.735 ± 5.09 %, 96.085 ± 0.81 % et 99.645 ± 0.82 % respectivement.

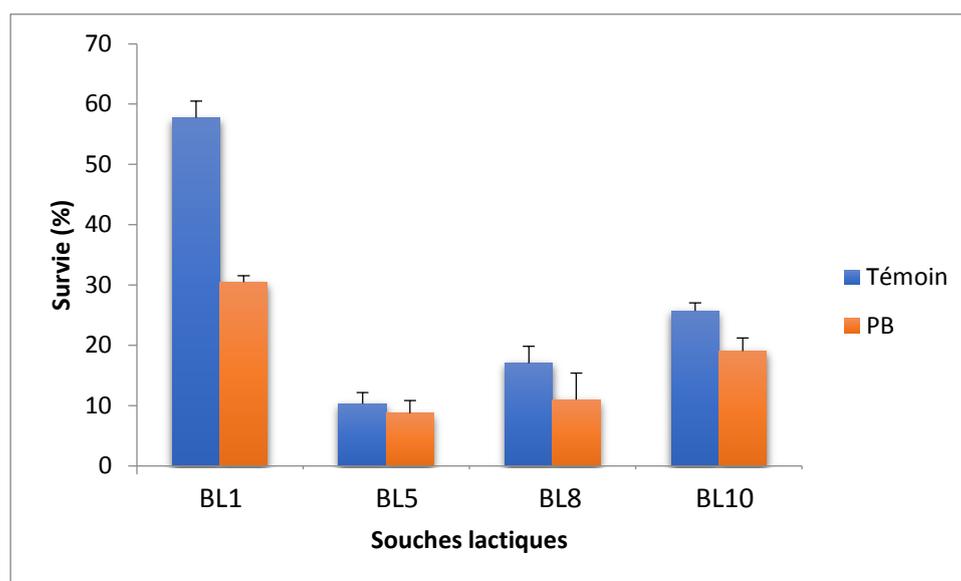
Une étude similaire menée par **Halttunen et al.**, en 2007 a révélé que certaines bactéries lactiques telles que : *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium longum* 2C, *Bifidobacterium longum* 46 et *Bifidobacterium lactis* Bb12 présentaient une tolérance à 50 mg/l de plomb.

D'autres études ont également rapporté que plusieurs souches de *Lactobacillus* : *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus rhamnosus* LC705, *Lactobacillus johnsonii* Lj1, *Lactobacillus casei* Shirota et *Lactobacillus fermentum* ME3 avec liaison *Lactobacillus amylinum*, *Lactobacillus reuteri* L. *dextrinicus* et *L. dextrinicus* isolés de boue contaminée au plomb et des échantillons de boues ont été identifiés comme des souches probiotiques piégeant le plomb (Kirillova et al., 2017).

Les 04 souches BL1, BL5, BL8 et BL10 ont été retenues pour la suite de la partie expérimentale.

### II.2. Effet du plomb sur la résistance des isolats lactiques au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0.5 mM)

Les résultats de la résistance des bactéries lactiques étudiées traitées ou non par du plomb (100 mg/L) au peroxyde d'hydrogène (0.5 mM) sont présentés dans la figure suivante :



**Figure 3.** Effet du plomb sur la résistance des bactéries lactiques au peroxyde d'hydrogène (0.5 mM).

D'après la figure 3 ci-dessus, nous avons remarqué une différence significative dans les résultats de résistance des souches lactiques étudiées au peroxyde d'hydrogène (à 0,5 mM).

Les quatre souches lactiques étudiées ont la capacité de résister au peroxyde d'hydrogène. Lorsque les souches étaient exposées à 0,5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, les taux de survie variaient entre 8,70 ± 2,12 % et 57,72 ± 2,78 %.

La souche BL5 présente le taux le plus faible avec un pourcentage de 8,70 % alors que la souche BL1 présente le taux de survie le plus élevé (57,72 %). Une concentration de 100 mg/L du plomb a diminué significativement le taux de survie des bactéries lactiques. On remarque la souche codée BL 5 tolère le maximum le plomb et cela comparativement avec les autres souches.

Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant qui peut pénétrer la membrane cellulaire et causer des dommages par la suite (Mishra et al., 2015). Dans les conditions d'aérobiose (Horvath et al., 2009). En général, les bactéries lactiques sont capables de transformer l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) en superoxyde excité ( $O_2^-$ ), en peroxyde ( $H_2O_2$ ) ou en eau ( $H_2O$ ). Ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques généralement en présence d'un substrat à oxyder. Ces enzymes ont été trouvées chez des souches de *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*. L'effet antimicrobien de  $H_2O_2$  peut résulter de l'oxydation des groupes sulfhydryliques causant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes, et de la peroxydation des lipides de membrane ; de ce fait provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane (Kong et Davison, 1980).

Chez les organismes aérobies, la production d'une grande quantité d'ERO, et la génération du stress oxydatif qui en découle, sont parmi les aspects les plus connus et les plus précoces de la toxicité des éléments traces métalliques (ETM). Cette génération d'ERO induite par les métaux a été particulièrement étudiée chez l'homme en raison du potentiel génotoxique et cancérigène de ces ERO (Stohs et al., 1995). Chez les organismes vivants, le traitement avec du plomb, induit une augmentation de la production d' $H_2O_2$  et d' $O_2^-$ .- (Huang et al., 2008).

Sur les bactéries, il est possible d'estimer indirectement le niveau de production d'ERO et du stress oxydant généré, en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes, ou le taux de peroxydation lipidique, qui sont des biomarqueurs du stress oxydatif (Mishra et Choudhuri, 1999).

### II.3. Dosage de la teneur totale en polyphénols

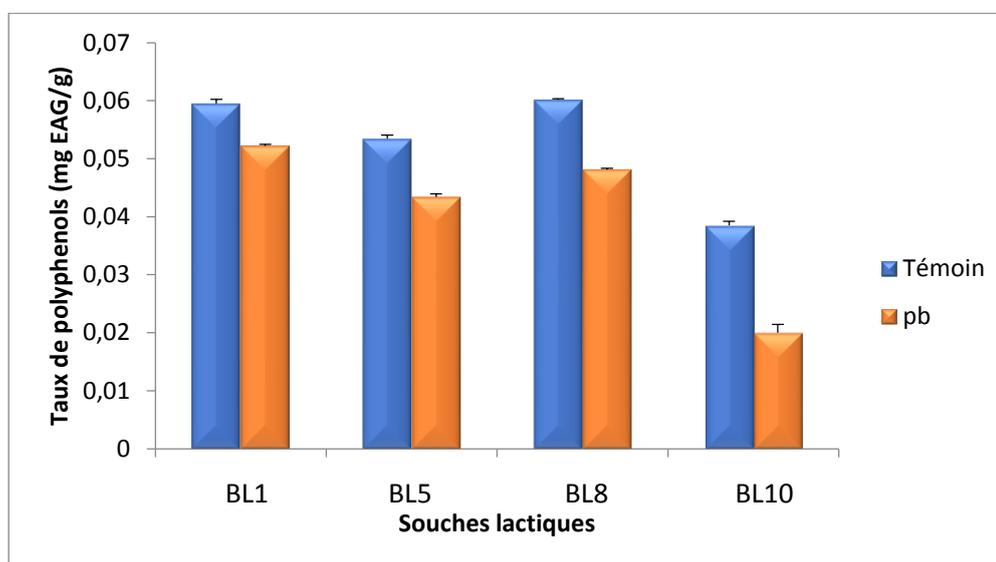
Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, généralement de haut poids moléculaire, ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils ont des propriétés antioxydants, et en particulier la classe des flavonoïdes (Hervert-Hernandez et Goñi, 2011).

Les polyphénols peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton) ou par inhibition de l'activité

de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (Rira, 2006).

La teneur des polyphénols totaux a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont montrés dans la figure (4).

D'après la figure, les quatre souches de bactéries lactiques produisent des substances phénoliques avec des taux qui variaient entre  $0.0385 \pm 0,02$  et  $0.602 \pm 0,04$  mg EAG/g, ces taux varient d'une manière très hautement significative ( $P < 0.001$ ). Les deux souches codées BL1 et BL8 présentent les taux les plus élevés en polyphénols. Alors que la souche codée BL10 produit le taux le plus faible en ces composés bioactifs.



**Figure 4.** Concentration en polyphénols des souches lactiques.

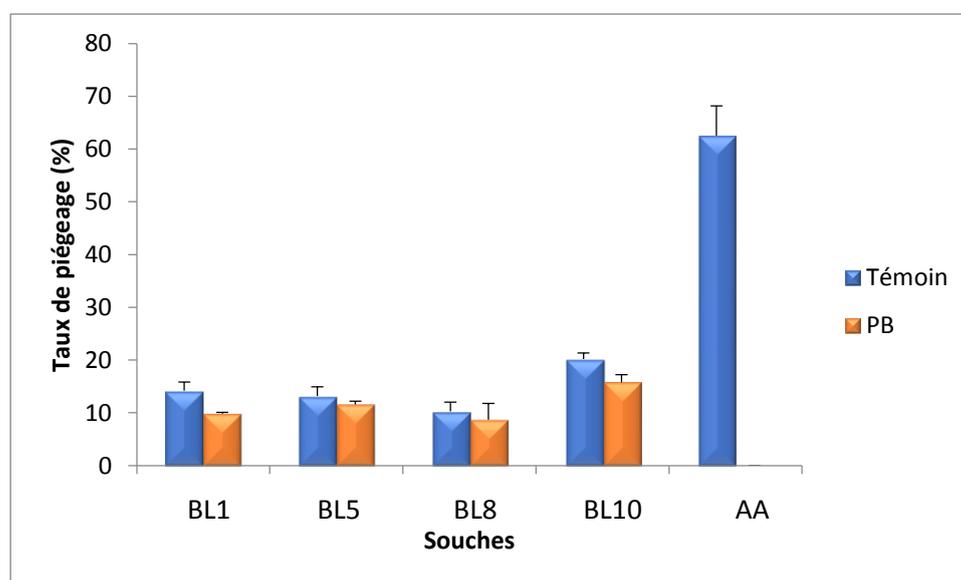
Toutes les souches lactiques reconnaissent une diminution ( $p < 0.001$ ) dans leur production de polyphénols après traitement au plomb, mais cette diminution est faible dans les trois souches codées BL1, BL5 et BL8 et relativement élevée dans la souche BL10 (par un facteur de 1.92).

#### II.4. Piégeage de l'anion superoxyde

L'anion superoxyde est produit en grande quantité par les phagocytes pour tuer les pathogènes invasifs (Fridovich et Editorial, 1974). Il est produit aussi en quantité plus modeste par la respiration mitochondriale. D'autres sources biologiques directes et indirectes du superoxyde ont aussi été identifiées : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la synthèse de l'oxyde nitrique endothéliale et des isoformes du cytochrome p450 monooxygénase. L'anion superoxyde est capable d'activer les voies dépendantes des tyrosines kinases qui sont aussi

utilisées pour la signalisation des récepteurs des facteurs de croissance (**Wu et Champlain, 1999**).

Le taux de piégeage de l'anion superoxyde par les 04 isolats lactiques varie significativement ( $p < 0.05$ ). Ils varient entre  $9,82 \pm 0,24$  et  $20,16 \pm 1,13$  %. Les résultats sont démontrés dans la figure (5). Ces résultats de piégeage sont très proches au sein des 04 souches mais il semblait que la souche codée LB10 était la plus efficace (.....%) par rapport aux autres. De plus, comparativement à la vitamine C, les 04 souches sont moins efficaces, car les pourcentages de piégeage de l'anion superoxyde varient entre 9.82 et 20.16 % (contre 60 % environ, pour la vitamine C).



**Figure 5.** Taux de piégeage de l'anion superoxyde des souches lactiques étudiées. AA : acide ascorbique.

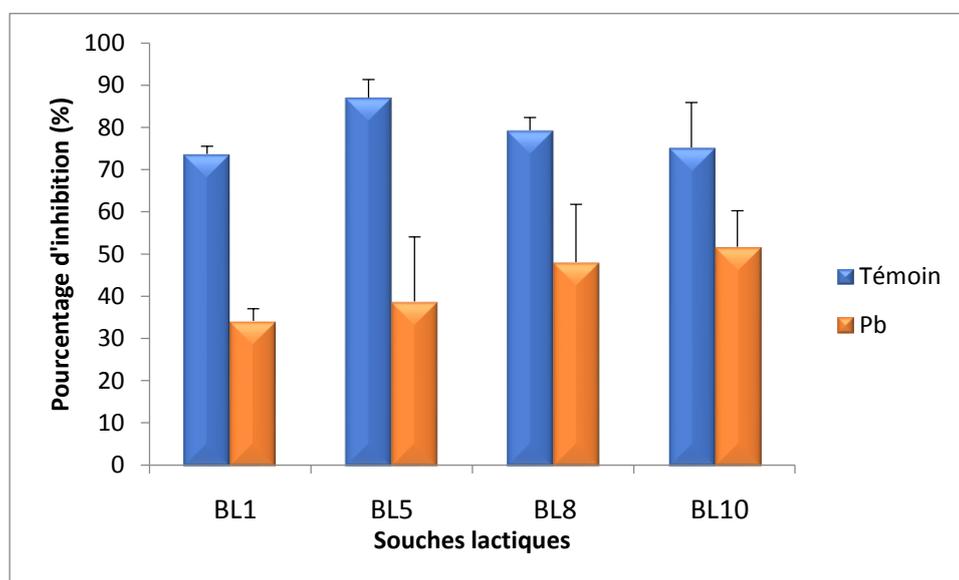
D'autre part le plomb (à 100 mg/L) a diminué significativement les capacités des souches lactiques à piéger l'anion superoxyde ( $p = 0.05$ ). D'après la figure, il semblait aussi que la souche codée BL5 est la plus résistante à l'effet du plomb. D'après ces résultats obtenus, on constate que le plomb a un effet inhibiteur sur le taux de piégeage du radical anion super oxyde.

Selon **Haber et Wi11stifter (1931)**, l'équipe de **Fridovich** est par contre la première à souligner la toxicité *in vivo* de ce radical. L'anion superoxyde a une durée de vie relativement courte et est converti assez rapidement en différent produits (**Beauchamp, Fridovich et al., 1970**) , entre autres le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle qui est un des radicaux

les plus réactif que l'on retrouve dans les cellules vivantes et est capable de réagir avec n'importe quelle molécule particulièrement les lipides (McCord et Fridovich, 1969). Un autre effet toxique du superoxyde est relié à sa capacité d'inactiver les noyaux fer-soufre d'enzymes ce qui a pour effet de libérer du fer libre dans la cellule (Gardner et Fridovich, 1991). Le fer libre favorise la formation du radical hydroxyle à partir du peroxyde d'hydrogène. Il est également toxique pour la cellule et peut même causer des dommages oxydatifs sans l'intervention du peroxyde, du radical hydroxyle ou de l'anion superoxyde (Pederson et Aust, 1975).

### II.5. Effet du plomb sur la capacité des bactéries lactiques à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Les résultats de piégeage du radical DPPH par les souches lactiques sont présentés dans la figure (6). Ces résultats varient significativement ( $p = 0.013$ ). Selon cette figure, les quatre souches lactiques étudiées présentaient des pourcentages d'inhibition très intéressants qui variaient entre  $73,71 \pm 1,83 \%$  et  $87,06 \pm 4,26 \%$ . Ces résultats sont très proches au sein des 04 souches. En plus, ces dernières sont sensibles au plomb, car une diminution significative dans le pourcentage d'inhibition a été constatée ( $p < 0.05$ ).



**Figure 6.** Résultats de piégeage du radical DPPH par les quatre souches de bactéries lactiques. BL2, BL12, BL21 et BL23 : les souches lactiques étudiées.

Selon la figure 6, la souche BL5 reconnaît une forte diminution dans le pourcentage d'inhibition du radical DPPH après traitement au plomb présentée par un facteur de 1.96.

Plusieurs études ont démontré que les bactéries lactiques présentent des activités antioxydantes très intéressantes (Nakagawa et Miyazaki, 2017). En effet, les lactobacilles sont capables de diminuer les risques causés par les espèces réactives de l'oxygène (Kaizu et al., 1993).

D'après ces résultats obtenus on constate que le plomb a un effet inhibiteur sur le taux de piégeage du radical DPPH. En effet, les bactéries lactiques sont des anaérobies facultatives, l'oxygène représente un stress pour elles, et l'exposition au plomb conduit à une diminution du taux de piégeage du radical libre DPPH donc une augmentation des radicaux libres (oxydation des molécules) qui sont des atomes ou molécules portant un électron célibataire, capables de déstabiliser d'autres molécules et ainsi de suite, et à la fin causer un déséquilibre dans la balance métabolique (Laguerre, 2008). On constate que le plomb à un effet inhibiteur sur l'activité antioxydant des bactéries lactiques (Smirnov, 2005).

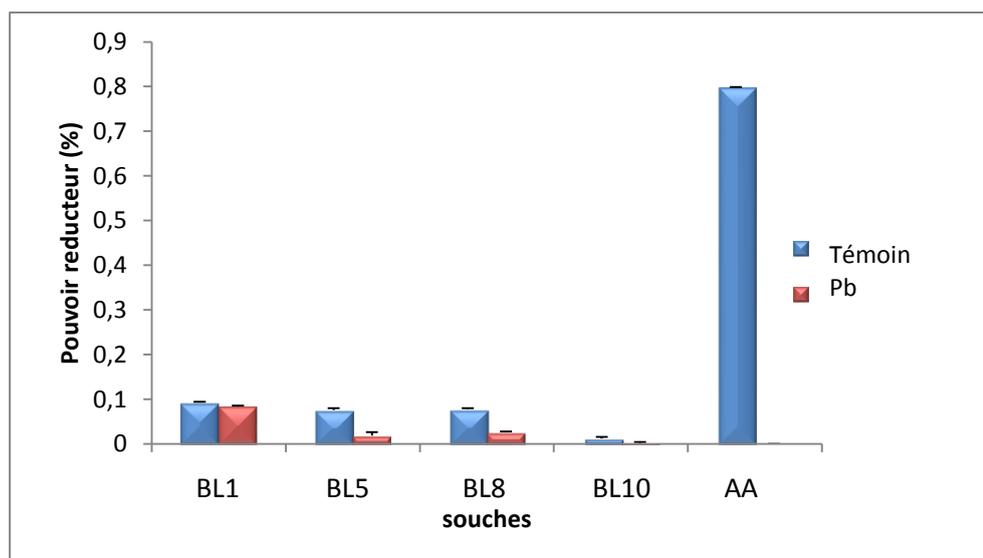
### **II.6. Effet du plomb sur le pouvoir réducteur des bactéries lactiques**

Les résultats du pouvoir réducteur des souches lactiques étudiés sont présentés dans la figure 7 suivante.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les 04 souches lactiques présentaient un pouvoir réducteur faible en comparaison avec l'acide ascorbique. Cette capacité antioxydante a été aussi touchée en traitant les souches par 100 mg/g du plomb, ce qui provoque une diminution importante dans le pouvoir réducteur des souches. La souche codée BL1 est moins influencée par la toxicité de ce métal ce qui prouve que cette dernière est capable de synthétiser des substances antioxydantes spécifiques en grande quantité.

Cette diminution c'est à l'origine d'un stress oxydatif qui déséquilibre la balance métabolique par une action sur les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , radical hydroxyl  $OH^{\bullet}$ , monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$  ces derniers se manifeste par une diminution des défenses antioxydantes (Favier, 2003).

On constate que le plomb à un effet inhibiteur sur l'activité antioxydant des bactéries lactiques (Smirnov, 2005).



**Figure 7.** Résultats du pouvoir réducteur des souches lactiques étudiées. AA : acide ascorbique.

Plusieurs études ont été menées pour étudier les propriétés antioxydantes des bactéries lactiques *in vivo* et *in vitro*. Des études ont montré que les maladies inflammatoires de l'intestin causent une diminution de GSH dont une supplémentation a donné des effets bénéfiques (Coşkun et al., 2010 ; Kullisaar et al., 2012 ). *Lactobacillus spp* est parmi les espèces les plus importantes du microbiote humain dont certains lactobacilles possèdent une activité antioxydante pouvant atténuer le risque d'accumulation des ERO comme le peroxyde d'hydrogène, le radical superoxyde et les radicaux hydroxyles qui réduit le risque de mutations et de carcinomes (Kullisaar et al., 2002).

### II.7. Caractérisation de la capacité des bactéries lactiques à fixer le plomb

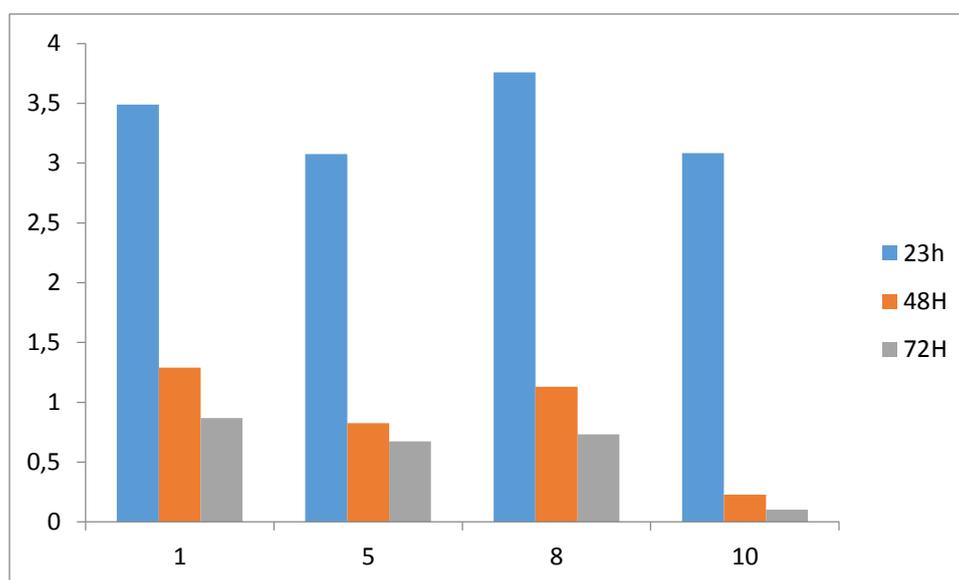
La spectrométrie d'absorption atomique est connue comme l'une des techniques d'analyse fiable, efficace et capable de doser des traces de métaux lourds avec une précision et une sensibilité de dosage de l'ordre du ppm et du ppb.

D'après plusieurs études menées par des chercheurs à travers le monde entier, ils ont prouvé que la SAA couvre un vaste éventail d'applications (analyse des eaux, des tissus végétaux et animaux, des aliments et boissons, des sols, engrais et sédiments, des liquides biologiques, des produits industriels (ciments, verres, métaux, produits pétroliers...). Sa popularité est due aux avantages offerts par cette technique, un coût relativement faible, une fiabilité, une sensibilité, une reproductibilité, une efficacité et en particulier des faibles quantités d'échantillons requises.

Les résultats de la capacité des souches lactiques sélectionnées à lier le plomb sont présentés dans la figure 8.

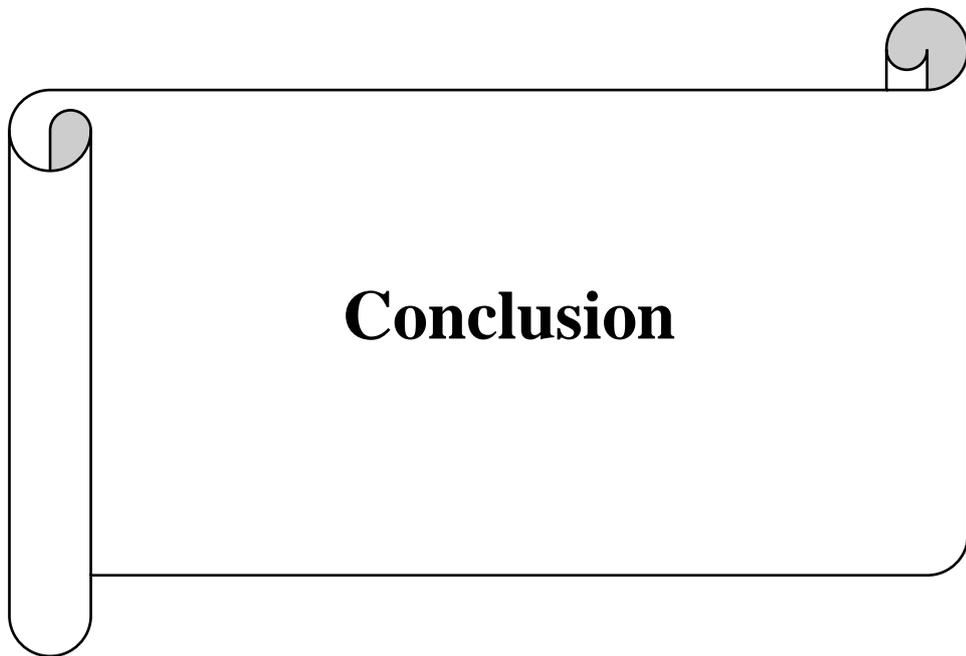
D'après la figure 8 on remarque que la diminution de la concentration du plomb durent 72h de l'expérience, la concentration de plomb dans les premières 24H variait entre 3.7575 et 3.0835 ppm, elle est plus élevée dans le milieu, elle diminue dans 48h entre 1.289 et 0.20 ppm, dans 72h la concentration diminue entre 0.8678 et 0.1011 ppm.

D'autre part, toutes les 04 souches ont la capacité de fixer le plomb car sa concentration dans le surnageant diminue avec le temps. Cette capacité de fixation est très proche au sein des souches.



**Figure 8 :** Résultats de la capacité des souches lactiques à fixer le plomb

Notre étude détermine le rôle important des bactéries lactiques dans l'activité antioxydante et la bioaccumulation du plomb dans le milieu. Il existe différents mécanismes de réactions des antioxydants des bactéries lactiques, y compris la prévention de la formation des radicaux libres, piégeage des radicaux libres, capacité réductrice, activité de chélation des ions métalliques (Abubakr, 2012).



Dans ce travail nous avons étudié la toxicité du plomb sur quelques souches de bactéries lactiques isolées du blé fermenté traditionnellement. La toxicité du plomb a été évaluée en étudiant son effet sur les capacités antioxydantes de ces souches.

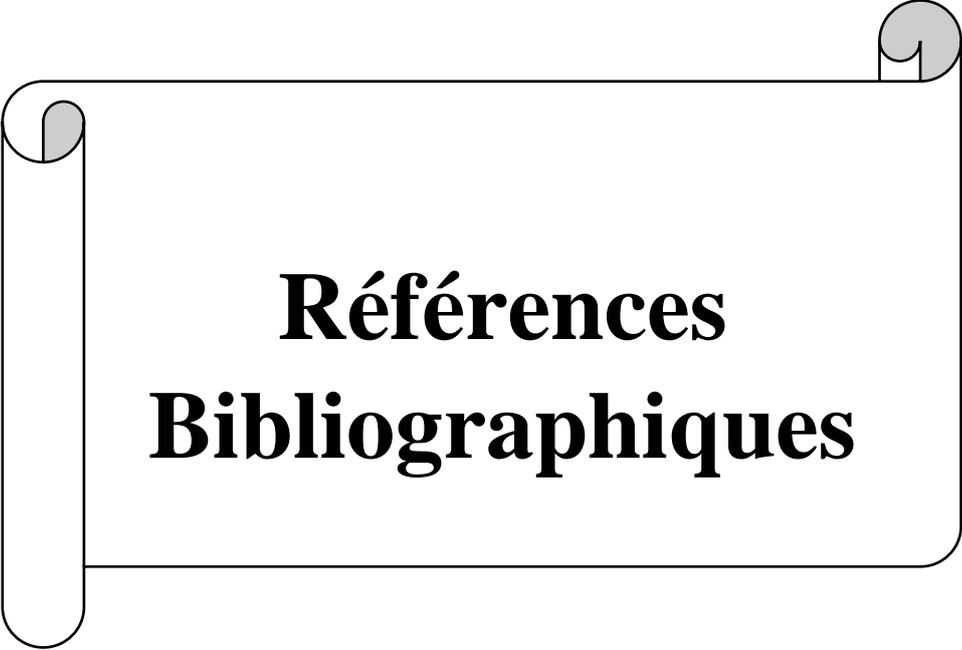
16 souches de bactéries lactiques ont été utilisées, elles ont été traitées par 100 mg/L du plomb, puis 04 souches les plus résistantes ont été utilisées pour la suite des analyses. Par la suite, leurs capacités antioxydantes à savoir la production des polyphénols, la résistance au peroxyde d'hydrogène (0.5 mM), le piégeage du radical DPPH et de l'anion superoxyde, le pouvoir réducteur, ont été évaluées.

Les souches non traitées au plomb présentaient des taux en polyphénols qui variaient entre  $0.0385 \pm 0,02$  et  $0.602 \pm 0,04$  mg EAG/g, alors que celles non traitées présentaient des valeurs qui variaient entre  $0.02 \pm 0.001$  et  $0.0522 \pm 0.0002$ .

De plus, la capacité des souches lactiques à résister au peroxyde d'hydrogène a été diminuée sous l'effet du plomb. Le traitement des souches lactiques par le plomb (à 100 mg/L) a aussi diminué l'activité antioxydante de ces dernières par diminution du pouvoir de piégeage du radical DPPH, de l'anion superoxyde et du pouvoir réducteur.

Les résultats de la spectrométrie d'absorption atomique ont montré que les 04 souches sont capables de fixer le plomb. L'activité antioxydante et la capacité de lier le plomb des bactéries lactiques permettent de les utiliser comme souche bioprotectrice.

En fin, des études complémentaires et plus poussées restent toujours nécessaires pour déterminer plus précisément l'origine du stress oxydant induit par le plomb.



**Références  
Bibliographiques**

**A**

Abubakr, M. A., Hassan, Z., & Imdakim, M. M. A. (2012). Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity (FCA). *African Journal of Microbiology Research*, 6(34), 6358-6364.

Afify, A. E. M. M., Romeilah, R. M., Sultan, S. I., & Hussein, M. M. (2012). Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains. *International Journal of Academic Research*, 4(6), 131-139.

Aibeche, A., & Bellounes, N. (2020). Etude du pouvoir protéolytique des bactéries lactiques, mémoire de master. Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre Département de biologie, 44p.

Andrisic, L., Dudzik, D., Barbas, C., Milkovic, L., Grune, T., & Zarkovic, N. (2018). Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. *Redox Biol.* 14:1.

Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., & Sriganesh, S. (2016). In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(1), 6-10.

Arif, T. J., Mudsser, A., Kehkashan, S., Arif, A., Inho, C., & Qazi, M. R. (2015). Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. *International journal of molecular sciences*, 16, 29592–29630.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*. 89, 27-36.

Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria : classification and physiology. In: Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (eds.). *Lactic Acid Bacteria: microbiology and functional aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.1-66.

**B**

Bachkat, S., & Bensikaddour, H. (2017). Etude phytochimique et activité biologique de mélange (feuilles, fleurs et brindilles) de *thymelaeahirsuta*. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, p16.

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales " arabia et kabyle". *Sciences & Technologie C*, (23), 30-37.

Bae, J. J., Yeon, S. J., Park, W. J., Hong, G. E., & Lee C. H. (2016). Production of sesaminol and antioxidative activity of fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8, *Lactobacillus*

acidophilus ATCC 4356, Streptococcus thermophilus S10. *Food Science and Biotechnology* 25(1):199–204.

Baker, R. D., & Greer, F. R. (2010). Committee on nutrition american academy of pediatrics. diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics*, 126, 1040-1050.

Beauchamp, C., Fridovich, I. (1970). A mechanism for the production of ethylene from methional. The generation of the hydroxyl radical by xanthine oxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 245(18):4641-4646.

Bekhouche, F. (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase, thèse de doctorat. Université de Mentouri Constantine institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro- alimentaires, 149p.

Belhamra, Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires, thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 147p.

Belkhir, K. (2017). Caractérisation technologique de nouvelles souches de bactéries lactiques isolées du lait de chamelle d'Algérie. Réalisation de ferments lactiques, thèse de doctorat. Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella faculté des sciences de la nature et de la vie département de biotechnologie, 198p.

Belkhiri, B., & Bouab, Ch. (2018). Extraction, dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH de la propolis et pollen de l'est algérien. Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, 23p.

Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens, thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, 209p.

Benayoun, B., & Bouchraand, I. (2019). Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante deux extraits des feuilles de Myrtus (Rayhane) de la région de Mila L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, 18p.

Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, 94(2), 12-13.

Brahimi, S. (2015). Isolement et Caractérisation Biotechnologiques des Bactéries Lactiques Isolées à Partir des Margines d'Olives «AMOREDJ » Fermentés, thèse de doctorat. Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella, Faculté de science département de biologie, 203p.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.

Bouchareb, O. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de *matricaria pubescens*. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 16p.

Boudersa, W., & Nekkaa, R. (2017). Étude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté : le yaourt brassé, Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 84p.

Boudghène, S. k. (2014). Evaluation du stress oxydatif chez les patients atteints de psoriasis de la wilaya de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, 23p.

Boudjouref, M. (2018). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*artemisiacampestris* L. Université Ferhat Abbas, Sétif, 20p.

Bouguerra, A. (2021). Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle, thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 141p.

### **C**

Cecchi, M. (2008). Devenir du plomb dans le système sol-plante. Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de doctorat de l'INP, Toulouse : p. 226.

Chandra, P., Sharma, R. K., & Arora, D. S. (2020). Antioxidant Compounds From Microbial Sources : A review.(129), 108849.

Coşkun, Ş., Aslim, B., & Yuksekdağ, Z. N. (2010). Effect of two strains of *Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus* on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine. *Medicinal Chemistry Research*, 19(9), 1082-1091.

Crosnier, J., & Delolme, C., (1994). Influence des micro-organismes sur la mobilité des métaux lourds dans le sol. *Soil Biochem.*41 :1-7.

### **D**

Daoudi, H., & Khelef, C. (2018). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru, thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued, 104p.

Dayem, A. A., Kawser, H. M., Lee, S. B., Kim, K., Kumar, S. S., Yang, G. M., Choi, H. Y., & Cho, S. G. (2017). The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *International Journal Moléculaire Scientic*. 18(1): 2.

Dicks, L., Endo, A. (2014). The Family Lactobacillaceae: Genera Other than Lactobacillus. *The Prokaryotes*. 203–212.

Di Meo, S., Reed, T., Venditti, P., & Manuel, V. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative medicine and cellular longevity* : 1245049.

Ding, W., Wang, L., Zhang, J., Ke, W., Zhou, J., Zhu, J., & Long, R. (2017). Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the Tibetan Plateau. *Journal of Functional Foods*, 35, 481-488.

Djellouli, M. (2018). Production et caractérisation de peptides bioactifs issus de l'hydrolyse des protéines alimentaires par cas de protéines de coproduits marins les protéases des bactéries lactiques. Cas de protéines de coproduits marins, thèse de doctorat. Université Oran 1 Ahmed Ben Bella faculté de science de la nature et de la vie département de biotechnologie, 193p.

Donati, E. R. (2018). Heavy metals in the environment microorganisms and bioremediation. Boca Raton, FL : CRC Press. Argentina, 3-73.

Duan, X., Wen, Z., Shen, H., Shen, M., & Chen, G. (2016). Intracerebral emorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy. *oxidative medicine and cellular longevity*. 17:2.

Düz, M., Nil, Y., Doğan, A., & DoğanI. (2020). Antioxidant activity of Lactobacillus plantarum, Lactobacillus sake and Lactobacillus curvatus strains isolated from fermented Turkish Sucuk.

### **E**

Elbossaty, W. F. (2017). Toxicology, biological activity, synthesis, and anti-microbial effects of lead nanoparticles. *Journal of Medical Physics And Applied Sciences*, 2, 2- 4.

El-Khawaga, A. S. A. (2011). Morphological and Metabolic Repons of Aspergillus nidulans and Fusarium oxysporum to Heavy Metal Stress. *Journal of Applied Sciences Research*. 7(11):1737-1745.

### **F**

Fadili, k., Zerkani, H., Amalich, S., & Zair, T. (2017). Etude phytochimie et evaluation de l'activite antioxydante des feuilles et des fruits du capparispinosa l.american *Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, p108.109.

Favier, A., Cadet, J., Kalaryanaman, R., Fontecave, M., & Pierre, J. L. (2003). Analysis of Free Radicals in Biological Systems, Birkhauser, New-York.

Filella, M., Martignier, A., & Turner, A. (2020). Kohl containing lead (and other toxic elements) is widely available in Europe. *Environmental Research*, 187, 109-658.

Flora, G., Gupta, D., & Tiwari, A. (2012). Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2), 47–58.

Fresquez, M. R., Pappas, R. S., & Watson, C. H. (2013). Establishment of toxic metal reference range in tobacco from U.S. cigarettes. *Journal of analytical toxicology*, 37(5), 298-304.

### G

Ganzle, M. G. (2015). Lacticmetabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in foodScience*, 2, 106-117.

Galvez, A., Abriouel, H., Ben Omar, N., & Lucas, R. 2011. Food Applications and Regulation In: Drider D., etRebuffat S. (eds). Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications. Springer Verlag. Jaen, Spain. pp, 253-390.

Gardner, P. R., Fridovich, I. (1991). Superoxide sensitivity of the Escherichia coli aconitase. *Journal of Biological Chemistry*, 266(29):1932-19333.

Garcia-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*. 32(2), 1-28.

Garrel, C., & Bigard, X. (2017). Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. *Nutrition du Sportif (3e édition)*, p151 -196.

Gao, X. Y., Zhi, H. W., Li, H. P., & Klenk., W. J. (2014). Comparative genomics of the bacterial genus Streptococcus illuminates evolutionary implications of species groups. *PloS one*, 9(6), 1-12.

Giel-Pietraszuk, M., Hybza, K., Chełchowska, M., & Barciszewski, J. (2012). Mechanisms of lead toxicity. *Adv. Journal of Cell Biology*. 39, 17–248.

Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Université Toulouse Iii Paul Sabatier, p32.

### H

Haber, F., Willsttter, R. (1931). Unpaarigkeit und Radikaiketten im Reaktion Mechanismus Organischer und Enzymatischer Vorginge. *Chem.Ber.*, 64, 2844-2854.

Habi, S. (2009). Etude de la Métallo-résistance et de l'Halo-tolérance des Entérobactéries Isolées des Eaux de Surface de la Région de Sétif, thèse doctorat d'état en sciences de la nature et de la vie. Université "Ferhat ABBAS" – Sétif.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Chapelle, C. (2007). Le stress oxydant. Haleng et coll. 638: 628.

Hervert-Hernandez, D., & Goñi, I. (2011). Dietary polyphenols and human gut microbiota: a review. *Food Reviews International*, 27(2), 154-169.

Hidalgo-Cantabrana, C., Sánchez, B., Milani, C., Ventura, M., Margolles, A., & Ruas-Madiedo, P. (2014). Genomic overview and biological functions of exopolysaccharide biosynthesis in *Bifidobacterium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1), 9-18.

Höhna, A., Webera, D., Junga, T., Otta, C., Hugoa, M., Kochlika, B., Kehma, R., Königa, J., Grunea, T., & Castro JP. (2017). Happily (n) ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence. *Redox Biol.* 11: 7.

Holzappel, W. H. N., & Wood, B. J. (1995). *The genera of lactic acid bacteria*. Springer Science & Business Media. First edition. United Kingdom: B.J.B. Wood, Germany: W.H. Holzappel. 398.

Horvath P., Coute Monvoisin AC., Romero DA., Boyaval P., Fremaux C., & Barrangou R. (2009). Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 131, p. 62–70.

Huang, H., Li, T., Tian, S, Gupta, D. K., Zhang, X., & Yang, X. E. (2008). "Role of EDTA in alleviating lead toxicity in accumulator species of *Sedum alfredii* H." *Bioresource Technology* In Press, Corrected Proof.

Huet, M. A. L., & Puchooa, D. (2017). Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through microbial processes : A pontentiel role for probiotics. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(6) :14-23.

### I

Ilihoum, R., & Boukalmouna, I. (2018). Comparaison des activités biologiques des feuilles et racines de *Thymelaeahirsuta*. Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi.

### J

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology* 7(2), 60–72.

Jakubowski, M. (2014). Lead and its inorganic compounds, other than lead arsenate and lead chromate as Pb, inhalable fraction. Documentation of suggested occupational exposure limits (OELs). *Princ. Meth. Assess. Work. Environ.* 2, 111–144.

Ji, J. S., Schwartz, J., Sparrow, D., Hu, H., & Weisskopf, M. G. (2014). Occupational determinants of cumulative lead exposure: Analysis of bone lead among men in the VA normative aging study. *Journal of occupational and environmental medicine*, 56(4), 435-440.

### K

Kadri, H. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne. badjimokhtar-annaba-university. Synthèse et développement de molécules bioactives, p41.

Kaizu, H., Sasaki, M., Nakajima, H., & Suzuki, Y. (1993). Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. *Journal of Dairy Science*, 76, 2493– 2499.

Kant, R., Blom, J., Palva, A., Siezen, R. J., & Vos, W. M. (2011). *Comparative genomics of Lactobacillus*. *Microbial biotechnology*. 4(3), 323-332.

Karri, S., Saper, R., & Kales, S. (2008). Encéphalopathie plomb raison de médecines traditionnelles. L'innocuité des médicaments actuelle 3 (1): 549. doi: 10.2175/157488608783333907. Pmc 2538609. Pmid 18690981.

Katsuyama, M., Matsuno, K. C. (2012). Physiological roles of NOX/NADPH oxidase, the superoxide-generating enzyme. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 50 (1): 6.

Kim, H. C., Jang, T. W., Chae, H. J., Choi, W. J., Ha, M. N., Ye, B. J., Kim, B. G., Jeon, M. J., Kim, S. Y., & Hong, Y. S. (2015). Evaluation and management of lead exposure. *Annals of Occupational & Environmental Medicine*. 27:30.

Kirillova, A. V., Danilushkina, A. A., Irisov, D. S., Bruslik, N. L., Fakhrullin R. F., Zakharov, Y. A., Bulkhmin, V. S., & Yarullina, D. R. (2017). Assessment of Resistance and Bioremediation Ability of Lactobacillus Strains to Lead and Cadmium. *International Journal of Microbiology*, (4): 1-7.

Kong S. & Davison A. J. (1980). The role of interactions between O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, OH and O<sub>2</sub> in free radical damage to biological systems. *Arch. Biochem. Biophys.* 204: 13-29.

Korpela, R., Lähteenmäki, T., Sievi, E., Saxelin, M., & Vapaatalo, H. (1997). Lactobacillus rhamnosus GG shows antioxidative properties in vascular endothelial cell cultures.

*Milchwissenschaft*, 52, 503– 505.

Kouassi, M. C. (2017). Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes (Doctoral dissertation, Normandie Université).

Krzywy, I., Krzywy, E., Pastuszek-Gabinowska, M., & Brodkiewicz, A. (2015). Lead—Is there something to be afraid of? *Ann. Acad. Med. Stetin.* 56, 118–128.

Coşkun, Ş., Aslim, B., & Yuksekdog, Z. N. (2010). Effect of two strains of *Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus* on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine. *Medicinal Chemistry Research*, 19(9), 1082-1091.

Kullisaar, T., Songisepp, E., Mikelsaar, M., Zilmer, K., Vihalemm, T. & Zilmer, M. (2003). Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *The british journal of Nutrition*, 90, 449– 456.

Kullisaar, T., Songisepp, E., & Zilmer, M. (2012). Probiotics and oxidative stress. In *Oxidative stress Environmental induction and dietary antioxidants*. InTech. 203-222.

Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C. & Kilk, A. (2002). Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food and Microbiology*, 72, 215– 224.

### L

Laguerre, M. (2008). Bases Moléculaires de la Capacité Antioxydant de Composés Phénoliques: Etude en Milieux Homogène, Emulsionné et Cellulaire. Thèse de doctorat, Université montpellier 2.

Lee, J. W., Choi, H., Hwang, U. K., Kang, J. C., Kang, Y. J., Kim, J. H., & Kim, K. I. (2019). Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environ. Toxicology. Pharmacology*. 68, 101–108.

Lee, K. Y., So, J. S., & Heo, T. R. (2001). Thin layer chromatographic determination of organic acids for rapid identification of bifidobacteria at genus level. *Journal of Microbiological Methods*. 45(1), 1-6.

Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087-26124.

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

Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., & Dong, M. (2014). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Polymers*, 102, 351-359.

Livinska, O., Ivaschenko, O., Garmasheva, I., & Kovalenko, N. (2016). The screening of lactic acid bacteria with antioxidant properties. *10.3934/Microbiology*, 4.447.

Lopez, P., Monteserin, D. C., Gueimonde, M., Clara, G., Margolles, A., Suarez, A., & Ruas-Madiedo, P. (2012). Exopolysaccharide-producing Bifidobacterium strains elicit different in vitro responses upon interaction with human cells. *Food Research International*, 46(1), 99-107.

Luquet, F. M., & Corrieu, G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Santé et Nutrition.France.

### M

Mao, X., Gu, C., Chen, D., Yu, B., & He, J. (2017). Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols. *Oncotarget*. 8(46):3-4.

Martin, V., Mediano, P., Campo, R., Rodríguez, J. M., & Marín, M. (2016). Streptococcal diversity of human milk and comparison of different methods for the taxonomic identification of streptococci. *Journal of Human Lactation*. 32(4), 84-94.

Mas-De-Xaxars, T., & Garcia-Gil, L. J. (2009). Detection and identification of unknown streptococcal populations in clinical samples. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 21(3-4), 233-240.

Matejceková, Z., Vlková, E., Liptáková, D., & Valík, L. (2019). Preliminary Screening of Growth and Viability of 10 Strains of Bifidobacterium spp: Effect of Media Composition. *Fermentation*. 5(2), 38.

Maud, A. J. (2005). Etudes biochimiques et génétiques de la réponse adaptative de mollusques face aux contaminations métalliques et au stress oxydant ecole doctorale « sciences du vivant, géosciences et sciences de l'environnement ». L'universite bordeaux I. 1-15 p.

McCord, L. M, Fridovich, I. (1969). The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *Journal of Biological Chemistry*, 244(22):6056-6063.

Meghnous, O., & Meghraoui, M. (2011). Identification de souches fongiques isolées de la rhizosphère d'*Hedysarum pallidum* et de *Lygeum spartum* poussant sur des déblais de mine d'antimoine de la région d'Aïn Babouche. Mémoire. Master en Microbiologie, Université Constantine, 65p.

Menad, N. (2018). Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis à vis de salmonella sp. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ,196p.

Mermouri, L. (2018). Étude de l'Effet de Souches Probiotiques de Bactéries Lactiques (*Lactobacillus* spp.), Isolées e Produits Fermentés, sur la Valeur Nutritive de Fourrages

Conservés par Ensilage, thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed-Boudiaf, 177p.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J., & Thérond, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. *Annales de Biologie Clinique*, 66(6), 605-620.

Mishra, A., & Choudhuri, M. A. (1999). "Effects of Salicylic Acid on Heavy Metal-Induced Membrane Deterioration Mediated by Lipoxygenase in Rice." *Biologia Plantarum* 42(3): 409-415.

Mishra, V., Shah, C., Mokashe, N., Chavan, R., Yadav, H., & Prajapati, J. (2015). Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63:3615–3626. doi:10.1021/jf506326t.

Monachese, M., Burton J. P., & Reid, G. (2012). Bioremediation and Tolerance of Humans to Heavy Metals through Microbial Processes: à Potential Role for Probiotics. *Applied and environmental Microbiology*, 78(18): 6397–6404.

Moussavou, C. F. (2010). Etude des mécanismes d'accumulation du cadmium chez *Arabidopsis thaliana* (écotype Wassilewskija) et chez un mélèze hybride (*Larix x eurolepis*) par des approches moléculaire et développementale. Thèse en Biologie - Science – Santé. Université de Limoges. 1p.

## **N**

Nakagawa, H., Miyazaki, T. (2017). Beneficial effects of antioxidative lactic acid bacteria. *AIMS Microbiol.* 6;3(1):1-7. doi: 10.3934/microbiol.2017.1.1. PMID: 31294145; PMCID: PMC6604973.

Neal, A. P., & Guilarte, T. R. (2012). Mechanisms of heavy metal neurotoxicity: lead and manganese. *Journal of Drug Metab Toxicology*, (S5), 1-13.

Nemsadze, K., Sanikidze, T., Ratiani, L., Gabunia, L., & Sharashenidze, T. (2009). Mechanisms of lead-induced poisoning. *Georgian Med News*. 92(6), 172- 173.

Nouri, M., & Haddioui, A. (2016). Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds : une revue (The remediation techniques of heavy metals contaminated soils: a review). *Maghrebien Journal of Pure and Applied Science*, 2(2), 47-58.

## **O**

Omeljaniuk, W., Socha, K., Soroczyńska, J., Charkiewicz, A.E., Laudański, T., Kulikowski, M., Kobylec, E., Szpak, A., & Borawska, M. H. (2018). Cadmium and lead in women who miscarried. *Clin. Lab.* 64, 59–67.

Ouali, S. (2010). Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage. mémoire de master. Université Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences, 128p.

Ounis, R., & Boumaza, D. (2018). Evaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de *Teucrium polium*. Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, p31.

Ouwehand, A. C., & Vesterlund, S. (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *Food Science and Technology - New York-Marcel Dekker*-139: 375-396.

Oves, M., Saghir, K. M., Huda-Qari, H. A., Nadeen, F. M., & Almeelbi, T. (2016). Heavy metals: biological importance and detoxification strategies. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 7(2), 2155-6199.

Oxman, T., Shapira, M., Diver, A., Klein, R., Avazov, N., & Rabinowitz, B. (2000). A new method of long- term preventive cardioprotection using *Lactobacillus*. *American journal of physiology, Heart and circulatory physiology*, 278, H1717– H1724.

### P

Pan, D., & Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908-914.

Pederson, T. C., Aust, S. D. (1975). The mechanism of liver microsomal lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta*, 385(2):232-241.

Perše, M. (2013). Oxidative Stress in the pathogenesis of colorectal cancer: cause or consequence?. *Journal of biomedicine and biotechnology research international*, 9(2).

Philippon, A., Poyart, C. (2008). Autres coques à Gram positif catalase négative d'intérêt médical : *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. *EMC - Biologie Médicale*. 3(1): 1– 11.

Pichard, A. (2002). Plomb et ses dérivés. Fiche INERIS.

Pinho, S., & Ladeiro, B., (2012). Phytotoxicity by lead as heavy metal focus on oxidative stress. *Journal of Botany*, 10.

### R

Raikwar, M. K., Kumar, P., Singh, M., & Singh, A. (2008). Toxic effect of heavy metals in livestock health. *Veterinary World*, 1(1), 28-30.

Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Plomb. (1999). Environnement et santé humaine, Conseil canadien des ministres de l'environnement.

Reffas, I., & Slimani, L. (2019). Contribution à l'étude phytochimique et à l'évaluation de quelques activités biologiques d'un mélange d'épices ras el hanoute de la région de Biskra. Université Mohamed Khider de Biskra, p07.

- Rehman, K., Fatima, F., Waheed, I., & Akash, M. S. (2018). Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(1), 157-184.
- Reuben, A. (2018). Childhood lead exposure and adult neurodegenerative disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 64(1), 17–42.
- Rira, M. (2006). Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins[en ligne].mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. Soutenu le : 19/06.p95.
- Rodríguez, E., Peirotén, A., Landete, J. M., Medina, M., & Arqués, J. L. (2015). Gut catalase-positive bacteria cross-protect adjacent Bifidobacteria from oxidative stress. *Microbes and environments*. 30(3), 270-272.
- S**
- Salvetti, E., Torriani, S., & Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 4 (4), 217-226.
- Sharma, P., & Dubey, R. S., (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, (1): 35-52.
- Samoylenko, A., Al-Hossain, J., Mennerich, D., Kellokumpu, S., Kalervo-Hiltunen, J., & Kietzmann, T. (2013). Nutritional countermeasures targeting reactive oxygen species in cancer: From Mechanisms to Biomarkers and Clinical Evidence. *Antioxid Redox Signal*.19:14.
- Sanders, T., Liu, Y., Buchner, V., & Tchounwou, P. B. (2009). Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review. *Reviews on environmental health*, 24, 15-45.
- Santos-sanchez, N. F., Raul, S. C., Claudia, V. C., & Beatriz, H. C. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. DOI ; 10.5772/intechopen.85270.
- Savado, A., & Traore, A. S. (2011). La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5(5), 2057-2075.
- Simnroff, N. (2005). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants* (Blackwell).
- Sirivarasai, J., Kaojarern, S., Chanprasertyothin, S., Panpunuan, P., Petchpoung, K., Tatsaneeyapant, A., Yoovathaworn, K., Sura, T., Kaojarern, S., & Sritara, P. (2015). Environmental lead exposure, catalase gene, and markers of antioxidant and oxidative stress relation to hypertension: An analysis based on the EGAT study. *BioMed. Res. Int.*856319.
- Staniak, S. (2009). Sources and levels of lead in food. *Pol. J. Agron.* 2014, 19, 36–45.

Szyczewski, P., Siepak, J., Niedzielski, P., Sobczyński, T. (2009). Research on heavy metals in Poland. *Journal of Environmental Study*, 18(5), 755–768.

Stohs, S. J., Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(2): 321-336.

Subrata., K. B. (2016). Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?. *Oxidative medicine and cellular Longevity*. 5698931.

**T**

Tahoun, A., Masutani, H., El-Sharkawy, H., Gillespie, T., Honda, R. P., Kuwata, K., & Suzuki, T. (2017). Capsular polysaccharide inhibits adhesion of *Bifidobacterium longum* 105-A to enterocyte-like Caco-2 cells and phagocytosis by macrophages. *Gut Pathogens*, 9(1), 27.

Tailliez, P. (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*. 6(1), 35–41.

Tamayo, Y., Ortiz, M., Téllez-Rojo, M. M., Hu, H., Hernandez-Avila, M., Wright, R., Amarasinghwardena, C., Lupoli, N., Mercado-Garcia, A., Pantic, I., & Lamadrid-Figueroa, H. (2016). Lead in candy consumed and blood lead levels of children living in Mexico City. *Environ. Res.* 147, 497–502.

Tobwala, S., Wang, H. J., Carey, J. W., Banks, W. A., & Ercal, N. (2014). Effects of lead and cadmium on brain endothelial cell survival, monolayer permeability, and crucial oxidative stress markers in an in vitro model of the blood-brain barrier. *Toxics*. 2, 258-75.

Trabelsi, I., Ktari, N., Slima, S. B., Triki, M., Bardaa, S., Mnif, H., & Salah, R. B. (2017). Evaluation of dermal wound healing activity and in vitro antibacterial and antioxidant activities of a new exopolysaccharide produced by *Lactobacillus* sp. Ca6. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 194-201.

Turroni, V. D., & Sinderen, M. V. (2011). Genomics and Ecological of the Genus *Bifidobacterium*. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1)/ 37-44.

**U**

Udensi, k., & Tchounwou, P. (2014). Dual effect of oxidative stress on leukemia cancer induction and treatment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 33(1), 1-15.

**V**

Varrault, T. G. (2012). Les contaminants dans les milieux récepteurs sous forte pression urbaine. Mémoire de Diplôme d'Habilitation à diriger des recherches. Université Paris Est Creteil Vel de Marne.

**W**

Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., & Lü, X. (2017). Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041. *International journal of biological macromolecules*, 103, 1173-1184.

Wani, A. L., Ara, A., & Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: A review interdisciplinary toxicology. 8(2), 55–64.

Wieczorek, J., Baran, A., Urba-nski, K., Mazurek, R., & Klimowicz-Pawlas, A. (2018). Assessment of the pollution and ecological risk of lead and cadmium in soils. *Environ. Geochem. Health*, 40, 2325–2342.

Wu, L., Champlain, J. (1999). Superoxide anion-induced formation of inositol phosphates involves tyrosine kinase activation in smooth muscle cells from rat mesenteric artery. *Biochem Biophys Res Commun*, 259(2):239-243.

Wu, D., Sun, M.Z., Zhang, C., & Xin, Y. (2014). Antioxidant Properties Of *Lactobacillus* And Its Protecting Affects To Oxidative Stress Caco-2 Cells. *Journal of Animals and Plants Sciences*, 24(6): 1766-1771.

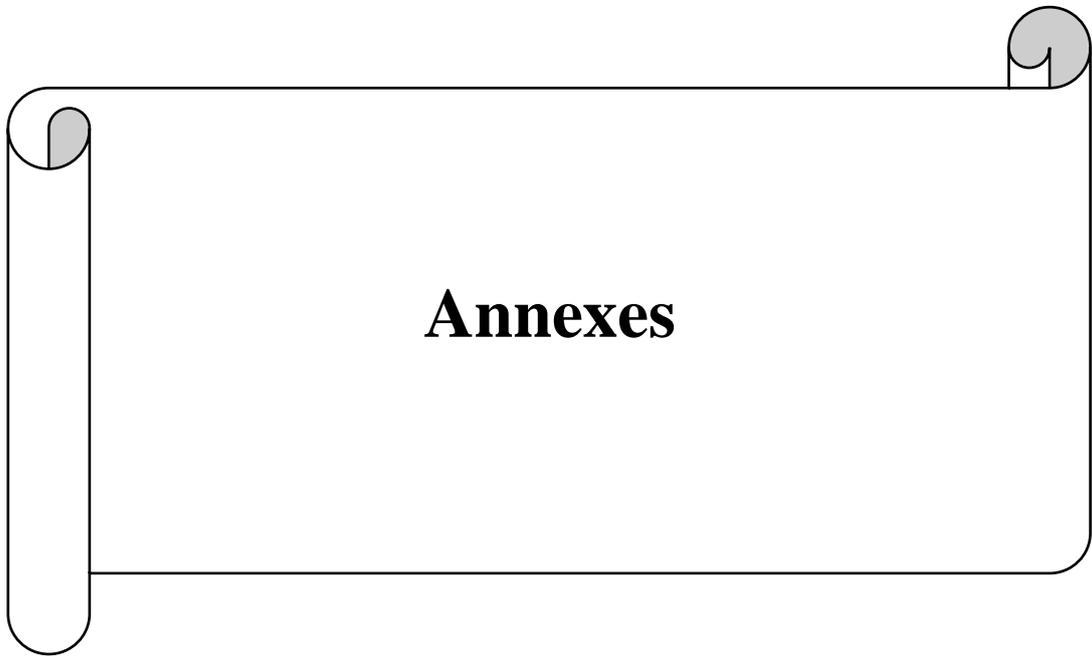
## **Y**

Yang, F., Hou, C., Zeng, X., & Qiao, S. (2015). The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*, 4(1), 34-45.

## **Z**

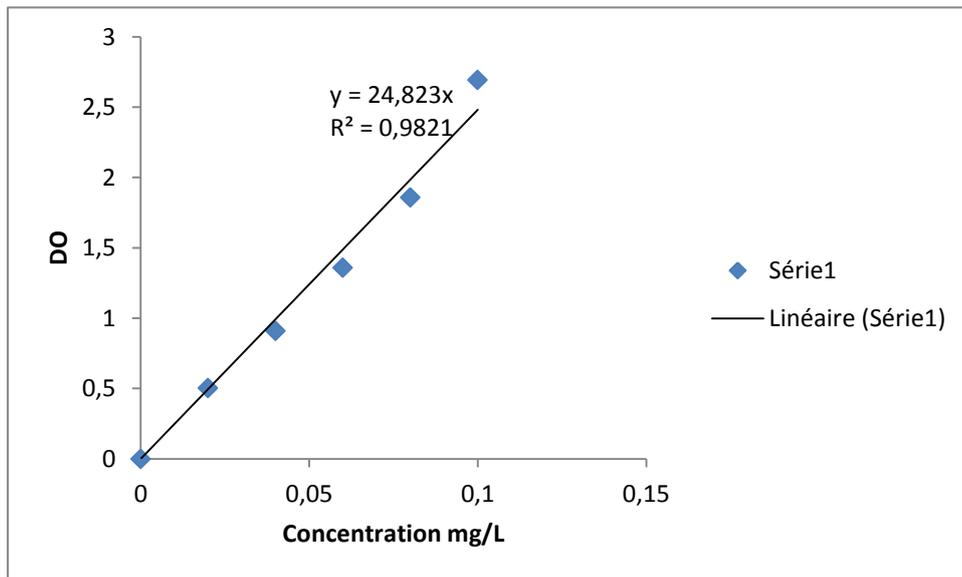
Zhou, D., Shao, L., Spitz, D. R. (2015). Reactive Oxygen Species in Normal and Tumor Stem Cells. *Adv Cancer Res*. 122: 3.

Zommara, M., Tachibana, N., Sakomo, M., Suzuki, Y., Oda, T., Hashida, H., & Imaizumi, K. (1996). Whey from cultured skim milk decreases serum cholesterol and increases antioxidant enzymes in liver and red blood cells in rats. *Nutr Res* 16, 293– 302.



## **Annexes**

## Annexe 1 : courbe d'étalonnage



## Annexe 2 : préparation de la solution du plomb à 100 mg/L

Pour préparer une concentration égale à 1000 mg/L, des calculs ont été fait pour déterminer la masse en gramme de métal utilisé dans cette étude en utilisant la méthode suivante :

SM : Plomb 1000 mg/L ;

Masse molaire du  $Pb(NO_3)_2 = 321.2$  g/mol.

Masse molaire du (Pb) = 207.2g/mol

$m = 1000 \times 321.2 / 207.2 = 1.55$  g

Pour préparer la solution mère à 1000 mg/L, 1.55 g de nitrate de plomb sont dissous dans 1L.



<b>Réalisé par : Aida ROUIDI</b> <b>Wiam BEGHOUL</b> <b>Zineb BOURBIA</b>	<b>Promotrice : Dr. Nabila BENHAMADA</b>
	<b>Date de soutenance :</b>

**Thème : Etude de la toxicité du plomb sur quelques souches des bactéries lactiques**

#### Résumé

Notre étude vise à explorer la toxicité du plomb sur les quelques souches de bactéries lactiques isolées du blé fermenté traditionnellement.

Dans cette étude, 16 souches de bactéries lactiques ont été utilisées, elles ont été traitées par 100 mg/L du plomb puis leurs capacités antioxydantes à savoir la production des polyphénols, la résistance au peroxyde d'hydrogène (0.05 mM), le piégeage du radical DPPH et de l'anion superoxyde, le pouvoir réducteur, ont été évaluées. Les résultats ont montré que le plomb a diminué significativement l'activité antioxydante des souches lactiques. 04 souches lactiques semblaient être compétentes, elles résistent plus ou moins au plomb. Les résultats de la spectrométrie d'absorption atomique ont montré que les 04 souches sont capables de fixer le plomb. L'activité antioxydante et la capacité de lier le plomb des bactéries lactiques permettent de les utiliser comme souche bioprotectrice.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, plomb, toxicité, activité antioxydante.

#### Abstract

**Our study aims to explore the toxicity of lead on the few strains of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented wheat.**

**In this study, 16 strains of lactic acid bacteria were used, they were treated with 100 mg/L of lead and then their antioxidant capacities namely polyphenol production, resistance to hydrogen peroxide (0.05 mM), scavenging of DPPH radical and superoxide anion, reducing power, were evaluated. The results showed that lead significantly decreased the antioxidant activity of the lactic strains. 04 lactic strains appeared to be competent, more or less resistant to lead. The results of atomic absorption spectrometry showed that the 04 strains are able to bind lead. The antioxidant activity and the ability to bind lead of lactic acid bacteria allow them to be used as a bioprotective strain.**

**Key words:** Lactic acid bacteria, lead, toxicity, antioxidant activity

#### ملخص

تهدف دراستنا إلى استكشاف سمية الرصاص على السلالات القليلة من البكتيريا اللاكتيكية المعزولة من القمح المخمر تقليدياً. في هذه الدراسة، تم استخدام 16 سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك، وتم علاجها بواسطة 100 مجم/لتر من الرصاص ثم طاقاتها المضادة للأكسدة: وتم تقييم أنيون الأكسيد الفائق، الطاقة المنخفضة DPPH إنتاج البوليفينول، ومقاومة بيروكسيد الهيدروجين (0.05 مم)، ومحاصرة الجذور أظهرت النتائج أن الرصاص قلل بشكل كبير من النشاط المضاد للأكسدة للسلالات اللبينية. يبدو أن 04 سلالات لاكتيك كفوة، فهي أكثر أو أقل مقاومة للرصاص. أظهرت نتائج مطياف الامتصاص الذري أن جميع السلالات (04) قادرة على ربط الرصاص. يسمح النشاط المضاد للأكسدة والقدرة على ربط الرصاص من بكتيريا حمض اللاكتيك باستخدامها كسلالة حركية بيولوجية..

الكلمات الرئيسية: بكتيريا حمض اللاكتيك، الرصاص، السمية، النشاط المضاد للأكسدة