

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 جيجل
Université de Jijel

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



كلية: علوم الطبيعة و الحياة
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de fin de cycle

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

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Etude des propriétés probiotiques de quelques souches du
genre *Lactobacillus* isolées de lait et rumen de la chèvre.

Membres de Jury

Présidente: Dr. Laggoune Souheila.
Examinatrice : Dr. Ait meddour Amel.
Encadrant : Mr. Khennouf Tarek.

Présenté par :

M^{elle} Lallali Hadjer
M^{elle} Lallali Manal

Année Universitaire 2017 - 2018

Numéro d'ordre :

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH, le Clément ,Miséricordieux le très Miséricordieux de nous avoir guidé et pour son aide à notre vie et à revoir nos années d'étude.

Au terme de la réalisations de ce mémoire,nous tenons à remercier:

Notre encadrant Mr: Khennouf Tarek

pour avoir dirigé et supervisé ce modeste travail, ainsi que pour sa patience avec nous ,son aide, et sa grande gentillesse, ses conseils précieux et sa disponibilité entière toute au long de la période de Travail.

Mme Laggoune Souheila, pour avoir aimablement accepté de présider le jury de soutenance ;

Mme Ait meddour Amel, pour avoir aimablement accepté examiner le présent mémoire .

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes parents

qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études.

Merci beaucoup ma mère Merbouha et mon père Ferhat

je vous aime beaucoup et je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que ALLAH vous protège et vous donne bonne santé Lah ykalikoume liya.

A ma sœur Khawla

je t'aime beaucoup.

A mon frère Mohammed amine

je t'aime beaucoup.

A toute ma famille parentale Lallali et maternal Ghuila.

A tous mes amis

Fatima Ratiba, Amira, Sabiha, Denia, Rachida, Nabila, Lamia, Meriem, Halima, Samiha.

A tous ceux que je porte dans mon cœur.

Manal

Dédicace

Merci ALLAH de m'avoir permis d'arriver jusqu'ici et de m'avoir donné l'aptitude d'achever ce modeste travail.

Je dédie ce travail à tous ma gratitude à:

Mon père Noureedin à qui je dois le grand amour et le profond respect.

A l'être le plus chère à mon cœur, ma mère Zineb , qui a toujours cru en moi et à m'encouragée.

Mes chères sœurs : Imen et Amira.

Mon chère frère: Chouibe.

A toute ma famille loin et proche surtout ma grande mère hadjira,mes oncles et mes tantes parentale et maternels Chacun par son noms .

A tous mes amis proches Dounya , , Fatima ,Ratiba , Sabiha ,Lamia , samiha, Halima ,Mariem et Nabila.

Hajder

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux	iii
Sommaire:	
Introduction	1
Synthèse bibliographie Bactéries lactiques et probiotiques	3
I. Bactéries lactiques	3
I.1.Définition.....	3
I.2. Taxonomie.....	3
I.3. Habitat.....	5
I.4. Exigences nutritionnelles.....	6
I.5. Intérêt des bactéries lactiques.....	7
I.5.1. Bactéries lactiques utilisée comme levains et bio-conservateurs.....	7
I.5.2. Bactéries lactiques utilisée comme probiotiques.....	7
II. Probiotiques	9
II.1. Historique et définition.....	9
II.2. Mécanismes d'action.....	9
II. 3. Critères de sélection pour l'organisme probiotique.....	10
II.4. Microorganismes probiotiques.....	11
II. 4.1. Genre <i>Lactobacillus</i>	11
II.5. Effets bénéfiques des probiotiques.....	11
II.5.1. Sur le tube digestive.....	11
II. 5.1.1 Cancer du côlon.....	11
II. 5.1.2. Diarrhée.....	12
II.5.1.3. Syndrome de l'intestin irritable.....	12
II.5.1.4. Maladie inflammatoire de l'intestin.....	12
II.5.1.5. Infections à <i>Helicobacter pylori</i>	13
II.5.2. Autres effets bénéfiques des probiotiques.....	13
III. Matériel et méthodes	15
III.1.Souches bactériennes utilisée.....	15
III.2. Méthodes	15

III.2.1. Tolérance aux acides.....	15
III.2.2. Tolérance aux sels biliaires.....	15
III.2.3. Tolérance au phénol.....	15
III.2.4. Études sur la survie dans des conditions gastro-intestinales.....	16
III.2.4.1. Résistance au suc gastrique.....	16
III.2.4.2. Survie dans la salive artificielle.....	16
III.2.4.3. Survie dans les conditions de l'iléon et du duodénum.....	16
III.2.5. Activité antibactérienne	17
III.2.6. Autoagrégation.....	17
III.2.7. Co-agrégation.....	17
III.2.8. Hydrophobicité.....	18
III.2.9. Test de β -galactosidase.....	18
VI. Résultat et discussion.....	19
VI.1. Détermination de la tolérance aux acides.....	19
VI.2. Résistance aux phénol.....	20
VI.3. Résistance aux sels biliaires.....	21
VI.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des souches.....	22
VI.5. Etude de survie à travers le tractus gastro-intestinal simulée.....	24
VI.6. Hydrophobicité.....	25
VI.7. Autoagrégation.....	27
VI.8. Coagrégation.....	28
VI.9. Test de β -galactosidase.....	28
Conclusion	29
Références	30
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

AGCC : Acide gras à chaîne courte

ARN: Acide RiboNucléique

C: *Clostridium*

DO : Densité Optique

E.coli : *Escherichia Coli*

Lb : *Lactobacillus*

LDH: Lactates Déshydrogénases Réduite

NADH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide

pH : Potentiel d'Hydrogène

S : *Saccharomyces*

SES : Solution d'Electrolyte Stérile

UFC/ ml : Unité Format Colonies par millilitre

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

Liste des figures

N°	Intitulé	Page
01	Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres <i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus</i> .	4
02	Effet de l'acidité pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 8 sur la survie de <i>Lb. plantarum</i> S10.	19
03	Effet de l'acidité pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 8 sur la survie de <i>Lb. plantarum</i> BCX1.	20
04	Pourcentage de survie de <i>Lb. plantarum</i> S10 et de <i>Lb. plantarum</i> BCX1 dans 0,4% du phénol.	21
05	Pourcentage de survie de <i>Lb. plantarum</i> S10 et de <i>Lb. plantarum</i> BCX1 dans 0,3% de sels biliaires.	22
06	Zones d'inhibition en mm de <i>Lb. plantarum</i> S10 et de <i>Lb. plantarum</i> BCX1 contre <i>E.coli</i> .	24
07	Pourcentages d'affinité de <i>Lb. acillus plantarum</i> S10 et BCX1.	26
08	Pourcentages d'autoagrégation de <i>Lb. plantarum</i> S10 et BCX1.	27
09	Pourcentages de la coagrégation de <i>Lb. plantarum</i> S10 et BCX1 avec les bactéries pathogènes.	28
10	Résultats de β -galactosidase.	29

Liste des tableaux

N°	Intitulé	Page
01	Quelques genres de bactéries lactiques et leurs principaux habitats.	6
02	Zones d'inhibition en mm de <i>Lb. plantarum</i> S10 et de <i>Lb. plantarum</i> BCX1 contre chaque pathogène indicateur.	23
03	Résultat de dénombrement de <i>Lb. plantarum</i> S10 et de <i>Lb. plantarum</i> BCX1 dans des milieux simulant aux tractus gastro-intestinal.	25

Introduction

Les bactéries lactiques sont un groupe non-taxonomique de bactéries à Gram-positif, à faible teneur en GC, non -motiles, caractérisées par leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique (**Liu et al., 2011**). Elles appartiennent à divers genres comme *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, et *Carnobacterium* (**Labioui et al., 2005**). On les trouve dans des environnements riches en substrats glucidiques disponibles, tels que les aliments et les aliments pour animaux, mais aussi dans les cavités humaines et animales, ainsi que dans les eaux d'égout et les végétaux. En effet, des souches ont été isolées de tous ces environnements (**Zhang et Cai, 2014**).

Les bactéries lactiques ont beaucoup d'excellents traits d'importance industrielle. Dans l'industrie alimentaire et particulièrement les biotransformations alimentaires (**Holzappel et Wood 2014 ; Liu et al., 2011**) les bactéries lactiques sont contribuées positivement à l'amélioration de la qualité et de la conservation des produits fermentés en général et des produits laitiers en particulier (**Savadoغو et Traore, 2011**). Ils fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio-conservation des denrées alimentaires. Leur pouvoir antagoniste résulte aussi de la production du H₂O₂ (le peroxyde d'hydrogène) et des bactériocines limitant la croissance de certains germes pathogènes. Pour cela, de nouveaux produits sont développés, notamment dans le secteur laitier (**Tabak et Bensoltane, 2012**), elles sont utilisées pour la fermentation des aliments et des boissons, la formation d'arômes la conservation et la production d'additifs, de bactériocines et d'exopolysaccharides (**Liu et al., 2011**).

Les bactéries lactiques ont été intimement associées à la culture humaine et au bien-être à travers l'histoire (**Holzappel et Wood, 2014**). Il est montré que certaines souches de bactéries lactiques peuvent jouer un rôle bénéfique pour la santé humaine (**Tabak et Bensoltane, 2012**). Depuis quelques années, des fabricants cherchant de nouveaux débouchés ont repris avec l'aide des scientifiques l'idée émise par Metchnikoff (1910) au début du XXe siècle que la consommation des laits fermentés peut avoir un effet favorable sur la santé et constitue une « bactériothérapie lactique » (**Savadoغو et Traore, 2011**).

Une bactérie qui procure des bienfaits pour la santé de l'organisme humain est appelée probiotique, ce qui devrait avoir plusieurs avantages pour le maintien de la santé lorsqu'elle est consommée en tant que composant ou supplément alimentaire (**Yonejima et al., 2015**).

Les probiotiques sont donc définis comme des micro-organismes vivants conférant des bienfaits pour la santé aux hôtes et certaines espèces de bactéries lactiques, dont les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* ont été rapportés comme candidats probiotiques actifs par plusieurs chercheurs (**Ozgun et Vural, 2011**).

L'objectif de cette étude est d'étudier *in vitro* quelques caractéristiques probiotiques de deux souches de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1 isolées à partir de deux écosystèmes différents le lait et le rumen de la chèvre.

Synthèse
bibliographie:
Bactéries lactiques et
probiotiques

I. Bactéries lactiques

I. Bactéries lactiques

I.1. Définition

Le terme «bactéries lactiques» ne désigne pas une classe phylogénétique des bactéries, mais plutôt aux capacités métaboliques de l'espèce qui appartient à ce groupe (Zhang et Cai, 2014), les bactéries lactiques englobent un groupe hétérogène de microorganismes ayant comme propriété métabolique commune la production d'acide lactique comme produit final majoritaire issu de la fermentation des glucides (Mozzi *et al.*, 2010).

Le groupe des bactéries lactiques comprend des bactéries Gram-positives, non sporulées, avec une morphologie en bâtonnet ou coccoïde. Ces bactéries sont généralement des producteurs d'acide lactique et non mobiles (Todorov *et al.*, 2010 ; Ringø et Gatesoupe, 1998), catalase négative (bien que certaines souches puissent produire une pseudocatalase), anaérobies ou microaérophiles (Zhang et Cai 2014), oxydase négative et le pH des cultures est inférieur à 4,0 pendant la phase de croissance stationnaire (Todorov *et al.*, 2010).

Parmi les bactéries lactiques, le genre *Lactobacillus*, un genre comprenant un grand nombre d'espèces GRAS (généralement reconnues comme sûres) et de nombreuses souches comptent parmi les bactéries les plus importantes en microbiologie alimentaire et nutrition humaine, en raison de leur contribution à la production alimentaire (Salvetti *et al.*, 2012).

I. 2. Taxonomie

Les bactéries lactiques représentent des espèces omniprésentes et hétérogènes avec une caractéristique commune de la production d'acide lactique. La monographie d'Orla-Jensen (1919) a formé la base de la classification actuelle de bactéries lactiques. Les critères utilisés par Orla-Jensen sont la morphologie cellulaire (cocci ou bâtonnets, formation de tétrades), mode de fermentation du glucose (homofermentaire / hétérofermentaire), plages de températures de croissance (10°C et 45 °C) et le mode d'utilisation des sucres et sont encore très importants pour la classification des bactéries lactiques (Lahtinen *et al.*, 2012 ; Salminen et Von Wright, 2004)

Sur le plan taxonomique récent, Les bactéries lactiques sont présentes dans deux phylums distincts, à savoir les *Firmicutes* et *Actinobacteria* (Zhang et Cai, 2014). Au sein du phylum *Firmicutes*, les bactéries lactiques appartiennent à la classe *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* (Lahtinen *et al.*, 2012) et comprend actuellement six familles : *Aerococcaceae* (avec 7 genres), *Carnobacteriaceae* (avec 16 genres), *Enterococcaceae* (avec 7 genres), *Lactobacillaceae* (avec 3 genres), *Leuconostocaceae* (avec 4 genres) et *Streptococcaceae* (avec 3 genres) en total 40 genres contenant

(31-49%) de la guanine-cytosine (GC). Au sein du phylum *Actinobacteria*, les bactéries lactiques appartiennent au genre *Bifidobacterium*, avec une teneur 58-61% (Wedajo, 2015).

La description massive d'espèces nouvelles au cours des 20 dernières années a conduit à une révision progressive du genre avec la reconnaissance d'un nombre croissant de groupes phylogénétiques variables (Figure 01). Bien que l'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S ait contribué au développement d'une taxonomie plus exhaustive pour les lactobacilles, il est devenu évident qu'il existe peu de corrélation entre la classification traditionnelle fondée sur les propriétés métaboliques et la parenté phylogénétique (Salvetti *et al.*, 2012)

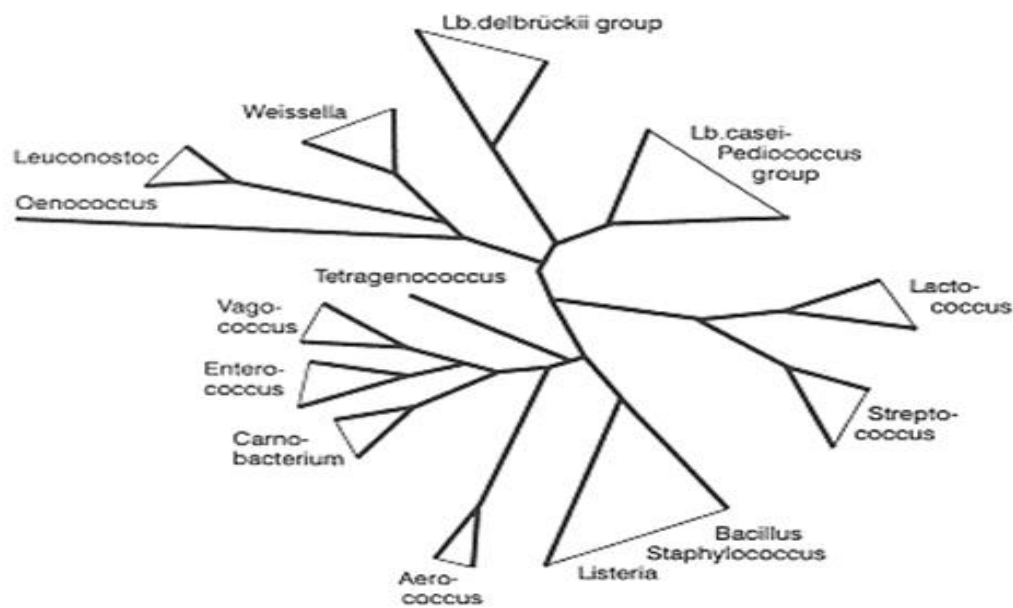


Figure 01 : Arbre phylogénétique de bactéries lactiques et comparaison avec les genres *Listeria*, *Staphylococcus*, *Bacillus* (Salminen et Von Wright, 2004).

I.3. Habitat

Les bactéries lactiques sont répandues dans la nature, elles ont été isolées dans des habitats divers (**Tableau 01**) grâce à la capacité de ses espèces à s'adapter dans des conditions environnementales très différentes (**Ringø et Gatesoupe, 1998 ; Pelinescu et al., 2009**).

Les bactéries lactiques se retrouvent dans une grande variété d'environnements riches en nutriments, notamment le lait et les produits laitiers, sur certaines surfaces des végétaux comme les légumes et les plantes, les céréales et la viande et les produits carnés (**Ringø et Gatesoupe, 1998**), des eaux usées (**Pelinescu et al., 2009**), des espèces de bactéries lactiques sont aussi fréquemment trouvées parmi le microbiote résident du tractus gastro-intestinal et du tractus génito-urinaire des humains (**Mozzi et al., 2010**) et divers animaux endothermiques: souris, rats, cochons, volailles (**Ringø et Gatesoupe, 1998**) des porcs, des bovins, des chiens, des souris, des rats et des hamsters (**Zhang et Cai, 2014**) et les produits de la mer (**Leroi, 2009**).

Elles sont généralement utilisées dans la production et la conservation de produits alimentaires comme le fromage, la choucroute, la viande, le yaourt et l'ensilage. Dans ces environnements, les bactéries lactiques sont considérés comme des composants essentiels, jouant un large éventail de fonctions favorisant la santé (**Mozzi et al., 2010 ; Ringø et Gatesoupe, 1998**).

Tableau01 : Quelques genres de bactéries lactiques et leurs principaux habitats.

Genre	Habitat	Référence
<i>Lactobacillus</i>	Produits laitiers (fromage, yogourt), les cavités corporelles humaines et animales, le tractus gastro-intestinal des humains, des porcs, des poulets, des bovins, des chiens, des souris, des poissons (saumon d'Atlantique) des plante, produits de viande, produits de vin.	(Zhang et Cai,2014 ; Leroi, 2009 ; Ringø et Gatesoupe,1998)
<i>Leuconostoc</i>	Viandes conservées au froid ou de sources cliniques, matériel végétal, des produits laitiers fermentés et des vins	(Zhang etCai, 2014)
<i>Bifidobacterium</i>	Tractus gastro-intestinal (GI) des humains, des animaux (poulet) et des insectes, ainsi que des caries dentaires humaines et des produits laitiers.	(Zhang et Cai, 2014 ; Thitaramet al., 2005)
<i>Weissella</i>	Fruits et légumes fermentés, produits de viande, fruits de mer fermentés, fromages, saucisses fermentées. Echantillons cliniques, animaux, excréments humains, produits laitiers fermentés, céréales fermentées et boissons,	(Fessard et Remize, 2017)
<i>Vagococcus</i>	Lésions de porcs, de lésions et d'amygdales de bovins et de chats et d'amygdales de cheval.	(Pot et al., 1994)

I.4. Exigences nutritionnelles

Les bactéries lactiques sont nutritionnellement exigeantes, leur croissance nécessite un apport complexe, aussi bien qualitativement que quantitativement, en éléments nutritifs (Loubière *et al.*, 1996). Outre les hydrates de carbone, des besoins spécifiques en certains facteurs de croissance (minéraux, vitamines et bases azotées) (Khalid, 2011 ; Desmazeaud, 1983), leurs exigences nutritionnelles les plus remarquables concernent certainement les besoins en acides aminés. Il est, en effet, clairement établi qu'aucune d'entre elle n'est capable de se développer aux dépens d'azote inorganique (Loubière *et al.*, 1996).

I.5. L'intérêt des bactéries lactiques

I. 5. 1. Les bactéries lactiques comme levains et bio-conservateurs

Les espèces de bactéries lactiques ont été traditionnellement utilisées comme ferments dans la production d'aliments pour animaux et des denrées alimentaires (**Savado et Traore 2011**), l'industrialisation des biotransformations alimentaires et les attributs positifs des microbes particuliers aux caractéristiques sensorielles, de qualité et de sécurité des aliments fermentés sont devenus synonymes de l'image positive des bactéries lactiques. Pourtant, l'impact économique et le rôle des bactéries lactiques, à la fois bénéfiques et préjudiciables (**Holzappel et al., 2014**).

Même avant que les chimies de fermentation ne soient comprises, les bactéries lactiques étaient très prisées par les industries alimentaires et laitières pour leur capacité à produire des composés aromatiques et aromatisants. Le type d'acide lactique et la quantité d'acide lactique formée pendant la fermentation sont critiques dans la fabrication des aliments et jouent un rôle important dans la classification taxonomique des bactéries lactiques. Les bactéries lactiques, bien que constituées d'un certain nombre de genres divers, sont regroupées comme homofermentaire ou hétérofermentaire en fonction du produit final de leur fermentation (**Carr et al., 2002**). La fermentation de l'acide lactique se produit lors de la préparation d'une grande variété d'aliments, fabriqués à partir de matières premières d'origine végétale : Céréales : le maïs (Kenkey, Pozol.), raisins (vin), manioc (gari, peujeum) et animale : le lait (yaourt), la viande (saucisson) (**Khalid, 2011 ; Konings et al., 1999**).

Les bactéries lactiques ont des effets de conservation des aliments ou la bio préservation de nourriture (**Masood et al., 2011**), les consommateurs sont très préoccupés par les conservateurs chimiques et les aliments transformés, mais ils acceptent facilement les bactéries lactiques comme un moyen naturel de conserver la nourriture et de promouvoir leur santé.

I.5.2. Les bactéries lactiques comme probiotique

Une bactérie qui procure des bienfaits pour la santé à l'organisme humain est appelée probiotique, ce qui devrait avoir plusieurs avantages pour le maintien de la santé lorsqu'elle est consommée en tant que composant ou supplément alimentaire (**Yonejima et al., 2015**). Les bactéries lactiques sont des probiotiques utiles. Leurs effets bénéfiques ont été révélés par un scientifique russe E. Metchnikoff (1845-1919) qui a suggéré que la longévité prolongée des populations des Balkans pouvait être attribuée à leur pratique d'ingestion de produits laitiers fermentés, d'utiliser les laits fermentés contenant une souche de lactobacilles, capables de vivre dans le tractus intestinal, comme composants d'une alimentation utile à la santé humaine. (**Masood et al., 2011 ; Savado et Traore, 2011**).

Les aliments fermentés sont le principal véhicule d'administration des organismes probiotiques (**Wedajo *et al.*, 2015**), les produits laitiers fermentés contenant des lactobacilles viables ont été utilisés par les humains principalement comme prophylactiques et leur utilisation a été étendue aux infections intestinales (**Ozgun et vural, 2011**).

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone et les bactériocines. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens inhibant la croissance de bactéries altérantes ou pathogènes. Les souches qui les produisant peuvent donc également être utilisées dans des produits non fermentés en tant que culture protectrice. Une culture protectrice est une culture antagoniste ajoutée à un produit alimentaire pour inhiber les bactéries pathogènes et/ou altérantes et ainsi prolonger sa durée de vie en changeant ses propriétés organoleptiques le moins possible (**Dortu et Thonart, 2009**).

Les bactéries lactiques, cependant, sont endommagées par les contraintes gastro-intestinales dans le cas de l'absorption orale, une préparation pharmaceutique contenant des bactéries vivantes est revêtue d'un agent de revêtement entérique pour empêcher l'exposition du produit pharmaceutique à l'acide gastrique visant à améliorer les effets probiotiques dans l'intestin. Les bactéries lactiques sont habituellement prises avec des yaourts et des boissons, mais elles sont facilement exposées à l'acide gastrique. Dans ce cas, les effets probiotiques peuvent ne pas être exprimés de manière adéquate dans l'intestin (**Yonejima *et al.*, 2015**).

La plupart des aliments probiotiques disponibles aujourd'hui sont à base de lait, mais la préférence des consommateurs réside aujourd'hui davantage dans les compléments alimentaires botaniques, qui sont soit sans cholestérol, soit à faible teneur en cholestérol. Les produits probiotiques sont généralement commercialisés sous forme de laits fermentés et de yaourts. Cependant, avec une augmentation du végétarisme des consommateurs dans les pays développés, il y a aussi une demande pour les produits probiotiques végétariens. En outre, l'intolérance au lactose et la teneur en cholestérol sont deux inconvénients majeurs liés aux produits laitiers fermentés (**Wedajo *et al.*, 2015**).

II. Probiotiques

II. Probiotiques

II.1. Historique et définition

En 1907, Eli Metchnikoff a proposé les effets bénéfiques des microorganismes probiotiques sur la santé humaine (Ötles, 2014). Il crut que les bactéries lactiques dans les produits laitiers fermentés remplacent les organismes nuisibles trouvés dans les intestins et réduit ainsi la production de toxines qui conduisent à la maladie et l'infection (Singh *et al.*, 2011), Henry Tissier, un pédiatre français, a observé que les enfants souffrant de diarrhée avaient dans leurs selles un nombre réduit de bactéries caractérisées par une morphologie particulière en forme de Y. Ces bactéries étaient, au contraire, abondantes chez les enfants sains. Il a isolé cette bactérie et l'a nommée en genre *Bifidobacterium*. Tissier a également constaté que les bifidobactéries dominaient dans la flore intestinale des bébés allaités (Kitazawa *et al.*, 2013) et a recommandé l'administration de bifidobactéries aux nourrissons souffrant de diarrhée, affirmant que les bifidobactéries se débarrassent des bactéries pathogènes qui causent la maladie (Wiley et Canada, 2008). Le terme «probiotique» a été utilisé pour la première fois en 1965 par Lilly et Stillwell pour décrire des substances qui stimulent la croissance d'autres microorganismes. Parker a défini le terme «probiotique» en tant que substances et organismes qui contribuent à l'équilibre microbien intestinal. Fuller (1989), afin de souligner la nature microbienne des probiotiques, a redéfini le mot comme «un complément alimentaire microbien vivant qui affecte avantageusement l'animal hôte en améliorant son équilibre intestinal (Kitazawa *et al.*, 2013). Cette définition a été élargie par Havenaar et Huis in't Veld en 1992 pour inclure la culture mono ou mixte de micro-organismes vivants qui profite aux animaux ou à l'homme en améliorant la propriété de la microflore indigène (Ötles, 2014). Le terme probiotique, qui signifie «pour la vie» en grec (Raman *et al.*, 2016) a été raffiné plusieurs fois et la définition d'aujourd'hui est «des microorganismes vivants, qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, confèrent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte» (Le et Yang, 2018).

II. 2 .Mécanismes d'action

Un mécanisme d'action des probiotiques s'expliquent généralement par une modification directe ou indirecte du microbiote endogène ou de la réponse immunitaire. Concernant l'amélioration du microbiote endogène, la colonisation par les bactéries probiotiques impliquent, en premier lieu l'adhésion de ces bactéries aux récepteurs cellulaires *in situ* permettant la compétition pour les sites d'adhésion et pour les nutriments, réduisant le nombre de récepteurs disponibles ainsi que les nutriments accessibles à utiliser par les bactéries pathogène (Silva et Freitas, 2014). Une autre classe d'effet probiotique comprend la stabilisation de la microflore intestinale, et l'exclusion compétitive des

pathogènes et autres microbes nocifs (**Tamime, 2005**) en produisant des bactériocines qui sont des inhibiteurs à la fois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Ötleş, 2014**), ou par la production de certains acides organiques qui diminuent par conséquent le pH local. Les probiotiques augmentent également la production de cytokines qui favorisent une bonne inflammation et favorisent l'inhibition des pathogènes par la sécrétion d'IgA *in situ*. En dehors de cela, ces micro-organismes bénéfiques peuvent également protéger des toxines libérées *in situ*, générées par la digestion des aliments ou par des micro-organismes. Pendant leur permanence dans l'intestin, ils peuvent améliorer l'intégrité et la fonctionnalité épithéliale et tissulaire. Certaines bactéries probiotiques développent des effets *in situ* positifs en renforçant la barrière muqueuse en prévenant et en réparant les lésions muqueuses, qu'elles soient causées par des pathogènes, des antigènes alimentaires ou des substances médicamenteuses, et augmentent la résistance transépithéliale induite par l'agent pathogène de la monocouche cellulaire (**Silva et Freitas, 2014**). Les autres mécanismes d'action associés aux probiotiques c'est la modulation du système immunitaire pour transmettre un avantage à l'hôte (**Bermudez-Brito et al ., 2012 ; Silva et Freitas 2014**).

II.3. Critères de sélection pour l'organisme probiotique

Les organismes probiotiques doivent être robustes en termes de tolérance aux acides biliaires et à la dégradation par les enzymes digestives présentes dans l'intestin (lysozymes). La souche probiotique devrait être capable de produire des substances ont des effets antimicrobiens (**Shewale et al ., 2014 ; Watson et preedy, 2010**), aussi devrait être capable d'adhérer à la surface épithéliale des humains, elles doivent avoir un effet bénéfique démontré sur l'hôte, elles devraient être capable de survivre en présence de métabolites toxiques, principalement des phénols produits au cours du processus de digestion, ainsi des phages (**Watson et preedy, 2010**), devraient être capables de stimuler et de réguler plusieurs aspects de la réponse immunitaire naturelle et acquise (Modulation du système immunitaire) (**Shewale et al., 2014**).

La source des souches probiotiques peut provenir d'une origine humaine comme le gros intestin, l'intestin grêle, ou un lait maternel, une origine animale, une source de nourriture comme un lait cru ou un aliment fermenté (**Shewale et al., 2014**). Les souches probiotiques devrait être non pathogène et non toxique (**Ezema, 2013**), doivent être identifiés au niveau du genre, de l'espèce et de la souche. Il est recommandé d'utiliser une combinaison de techniques phénotypiques et génétiques pour accomplir l'identification, la classification et le typage (**Shewale et al., 2014**).

Les souches probiotiques doit être stables génétiquement, résistante aux phages, viable pendant le traitement et le stockage et ont des bonnes propriétés sensorielles (**Wedajo, 2015**)

II.4. Microorganismes probiotiques

Les genres de bactéries et de champignons qui ont été employés pour leurs propriétés probiotiques sont le plus souvent des espèces de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* et des espèces du genre de *Saccharomyces*, d'autres genres bactérien sont également été étudiés (**Silva et freitas, 2014**).

II.4.1 Genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont des bactéries en forme de bâtonnet phylogénétiquement apparentées au phylum de *Firmicutes*. On les trouve principalement dans les plantes et elles jouent un rôle important, contribuant à l'acidification et à la préservation, au développement des arômes et des textures dans les aliments fermentés, mais les souches probiotiques sont principalement d'origine humaine. Les lactobacilles ont des besoins nutritionnels complexes et sont aérotolérants ou anaérobies (**Malago et al., 2011**). Typiquement, les lactobacilles sélectionnés pour l'application probiotique sont choisis pour leur résistance au passage à travers le tractus gastro-intestinal supérieur (**Floros et al., 2013**). Elles confèrent des bienfaits pour la santé à l'hôte. Les probiotiques exercent leurs effets bénéfiques par le biais de divers mécanismes (**Melgar-lalanne., 2013**). Plusieurs espèces du genre *Lactobacillus* sont utilisées comme probiotiques à savoir :

Lb. acidophilus, *Lb brevis*, *Lb bulgaricus*, *Lb. casei*, *Lb plantarum*, *Lb salivarus*. (**Sanders ,2018 ; Malago et al., 2011**).

II.5. Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé

II.5.1. Cancer du côlon

Les bactéries probiotiques ainsi que les ingrédients alimentaires aident à la détoxification et à la biotransformation des procarcinogènes et des cancérogènes en métabolites moins toxiques, empêchant ainsi la formation de tumeurs. Les souches probiotiques, à savoir les bifidobactéries et les lactobacilles, réduisent l'expression des enzymes métabolisant les xénobiotiques qui interviennent dans la carcinogénèse par diverses enzymes, et diminuent le risque de développement. Les AGCC produits comme métabolites du métabolisme probiotique pourraient inhiber la production de produits cancérogènes et procarcinogènes en abaissant les taux d'enzymes (**Raman et al , 2016**).

II.5.2. Diarrhée

Un certain nombre d'essais cliniques humains *in vivo* ont prouvé l'efficacité des probiotiques dans le traitement et la prévention de nombreuses formes de maladies diarrhéiques telles que la diarrhée à rotavirus, la diarrhée des voyageurs, la diarrhée associée aux antibiotiques (**Sreeja et prajapati., 2013**). La preuve la plus forte d'un effet bénéfique de souches définies de probiotiques a été établie à l'aide de *Lactobacillus rhamnosus* GG et de *Bifidobacterium lactis* BB-12 pour la prévention et le traitement de diarrhée aiguë principalement causée par les rotavirus chez les enfants. Il faut reconnaître que les preuves d'effets thérapeutiques contre *C. difficile* et d'autres troubles ont été obtenus en utilisant certaines souches probiotiques, telles que *L. rhamnosus* GG (**Raman, 2016**) L'effet de *S. boulardii* est associé à sa capacité à neutraliser les cytotoxines produites par *C. difficile*, par la libération d'une protéase capable de dégrader la toxine et son récepteur dans la muqueuse. De plus, *S. boulardii* sécrète un petit peptide, le facteur anti-inflammatoire de *S. boulardii* qui inhibe les voies de signalisation activées par les toxines produites par *C. difficile* (**Sharma et Devi ,2014**).

II.5.3. Syndrome de l'intestin irritable

Les probiotiques peuvent modifier la composition et le métabolisme de la flore résidente, exercer des effets anti-inflammatoires, influencer l'adaptation du système vasculaire intestinal aux conditions changeantes de la muqueuse du côlon et en outre protéger la lumière et la surface de la muqueuse des agents pathogènes (**Watson et freedy, 2010**). *L. plantarum* a des effets bénéfiques pour la santé, y compris la prévention et le traitement du syndrome du côlon irritable (**Le et Yang , 2018**).

II.5.4. Maladie inflammatoire de l'intestin

La maladie inflammatoire de l'intestin (MII) est de plus en plus diagnostiquée dans le monde entier (**Ong et al., 2017**). La maladie comprend deux types principaux. La maladie de Crohn (CD) affecte l'ensemble du tractus gastro-intestinal. La colite ulcéreuse (CU) affecte le côlon et le rectum (**Le et Yang , 2018**). Les probiotiques offrent une alternative en modifiant la flore intestinale par l'exclusion compétitive, par laquelle les probiotiques entrent en compétition avec les pathogènes microbiens pour un nombre limité de récepteurs présents à la surface de l'épithélium; l'immunomodulation et / ou la stimulation d'une réponse immunitaire de cellules lymphoïdes et épithéliales associées à l'intestin, l'activité antimicrobienne et la suppression de la croissance des agents pathogènes, amélioration de la fonction de barrière et l'induction de l'apoptose des cellules T dans le compartiment immun des muqueuses (**Raman et al., 2016**).

II.5.5. Infections à *Helicobacter pylori*

Un nouveau développement pour les applications probiotiques est l'activité contre *Helicobacter pylori*, un agent pathogène à Gram négatif responsable de la gastrite de type B, des ulcères peptiques et du cancer gastrique (**World Health Organization, 2001**). Plusieurs essais cliniques indiquent que l'administration de probiotiques peut réduire les effets secondaires du traitement d'éradication de *H. pylori*, augmenter la tolérabilité et, souvent, augmenter l'efficacité globale (**Raman et al., 2016**). *Lactobacillus paracasei* St11 (ou NCC2461) Nestlé, *Lactobacillus johnsonii* Nestlé peuvent réduire les incidences de la gastrite causée par *H. pylori* (**Kaur et al., 2012**).

II.5.6. Autres effets bénéfiques des probiotiques

De nombreux produits probiotiques sont utilisés par les consommateurs qui se considèrent autrement sains. Ils le font dans l'hypothèse que les probiotiques peuvent conserver leur santé et leur bien-être, et potentiellement réduire leur risque à long terme de maladies des reins, des voies respiratoires et du cœur (**World Health Organization, 2001**). Les probiotiques, y compris les lactobacilles et les bifidobactéries, produisent de la β -D galactosidase, qui digère automatiquement le lactose et améliore la tolérance au lactose. (**Raman et al., 2016**). Les probiotiques peuvent aussi diminuer le risque et les symptômes d'allergies (**Watson et preedy, 2010**), ils ont été utilisés dans l'alimentation entérale pour fournir un soutien nutritionnel aux patients en chirurgie, L'administration orale de *Lb. acidophilus* réduisait le temps de portage chez les enfants et chez les adultes infectés par le VIH, *Salmonella* (**Tapia-Paniagua et al., 2014 ; Ozgun et vural, 2011**). La recherche actuelle suggère l'idée d'utiliser les bactéries lactiques pour fournir une flore intestinale transitoire afin de concurrencer les organismes potentiellement nuisibles prévenir les ulcères de l'estomac, de carie dentaire, l'antagonisme contre les pathogènes, réduit les concentrations sériques de cholestérol, réduit la tension artérielle chez les hypertendus, traite les allergies chez les femmes enceintes et les nouveau-nés, améliore la santé génito-urinaire, optimise effets des vaccins, améliorer l'absorption des minéraux. Les bactéries lactiques ont un potentiel élevé en tant que probiotiques. De nombreuses études soutiennent le résultat, mais il reste beaucoup à explorer. Le remède pour certaines maladies graves qui sont complexes et menace la vie du patient a encore besoin d'autres bactéries lactiques pour servir de probiotiques et guérir la maladie (**Carr et al., 2002 ; Masood et al., 2011**).

III. Matériel et méthodes

III.1. Les souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes testées dans cette étude étaient: *Lactobacillus plantarum* S10 a été isolé du rumen de chèvre et *Lactobacillus plantarum* BCX1 isolée du lait de la chèvre génétiquement identifié par le séquençage du gène de l'ARNr 16S. Des bactéries indicatrices: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont aussi utilisées.

III.2. Méthodes

III.2.1. Tolérance aux acides

La méthode de Tomás *et al.*, (2005) avec des modifications a été utilisée. La tolérance à différentes conditions de pH a été déterminée en utilisant une suspension cellulaire des souches de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1. Ces deux souches ont été cultivées (1%) dans du bouillon MRS à pH 2, pH 3, pH4, pH 5, pH 8 pendant 4 h à 37°C. La densité optique (DO) à 600 nm a été mesurée après 4 h d'incubation à 37 °C. Le MRS à pH 6,2 a été comme témoin. Le pourcentage de tolérance à différentes conditions de pH a été calculé en comparant les valeurs de DO des cultures de bactéries dans le bouillon MRS à pH 2, pH 3, pH 4, pH 5, pH 8 à ceux de bouillon MRS pH 6,2.

$$\text{Le \% de survie} = \frac{\text{DO pH 2,3,4,5 et 8}}{\text{DO MRS 6,2}} \cdot 100.$$

III.2.2. Tolérance aux sels biliaires

Les cultures jeunes des cellules de *Lactobacilles plantarum* S10 et *Lactobacillus plantarum* BCX1 ont été inoculées (0.2%) dans des bouillons MRS avec les sels biliaires à 0,3% (Nous avons préparé ce milieu par l'addition de 0.75g de sel biliaire à 250 ml de Bouillon MRS). Les biomasses bactériennes dans le bouillon de culture ont été mesurées par la lecture de la densité optique (DO) à 600 nm après 4 h d'incubation à 37 °C. Le pourcentage de tolérance aux sels biliaires a été calculé en comparant les valeurs de DO des cultures de bactéries dans le bouillon MRS avec sels biliaires à ceux de bouillon MRS sans sels biliaires (Lin *et al.*, 2007) .

III.2.3. Tolérance au phénol

Les tests de résistance au phénol peuvent générer des informations supplémentaires sur le potentiel de survie des lactobacilles dans les conditions de l'appareil digestif. Pour connaître la capacité des *Lactobacillus plantarum* S10 et *lactobacillus plantarum* BCX1 à croître en présence de phénol en inoculant 1% d'un culture de 18 h dans du bouillon MRS avec et sans 0,4% de phénol testé Les Cellules bactériennes dans le bouillon de culture ont été mesurée par la lecture de la densité optique (DO) à 600 nm après 4 h d'incubation à 37 °C (Ji *et al.*, 2013). .

III.2.4. Études sur la survie dans des conditions gastro-intestinales

III.2.4.1. Résistance au suc gastrique

- Les deux souches de *Lactobacilles plantarum* ont été cultivées dans un bouillon MRS pendant 18 h à 37 ° C.
- Le culot a été récolté par centrifugation à 5000g pendant 10 min lavé deux fois au PBS puis suspendus dans le même tampon «PBS».
- La suspension bactérienne a été inoculée avec (10%) du suc gastrique artificiel pH 2-2.3 est incubée à 37 °C pendant 90 minutes.
- Des dilutions décimales jusqu'à 10^{-10} ont été réalisées puis un dénombrement sur la gélose MRS a été réalisé.
- Les résultats sont exprimés en unités formant des colonies (UFC) par millilitre (UFC / ml) (**De Valdez et Taranto, 2000**).

III.2.4.2. Survie dans la salive artificielle

Des cellules de souches de *Lactobacillus* ont été cultivées pendant 18 h dans un bouillon MRS à 37°C, elles ont été récoltées par centrifugation (5000 g pendant 10), lavées deux fois avec le tampon PBS, et remis en suspension dans le même tampon. Pour étudier la survie *in vitro* dans la salive artificielle, la méthode de Madureira *et al.*, avec des modifications a été utilisé comme suite: 1 ml de chaque suspension bactériennes a été inoculée dans 10 ml de solution d'électrolyte artificiel stérile (SES) en présence de 25 mg / ml de lysozyme et 250 mg / ml d'a-amylase. Le mélange a été incubé dans un bain agitateur à 37 °C pendant 1 h. Délutions jusqu'à 10^{-10} . La numération des cellules viables est réalisée sur milieu MRS et les résultats sont exprimés en UFC/ml (**Melgar-Lalanne *et al.*, 2013**).

III.2.4.3. La survie dans les conditions de l'iléon et du duodénum

La simulation de l'iléon et du duodénum a été réalisée en utilisant la procédure de Madureira *et al.*, avec quelques modifications. Des cellules bactériennes ont été cultivées pendant une 18h/ 37° C) dans un bouillon MRS à 37 ° C, récoltées par centrifugation (5000g pendant 10) et lavées deux fois avec le tampon PBS et suspendu dans le même tampon .1ml de la suspension bactérienne a été inoculée dans 10 ml du duodénum simulé et 1ml dans 10 ml de l'iléon simulé. Les mélanges ont été incubés dans un bain d'agitation à 37 °C et sous agitation orbitale pendant 1h pour simuler le péristaltisme intestinal. Des numérations microbiennes à 0 et après 1h dans la simulation du duodénum et de l'iléon ont été effectuées sur gélose MRS (24 h, 37 ° C) (**Melgar-Lalanne *et al.*,2013**). .

III.2.5. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne a été effectuée en utilisant la méthode de diffusion en puits décrite par Garriga et al. et Touré et al., Le surnageant de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1 est obtenu par centrifugation 6000xg pendant 10 minutes, l'activité antibactérienne du surnageant natif (pH 5,3), neutralisé (pH 7) et surnageant additionné de catalase (1mg/ml) a été réalisée. Les bactéries pathogènes utilisées comme espèces cibles sont *E.coli* et *Staphylococcus aureus*, l'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition des zones d'inhibition au tours du puit (**Lin et al., 2007**).

III.2.6. Autoagrégation

L'étendue de l'auto-agrégation a été évaluée selon la technique utilisée par **Tomás (2005)**. Brièvement, des cultures de *Lactobacillus plantarum* S10 et *Lactobacillus plantarum* BCX1 cultivées pendant 24 h à 37 °C, ont été centrifugées (6000 g, 15 min), lavées deux fois avec du tampon PBS et remis en suspension dans le même tampon «PBS». La DO a été ajusté à 0.6 ± 0.05 à 600 nm. La variation de DO à 600 nm de suspensions cellulaires a été contrôlée après 4 heures d'incubation sans agitation.

Le pourcentage d'auto agrégation est calculé comme suite:

$$\text{Auto-agrégation (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{initial}} - \text{OD}_{\text{final}}}{\text{OD}_{\text{initial}}} \cdot 100 \text{ (Tomás, 2005).}$$

III.2.7. Coagrégation

Pour étudier la coagrégation de *Lactobacillus plantarum* S10 avec des bactéries pathogènes *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* et *Staphylococcus aureus*. *Lactobacillus plantarum* S10 inoculé dans le bouillon MRS pendant 24 h à 37 °C et les bactéries pathogènes *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* et *Staphylococcus aureus* inoculés dans le bouillon nutritif pendant 24 h à 37 °C, les cultures centrifugées (6000 g, 15 min) et lavées avec du PBS et remises en suspension dans le même tampon «PBS». La DO a été ajusté à 0.25 ± 0.05 à 600 nm pour les souches pathogènes et bactéries lactique. Des volumes égaux (1 ml) de chaque suspension cellulaire de bactéries pathogène et de la souche *Lactobacillus plantarum* S10 ont été mélangés, et incubés pendant 4 h à température ambiante puis la DO de la mixture est mesuré (**Osmanagaoglu et Ataoglu., 2010**). La coagrégation (%) a été calculée selon l'équation suivant :

$$[(A_p + A_{Lb}) / 2 - (A_{\text{mix}}) / (A_p + A_{Lb})] / 2 \cdot 100 \text{ (Lin et al., 2007).}$$

III.2.8. Hydrophobicité

L'hydrophobicité a été déterminée selon la méthode utilisée par **Melgar-Lalanne et al (2013)**. Des cultures de *Lactobacillus plantarum* S10 et de *Lactobacillus plantarum* BCX1 cultivées pendant

24 h à 37 °C, centrifugées à 6000xg pendant 10 minutes, lavée deux fois par le PBS et remise en suspension dans le même tampon PBS. L'absorbance initiale de la suspension de cellules a été ajustée à environ 1,0 à 450 nm, puis on a mélangé 3 ml de suspension bactérienne avec 0,6 ml de Chloroforme, de l'éthyle acétate et de xylène séparément. Les suspensions ont été vortexées pendant 2 minutes. Après 15 min de repos, la phase aqueuse a été soigneusement prélevée avec une pipette Pasteur et l'absorbance finale (OD_{finale}) a été mesurée. La diminution de l'absorbance a été prise comme une mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire,

% Hydrophobicité calculée selon l'équation suivante :

$$\%H = \frac{OD_{\text{initial}} - OD_{\text{final}}}{OD_{\text{initial}}} \cdot 100 \text{ (Melgar-Lalanne et al ., 2013)}.$$

III.2.9. Test de β -galactosidase

Lactobacillus plantarum S10 et *Lactobacillus plantarum* BCX1 inoculées dans un bouillon MRS après un période d'incubation à 37 ° C pendant 18 h, centrifugées à 5000g pendant 10 min lavé deux fois par le Phosphate Buffered Saline puis suspendu dans le même tampon «PBS» . A ces suspensions des disques d'Ortho-nitro-phényl- β -galactoside (ONPG) ont été ajoutés puis incubé à 37 ° C pendant 24 h. Une coloration jaune indique la libération d'o-nitrophénol et représente un résultat positif pour la production de β -galactosidase (Jeronymo-Ceneviva, 2014).

VI. Résultats et discussions

VI.1. Détermination de la tolérance aux acides

Une souche idéale avec un potentiel probiotique devrait résister à des conditions difficiles parmi ces conditions l'acidité tout au long de tractus gastro-intestinal de l'hôte ce qui permet à exercer leur effet bénéfique.

Nos résultats (**Figure 02**) ont montre que la souche de *Lactobacillus plantarum* S10 avait une bonne tolérance à une large gamme de valeurs de pH après 4 h d'incubation, le pourcentage de survie de cette souche dépasse à différent valeur de pH utilisé 70% (pH 2 ; 4 ; 5 ; 8) à l'exception de pH 3,0 (45%), elle présente un taux de survie maximal 80% à pH 2 qui représente donc la valeur de pH optimale requise pour la croissance de *Lactobacillus plantarum* S10.

D'autre part (**Figure 03**), la souche de *Lactobacillus plantarum* BCX1 a présente un taux survie variable des valeurs très faibles 7,44% ; 11,46% ; 27,28% à pH 2 ; 4 ; 5 respectivement, à des valeurs très élevées 92,92% ; 74,50% à pH 3 ; 8 respectivement. Donc la souche S10 présente une meilleure tolérance aux acides.

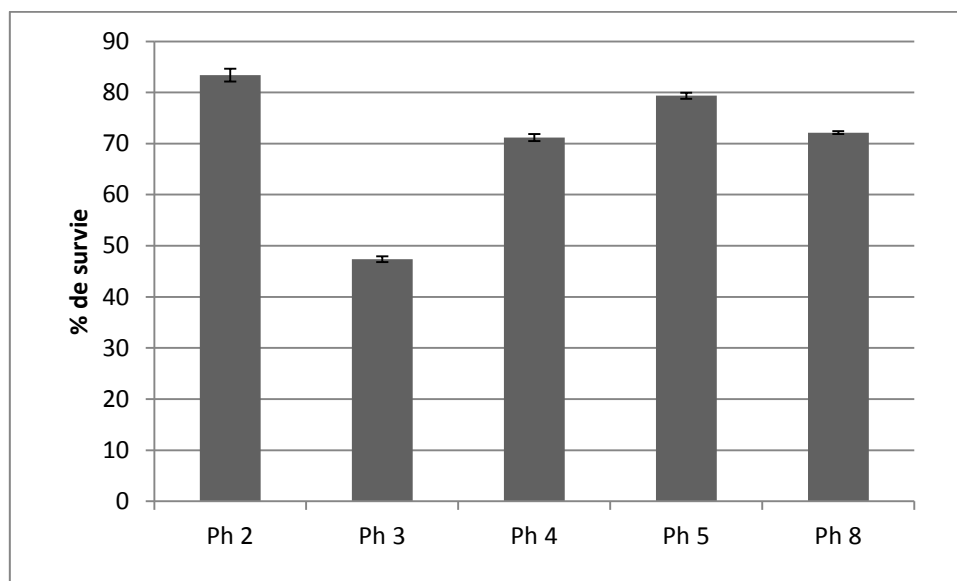


Figure 02: Effet de l'acidité pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 8 sur la survie de *Lb. plantarum* S10.

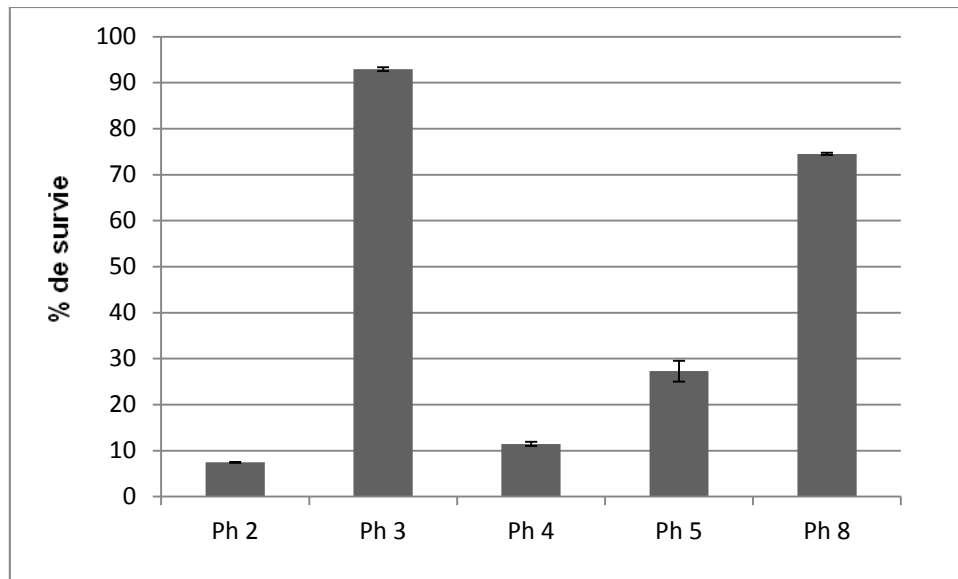


Figure 03: Effet de l'acidité pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 8 sur la survie de *Lb. plantarum* BCX1.

La variabilité de survivre des souches de *Lactobacillus plantarum* à pH 2 ; 3 ; 4 ; 5, suggère que la tolérance à l'acide d'une souche de bactéries lactiques est spécifique à la souche et que les valeurs de pH de 2 et 3 pourraient être considérées comme critiques pour la sélection des probiotiques (Liu H. *et al.*, 2011).

Selon Ljungh et Wadström, (2006) la tolérance aux acides peut être médiée par des ATPases membranaires comme décrit pour *L. acidophilus*, *B. lactis* et *B. animalis*.

Et selon Ji *et al.*, (2013), la capacité de survie dans des conditions physiologiques typiques du tractus gastro-intestinal supérieur est essentielle pour la sélection des bactéries en tant que probiotiques potentiels.

L'effet des bactéries lactiques dans l'intestin exige que les bactéries ou au moins leurs enzymes survivent au contenu gastrique acide et sont actives après le passage de l'estomac. Des études portant sur des bactéries lactiques administrées par voie orale ont démontrées que les taux de bactéries lactiques dans l'intestin grêle augmentent de façon significative après l'ingestion (Hove *et al.*, 1999).

VI.2. Résistance au phénol

Certains acides aminés aromatiques dérivés de protéines alimentaires ou endogènes peuvent être désaminés dans l'intestin par des bactéries conduisant à la formation de phénols. Ces composés peuvent exercer un effet bactériostatique contre certaines souches de *Lactobacillus*. Ainsi, la recherche de la résistance au phénol peut générer d'autres

informations sur le potentiel de survie des lactobacilles dans les maladies gastro-intestinales (Ji Y. *et al* 2013).

Nos résultats (**Figure 04**) ont montré, en général, que les des souches ont poussé en présence de 0,4% phénol donc les deux souches de *Lactobacillus plantarum* S10 et de *Lactobacillus plantarum* BCX1 sont résistante au phénol et par un taux de survie presque de même niveau 12,28% et 19,10% respectivement.

Ji Y.*et al* (2013) ont trouvé que toutes les souches testée ont poussées en présence de 0,4% de phénol pendant l'incubation pendant 24 h bien que la croissance en présence de phénol était inférieure de 1,6 log UFC de *L. plantarum* CJLP136 et de 0,4 log de *Leuconostoc. Citreum* CJGN34.

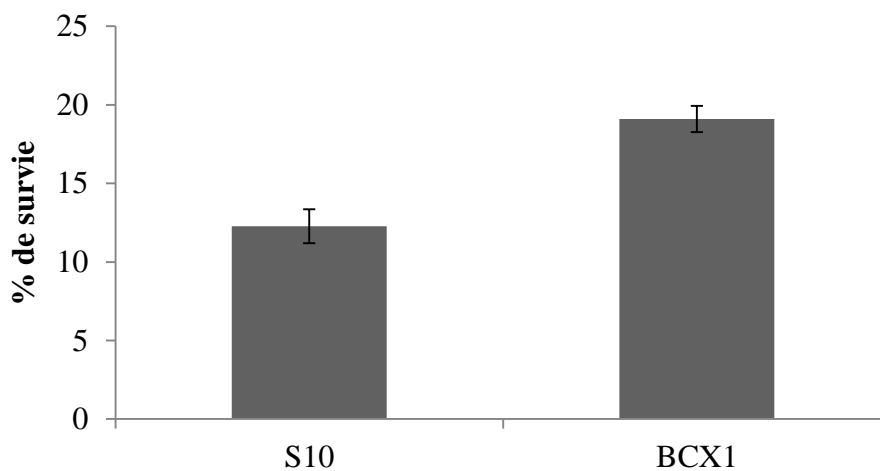


Figure 04: Pourcentage de survie de *Lb. plantarum* S10 et de *Lb. plantarum* BCX1 dans 0,4% du phénol.

VI.3. Résistance aux sels biliaire

Les conditions défavorables de l'intestin grêle incluent la présence de sels biliaires et de pancréatine. Le temps de transit des aliments dans l'intestin grêle est généralement compris entre 1 et 4 h et le pH de l'intestin grêle est d'environ 8,0. La bile dans l'intestin des animaux est également un facteur important qui affecte la viabilité des cellules de bactéries lactiques. Les bactéries lactiques résistant aux sels biliaires peut être sélectionnées en testant leur capacité de survie en présence de sel biliaire (Liu *et al.*, 2010 ; Lin *et al.*, 2007).

On trouve que les deux souches ont présenté une résistance aux sels biliaries par un taux de 10,56 %; 16,02% pour *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 respectivement, la souche *Lb. plantarum* BCX1 est la plus résistante (**Figure 05**).

Selon **Tomás *et al.*, (2005)** la résistance à la bile varie largement entre les souches de lactobacilles.

Sharafi *et al.* (2013) ont montré que la souche *Lb. plantarum* HK01 a été capable de mieux survivre au passage simulé du duodénum de l'estomac (incubation de 1,0 h à pH 2,5 en présence de bile à 3 g / L).

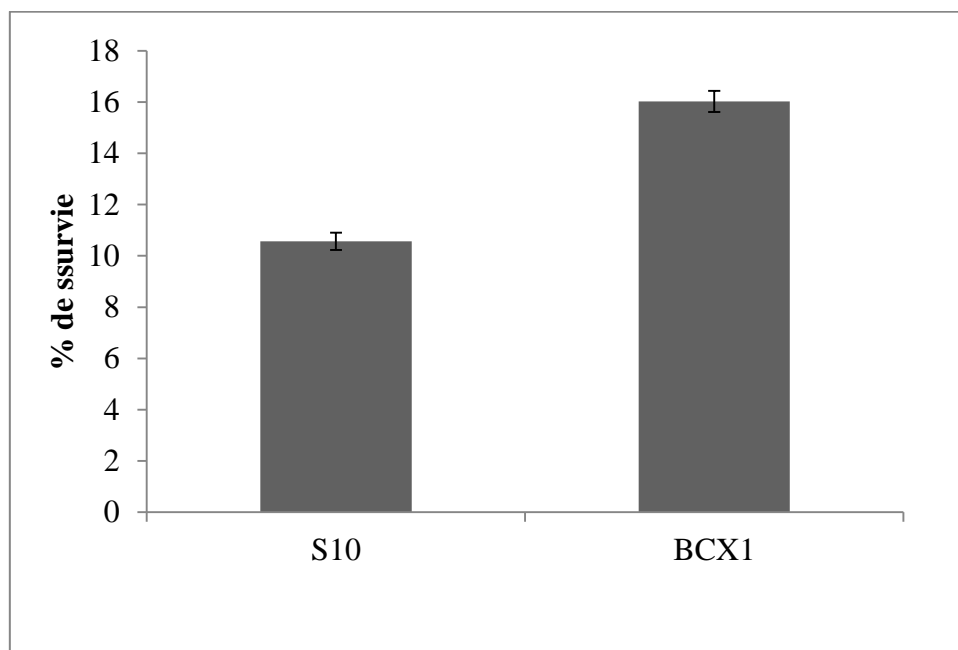


Figure 05: Pourcentage de survie de *Lb. plantarum* S10 et de *Lb. plantarum* BCX1 dans 0,3% de sels biliaries.

VI.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des souches

L'une des principales propriétés probiotiques des bactéries lactiques probiotique est son effet inhibiteur sur la croissance des bactéries pathogènes en sécrétant des substances extracellulaires ont des effets soit bactériostatiques ou bactéricides. Les bactéries pathogènes utilisées comme indicateur incluent les bactéries Gram négatif, telle que *E. coli* et Gram positif comme *S. aureus*.

D'après les résultats illustrées dans **le tableau 02** on remarque que les deux souches *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 ont présenté une activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli* et seulement *Lb. plantarum* S10 le possède vis-à-vis *Staphylococcus* due à la

production d'acide ; H₂O₂ et les bactériocines qui ont présente une inhibition à l'égar du pathogène gastro-intestinal.

La même activité est remarquée pour le surnageant de culture dans MRS neutralisé (pH 7) contre *E. coli* et *Staphylococcus* mais cette fois l'agent bactéricide c'est le peroxyde dihydrogène (H₂O₂) et les bactériocines.

Dans le cas de surnageant de culture dans MRS avec le catalase (afin d'éliminer le peroxyde d'hydrogène accumulé dans le milieu de culture) nos résultats ont montré que l'activité antibactérienne souches *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 due aux autres molécules autre que l'H₂O₂ qui sont des protéines de type bactériocine et l'acide. Les bactériocines sont des peptides antibactériens. Elles présentent un spectre d'activité étroit envers des espèces pathogènes.

Mezaini et al., (2009) ont montré que inhibition des souches Gram-positif par les bactériocines est étroitement apparentée comme *Listeria innocua* et *Enterococcus faecalis* et l'activité contre les Gram négatif était rarement rapportée pour la bactériocine, selon **Labioui et al., (2005)**, les bactéries Gram+ sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques. Les bactériocines sont surtout actives sur les pathogènes à Gram+ et agissent en formant des pores dans la membrane cytoplasmique qui entraînent des perturbations des fonctions cellulaires, et trouvais que des souches de bactéries lactiques appartiennent aux genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* présentent une forte activité antibactérienne contre *Escherichia Coli* ATCC25921. Aucune activité inhibitrice n'a été observée contre *Staphylococcus* par *Lb. plantarum* BCX1 dans les trois cas donc elle est résistante pour ces trois inhibiteurs.

Tableau 02: Zones d'inhibition en mm de *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 contre chaque pathogène indicateur.

Souches	<i>Lb. plantarum</i> S10			<i>Lb. plantarum</i> BCX1		
	MRS N	Ph=7	catalase	MRS N	Ph=7	catalase
E. coli	9 mm	8 mm	9 mm	12 mm	9 mm	9 mm
Staphylococcus	8 mm	8 mm	8 mm	-	-	-

MRS N: MRS native pH 5, 3.

- : Absence de zone d'inhibition.

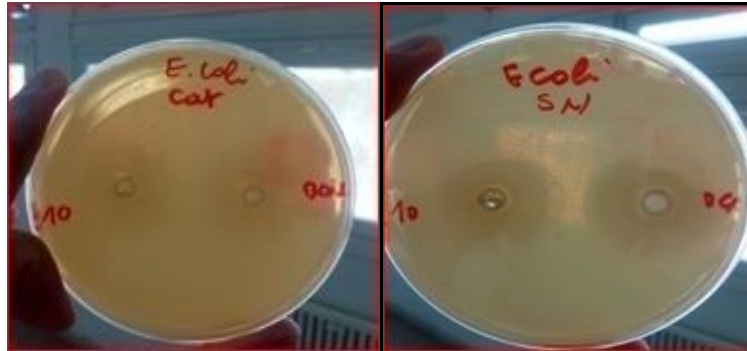


Figure 06 : Zones d'inhibition en mm de *Lb. plantarum* S10 et de *Lb. plantarum* BCX1 contre *E. coli*.

VI.5. Etude de survie dans le tractus gastro-intestinal simulée

Les résultats de dénombrement de *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 dans des milieux simulant aux tractus gastro-intestinal (**Tableau 03**) montre que il y a une réduction de nombres de cellules viables après 1 h d'incubation pour les deux souches. *Lb. plantarum* S10 a présenté une bonne tolérance au duodénum simulé (pH 5) et une faible tolérance au iléon (pH 6,5) alors que *Lb. plantarum* BCX1 présent une bonne tolérance au Suc gastrique (pH 3) et une faible tolérance au duodénum (pH 5) ces résultats sont confirmés par celle de résistance à l'acidité où on trouve que *Lb. plantarum* S10 est plus résistance à pH 5 que *Lb. plantarum* BCX1.

La viabilité de deux souches viables à la salive simulée due à leur résistance aux enzymes buccaux (lysozyme et α -amylase).

Tableau 03: Résultat de dénombrement de *Lb. plantarum* S10 et de *Lb. plantarum* BCX1 dans des milieux simulant aux tractus gastro-intestinal :

	Salive	Suc gastrique	duodénum	Iléon
<i>Lb. plantarum</i> S10	T ₀ :468.10 ⁸ UFC/ml	T ₀ :296.10 ¹⁰ UFC/ml	T ₀ :28.10 ¹⁰ UFC	T ₀ :25.10 ⁹ UFC/ml
	T ₁ :18.10 ⁸ UFC/ml	T ₁ :5.10 ⁸ UFC/ml	T ₁ :16.10 ¹⁰ UFC/ml	T ₁ :1280.10 ⁵ UFC/ml
<i>Lb. plantarum</i> BCX1	T ₀ :28.10 ⁷ UFC/ml	T ₀ :232.10 ⁶ UFC/ml	T ₀ :1110 ⁸ UFC/ml	T ₀ :7.10 ⁷ UFC/ml
	T ₁ :4.10 ⁴ UFC/ml	T ₁ :72.10 ⁶ UFC/ml	T ₁ :204.10 ⁶ UFC/ml	T ₁ :320.10 ⁵ UFC/ml

T₁:Temps d'incubation 1h.

Liu et al., (2011) ont trouvé que lorsque le suc gastrique simulé était à pH 2,0, deux souches de *Lactobacillus plantarum* ont montré une réduction progressive de la viabilité pendant 240 min de transit gastrique simulé. *Lb. plantarum* était particulièrement affectée, perdant environ 20% de viabilité après 240 min de transit gastrique simulé.

Lorsque le suc gastrique simulé était à pH 3,0 et 4,0, les deux souches ont maintenu un niveau de viabilité similaire (ne diminuant que légèrement) au cours du transit gastrique simulé qui a duré jusqu'à 240 min.

Les résultats de **Lin et al., (2007)** ont montré que la plupart des souches de *Lb. fermentum* sont stables en présence en milieu acide. Les numérations bactériennes viables dans le mélange pour ces souches de bactéries lactiques ont changé de façon insignifiante après 1 h d'incubation dans l'extrait de gésier de volaille à pH 2,6 ou dans le suc gastrique de porc à pH 3,2.

VI.6. Hydrophobicité

La caractéristique d'une surface bactérienne est l'une des propriétés *in vitro* importante pour la sélection des probiotiques. Des propriétés de surface bactériennes ont été associés à la fixation à une variété de substrat, qui à son tour est associée à l'hydrophobicité. L'adhésion bactérienne peut également déterminer la capacité de colonisation d'un micro-organisme. Grâce à la capacité d'adhésion et à la colonisation des tissus, les microorganismes

probiotiques peuvent empêcher l'accès aux agents pathogènes par des interactions stériques ou un blocage spécifique des récepteurs cellulaires (Aswathy *et al.*, 2008).

Selon Melgar-Lalanne *et al.*, (2013), les différents solvants testés, le xylène reflète l'hydrophobicité de la surface cellulaire alors que le chloroforme - un solvant acide monopolaire et l'éthyle acétate un solvant basique monopolaire sont respectivement considérés comme donneur d'électrons et accepteur d'électrons. Lin *et al.*, (2007) ont démontré que la surface cellulaire hydrophobe a une forte adhérence au xylène.

D'après les résultats présentés dans la figure 06, le pourcentage d'hydrophobicité obtenu pour *Lb. Plantarum* BCX1 et *Lb. plantarum* S10 à la présence de xylène était plus élevé (86,47%, 77,225% respectivement) donc on déduit que la surface de ces souches est hydrophobe.

Le pourcentage d'hydrophobicité enregistré pour les deux souches de *Lb. plantarum* était élevé au présence de chloroforme (93.29%, 56.61%. respectivement) plus que en présence d'éthyle acétate (52.425%,10.925%). Donc la surface de ces souches est de caractère acide.

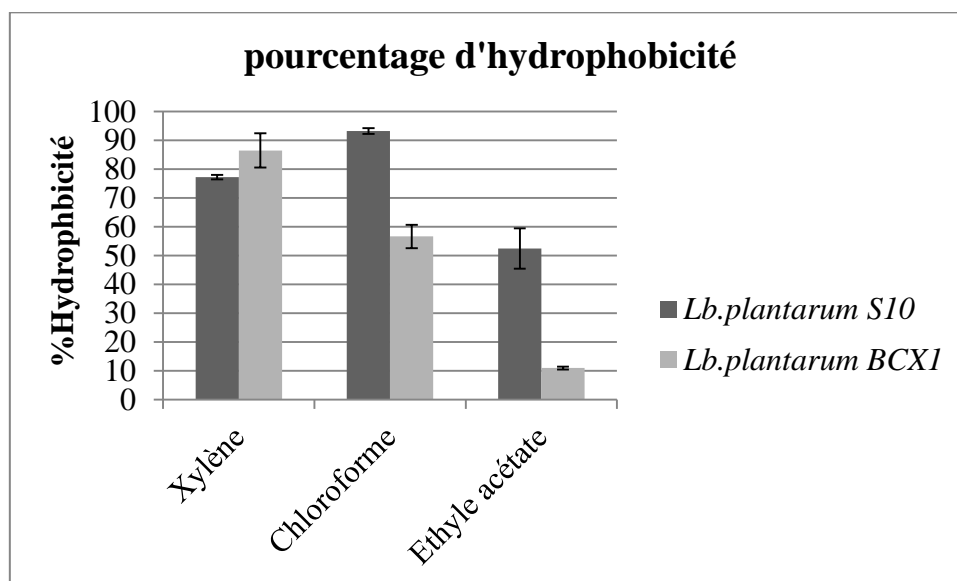


Figure 07: Pourcentages d'affinité de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1.

VI.7. Autoagrégation

La capacité des souches à s'auto-agréger est considérée comme une condition préalable à l'adhésion des cellules bactériennes aux cellules épithéliales de l'intestin (Osmanagaoglu *et al.*, 2013). Des études ont montré que les capacités d'agrégation de

bactéries lactiques pourraient leur permettre de former une barrière qui empêche la colonisation de bactéries pathogènes (Azat *et al.*, 2016). En plus, l'adhésion à la muqueuse intestinale est très importante pour que les micro-organismes survivent et se multiplient dans l'hôte (Jeronymo-Ceneviva *et al.*, 2014). Selon les résultats de Lin *et al.*, (2007) les capacités d'autoagrégation des souches probiotiques augmentent après 20-24 h d'incubation à 37 ° C.

La figure 08 représente la capacité d'autoagrégation des souches bactériennes *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 après 4h d'incubation. Le faible pourcentage d'autoagrégation pour *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 étaient de 4.3% et 4,8 % respectivement. Ces deux souches bactériennes ont montrée presque la même capacité d'agrégation. Donc ces souches ont la capacité d'adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin. Nous avons atteint que la capacité d'autoagrégation de nos souches est faible et ça due peut être aux temps d'incubation qui est court.

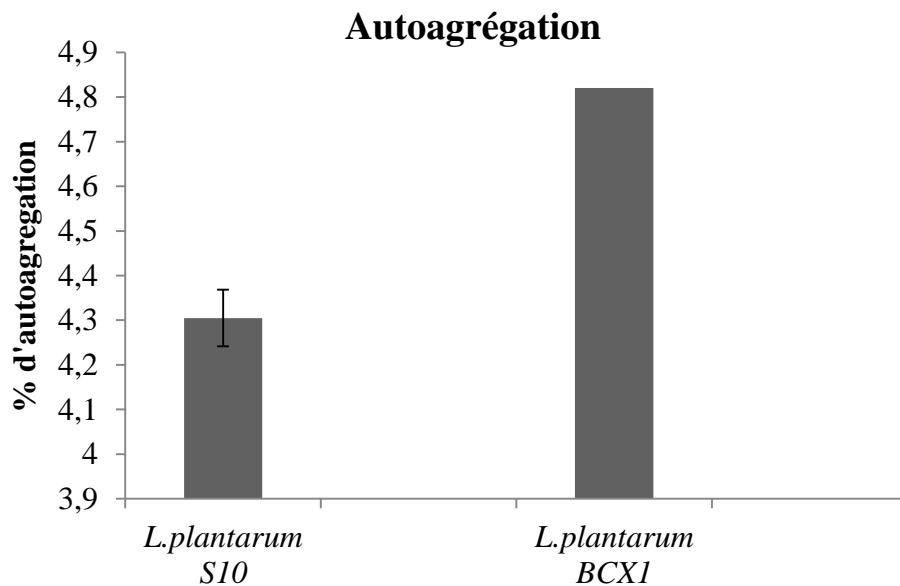


Figure 08 : Pourcentages d'Autoagrégation de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1.

VI.8. Coagrégation

Il a été suggéré que les micro-organismes probiotiques qui ont la capacité de co-agrégation avec des bactéries pathogènes peuvent mieux les tuer, car ils peuvent produire des substances antimicrobiennes à proximité d'eux. Il a été suggéré que les mécanismes de co-agrégation, entre les pathogènes et les souches probiotiques, pourraient être impliqués dans la réduction de l'adhésion du pathogène au mucus (Osmanagaoglu *et al.*, 2010).

Lactobacillus plantarum S10 a montré la capacité d'agrégation avec *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Staphylococcus aureus* où le pourcentage le plus élevé a été enregistré avec *E.coli* (67,27%). *Lactobacillus plantarum* S10 a présenté un pourcentage de coagrégation égale 56,20% avec *Pseudomonas aeruginosa* et 49,86% avec *Staphylococcus aureus*. La meilleure capacité de coagrégation a été enregistrée avec *E. coli*.

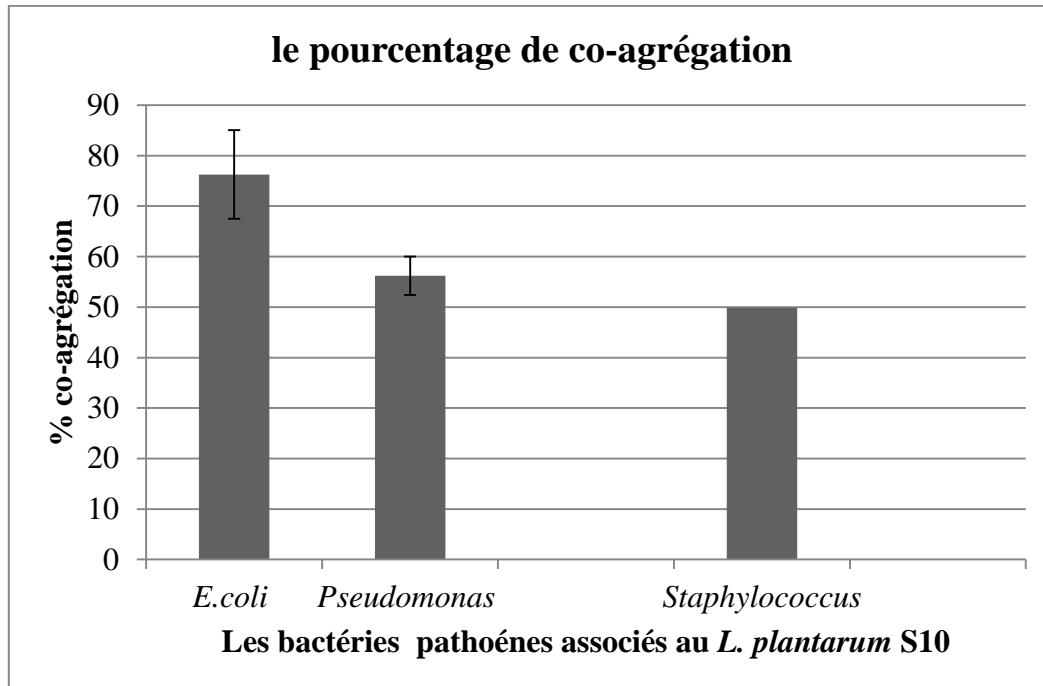


Figure 09 : Pourcentages de la coagrégation de *Lactobacillus plantarum* S10 et BCX1 avec *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* .

VI.9. Test de β -galactosidase

La β -galactosidase hydrolyse le lactose en glucose et en galactose et catalyse également la synthèse de différents galactosides. En ce qui concerne les problèmes de la santé, un grand nombre de population dans le monde souffre d'un syndrome d'intolérance au lactose après consommation de lait en raison d'une quantité insuffisante de β -galactosidase dans l'intestin grêle pour hydrolyser le lactose disaccharide.

La production de β -galactosidase apportée par des souches probiotiques a été proposée pour soulager les symptômes d'intolérance au lactose et serait présente dans de nombreuses souches probiotiques (Melgar-Lalanne *et al.* , 2013).

Des résultats positifs ont été enregistrés pour les deux souches de *Lactobacillus plantarum* (coloration jaune) (Figure10). Donc les deux souches bactériennes ont

hydrolysées l'ONPG l'anaologue de lactose en ONP ce dernier étant un composé jaune. Ça montré que ces souches ont la capacité de synthétiser β -galactosidase en présence de l'ONPG.



Figure10 : Résultat de β -galactosidase

Conclusion

Notre travail avait comme objectif l'étude des propriétés probiotiques de *Lactobacillus plantarum* S10 et *Lactobacillus plantarum* BCX1 isolés de lait et rumen de la chèvre.

Nous avons étudié la tolérance des souches *Lb. plantarum* S10 et *Lb. plantarum* BCX1 aux acides, aux sels biliaire ; et au phénol comme nous avons également étudié la survie de ces souches dans les conditions gastro-intestinales par la Simulation *in vitro* du salive, du suc gastrique, de l'iléon et duodénum. La méthode de diffusion de puits a été choisie pour l'activité antibactérienne.

L'autoagrégation, coagrégation et l'hydrophobicité de deux souches de *Lactobacillus plantarum* et le teste de β -galactosidase ont été testé.

Les résultats obtenus à partir de notre travail expérimental nous permet de fournir une idée sur les propriétés probiotiques de *Lactobacillus plantarum* S10 et *Lactobacillus plantarum* BCX1 ,nos souches ont la capacité de résister au acides ,au sels biliaire ; aux phénol aux suc gastrique, et même au condition gastro-intestinale, ces deux souches avait un pouvoir faible d'autoagrégation mais leur pouvoir d'hydrophobicité était important et ils ont la capacité de se lier avec des bactéries pathogènes.

Références bibliographiques

- Aswathy, R. G., Ismail, B., John, R. P., Nampoothiri, K. M. (2008).** Evaluation of the probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria. *Applied biochemistry and biotechnology*, 151(2-3), 244-255.
- Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D. B., Zhou, W. W., & Zheng, X. D. (2016).** Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 17(8), 597-609.
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012).** Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002).** The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- De Valdez, G. F., & Taranto, M. P. (2000).** Probiotic properties of lactobacilli: cholesterol reduction and bile salt hydrolase activity. *Food microbiology protocols*, 173-181.
- Desmazeaud, M. (1983).** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le lait*, 63(629-630), 267-316.
- Dortu, C., & Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires/Bacteriocins from lactic acid bacteria: interest for food products biopreservation. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 143.
- Ezema, C. (2013).** Probiotics in animal production: A review. *Journal of veterinary medicine and animal health*, 5(11), 308-316.
- Fessard, A., & Remize, F. (2017).** Why Are Weissella spp. Not Used as Commercial Starter Cultures for Food Fermentation?. *Fermentation*, 3(3), 38.
- Floros, G., Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Tzanetakis, N. (2013).** Probiotic and technological properties of facultatively heterofermentative lactobacilli from Greek traditional cheeses. *Food Biotechnology*, 26(1), 85-105.

Ghozlane, D. (2012). *Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle)* (Doctoral dissertation).

Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley & Sons.

Hotel, A. C. P., Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Prevention*, 5(1), 1-34.

Hove, H., Nørgaard, H., & Mortensen, P. B. (1999). Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 339.

Jeronymo-Ceneviva, A. B., de Paula, A. T., Silva, L. F., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., & Penna, A. L. B. (2014). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo mozzarella cheese. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 6(3-4), 141-156.

Ji, Y., Kim, H., Park, H., Lee, J., Lee, H., Shin, H., ... & Holzappel, W. H. (2013). Functionality and safety of lactic bacterial strains from Korean kimchi. *Food control*, 31(2), 467-473.

Kaur, M. S., Pannu, P. K., & Galhotra, V. (2012). Probiotics—A new way to maintain oral health. *Indian Journal of Dentistry*, 3(2), 77-80.

Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International journal of Biosciences*, 1(3), 1-13.

Kitazawa, H., Villena, J., & Alvarez, S. (Eds.). (2013). *Probiotics: immunobiotics and immunogenics*. CRC Press.

Konings, W., Kuipers, O., & Kuipers, O. P. (Eds.). (1999). *Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications*. Springer Science & Business Media.

Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M., & Ouhssine, M. (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *BULLETIN-SOCIETE DE PHARMACIE DE BORDEAUX*, 144(3/4), 237.

Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & von Wright, A. (Eds.). (2011). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC Press.

- Le, B., Yang, S. H. (2018).** Efficacy of *Lactobacillus plantarum* in prevention of inflammatory bowel disease. *Toxicology reports*, 5, 314-317.
- Leroi, F. (2009).** Bactéries lactiques et applications alimentaires. Partie 2: les produits de la mer.
- Lin, W. H., Yu, B., Jang, S. H., & Tsen, H. Y. (2007).** Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*, 13(3-4), 107-113.
- Liu, H., Xu, W., Luo, Y., Tian, H., Wang, H., Guo, X., ... & Huang, K. (2011).** Assessment of tolerance to multistresses and in vitro cell adhesion in genetically modified *Lactobacillus plantarum* 590. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 99(3), 579-589.
- Ljungh, A., & Wadstrom, T. (2006).** Lactic acid bacteria as probiotics. *Current issues in intestinal microbiology*, 7(2), 73-90.
- Loubière, P., Novak, L., Coccagn-Bousquet, M., & Lindley, N. D. (1996).** Besoins nutritionnels des bactéries lactiques: interactions entre flux de carbone et d'azote. *Le lait*, 76(1-2), 5-12.
- Malago J. J ., Jos F. J. G. Koninkx R. Marinsek-Logar., (2011).** Probiotic Bacteria and Enteric Infections: Cytoprotection by Probiotic Bacteria. *Gastroenterology*, 141(5), 1948.
- Masood, M. I., Qadir, M. I., Shirazi, J. H., & Khan, I. U. (2011).** Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Critical reviews in microbiology*, 37(1), 91-98.
- Melgar-Lalanne, G., Rivera-Espinoza, Y., Méndez, A. I. R., & Hernández-Sánchez, H. (2013).** In Vitro evaluation of the probiotic potential of halotolerant lactobacilli isolated from a ripened tropical Mexican cheese. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 5(4), 239-251.
- Mezaini, A., Chihib, N. E., Dilmi Bouras, A., Nedjar-Arroume, N., & Hornez, J. P. (2009).** Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Journal of environmental and public health*, 2009.
- Mozzi, F., Raya, R. R., & Vignolo, G. M. (2010).** Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, chapter 18, Graciela L. Garrote, *Anal í a G. Abraham, Graciela L. De Antoni, Microbial Interactions in Kefir: A Natural Probiotic Drink*, 327-340.

- Ong, F., Lee, W. S., Lin, C., Ng, R. T., Wong, S. Y., Lim, S. L., ... & Aw, M. (2017).** Complementary and alternative medicine (CAM) practices and dietary patterns in children with inflammatory bowel disease in Singapore and Malaysia. *Pediatrics & Neonatology*.
- Osmanagaoglu, O., Kiran, F., & Ataoglu, H. (2010).** Evaluation of in vitro probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF isolated from human breast milk. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 2(3), 162-174.
- Otles, S. (Ed.). (2013).** *Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health*. CRC Press.
- Ozgun, D., & Vural, H. C. (2011).** Identification of *Lactobacillus* strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrum by API 50 CHL system. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(3), 46-49.
- Pelinescu, D. R., Sasarman, E. L. E. N. A., Chifiriuc, M. C., Stoica, I. L. E. A. N. A., Nohit, A. M., Avram, I. O. N. E. L. A., ... & Dimov, T. V. (2009).** Isolation and identification of some *Lactobacillus* and *Enterococcus* strains by a polyphasic taxonomical approach. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(2), 4225-4233.
- Pot, B., Devriese, L. A., Hommez, J., Miry, C., Vandemeulebroecke, K., Kersters, K., & Haesebrouck, F. (1994).** Characterization and identification of *Vagococcus fluvialis* strains isolated from domestic animals. *Journal of Applied Microbiology*, 77(4), 362-369.
- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014).** Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(18), 1765.
- Raman, M., Ambalam, P., Doble, M. (2016).** *Probiotics and Bioactive Carbohydrates in Colon Cancer Management*. Springer.
- Ringø, E., & Gatesoupe, F. J. (1998).** Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160(3-4), 177-203.
- Salminen, S., & Von Wright, A. (Eds.). (2004).** *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Vol. 139). CRC Press.
- Salvetti, E., Torriani, S., & Felis, G. E. (2012).** The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4(4), 217-226.

Sanders, M. E., Benson, A., Lebeer, S., Merenstein, D. J., & Klaenhammer, T. R. (2018). Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims. *Current opinion in biotechnology*, 49, 207-216.

Savadogo, 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.

Sharafi, H., Alidost, L., Lababpour, A., Zahiri, H. S., Abbasi, H., Vali, H., & Noghabi, K. A. (2013). Antibacterial activity of probiotic *Lactobacillus plantarum* HK01: effect of divalent metal cations and food additives on production efficiency of antibacterial compounds. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 5(2), 121-130.

Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkar, C. D., & Singh, A. (2014). Selection criteria for probiotics: a review. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 9(1/2), 17.

Silva, J. P. S., Freitas, A. C. (Eds.). (2014). *Probiotic bacteria: fundamentals, therapy, and technological aspects*. Crc Press.

Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., Thaker, V. (2011). Probiotics: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S287-S290.

Sreeja, V., & Prajapati, J. B. (2013). Probiotic formulations: Application and status as pharmaceuticals—A review. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 5(2), 81-91.

Tabak, S., & Bensoltane, A. (2012). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. *Nature & technologie*, (06), 71-73.

Tamime, A., (2005)., Probiotic Dairy Products .Blackwell Publishing Ltd .

Tapia-Paniagua, S., Lobo, C., Moreno-Ventas, X., de la Banda, I. G., Moriñigo, M. A., & Balebona, M. C. (2014). Probiotic supplementation influences the diversity of the intestinal microbiota during early stages of farmed Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Marine biotechnology*, 16(6), 716-728.

Thitaram, S. N., Siragusa, G. R., & Hinton, A. (2005). *Bifidobacterium*-selective isolation and enumeration from chicken caeca by a modified oligosaccharide antibiotic-selective agar medium. *Letters in applied microbiology*, 41(4), 355-360.

Todorov, S. D., & Franco, B. D. G. D. M. (2010). *Lactobacillus plantarum*: Characterization of the species and application in food production. *Food reviews international*, 26(3), 205-229.

Tomás, J., Wiese, B., & Nader-Macías, M. E. (2005). Effects of culture conditions on the growth and auto-aggregation ability of vaginal *Lactobacillus johnsonii* CRL 1294. *Journal of applied microbiology*, 99(6), 1383-1391.

Watson, R. R., & Preedy, V. R. (2010). *Bioactive foods in promoting health: Probiotics and prebiotics*. Academic Press.

Wedajo, B. (2015). Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. *J Prob Health*, 3(2).

Wiley, J., Canada.S.,(2008)., Probiotic Rescue. How You Can Use Probiotics to Fight Cholesterol,Cancer, Superbugs, Digestive Complaints and More.

Yonejima, Y., Hisa, K., Kawaguchi, M., Ashitani, H., Koyama, T., Usamikrank, Y., ... & Ogawa, J. (2015). Lactic acid bacteria-containing chocolate as a practical probiotic product with increased acid tolerance. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 773-777.

Zhang, H., & Cai, Y. (2014). *Lactic Acid Bacteria*. Springer Berlin Heidelberg.

Annexe

Appareillage

- La balance (*KERN*).
- La balance analytique.
- Autoclave (pbi brand).
- Agitateur incubateur (*INFORS HT*).
- Etuve 37°C (memmert).
- Four pasteur (memmert).
- pH- mètre (*HANNA Instruments*).
- Le réfrigérateur.
- La centrifugeuse (*Ilettich*).
- Spectrophotomètre (analytikjena).
- La plaque chauffante (*BUNSEN*).
- Bain marin (Gerhardt).
- Vortex électrique (*VWR*).

Les milieux de cultures et les tampons

- ✓ **Gélose MRS** pour la culture et le dénombrement des deux souches de *Lactobacillus plantarum*.
- ✓ **Gélose Muller Hinton**: utilisé pour étudier l'activité antibactérienne.
- ✓ **Gélose nutritif** utilisée pour la culture des bactéries indicatrice.
- ✓ **Eau physiologique stérile**, utilisé pour préparer les suspensions bactériennes et aussi pour réaliser les dilutions décimales.
- ✓ **Bouillon MRS**

55.3g de MRS déshydraté a été mélangé avec 1000 ml puis a été stérilisé à l'autoclave. il a été préparé pour la culture de deux souches de *Lactobacillus plantarum* (S₁₀, Bcx₁).

- ✓ **Bouillon MRS** pH 2, pH 3, pH 4, pH 5, pH 8:
55.3g de MRS déshydraté a été mélangé avec 1000 ml on les repartir dans des flacons, le bouillon MRS a été ajusté à pH 2, 3, 4, 5, et 8 en utilisant HCl ou NaOH. pour étudier la tolérance de *Lactobacillus plantarum* S₁₀ et *Lactobacillus plantarum* Bcx₁ aux acides.

✓ **Bouillon nutritif**

Les composants	La quantité
Peptone	2.50g
Extrait de viande	2.5g
NaCl	1.25g
Eau distillé	250 ml

pour la culture des bactéries indicatrices.

✓ **phosphate Buffered saline (PBS)**

Les réactifs	quantité
NaCl	8.0 g/L
KCl	0.2g/L
NaHPO ₄	1.44g/L
KH ₂ PO ₄	0.44g/L
Eau distillé	1000 ml

✓ **Le suc gastrique artificiel (50 ml)**

Les réactifs	quantité
NaCl	0,1 g
Pepsine	0,16 g
l'eau distillée	50 mL

Ce milieu a été ajusté à un pH final de 2-2,3 avec du HCl concentré puis stérilisé en utilisant des filtres de 0,45µm de diamètre des pores.

✓ **Solution d'électrolyte stérile (La salive artificielle) (250ml)**

Composition	Quantité
CaCl ₂	55mg
NaCl	1.55g
KCl	0.55g
NaHO ₃	0.3g
Lysozyme	25mg
α-amylase	250 mg
Eau distillé	250ml

Ce milieu a été stérilisé en utilisant des filtres de 0,22 μ m de diamètre des pores.

✓ **L'iléon et le duodénum (100ml)**

Composition	Quantité
NaCl	0.9g
Pancreatin	0.19g
Sel biliaire	0.5g
Eau distillé	100ml

Le pH a été ajusté à 5,0 (simulation du duodénum) (50ml) et 6.5 (simulation de l'iléon) (50ml) avec du HCl concentré. Ce milieu a été stérilisé en utilisant des filtres de 0,22 μ m de diamètre des pores.

Realisé par :
Lallali Hadjer
Lallali Manal

Jury :
Présidente : Dr. Laggoune Souheila.
Examinatrice : Dr. Ait Meddour Amel.
Encadant : Mr. Khennouf Tarek

Thème

Etude de propriétés probiotiques de quelques souches de genre *Lactobacillus* isolés de lait et le rumen de la chèvre.

Résumé :

Les bactéries lactiques sont largement utilisées en tant que probiotique dans le domaine biomédical et le domaine alimentaire. Pour cette raison, il est nécessaire de rechercher des souches ayant de meilleures propriétés probiotiques. L'objectif de cette étude est d'étudier *in vitro* quelques caractéristiques probiotiques des deux souches de *Lactobacillus plantarum*S10 et BCX1 isolées à partir deux écosystèmes différents le lait et le rumen de la chèvre.

Les résultats ont montré que les deux souches ont eu propriétés probiotiques intéressantes comme: la tolérance aux acides, la résistance aux sels biliaires, au phénol, l'activité antibactérienne, la survie à travers le tractus gastro-intestinal simulée, l'hydrophobicité, l'autoagrégation, la co-agrégation avec *Pseudomonas*, *E. coli* et *Staphyococcus*, l'hydrophobicité, et que la souche *Lb. plantarum* S10 a eu une performance plus élevé à celle de *Lb. plantarum* BCX1.

Mots clés : Les bactéries lactiques, Propriétés probiotique, *Lb. plantarum* S10 et BCX1.

Summary:

Lactic acid bacteria are widely used as probiotics in the biomedical field and the food field. For this reason, it is necessary to look for strains with better probiotic properties. The objective of this study is to study *in vitro* some probiotic characteristics of the two strains of *Lactobacillus plantarum*S10 and BCX1 isolated from two different ecosystems milk and rumen goat.

The results showed that both strains had interesting probiotic properties such as: acid tolerance, bile salt resistance, phenol, antibacterial activity, survival through the simulated gastrointestinal tract, hydrophobicity, self-aggregation, co-aggregation with *Pseudomonas*, *E. coli* and *Staphyococcus*, hydrophobicity, and that strains *Lb. plantarum* S10 had a higher performance than *Lb. plantarum* BCX1.

Key words: Lactic acid bacteria, Probiotic properties, *Lb. plantarum* S10 and BCX1.

ملخص:

تستخدم بكتيريا حامض اللاكتيك على نطاق واسع كبروبيوتيك في مجال الطب الحيوي والمجال الغذائي . ولهذا السبب ، من الضروري البحث عن سلالات ذات خصائص بروبيوتكية أفضل . الهدف من هذه الدراسة هو دراسة بعض الخصائص البروبيوتكية في المختبر لسلاطين *Lactobacillus plantarum*S10 و BCX1 المعزولة من نظامين إيكولوجيين مختلفين حليب و كرش الماعز. أظهرت النتائج أن كلا السلالتين كان لديهما خصائص حيوية مثيرة للاهتمام مثل: تحمل الحمض ، مقاومة الملح الصفراوي ، الفينول ، نشاط مضاد للبكتيريا ، البقاء من خلال القناة الهضمية المحاكية ، كراهية الماء ، التجميع الذاتي ، التجميع المشترك مع *Pseudomonas* ، *E. coli* ، و *Staphyococcus* ، hydrophobicity ، وأن السلالة *Lb. plantarum* S10 كانت أعلى أداء من *Lb. plantarum* BCX1.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، خصائص بروبيوتيك ، *Lb. plantarum*S10 و *Lb. plantarum* BCX1.

