

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

Université Mohamed Seddik Benyahia -Jijel



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

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire De fin Cycle

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

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

***Evaluation de quelques effets probiotique
(propriétés) des Lactobacillus d'origine
ruminale et laitière: étude comparative in
vitro***

Membres de jury :

Présidente : Dr Houria OULED HADDAR

Examinatrice : M^{me} Samia AMIRA

Encadreur : Mr Tarek KHENNOUF

Présenté par :

M^{elle} Saida SAHNOUNE

M^{elle} Houda LEMOUARI

M^{elle} Yassamina BOUNEBIRAT

Année universitaire : 2016-2017

N°d'ordre :.....

Remerciements :

Avant tout nous remercions "Allah" qui nous a donné le courage, la force, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.

Nous remercions nos très chers parents qui nous accompagnées tout au long de notre cycle scolaire et universitaire.

*Nous tenons à adresser nous remerciments les plus sincères tout particulièrement et avec reconnaissance à notre encadreur Monsieur : **Tarek Khennouf** pour ses conseils scientifiques judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail.*

*Nous remerciments vont également aux membres de jury **Houria Ouled Haddare** et **Samia Amira** et Qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail*

*Très spéciaux remerciement reviennent à Monsieur **Mohamed Sifour**. Professeur a l'université de Jijel, pour toute l'aide qu'il nous a apportée.*

Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

Table de Matière

▪ Liste des abréviations	i
▪ Liste des figures	ii
▪ Liste des photos	iii
▪ Liste des tableaux	iv
Introduction.....	01

I. Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Bactéries lactiques

I.1. Définition des bactéries lactiques.....	02
I.2. Caractères généraux des bactéries lactiques.....	02
I.3. Habitats des bactéries lactiques.....	02
I.4. Classification de bactéries lactiques.....	02
I.5. Les principaux groupes de bactéries lactiques.....	03
I.5.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	03
I.5.2. Autres genres de bactéries lactiques.....	03
I.6. Rôles et propriétés des bactéries lactiques.....	04
I.6.1. Activité acidifiante des bactéries lactiques.....	04
I.6.2. Activité aromatisante des bactéries lactiques.....	04
I.6.3. L'activité texturante des bactéries lactiques.....	05
I.6.5. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....	05
I.7. Le rôle technologique des bactéries lactiques.....	05
I.7.1. Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de choucroute.....	05
I.7.2. Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication du pain.....	06
I.7.3. Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication du fromage.....	06
I.7.4. Le rôle des bactéries lactiques dans l'élaboration des vins.....	06

Chapitre II : Les probiotiques

II.1. Historique des probiotiques.....	07
II.2. Définition des probiotiques.....	07
II.3. Les Microorganismes probiotiques.....	07
II.4. Critères de sélection des probiotiques.....	08
II.5. Mécanismes d'action des probiotiques.....	09

II.5.1. Production de substances inhibitrices	09
II.5.2. Compétition pour l'adhésion.....	09
II.5.3. Compétition pour les nutriments.....	09
II.5.4. La modulation des systèmes immunitaires.....	09
II.5.5. Dégradation des récepteurs des toxines.....	10
II.6. Les effets bénéfiques des probiotiques.....	10
II.6.1. Des effets intestinaux.....	10
II.6.1.1. L'intolérance au lactose.....	10
II.6.1.2. Traitement de la gastro-entérite.....	10
II.6.1.3. Infection par <i>Helicobacter pylori</i>	11
II.6.1.4. Les maladies intestinales inflammatoires.....	11
II.6.2. Des effets sur le système immunitaire.....	11
II.6.2.1. Immunité.....	11
II.6.2.2. Allergie.....	12
II.6.3. Autres effets.....	12
II.6.3.1. Traitement et prévention du cancer	12
II.6.3.2. Les infections urogénitales.....	13
II.6.3.3. Infection des voies respiratoires.....	13
II.6.3.4. Abaissement du cholestérol.....	13

II. Matériel et Méthodes

III.1. Matériels.....	15
III.1.1. Matériels biologique.....	15
III.1.1.1. Les souches bactériennes.....	15
III.1.1.2. Les cellules épithéliales intestinales.....	15
III.1.2. Milieux de culture.....	15
III.1.3. Produits chimiques et réactifs.....	15
III.1.4. Tampon.....	15
III.1.5. Appareillage.....	16
III.2. Méthodes.....	16
III.2.1. La revivification des souches.....	16
III.2.2. Teste d'auto-agrégation	16
III.2.3. Test d'hydrophobicité.....	17
III.2.4. Adhésion <i>in vitro</i> au tissu épithélial.....	17

III.2.4.1. Préparation des cellules épithéliales.....	17
III.2.4.2. Préparation des souches lactiques.....	18
III.2.4.3. Réalisation du test.....	18

III. Résultats et Discussion

IV.1. Examen macroscopique et microscopique.....	19
IV.2. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion.....	19
IV.2.1. <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10	20
IV.2.1.1. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 à différents pH	20
IV.2.1.1.1. Effet de pH sur l'auto-agrégation de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10.....	20
IV.2.1.1.2. Effet de pH sur l'hydrophobicité de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10	21
IV.2.1.1.3. Effet de pH sur l'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10...	22
IV.2.1.2. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 en présence des sucres	25
IV.2.1.2.2. Effet des sucres sur l'hydrophobicité de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10.....	26
IV.2.1.2.3. Effet des sucres sur l'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10.....	27
IV.2.1.3. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 en présence de CaCl ₂ et EDTA et la trypsine.....	29
IV.2.1.3.2. Effet des solutions sur l'hydrophobicité de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10.....	30
IV.2.1.3.3. L'adhésion de <i>Lactobacillus BCX1</i> et <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 en présence de CaCl ₂ et EDTA et de trypsine.....	31
IV.3. Comparaison entre les deux la souche étudiées.....	33
Conclusion	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	

Liste des Abréviations

°D : Degré d'optique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique

ATP: Adénosine triphosphate

CaCl₂: calcium chloride

CO₂ : dioxyde de carbone

EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid

EPS: Exopolysaccharides

FAO: Food and Agriculture Organization

FAO: Food

G+C% : pourcentage de Guanine +Cytosine.

MALT : tissu lymphoïde associé à la muqueuse

MATS: microbial adhesion to solvents

MRS: de Man-Rogosaet Sharp

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBS: Phosphate Buffered Saline.

sp. : Espèce non précisée

subsp. : Sous espèce

UFC : Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 1	Le pourcentage d'auto agrégation de <i>Lactobacillus</i> BCX1 à pH=4, 5, 7, 8.....	20
Figure 2	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus</i> BCX1 à pH=4, 5, 7, 8.....	20
Figure 3	Le pourcentage d'auto-agrégation de <i>Lactobacillus</i> BCX1 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.....	21
Figure 4	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus</i> BCX1 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.....	21
Figure 5	Le pourcentage d'auto-agrégation de <i>Lactobacillus</i> BCX1 avec les solutions: CaCl ₂ , EDTA et trypsine.....	25
Figure 6	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus</i> BCX1 avec les solutions: CaCl ₂ , EDTA et trypsine.....	25
Figure 7	Le pourcentage d'auto agrégation de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 à pH= 4, 5, 7, 8.....	26
Figure 8	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 à pH=4, 5, 7, 8.....	26
Figure 9	Le pourcentage d'auto-agrégation de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.....	29
Figure 10	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.....	29
Figure 11	Le pourcentage d'auto-agrégation de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 avec les solutions: CaCl ₂ , EDTA et trypsine.....	30
Figure 12	Le pourcentage d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 avec les solutions: CaCl ₂ , EDTA et trypsine.....	30

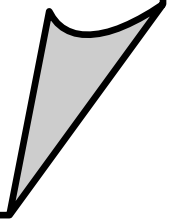
Liste des photos

Photo 01	Photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus</i> BCX1 aux cellules épithéliales à différentes pH.....	23
Photo 02	Photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 aux cellules épithéliales à différentes pH.....	24
Photo 03	Photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus</i> BCX1 aux cellules épithéliales en présence de différents sucres.....	27
Photo 04	Photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 aux cellules épithéliales à différents sucres.....	28
Photo 05	photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus</i> BCX1 aux cellules épithéliales à différentes solutions.....	31
Photo 06	photomicrographie d'adhésion de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 à différentes solutions.....	32

Liste des tableaux

Tableau 01	Les principales espèces à activité probiotique.....	08
Tableau 14	Comparaison entre les résultats d'auto-agrégation de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 et <i>Lactobacillus</i> BCX 1.....	33
Tableau 15	Comparaison entre les résultats d'hydrophobicité de <i>Lactobacillus plantarum</i> 10 et <i>Lactobacillus</i> BCX 1	34

Introduction



Les bactéries lactiques sont utilisées depuis longtemps de façon consciente ou non pour leurs activités technologiques. Elles ne se réduisent pas à leur importance économique, mais jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé (**Idoui et al, 2009**).

Ces dernières années, un intérêt considérable a été montré aux microorganismes probiotiques et leurs acides organiques, en les employant comme une alternative aux antibiotiques, par l'alimentation. Selon l'explication actuelle, les probiotiques se rapportent aux microorganismes vivants non pathogènes qui affectent la santé de l'hôte en améliorant son équilibre intestinal. Les propriétés fonctionnelles des bactéries probiotiques incluent la production de métabolites tels que les acides organiques, peroxyde d'hydrogène et bactériocines (**Musikasang et al, 2009 ; Osman agaoglu et al, 2010**). Selon des études précédentes, les souches probiotiques les plus étudiées sont les bactéries lactiques (**Aswathy et al, 2008**).

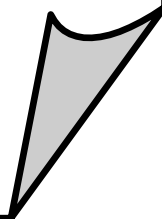
Les probiotiques jouent un rôle important dans le contrôle des micro-organismes indésirables dans le système intestinal, pour cette raison, leur utilisation comme probiotique a été intensivement étudiée, visant à élucider leur mécanismes d'action.

La capacité d'adhérer aux cellules épithéliales et aux surfaces muqueuses a été suggérée d'être une propriété importante de plusieurs souches bactériennes utilisées comme probiotiques. L'adhésion des cellules est un processus impliquant le contact de la membrane bactérienne de la cellule et des surfaces épithéliales de l'hôte (**Kos et al, 2003 ; Trivedi et al, 2013**).

L'auto-agrégation des souches probiotiques semble être nécessaire pour l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales pour former une barrière en empêchant la colonisation par les micro-organismes pathogènes. Les caractéristiques physico-chimiques de la surface de cellules telles que l'hydrophobicité peuvent affecter l'auto-agrégation et l'adhésion des bactéries aux différentes surfaces (**Kos et al, 2003**).

L'objectif de notre travail est l'étude de quelques paramètres comme l'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion des souches de deux *Lactobacillus* isolées du rumen et de lait de chèvre local en vue de la recherche d'une souche douée d'un pouvoir probiotique.

Synthèse
Bibliographique



I.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques est l'un des groupes de procaryotes les plus représentatifs (**Especheet al, 2012**). Elles englobent un groupe hétérogène des bactéries non pathogènes constitue de bacilles ou de coques. Les espèces des bactéries lactiques typiques appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc*. Elles sont largement utilisées dans de nombreuses applications industrielles, allant des starters dans l'industrie laitière aux probiotiques dans les suppléments alimentaires, aussi des agents de bioconversion (**Labioui et al, 2005**).

I.2. Caractères généraux des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, asporulantes, aéro-anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, généralement immobiles, acido-tolérantes, catalase négatives, dépourvues de cytochrome et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C (**Wedajo, 2015**). Elles rassemblent des groupes hétérogènes des bactéries ayant la capacité de produire l'acide lactique à partir de la fermentation des carbohydrates (**Nikita et Hemangi, 2012**). La fermentation est dite :

- Homofermentaire : les carbohydrates sont transformés par les bactéries lactiques en un seul produit fini qui est l'acide lactique.
- Hétérofermentaire : les carbohydrates sont convertis en acide lactique avec d'autres produits comme l'éthanol, acide acétique et le dioxyde de carbone (**Šušković et al, 2010**).

I.3. Habitats des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont ubiquitaires, elles sont des habitants de nombreux milieux naturels: végétaux (Légumes, plantes et céréales) animaux et humains (cavités humaines et vaginale, le rumen des ruminant). Ainsi elles se trouvent dans une grande variété des aliments : (le lait et les produits laitiers, viande et produits carnés) (**Varankovich et al, 2015**).

I.4. Classification des bactéries lactiques:

La classification actuelle des bactéries lactiques est basée sur les critères suivants: morphologie cellulaire, mode de fermentation du glucose, température de croissance, et les profils d'utilisation des sucres (**Quinto et al, 2014**). Phylogénétiquement, les bactéries lactiques peuvent être regroupées sur la base de critères de biologie moléculaire, tels que séquençage de gène de l'ARN 16S surtout pour représenter les relations entre des espèces étroitement liées et entre elles (**Wright et al, 2012; Vandamme et al, 2014**). Les bactéries lactiques appartiennent aux deux phylum qui sont: les *firmicutes*, classe: *Bacilli*, ordre : *Lactobacillales*, les familles : *Aerococcaceae*,

Carnobacteriaceae, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococcaceae*, et au phylum de: *Actinobacteria* qui comporte le genre : *Bifidobacterium* (Varankovich et al, 2015).

I.5. Les principaux groupes des bactéries lactiques

I.5.1. Genre *Lactobacillus*

Ce sont des bacilles Gram positif, anaérobies, aéro-tolérantes, acidophiles, leur température optimal de croissance est de 30°C à 40°C, le pH optimal est de 5.5-6.2, utilisent le glucose par le processus de fermentation appelé glycolyse. Leur contenu de l'ADN en GC est : 32–55(%) (Kumar et Kumar, 2014). Le genre *Lactobacillus* est anaérobie mais capable de tolérer l'oxygène dans le milieu, il a certaines propriétés fondamentales qui sont importantes dans la fermentation des aliments notamment le lait qui sont la protéolyse, la lipolyse et la dégradation du lactose. Les lactobacilles sont divisés en 3 groupes selon leur le type de fermentation du glucose et le processus utilisé:

Groupe I : les espèces homofermentaires obligatoires.

Qui fermentent seulement les sucres et les transforment en acide lactique par le processus de la glycolyse exemple, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, dans certains cas ces espèces ont la capacité de changer le type de fermentation de homofermentaire vers hétérofermentaire.

Groupe II : les espèces hétérofermentaires facultatives.

Les espèces de ce groupe fermentent le sucre et produisent l'acide lactique comme produit fini majeur avec d'autres produits comme l'éthanol et le CO₂, exemple *Lb. casei*.

Groupe III : les espèces hétérofermentaires obligatoires.

Les espèces de ce groupe utilisent deux voies ; la voie de la glycolyse et la voie du pentose phosphate comme *Lb. brevis* et *Lb. bunchneri* et produisent l'acide lactique, l'éthanol ou l'acide acétique et CO₂, comporte des espèces différentes dans leurs caractères biotechnologiques tels que *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. Delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, et *Lb. salivarius* (Florou-Paneri et al, 2013). Les lactobacilles participent à la fabrication de nombreux produits alimentaires fermentés particulièrement dans les produits laitiers tels que le yaourt, le fromage et le lait fermenté, la fabrication du pain au levain, les boissons alcoolisées, les légumes fermentés, ou commercialisés sous forme de probiotique pour leurs conséquences bénéfiques sur la santé humaine (Giraffa et al, 2010).

I.5.2. Autres genres des bactéries lactiques

Le groupe des bactéries lactiques comporte d'autres genres tels que, le genre *Streptococcus* qui fermente les carbohydrates par le type fermentaire homofermentaire pour produire l'acide lactique, *Streptococcus thermophilus* est la seule espèce de *Streptococcus* qui est utilisée en biotechnologie. (Dabonné et al, 2013 ; Ortakci et al, 2015). Le genre *Carnobacterium*, ce genre est un lactobacille

atypique qui ne peut pas pousser dans la gélose de l'acétate et pousse à pH 9.0 (Sobh *et al*, 2014). Le genre *Leuconostoc*, hétérofermentaire, produit en plus de l'acide lactique, l'acide acétique, le diacétyl et l'acétoïne, l'espèce *Leuconostoc mesenteroides* est la plus utilisée en industrie laitière, utilisée comme starter dans la maturation du fromage (Pedersen *et al*, 2016). Le genre *Bifidobacterium*, en raison de ces effets bénéfiques, c'est le principal genre utilisé comme microorganisme probiotique (Alvarez-Calatayud et Margolles, 2016). Les espèces les plus utilisées comme probiotiques sont : *Bf. bifidum*, *Bf. Longum* (Acharya et Shah, 2002). Le genre *Enterococcus*, ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui appartiennent au groupe D, homofermentaire, thermorésistants, les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis*, *En. faecium* et *En. durans* dans le fromages, le lait cru ou le lait pasteurisé (Moreno *et al*, 2006). Le genre *Pediococcus*, les espèces de ce genre diffèrent de toutes autres bactéries lactiques par leur division et la formation de tétrades, homofermentaires, l'espèce type est *Pediococcus ramnosus* (Carr *et al*, 2012). Le genre *Lactococcus*, ce genre représente les streptocoques dites: lactiques (streptocoques du groupe N), homofermentaires, produisent en majorité de l'acide lactique seulement *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* produits le diacétyl (Carr *et al*, 2012).

I.6. Rôles et propriétés des bactéries lactiques

I.6.1. Activité acidifiant des bactéries lactiques

Le processus d'acidification, étroitement associé à la croissance bactérienne, se traduit par l'accumulation progressive d'acide lactique dans le milieu de culture. Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi: (Monnet *et al*, 2008).

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogènes et de flores d'altération dans les produits finaux.

Dans le cas des produit laitiers, d'autres phénomènes se manifestent, tels que:

- Déstabilisation des micelles de caséine, coagulation du lait (formation de caillés lactiques) ;
- Participation à la synérèse (égouttage des caillés de fromagerie en cuve et en moules par expulsion de lactosérum).

I.6.2. Activité aromatisante des bactéries lactiques

Le diacétyl et l'acétaldéhyde résultent du métabolisme de citrate, ils contribuent à l'arôme de certains types de laits fermentés, de fromages frais ou affinés, de beurres et de crèmes fraîches. Les espèces utilisées dans l'industrie laitière afin de produire le diacétyl sont *Lc. Lactis subsp. lactis* (biovar. *diacetylactis*) et *Ln. Mesenteroides* subsp. *cremoris* (ancien nom *Ln. cremoris* or *Ln.*

citrovorum) (Hugenholtz, 2006 ; Atlan *et al*, 2008; Axelsson, 2004). Le catabolisme des acides aminés, tels que la leucine, l'isoleucine, la sérine, la méthionine, conduit à la formation de nombreux composés aromatiques: alcools, acides acétique, aldéhydes, diacétyl, acétoïne et méthane (Chamba *et al*, 2008).

I.6.3.L'activité texturante des bactéries lactiques

La propriété texturante des bactéries est principalement utilisée pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés (Monnet *et al*, 2008). Les exopolysaccharides (EPS) sont des polysaccharides exocellulaires (Mozzi *et al*, 2001), Ils contribuent à la texture spécifique des produits laitiers fermentés et, lorsqu'ils sont ajoutés aux aliments, ils agissent comme émulsifiants, stabilisants et gélifiants (Seesuriyachan *et al*, 2011).

I.6.4.L'activité protéolytique des bactéries lactiques

La plupart des souches de bactéries lactiques reposent sur un système protéolytique complexe qui libère des acides aminés et des peptides essentiels à leur croissance à partir des substrats riches en protéines comme le lait, la viande et les légumes (Giori et Hébert 2001). Le catabolisme des acides aminés, par exemple, l'arginine, est un processus bioénergétique utilisé, par *Lb. lactis* subsp. *lactis* et les lactobacilles hétérofermentaires, et qui libère le CO₂ et le NH₃, qui sont nécessaires dans l'affinage du fromage (Chamba *et al*, 2008).

I.6.5.Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des protéines antimicrobiennes (Perez *et al*, 2015). La plupart ont une activité contre des pathogènes alimentaires tels que *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (Saavedra *et al*, 2001). Les bactériocines des bactéries lactiques peuvent être classés en 3 classes: (Perez *et al*, 2015).

Classe I : petits peptides (lantibiotics) ;

Classe II :(non-lantibiotics) les petites protéines thermiquement stables, sont encore divisées en sous-classes telles que bactériocines de type pédiatrique (IIa), deux bactériocines peptidiques (IIb), bactériocines circulaires (IIc), bactériocines diverses (IId) ;

Classe III : Peptides sensibles à la chaleur de grandes molécules.

I.7.Le rôle technologique des bactéries lactiques

I.7.1.Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de choucroute

La fermentation du choucroute est réalisée par des bactérie lactiques et qui se déroule en deux phases successives, dans la première phase, les bactéries hétérofermentaires (*Leuconostoc*) consomment le glucose et le fructose de chou et produisent l'acide lactique, acide acétique, l'éthanol et le CO₂, dans la deuxième phase, les bactéries homofermentaires (*Lactobacillus* et

Pediococcus) continuent la fermentation et produisent essentiellement l'acide lactique jusqu'à l'obtention de pH 3.5, ces phases de fermentation favorisent l'accélération de la fermentation et évitent la contamination par d'autres microorganismes (Atlan *et al*, 2008).

I.7.2.Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de pain

Les bactéries lactiques impliquées dans la fermentation de levain appartiennent généralement au genre *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. Les acides aminés issue de l'activité protéolytique de *Lb. Brevis* servent de précurseurs pour la formation des composés aromatiques, les activités métaboliques des bactéries lactiques pendant la fermentation de levain améliorent les propriétés de la pâte, la texture du pain, et la flaveur, et empêchent le pain de mouler et les bactéries d'altération (Atlan *et al*, 2008).

I.7.3.Le rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de fromage

La croissance des bactéries lactiques dans le lait, puis le caillé, entraîne la consommation du lactose, et l'excrétion de l'acide lactique ce qui conduit à l'abaissement du pH, cet abaissement accélère la coagulation du lait par les enzymes coagulantes. Ainsi la fermentation des citrates par *Lc. lactis* et *Ln .mesenteroides* contribue à formation d'arôme de fromage en produisant des quantités significatives de diacétyle. L'activité protéolytique constitue l'un des phénomènes majeurs de l'affinage des fromages. Ainsi la masse protéique obtenues après la coagulation du lait possède un caractère ferme et élastique donc les protéases participent à la dégradation partielle de cette masse, et améliorent la texture de la pâte (Chamba *et al*, 2008).

I.7.4.Le rôle des bactéries lactiques dans l'élaboration des vins

La fermentation du vin se déroule en deux phases, engendré par les levures de types *Saccharomyces cerevisiae*, puis une fermentation malolactique liée au développement des bactéries lactiques comme *Oenococcus oeni* qui transforme l'acide malique en acide lactique (Atlan *et al*, 2008).

II.1. Historique des probiotiques

Le terme probiotique a été évalué au cours du temps selon, les connaissances scientifiques et la meilleure compréhension de la relation entre la santé intestinale et le bien-être général (Lee, 2009). Elie Metchnikoff, a d'abord proposé les effets bénéfiques des microorganismes sur la santé humaine. En 1907 Metchnikoff a émis l'hypothèse que les Bulgares étaient en bonne santé et vivaient longtemps en raison de la consommation de produits laitiers fermentés qui comportent des bactéries de forme bacilles (*Lactobacillus* spp), ces bactéries affectent positivement sur la microflore intestinale et diminuent l'activité toxique microbienne (Anukam et Reid, 2007). La notion «probiotique» est introduite pour la première fois en 1965 par Lilly et Stillwell pour décrire les "facteurs dérivés des microorganismes et stimulant la croissance des autres organismes " (Anukam et Reid, 2007). Parker en 1974, a suggéré une interaction entre les microorganismes avec l'hôte et décrire les probiotiques comme «organismes et substances, qui contribuent à l'équilibre de la flore intestinale» (Lee, 2009). Fuller en 1989, a annulé la définition des "substances" et a gardé uniquement les probiotiques aux microorganismes, et il définit les probiotiques comme : « des suppléments alimentaires microbiens vivants qui affectent de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (FAO et WHO, 2001).

II.2. Définition des probiotiques

Le terme probiotique est issu des termes grecs "pros" et "bios" qui signifient «pour la vie» par opposition aux antibiotiques qui signifie «contre la vie» (Nagpal et al, 2014). La définition actuelle des probiotiques proposée en 2002 par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'organisation mondiale de la santé (OMS) est comme suit: " microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère "(Loh, 2017). Ils peuvent être formulés dans de nombreux types de produits, y compris les aliments, les médicaments et les compléments alimentaires, et jouent un rôle important dans le maintien de la santé humaine (Balcázar et al, 2006).

II.3. Les microorganismes probiotiques :

Les bactéries probiotiques appartiennent généralement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Toutefois, des cocci Gram positif, d'autres bactéries et certaines levures possèdent également des propriétés probiotiques (Nagpal et al, 2014 ; Varankovich et al, 2015) (tableau 01).

Tableau 01 : Les microorganismes probiotiques (Fijan, 2014 ; Nagpal *et al*, 2014 ; Zárate et Chaia, 2015; Varankovich *et al*, 2015 ; Khalighi *et al*, 2016).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Cocci Gram positif	d'autres bactéries	Levures
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Bf. infantis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Bf. adolescentis</i>	subsp <i>cremoris</i>	<i>B. coagulans</i>	
<i>Lb. paracasei</i>	<i>Bf. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Propionebacterium</i>	
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>Subspanimalis</i>	<i>En. faecalis</i>	<i>acidipropionici</i>	
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Bf. animalis</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Pr. freudenreichii</i>	
subsp	<i>Subsplanctis</i>	<i>salivarius</i> subsp	<i>Pr. jensenii</i>	
<i>bulgaricus</i>	<i>Bf. bifidum</i>	<i>thermophilus</i>	<i>Pr. pentosaceus,</i>	
<i>Lb. brevis</i>	<i>Bf. longum</i>	<i>St. diaacetylactis,</i>	<i>Pr. parvulus</i>	
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Bf. breve</i>	<i>St. intermedius</i>	<i>Pr. acidilactici</i>	
<i>Lb. plantarum</i>	<i>Bf. thermophilum</i>	<i>Pediococcus</i>		
<i>Lb. fermentum</i>		<i>pentosaceus</i>		
<i>Lb. reuteri</i>		<i>P. parvulus</i>		
<i>Lb. cellobiosus</i>		<i>P. acidilactici</i>		
<i>Lb. curvatus</i>				

II.4. Critères de sélection des probiotiques

Les probiotiques doivent également répondre à quelques critères spécifiques énumérés par l'union européenne : (Zuppa *et al*, 2016).

- Non pathogènes (c-à-d absence de production des entérotoxines et cytotoxines, enteroinvasives, adhérence des microbes pathogènes, hémolyse, pathogénicité sérologique et la présence des gènes résistant aux antibiotiques)
- Tendance au site d'action, habituellement l'intestin, et survivent ainsi au stress physiologique rencontré lors de son ingestion: l'acide de l'estomac, le pH d'intestin et la présence des sels biliaires.
- Capacité de coloniser le colon.
- Capacité d'adhérer sur les cellules épithéliales intestinales de l'hôte (Bahri *et al*, 2014).
- Effet clinique prouvé sur la santé.
- Sécurité.
- Antagonisme contre les bactéries pathogènes.

II.5.Mécanismes d'action des probiotiques

Les microorganismes probiotiques sont considérés comme forme de soutien de la santé de l'hôte. Cependant, les mécanismes de soutien n'ont pas été expliqués. Il existe des études sur la façon dont les probiotiques fonctionnent (Nagpal *et al*, 2014).

II.5.1.Production de substances inhibitrices

Production de certains acides organiques, ces acides acidifient l'environnement par la diminution de pH et créent des conditions défavorables pour le développement des microorganismes pathogènes pour l'homme (Fayol-Messaoudi *et al*, 2005). La production du peroxyde d'hydrogène: secrété par les *Lactobacillus* dans le système vaginal assure l'inhibition et la prévention contre certaines espèces pathogènes de ce système (Tachedjian *et al*, 2009). Ainsi des bactériocines tels que la lactocidine, la reuterine ou l'acidophiline, inhibent les bactéries Gram positif et Gram négatif (Tannis, 2008 ; Suskovik *et al*, 2010).

II.5.2.Compétition pour l'adhésion

Les souches probiotiques entrent en compétition avec d'autres bactéries pathogènes pour les sites de fixation sur la surface épithéliale intestinale, ces probiotiques inhibent la colonisation et l'adhésion de certaines espèces pathogènes (Hardy *et al*, 2013). Certaines souches de *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* ont la capacité d'adhésion sur la surface de la muqueuse intestinale et favorisent l'amélioration d'un effet barrière fonctionnel contre l'invasion des pathogènes (Khalighi *et al*, 2016).

II.5.3.Compétition pour les nutriments

Les probiotiques ont montré qu'ils inhibent les agents pathogènes en consommant les nutriments dont les agents pathogènes ont besoin (Luis Balcázar *et al*, 2006).

II.5.4.La modulation du système immunitaire

Les bactéries probiotiques ont la propriété de provoquer une homéostasie du système gastro-intestinal par la modulation de la réponse immunitaire soit innée soit acquise, ils entrent dans l'interaction avec les cellules épithéliales et les cellules dendritiques pour inhiber l'invasion des microorganismes pathogènes (Florou-Paneri *et al*, 2013), la modulation du système immunitaire se fait par différents mécanismes, parmi ces mécanismes, le renforcement de la réponse immunitaire non spécifique contre les infections, la stimulation de l'activité des cellules phagocytaires avec l'amélioration de la production des immunoglobulines intestinale IgA, et l'induction de la synthèse du cytokine (Holzapfel, 2006).

II.5.5. Dégradation du récepteur de la toxine:

En raison de la dégradation du récepteur des toxines sur la muqueuse intestinale, il a été montré que *Saccharomyces boulardii* protège l'hôte contre la maladie intestinale de *Clostridium difficile* (Tung et al, 2009).

II.6. Les effets bénéfiques des probiotiques

II.6.1. Des effets intestinaux

II.6.1.1. L'intolérance au lactose

Les personnes intolérantes au lactose ne peuvent pas métaboliser le lactose en raison de l'activité insuffisante de lactase dans la muqueuse intestinale (insuffisance primaire) ou une perte de mucus sur la couche de l'intestin grêle (insuffisance secondaire). Il est la cause de divers malaises abdominaux, tels que les crampes, le boursoufflement, la diarrhée, et parfois nausée et vomissement (Suarez et al, 1995; Pakdaman et al, 2016). Le lactose est facilement fermenté par la microflore colique conduisant à la production d'acides gras à chaînes courtes et de gaz (principalement l'hydrogène (H₂), le dioxyde de carbone (CO₂) et le méthane (CH₄)) (Deng et al, 2015). La mauvaise digestion du lactose conduit ainsi à une augmentation de la concentration en glucose de sang et en hydrogène de souffle (Tuck et al, 2017). Les probiotiques telles que *Lb. acidophilus* peuvent aider à digérer le lactose par la production de l'enzyme lactase ainsi que des souches de *Bf. longum* utilisent la fermentation pour décomposer le lactose (Pakdaman et al, 2016; Zuppa et al, 2016). *Lb. delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *St. thermophilus* du yaourt d'alimentation participants à tolérants du lactose (Ashraf et Shah, 2011).

II.6.1.2. Traitement de la gastro-entérite

La littérature médicale sur les probiotique la plus étendue concerne les maladies diarrhéiques (gastro-entérite) (Aureli et al, 2011). Les probiotiques peuvent réduire la durée et la sévérité de l'entérite à rotavirus, ainsi ils diminuent le risque de la diarrhée chez les enfants et la diarrhée à *Clostridium difficile* chez les adultes et aident également à la prévention contre la diarrhée du voyageurs. Des souches spécifiques de *Lb. rhamnosus*, *Lb. acidophilus* GG, *Lb. reuteri*, *Lb. plantarum*, *Bf. lactis*, *Bf. bifidum* et *Sc. boulardii* sont aussi efficaces dans ces cas (Aureli et al, 2011). Les probiotiques pourraient exercer leur activité contre les entéropathogènes par plusieurs mécanismes, comprenant, les substances antimicrobiennes, la concurrence pour les nutriments nécessaires à la croissance des agents pathogènes, l'inhibition compétitive de l'adhésion des agents pathogènes et la modification des toxines ou des récepteurs de la toxine (Szajewska et Mrukowicz, 2001).

II.6.1.3. Infection par *Helicobacter pylori*

Il est considéré comme la principale cause de plusieurs maladies gastro-intestinales, y compris la gastrite chronique, l'ulcère gastroduodéal, le lymphome gastrique du MALT (tissu lymphoïde associé à la muqueuse) et le cancer de l'estomac (Anania *et al*, 2016). Les probiotiques réduisent la densité de *H. pylori* sur le côté luminal de l'épithélium, l'amélioration la capacité histologiques inflammatoires et l'activité à la fois dans le corpus gastrique (Emara *et al*, 2015). Les bactéries lactiques produisent deux types de substances impliquées dans l'inhibition de *H. pylori* : bactériocines et les acides gras à courtes chaînes (SCFA) tels que l'acide acétique, propionique, butyrique et lactique. Les SCFA d'une souche de *Lactobacillus* sont impliqués dans l'effet antagoniste contre *H. pylori* (Anania *et al*, 2016), *Lb. reuteri* supprime efficacement l'infection par *H. pylori* chez l'homme et diminue l'apparition de symptômes dyspeptiques, ainsi l'ingestion de *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, ou *Lb. johnsonii* réduit l'activité de *H. pylori* dans l'estomac (Hamilton-Miller, 2003).

II.6.1.4. Les maladies intestinales inflammatoires

Les maladies intestinales inflammatoires, telles que la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn, ainsi que le syndrome du colon irritable, sont des problèmes médicaux importants (Sartor *et al*, 2004), les modifications de la fonction de la muqueuse intestinale, pourraient permettre aux bactéries d'activer de manière chronique la cascade immunitaire et inflammatoire dans le tractus gastro-intestinal (Schultz et Sartor, 2000; Sartor, 2004). Le rôle des probiotiques dans les maladies intestinales inflammatoires peut être lié à inhibition de l'agression de la flore microbienne, l'amélioration des fonctions de la barrière muqueuse et épithéliale et la modulation du système immunitaire de la muqueuse (Vanderpool *et al*, 2008). L'utilisation d'un mélange VSL#3 (4 souches de *Lactobacillus* spp, 3 souches de *Bifidobacterium* spp et 1 souche de *St. salivarius* subsp *thermophilus* pour un apport de plus de 10^{12} ufc) empêchait efficacement et traite la colite ulcéreuse (Fedorak *et al*, 2015 ; Kumar, *et al*, 2017).

II.6.2. Des effets sur le système immunitaire

II.6.2.1. Immunité

Les probiotiques offrent plusieurs propriétés fonctionnelles, y compris la stimulation du système immunitaire (Ashraf et Shah, 2014). Les bactéries lactiques influencent positivement la composition de la microflore intestinale, ils stimulent la production d'IgA, ils affectent le transport ciblé des antigènes luminaux sur les plaques de Peyer et augmentent la production d'IFN γ . Les bactéries lactiques stimulent l'activité des cellules immunitaires non spécifiques et spécifiques (Herich et Levkut, 2002). L'un des premiers effets bénéfiques décrits avec *Lb. rhamnosus* GG est

le renforcement de la défense immunitaire locale grâce à une sécrétion accrue d'IgA spécifique au rotavirus (Ménard et Heyman, 2006). Différentes souches de *St. thermophilus* stimulent aussi la sécrétion des cytokines TNF α et IL6 (Boclé et Thomann, 2005). L'administration par voie orale d'*En. faecium* conduit à une réduction de *Salmonella* dans la rate ce qui conduit à une réponse systémique. L'efficacité des globules blancs phagocytaires se développent, lors de l'utilisation de souches de lait fermenté de *Lc. acidophilus* et *Bifidobacterium* (Al-Khafaji, 2008).

II.6.2.2. Allergie

Selon la nomenclature, «l'allergie» est définie comme une «réaction d'hypersensibilité initiée par des mécanismes immunologiques» (Marschan, 2007), les symptômes liés à l'allergie sont l'eczéma atopique, l'asthme, la rhinite, et l'allergie alimentaire comme l'allergie aux protéines du lait (Ly et al, 2005 ; Marschan, 2007; Aureli et al, 2011; Silva et al, 2014). Certains probiotiques et produits microbiens sont utiles dans la prévention et la thérapie des allergies, comme: l'effet de *Lb. rhamnosus* GG chez les nourrissons atteints d'eczéma atopique et d'allergie au lait de vache (Marschan, 2007 ; Canani et al, 2008). Chez l'enfant présentant une rhinite allergique, l'ingestion de lait fermenté par *Lb. paracasei*-33 induisait une amélioration des symptômes et de la qualité de vie (Yao et al, 2010).

II.6.3. Autres effets

II.6.3.1. Traitement et prévention du cancer

Le cancer est une maladie dans laquelle les mécanismes de contrôle d'une cellule sont modifiés, ce qui est la cause de sa reproduction anormale. Le processus de développement du cancer s'appelle carcinogénèse, par exemple: le cancer de colon (Tannis, 2008). Les mécanismes dans lesquels les probiotiques sont utilisés pour le traitement et la prévention du cancer peuvent être classés comme: (1) améliorer la résistance contre la colonisation par les agents pathogènes par la production de microflore lactique, (2) réduisent les enzymes intestinales des bactéries impliquées dans l'activation de pro-carcinogènes, (3) moduler la pharmacocinétique du médicament anticancéreux en modifiant la composition et l'activité métabolique de la microflore, (4) amélioration de la production d'acides gras à chaîne courte comme source d'énergie principale pour les entérocytes afin de prévenir l'inflammation, (5) modulation du système immunitaire par la production de mucine (Goldinet al, 2011; Maleki et al, 2016). *Lb. acidophilus* est particulièrement efficace pour neutraliser les enzymes nuisibles qui favorisent le développement du cancer (Tannis, 2008). *Lb. Casei* subsp. *Shirota* conduit à une augmentation significative de la préparation et de l'efficacité des cellules Th auxiliaires et tueuses naturelles (lymphocytes NK) chez les patients qui ont le cancer de colon (Al-Khafaji, 2008).

II.6.3.2. Les infections urogénitales

Les infections vaginales sont causées par des agents tels que *Candida*, *Trichomonas* ou organismes bactériens tels que *Gardnerella vaginalis* et *Mycoplasma hominis*. Les infections urinaires sont plus communes chez les femmes et sont généralement causées par *E. coli*, *Chlamydia* et *Candida*. (Tannis, 2008 ; Goldin, 2011). Les probiotiques ont été administrés par voie orale pour prévenir ou réduire l'incidence des infections urogénitales (Goldin, 2011). Les lactobacilles ont longtemps été considérés comme les microbes protecteurs du vagin, tels que : *Lb. crispatus*, *Lb. jensenii* et *Lb. vaginalis*. Les souches de *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* GR-1 et *Lb. fermentum* RC-14 pris par voie orale ou intra-vaginale peuvent combattre efficacement *Candida* (Tannis, 2008). Les probiotiques protègent l'hôte contre ces infections par plusieurs mécanismes notamment : (1) occupation des sites spécifiques d'adhésion sur la surface épithéliale de l'appareil urinaire, (2) maintenance d'un pH bas et la production des substances antimicrobiennes comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, et les bactériocines, (3) dégradation des polyamines et (4) la production des agents surfactants avec propriétés antiadhésives (Ziyadi et al, 2016).

II.6.3.3. Infection des voies respiratoires

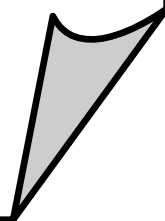
Des études récentes ont montré des effets positifs des probiotiques sur le système respiratoire, en particulier dans la prévention et la réduction de la gravité des infections respiratoires, en raison de l'augmentation des cellules sécrétrices d'IgA dans la muqueuse bronchique. La prise de probiotiques en général, réduit l'incidence et la durée des infections respiratoires chez les enfants et les adultes (Aureli et al, 2011). Dans les études cliniques, l'ingestion de *B. longum* ou des bactéries du yaourt augmente le nombre de macrophages dans les poumons, et l'administration intra-nasale d'une préparation de *Bifidobacterium* / *Lactobacillus* à la souris a stimulé les paramètres immunologiques (Kaur et al, 2010). Un supplément quotidien avec *Lb. rhamnosus* GG ou *Lb. acidophilus* réduit la fréquence des infections respiratoires supérieures et les symptômes de la fièvre et de la toux (Davis et Volk, 2016).

II.6.3.4. Abaissent du taux de cholestérol

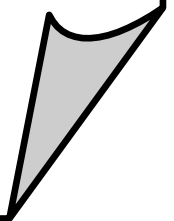
Le cholestérol est un élément important de base pour les tissus corporels. Cependant, le taux de cholestérol sanguin élevé (Hypercholestérolémie) est connu comme facteur de risque majeur pour les maladies coronariennes (Kaur et al, 2010). Les probiotiques peuvent réduire le taux de cholestérol dans le corps simplement en utilisant ou en absorbant le cholestérol (Jones et al, 2013). Les patients hypercholestérolémiques qui se nourrissent de yaourt contenant *Lb. acidophilus* et *Bf. lactis* ont pu réduire leurs taux de cholestérol (Hanning et al, 2016). Ainsi l'administration de *Lb. reuteri* à des faibles doses a un effet hypocholestérolémiant à la fois thérapeutique et préventive (Taranto et al, 2004). Les souches *Lb. plantarum* Lp09 et Lp45 présentent le potentiel à

explorer comme agents probiotiques pour la prise en charge de l'hypercholestérolémie (**Huang et al, 2003**).

Partie
Expérimentale



*Matériels et
Méthodes*



III. Matériels et méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de l'université de Jijel. Il a pour objectif recouvrir les points suivants :

- L'étude de l'auto-agrégation, hydrophobicité, et adhésion de deux souches de *Lactobacillus*.

III.1. Matériels

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales in vitro ; on s'est servi du matériel suivant :

III.1.1. Matériels biologique

III.1.1.1. Les souches bactériennes

Au cours de cette étude, on s'est servi de deux souches de *Lactobacillus* isolées à partir du lait et du rumen de la chèvre; *Lactobacillus* BCX1 d'origine laitière, et *Lactobacillus plantarum* 10 d'origine ruminale, ces souches nous ont été fournies par Mr. Tarek Khennouf.

III.1.1.2. Les cellules épithéliales intestinales

Pour étudier la capacité d'adhésion des *Lactobacillus* à la paroi des cellules épithéliales, nous avons utilisé les tissus épithéliaux du tube digestif du poulet et leurs muqueuses.

III.1.2. Milieux de culture

Le milieu de culture utilisé au cours de cette étude expérimentale est le bouillon MRS « Man-Rogosa-Sharpe »

III.1.3. Produits chimiques et réactifs

- Les colorants : Violet de Gentiane, fuschine, cristal violet, bleu de méthylène
- Les acides et bases: HCl 1N et NaOH 1N
- solvants : xylène, chloroforme, acétate d'éthyle
- solution : galactose, mannose, fructose, lactose, CaCl₂, EDTA, trypsine
- Alcool et autres : Ethanol, lugol

III.1.4. Tampon

La réalisation de la présente étude a nécessité le tampon : PBS « Tampon Phosphate Salin » à différents pH (composition chimique en annexe):

- Tampon PBS, pH 7 ;
- Tampon PBS, pH 4 ;
- Tampon PBS, pH 5 ;

- Tampon PBS, pH 8 ;

III.1.5.Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Autoclave (Pbibrand);
- Balance (KenRN440-35A) ;
- Balance analytique (Kernals 220.4N) ;
- Centrifugeuse (Hettich) ;
- Etuves (Mettler) ;
- Etuve agitateur (inforsht)
- Micropipettes (Microlit) ;
- Microscope optique (Microlit).
- Microscope a camera (paralux)
- pH mètre (Hanna) ;
- Plaque chauffante (VELP scietifica).
- Réfrigérateur ;
- Spectrophotomètre (specord 50) ;
- Vortex électrique (velp) ;

III.2.Méthodes

III.2.1.La revifiction des souches

Les souches étaient conservées au congélation à -20°C en présence de 20% de glycérol (v/v), elles ont été revifiées par des repiquages successifs sur milieux MRS, puis une vérification de pureté est vérifiée par une observation microscopique après une coloration de GRAM.

III.2.2.Teste d'auto-agrégation

Le test d'auto agrégation est réalisé selon la méthode décrite par **Del Re et al, (2000)**.D'abord deux souches bactériennes (*Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10) sont cultivés pendants 24h à 37°C dans le bouillon MRS, puis les cellules sont récoltés par centrifugation à 6000 rpm pendant 15min, le culot obtenu est lavé 2 fois par PBS (pH 7.4) et remise en suspension dans le même tampon, puis la DO a été à 0,6 nm (Pour confirmer que le nombre soit approximativement 10⁸UFC). L'auto-agrégation a été déterminée pendant les 4h d'incubation à une température ambiante. Pour déterminer l'auto agrégation, chaque heure 0,1 ml de la suspension bactérienne de la phase supérieur a été transférée dans un autre tube de 3,9 ml du PBS et la DO est mesuré à 600 nm pendant chaque heure. Le pourcentage d'auto-agrégation est donné par l'équation suivante

$$\text{Pourcentage d'auto-agrégation} = [\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}} / \text{DO}_{\text{initiale}}] \times 100$$

L'auto-agrégation est mesurée à des différents pH (pH4, pH5, pH7, pH8), en présence de 50mM des sucres suivant: galactose, maltose, lactose, fructose, et 50mM de sel CaCl₂, 50mM d'EDTA et 20mg/ ml de trypsine.

III.2.3. Test d'hydrophobicité

L'hydrophobicité est déterminée selon la méthode décrite par **Jacobs et Chenia (2009)** : deux cultures jeunes de 24h ont été préparées dans le bouillon MRS. Le culot bactérien a été récupéré par centrifugation à froid à 6000 rpm/15min suivie de deux lavages successifs puis resuspendu dans 2 ml de PBS pH7. La densité optique initiale de la suspension a été ajustée approximativement à 0.8 à 600 nm (DO_{initiale}). Ensuite 0.4 ml de chaque solvant (xylène, de chloroforme, et d'acétate d'éthyle) sont ajoutés doucement à 3 ml de la suspension bactérienne après une pré-incubation à température ambiante pendant 10 min, le mélange est agité en utilisant un vortex pendant 2 min. Après 15 min, la phase aqueuse est récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur et on procède à la mesure de la densité optique finale (DO_{finale}). La différence de la densité optique est considérée comme une mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%) calculé par l'équation suivante:

$$\text{Pourcentage d'hydrophobicité} = [\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}} / \text{DO}_{\text{initiale}}] \times 100$$

L'hydrophobicité est mesurée à des différents pH (pH4, pH5, pH7, pH8), en présence de 50mM des sucres, les sucres utilisés sont: galactose, maltose, lactose, fructose, et 50mM de sel CaCl₂, 50mM d'EDTA et 20mg/ ml de trypsine.

III.2.4. Adhésion *in vitro* au tissu épithélial

III.2.4.1. Préparation des cellules épithéliales

Ce test consiste à étudier la capacité des lactobacilles à effet probiotique de s'adhérer à l'épithélium intestinal. Pour se faire, la méthode décrite par **Lin et al, (2007)** qui comporte trois étapes, a été impliquée:

Avant de mettre en œuvre le test d'adhésion, un segment de l'iléon de poulet de chair ont été ouvert et laver avec du tampon phosphate salin stérile (PBS pH 7.4), puis tenu dans le PBS à 4°C pendant 30 min pour être lavés. Par la suite, les tissus ont été repris, lavés 10 fois avec du PBS stérile puis laissés au repos à 4°C pendant 3 h. Les cellules ont été récupérées en grattant la surface tapissant l'intestin par une lame stérile. Des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10^{-4} , cette suspension cellulaire a été examinée par microscope optique à l'objectif $\times 100$ pour assurer qu'elle n'était pas contaminée et que la concentration des cellules épithéliales est approximativement 5×10^4 cellules/ml.

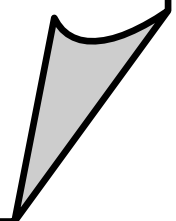
III.2.4.2. Préparation des souches lactiques:

Deux cultures jeunes de 24h ont été centrifugées à 6000 rpm/15min et le culot de chaque souche a été récupéré dans 2 ml de PBS puis laissés au repos pendant 1h à une température ambiante. Le culot bactérien a été récupéré par centrifugation à froid à 6000 rpm /15min dans le PBS pH 7.4. La densité optique de la suspension a été ajustée approximativement à 0.8 à 600 nm.

II.2.4.3. Réalisation du test

Un millilitre de chaque culture est mélangé avec 1ml de la dilution 10^{-4} de la suspension des cellules épithéliales déjà préparée. Après incubation à 37°C pendant 45 minutes dans un étuve agitateur, une préparation de frottis et une coloration au cristal violet 0.5% pendant 5 min a été réalisée pour observer l'adhésion au microscope optique. Le test est considéré comme positif si le nombre de bactéries adhérees est supérieur à 15 par cellule épithéliale.

*Résultats et
Discussion*



IV.1. Examen macroscopique et microscopique

Sur bouillon MRS, les souches de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques. L'observation microscopique a révélé une seule forme de cellules qui est la forme bacilles. Ces bacilles sont libres, en paires ou en chaînettes plus ou moins longues.

IV.2. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion

Les souches probiotiques sont souvent choisies en fonction de leur habitat intestinal normal de l'hôte et de plusieurs propriétés bénéfiques telles que l'hydrophobicité de la surface de la cellule bactérienne, la capacité d'auto-agrégation des souches probiotiques semble nécessaire, pour l'adhésion à la cellule épithéliale intestinale (Aslim et al, 2007). L'adhésion cellulaire, est un processus complexe impliquant un contact entre la membrane cellulaire bactérienne et les surfaces en interaction. L'auto-agrégation, ou la formation de grappes multicellulaires entre microorganismes de la même souche, est l'un des mécanismes proposés pour expliquer le rôle protecteur des lactobacilles. Cette propriété, liée à la capacité d'adhésion aux cellules épithéliales, pourrait pousser les lactobacilles à produire un biofilm sur l'épithélium, ce qui empêche l'entrée des pathogènes (Tomás et al, 2005). L'hydrophobicité de la surface cellulaire est déterminée par l'adhésion bactérienne aux hydrocarbures (Aslim et al, 2007).

Trois solvants différents ont été testés dans cette étude: le xylène qui est un solvant apolaire, le chloroforme, un solvant mono-polaire et acide, et l'acétate d'éthyle, un solvant mono-polaire et basique. Seulement l'adhésion bactérienne au xylène reflète l'hydrophobicité de la surface cellulaire. Les valeurs de MATS ont été obtenues avec les deux autres solvants, le chloroforme et l'acétate d'éthyle étaient considéré comme une mesure du donneur d'électrons (de base) et de l'électron caractéristiques acceptables (acides) des bactéries, respectivement (Kos et al, 2003). Les souches ont été considérées comme fortement hydrophobes lorsque les valeurs étaient > 50%, modérément hydrophobes lorsque les valeurs se situaient entre 20 et 50% et hydrophiles lorsque les valeurs étaient < 20% (Jacob et Chenia, 2009).

IV.2.1. *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

IV.2.1. 1. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 à différents pH

L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 ont été mesurés dans différents pH: pH4, pH5 et pH8 et après on a fait une comparaison avec le milieu pH7. Les résultats obtenus sont montrés dans les figures 1 et 2 et la photo1 et 2.

IV.2.1.1.1. Effet de pH sur l'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum*

10

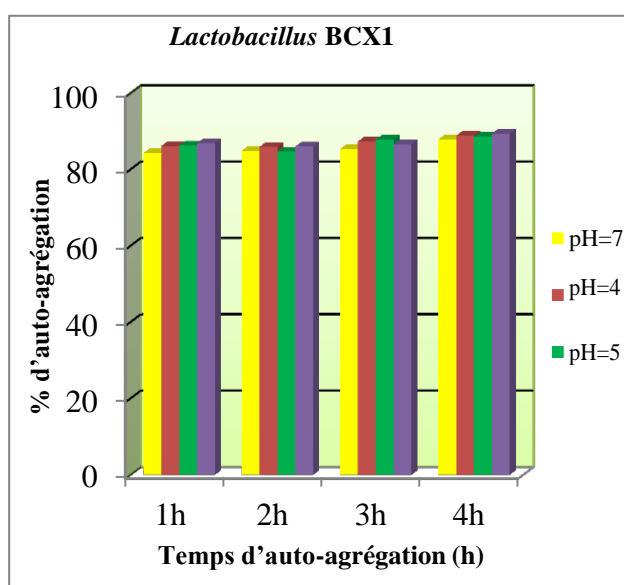


Figure 1 : Le pourcentage d'auto agrégation de *Lactobacillus* BCX1 à pH=4, 5, 7, 8

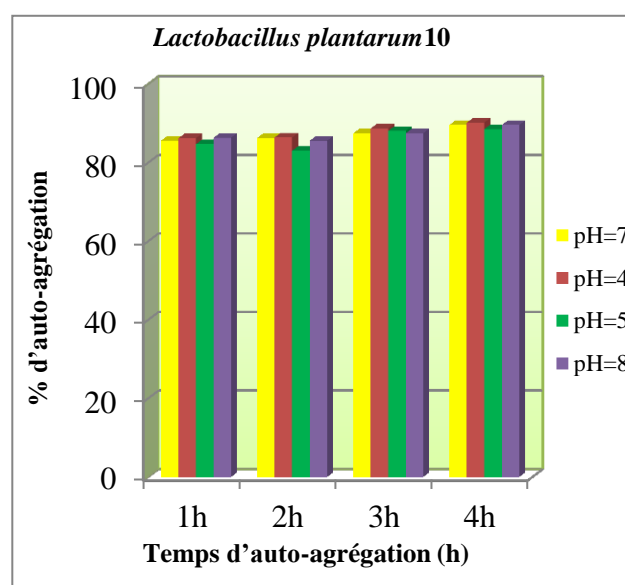


Figure 2: Le pourcentage d'auto agrégation de *Lactobacillus plantarum* 10 à pH=4, 5, 7, 8

D'après ces résultats, il apparait que *Lactobacillus* BCX1 présente un faible taux d'auto-agrégation à pH neutre par rapport aux différents pH durant le temps d'incubation. L'auto-agrégation du *Lactobacillus* BCX1, à la 1^{ère} heure d'incubation avec le pH7 84.35% est inférieure au PBS pH4 86.21%, pH5 86.30 % et pH 8 86.95 %. Après 2h Il y a une augmentation du taux d'auto-agrégation à pH7, pH4, pH5, sauf que le pH8 est réduit. On remarque une augmentation du taux d'auto-agrégation à pH7, pH4, pH5 et pH8 la 3^{ème} heure. Après la 4h d'incubation, le taux d'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 est augmenté à pH7 est 87.89%, pH4, 88.89%, pH5, 88.70% et pH8, 89.43%.

D'après les résultats de la figure 2 nous constatons en générale que le pourcentage d'auto-agrégation de la souche *Lactobacillus plantarum* 10 est faible à pH 7 par rapport aux autres pH. L'auto-agrégation du *Lactobacillus plantarum* 10 a la 1^{ère} heure d'incubation à pH7 (85.62%) est inférieur aux autres pH, pH4 (86.26%), pH5 (84.73 %) et pH8 (86.35%), et ceci en général le long de la période d'incubation.

D'une façon générale les résultats ont montré que *Lactobacillus BCX1* et *Lactobacillus plantarum* 10 ont une auto-agrégation très élevée. L'auto-agrégation observée peut être dépendante des composants de la surface cellulaire qui ne sont pas perdues avec lavage et la suspension des cellules bactériennes dans différents pH (Kos *et al*, 2003).

On peut dire q' il y a une augmentation du taux d'auto-agrégation au cours du temps d'incubation avec les différent pH. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kos *et al*, (2003) qui ont réalisé le test d'auto-agrégation de la souche *Lactobacillus acidophilus* à pH 7.2, où ils ont trouvé qu'il y a augmentation de taux d'auto-agrégation au cours du temps d'incubation.

IV.2.1.1.2.Effet de pH sur l'hydrophobicité de *Lactobacillus BCX1* et *Lactobacillus plantarum*

10

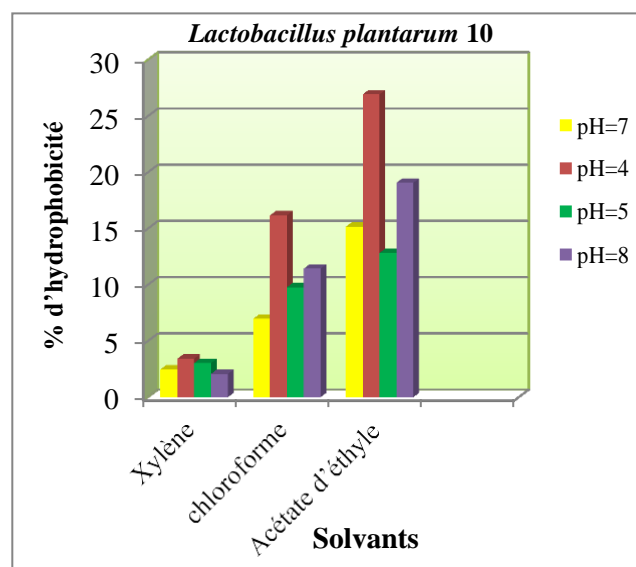
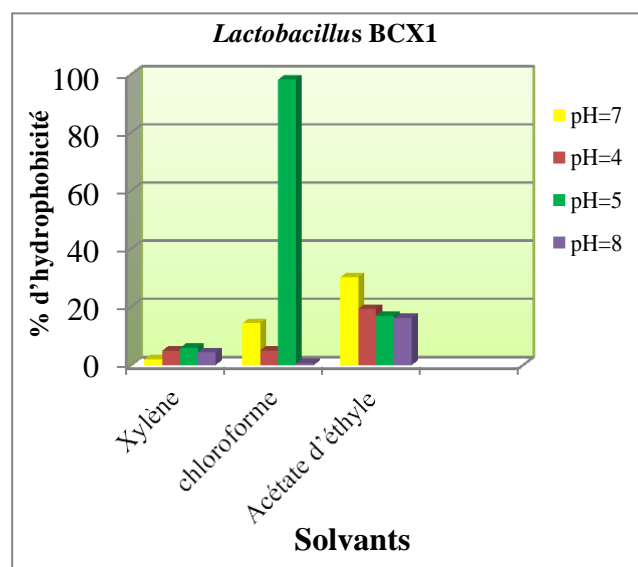


Figure 3 : Le pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus BCX1* à pH=4, 5, 7, 8.

Figure 4 : Le pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus plantarum* 10 à pH=4, 5, 7, 8.

D'après ces résultats, il apparait que *Lactobacillus BCX1* présente un taux d'hydrophobicité variable vis-à-vis des différents pH et avec les solvants xylène, chloroforme et l'acétate d'éthyle. Avec le xylène *Lactobacillus BCX1* présente un taux d'hydrophobicité de 2.02% à pH7 qui est inférieur aux taux d'hydrophobicité aux pH4 : 4.92%, pH5 : 5.90% et pH8 : 4.38%. L'hydrophobicité avec le chloroforme est supérieur à celle xylène, avec les pH 7, pH 4 et pH5, et est inférieur à celle du pH8 (0.61%). Avec l'acétate d'éthyle, le taux d'hydrophobicité est supérieur

à ceux du xylène et du chloroforme sauf avec le pH 5 et le pH 7. *Lactobacillus* BCX1 présente une hydrophobicité élevée aux pH 4, 5 et 8 par rapport au pH 7 dans le xylène. Ces résultats sont en accord avec **Bunt et al, (1993)** qui ont trouvés une hydrophobicité maximale avec le pH 4 et le pH 2.2 de la bactérie *E. coli* que par rapport au pH 7 avec le xylène.

Il apparait que l'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 dans le pH 4, 5 et 8 est plus élevée que celle du pH 7 avec l'xylène, et plus faible avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle. Cependant, l'affinité de *Lactobacillus* BCX1 pour le xylène avec les pH 4, 5 et 8 était faible que celle avec le chloroforme ou l'acétate d'éthyle. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Bunt et al, (1993)** qui ont montré que l'affinité d'*E. coli* pour le xylène était significativement inférieure à celle du chloroforme ou du dichlorométhane. L'affinité de *Lactobacillus* BCX1 pour le chloroforme avec les pH 4, 5 et 8 était également faible que celle de l'acétate d'éthyle. Contrairement à nos résultats **Kos et al, 2003**), ont trouvé que *Lactobacillus acidophilus* M92 a une forte affinité pour le chloroforme que l'acétate d'éthyle.

Les résultats illustrés dans la figure 4 de *Lactobacillus plantarum* 10 montre un faible pourcentage d'hydrophobicité à différents pH que ce soit avec le xylène (pH7: 2.47%, pH4: 3.42%, pH5: 3.03% et pH8 : 2.07%) ou les autres solvants, le chloroforme (pH 7: 6.97%, pH 4: 16.17%, pH5: 9.77%, pH8 : 11.43%) et l'acétate d'éthyle (pH7 : 15.17%, pH4 : 26.94%, pH5 : 12.83%, pH8 : 19.07%) .

Ces résultats montrent que *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* présente une faible hydrophobicité, (par rapport au 0.4ml de solvant) avec les différent pH.

IV.2.1.1.3.Effet de pH sur l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

L'adhésion des probiotiques aux cellules intestinales est un élément important pour son mécanisme d'action. En outre, l'interaction entre les souches probiotiques et les entérocytes est importante pour la production contrôlée de cytokines et de chimiokines sécrétées par des cellules épithéliales (**Delcenserie et al, 2008**). L'auto-agrégation des souches probiotiques a une relation avec l'adhésion aux cellules épithéliales (**Janković et al, 2012**). L'hydrophobicité de la surface cellulaire a été associée à une fixation bactérienne à une variété de solvants. Une plus grande hydrophobicité des cellules implique une bonne adhésion. Ainsi l'adhésion est influencée par la charge de surface cellulaire (**Marin et al, 1997**).

L'observation microscopique représentée dans la photo 1, montre que *Lactobacillus* BCX1 présente une bonne adhésion, plus de 15 bactéries par cellule (**Lin et al, 2007**).

Il apparait que l'adhésion (le nombre de cellules adhérees) aux cellules épithéliales de *Lactobacillus* BCX1, à pH4 et pH5, est plus élevée que celle du pH7, ces résultats sont en accord avec ceux d'**Yadav et al, (2015)** qui ont trouvé que l'adhésion à pH5 et pH6 est plus élevée que

celle à pH7 d'une souche de *Lactobacillus plantarum*. Par contre l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 aux cellules épithéliales à pH8 est plus faible que le pH7.

Lactobacillus BCX1 présente une relation entre l'auto-agrégation et l'adhésion et absence de relation entre l'hydrophobicité à différent pH 4, 5 et 8. Les mêmes résultats sont trouvés par **Janković et al, (2012)**, qui ont montré que l'auto-agrégation des probiotiques a une relation avec l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales. Contrairement à l'hydrophobicité qui n'a aucune relation avec l'adhésion (**Melgar-Lalanne et al, 2013**). On constate que, *Lactobacillus* BCX1 a une bonne adhésion dans le pH 4, 5 et 8.

Concernant souche *Lactobacillus plantarum* 10 nous constatons que l'adhésion (le nombre de cellules adhérees) aux cellules épithéliales, à pH4 et pH5 est acceptable selon le critère de **lin et al, (2007)**, quoique l'adhésion à pH 8 soit mieux par rapport aux autres pH. Ces résultats ne sont pas en accord à ceux d'**Yadav et al, (2015)** qui ont trouvé que l'adhésion à pH5 et pH6 et plus élevée que celle a pH7 d'une souche de *Lactobacillus plantarum*. Par contre l'adhésion de *Lactobacillus plantarum* 10 aux cellules épithéliales à pH8 est plus élevée que le pH7.

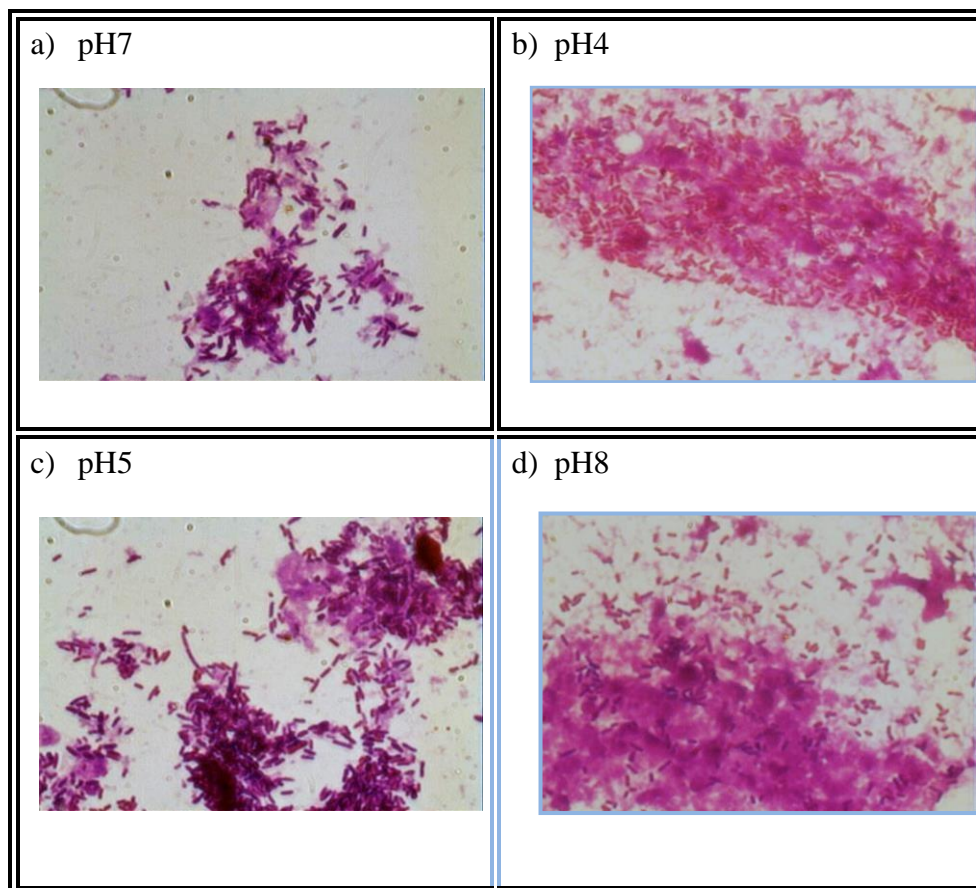


Photo 01: Photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 aux cellules épithéliales a différentes pH.

L'adhésion bactérienne est initialement basée sur des interactions physico-chimiques non spécifiques entre deux surfaces. Une interaction non spécifique entre une bactérie et un substrat peut également être due à des interactions hydrophobes. Les interactions spécifiques entre les bactéries et la muqueuse de l'hôte par des adhésines bactériennes (habituellement les protéines) et les récepteurs complémentaires (Sica *et al*, 2012). Il y a des auteurs qui ont montrés, aucune corrélation statistique entre l'hydrophobicité et l'adhésion, ce qui indique que le test d'hydrophobicité est lié aux caractéristiques de la paroi cellulaire bactérienne mais pas nécessairement à celle d'adhésion au niveau intestinal (Melgar-Lalanne *et al*, 2013).

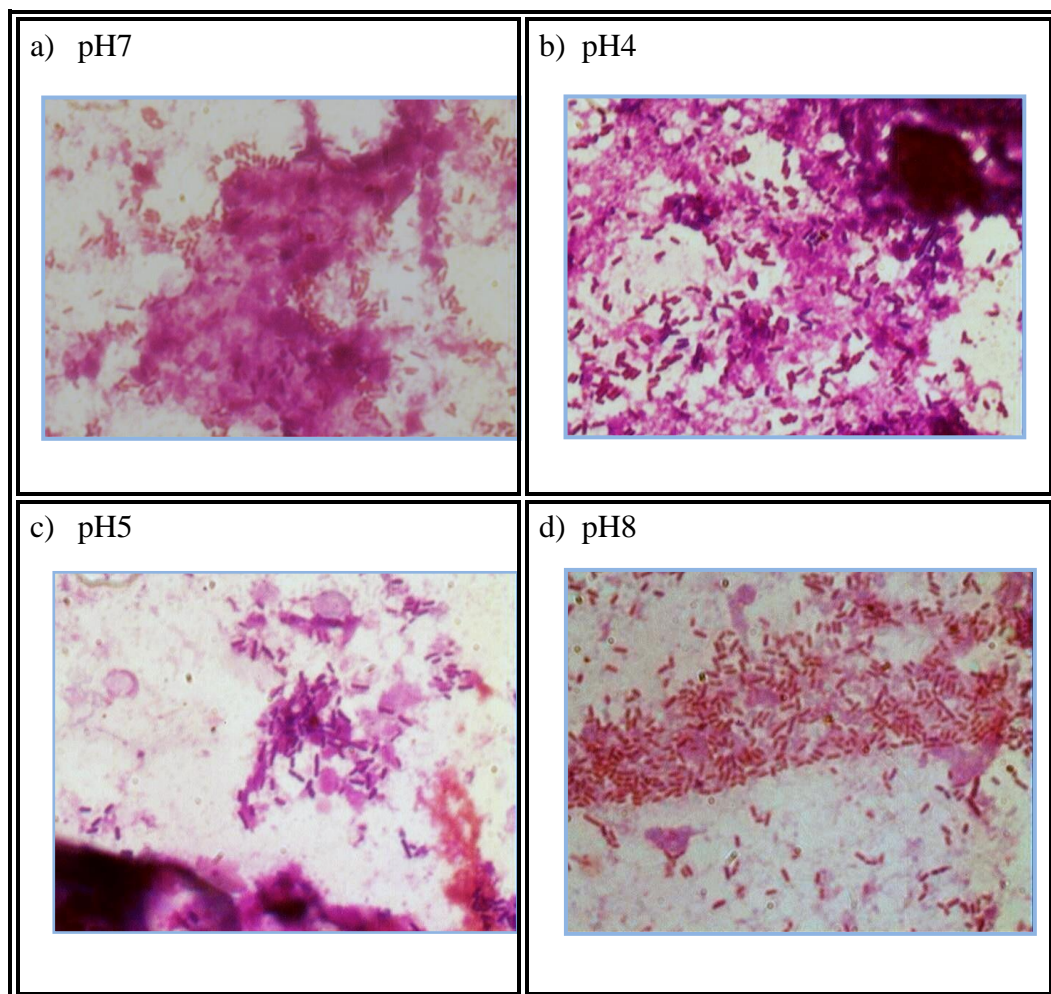


Photo 02: Photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus plantarum* 10 aux cellules épithéliales à différents pH.

III.2.1.2. L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 en présence des sucres

L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 ont été mesurés en présence de 50 mM des solutions suivantes: galactose, maltose, lactose, fructose. Les résultats obtenus sont montrés dans les figures 5 et 6 et les photos 3 et 4.

IV.2.1.2.1. Effet des sucres sur L'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

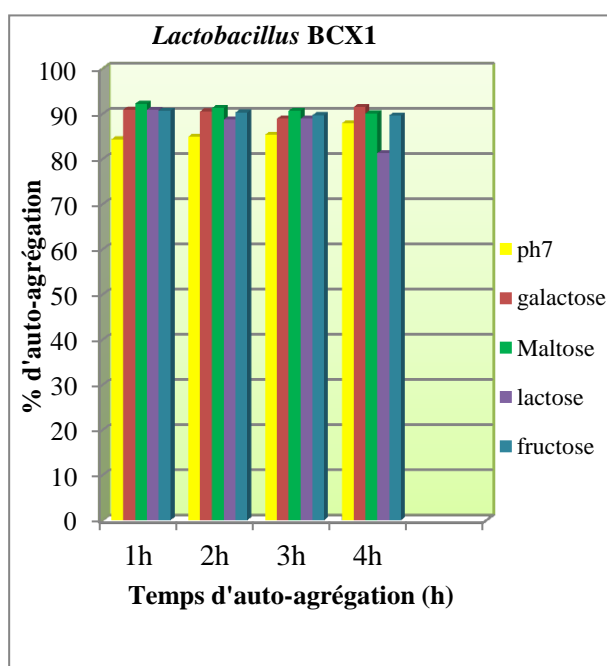


Figure 5: Le pourcentage d'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.

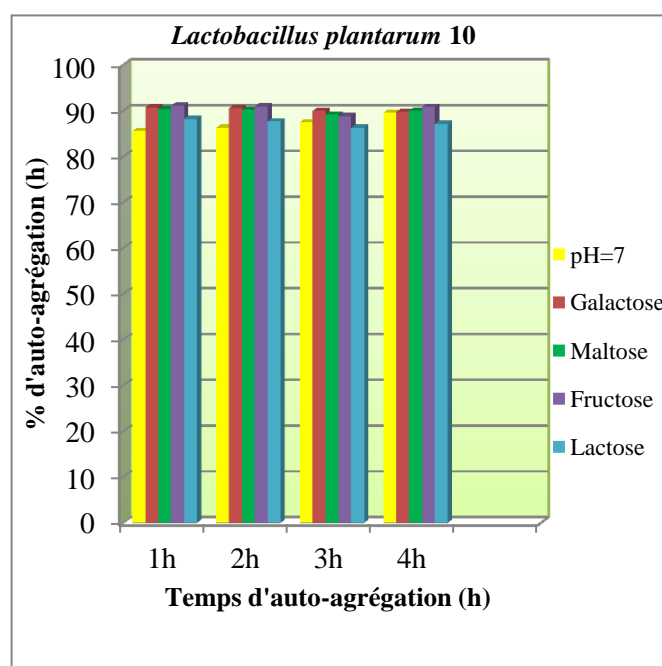


Figure 6: Le pourcentage d'auto-agrégation de *Lactobacillus plantarum* 10 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.

Les résultats de la figure 5 montrent que *Lactobacillus* BCX1 présente une variation dans le taux d'auto-agrégation dans les différentes solutions et en fonction de temps.

D'après ces résultats, on remarque que *Lactobacillus* BCX1 après la 1^{ère} heure d'incubation dans le pH 7 présente un taux d'auto-agrégation de 84.35%, inférieur aux taux d'auto-agrégation des solutions de: galactose (90.94%), maltose (92.23 %), lactose (90.89%) et fructose (90.71%). Après 2h d'incubation il y'a une augmentation de taux d'auto-agrégation dans le pH 7, et une diminution de taux d'auto-agrégation avec les autres solutions. Pendant la 4^{ème} heure d'incubation, *Lactobacillus* BCX1 un taux élevé d'auto-agrégation à pH7 avec le galactose, et une diminution du taux avec les autres sucres. Les résultats ont montré que *Lactobacillus* BCX1 a une auto-agrégation très élevée.

Il apparaît que *Lactobacillus* BCX1 montre une réduction d'auto-agrégation avec les sucres au cours du temps, ces résultats sont en accord avec les résultats de **Malik et al, (2003)**, qui trouve une réduction de l'indice d'agrégation en présence de 300 mM de glucose et de mannose dans le cas d'*Oligotropha carboxidovorans* S23 et *Acinetobacter johnsonii* S35.

D'après les résultats illustrés par la figure 6 nous pouvons constater que l'auto-agrégation de *Lactobacillus plantarum* 10 en présence des sucres (sauf le lactose) est supérieure à celle à pH 7 le long de la période d'incubation. Donc ces sucres peuvent avoir une influence positive sur l'auto-agrégation des cellules bactériennes. Il est possible que les sucres autres que ceux testés dans cette étude puissent inhiber l'agrégation.

IV.2.1.2.2. Effet des sucres sur l'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

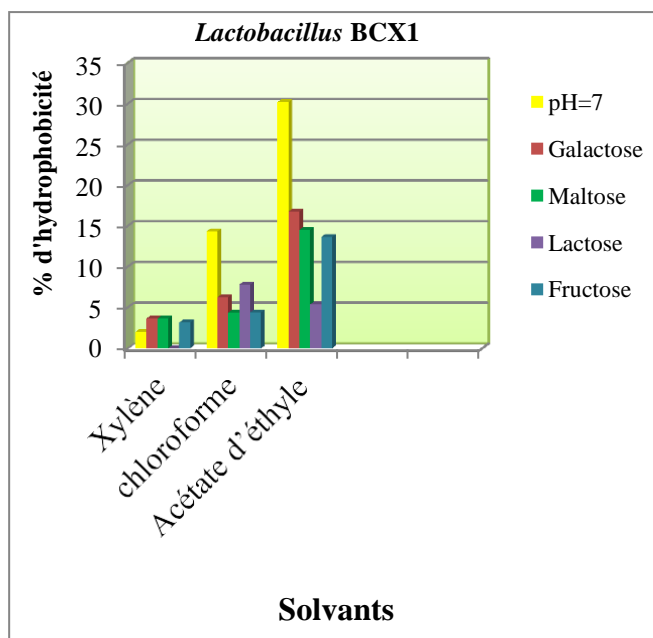


Figure 7: Le pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 en présence des différents sucres.

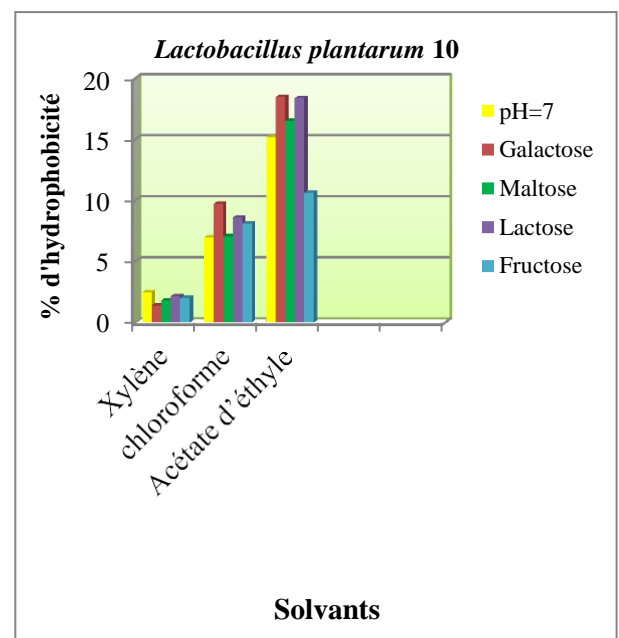


Figure 8: Le pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus plantarum* 10 en présence des différents sucres.

D'après ces résultats, il apparaît que *Lactobacillus* BCX1 présente un taux d'hydrophobicité variable vis-à-vis des différentes solutions avec les solvants utilisés xylène, chloroforme, acétate d'éthyle. Avec le xylène *Lactobacillus* BCX1 présente un taux d'hydrophobicité à pH 7 (en absence des sucres) inférieures au taux d'hydrophobicité en présence des autres sucres, galactose, maltose et fructose mais supérieur au taux d'hydrophobicité en présence du lactose qui présente une valeur nulle. L'hydrophobicité de la paroi cellulaire dans le chloroforme est plus élevée à celle au xylène,

le taux d'hydrophobicité avec le pH 7 (14.35%) est supérieur au taux avec les autres solutions. Avec l'acétate d'éthyle le taux d'hydrophobicité dans le pH 7 (30.22%) est supérieur au taux des autres solutions, galactose (16.78%), maltose (14.58%), fructose (13.56%) sauf le lactose (5.39%). Ces résultats montrent que *Lactobacillus* BCX1 a une faible hydrophobicité, en présence des différents sucres (Jacob et Chenia, 2009). On constate que l'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 est faible en présence des sucres avec le xylène contrairement au chloroforme et l'acétate d'éthyle.

D'après la figure 8, on constate une faible hydrophobicité de la surface bactérienne de *Lactobacillus plantarum* 10 avec les trois solvants étudiés, quoique le pourcentage d'hydrophobicité avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle est supérieur à celui du xylène, ceci est du peut être à la polarité des deux solvants contrairement au xylène (apolaire).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Bunt *et al*, (1993) qui ont montré que l'affinité d'*E. coli* pour le xylène était significativement inférieure à celle du chloroforme ou du dichlorométhane. L'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 avec le chloroforme en présence des sucres était faible par rapport à celle d'acétate d'éthyle.

IV.2.1.2.3.Effet des sucres sur l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

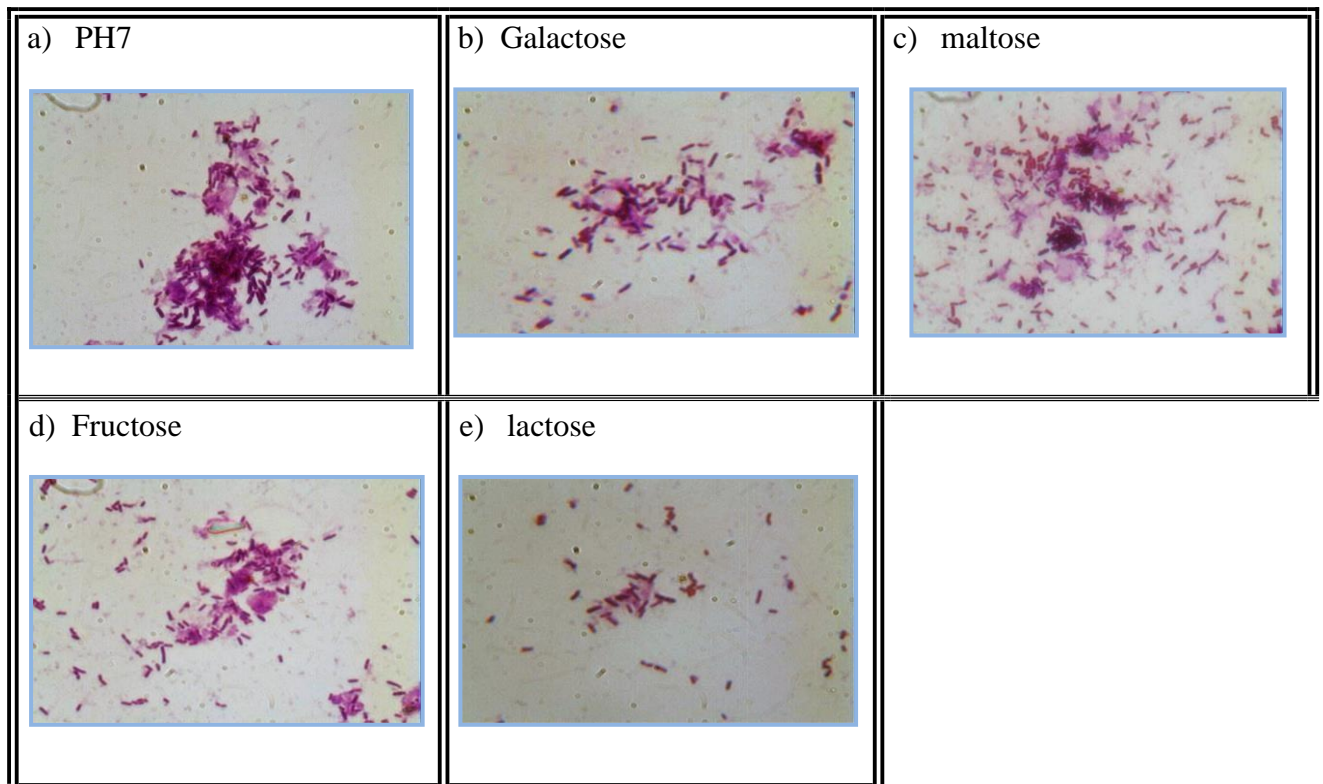


Photo 03: Photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 aux cellules épithéliales en présence de différents sucres

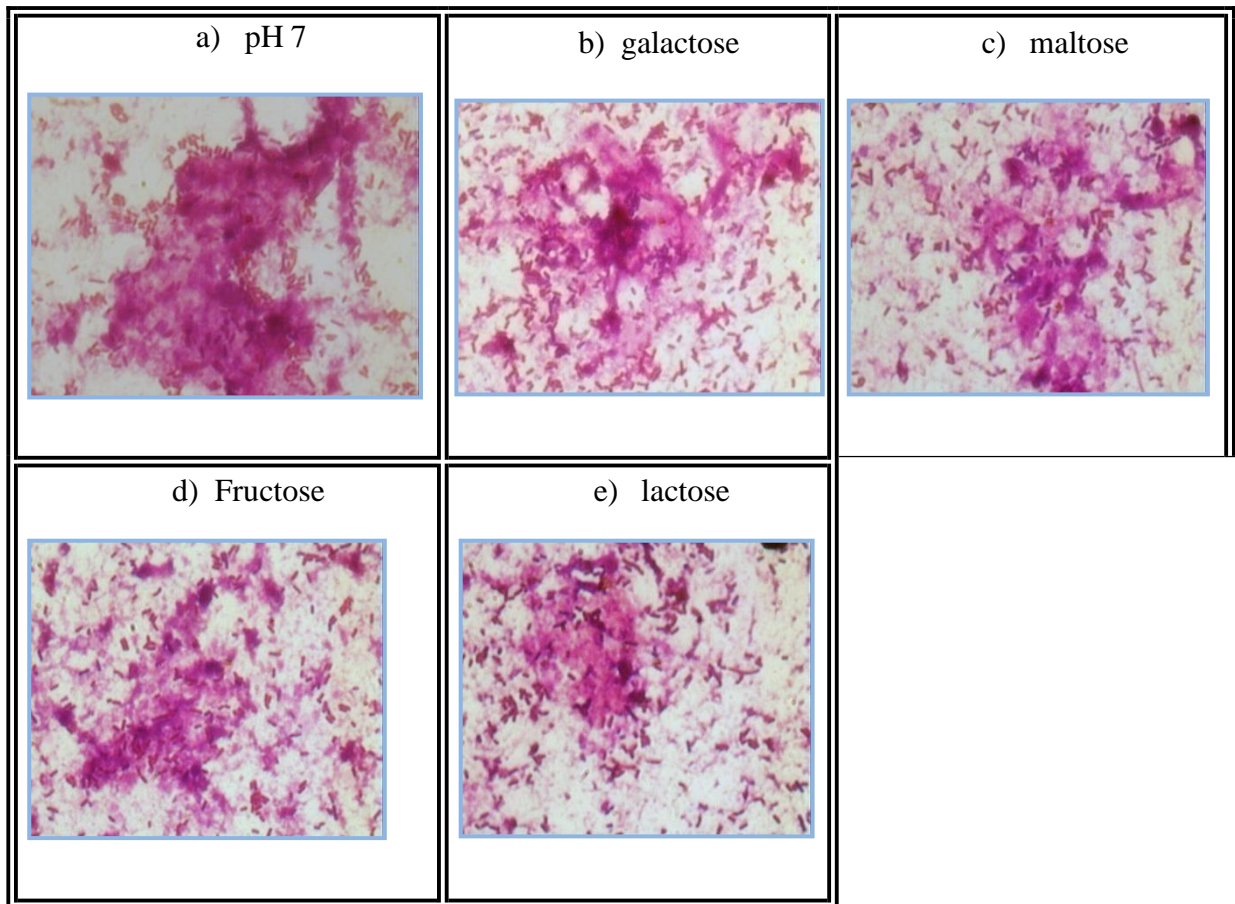


Photo 04 : Photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus plantarum* 10 aux cellules épithéliales à différentes sucres

L'observation microscopique représentée dans la photo 3 montre, que *Lactobacillus* BCX1 présente une bonne adhésion, plus de 15 bactéries par tissu **Lin et al, (2007)**, on constate une différence d'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 aux cellules épithéliales avec les différents sucres par rapport au pH7 (solution sans sucre).

A partir des résultats obtenus, il apparaît que *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 (photo 4) ont présenté une faible adhésion aux cellules épithéliales en présence de galactose, maltose, fructose, lactose par rapport au pH7. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Adlerberth et al, (1996)** qui ont montré que le D-Mannose réduit l'adhésion de *Lactobacillus plantarum* 299 et 299v, aux cellules HT-29.

Nous pouvons dire qu'il y a une relation entre l'auto-agrégation et l'adhésion mais aucune relation avec l'hydrophobicité en présence des différents sucres, galactose, maltose, fructose, lactose. Les mêmes résultats sont trouvés par **Janković et al, (2012)**, qui montre que l'auto-agrégation des souches probiotiques a une relation avec l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales. Contrairement, à l'hydrophobicité qui n'a aucune relation avec l'adhésion (**Melgar-Lalanne et al, 2013**).

D'une façon générale, on constate que, *Lactobacillus plantarum* 10 et *Lactobacillus* BCX1 ont une bonne adhésion aux cellules épithéliales.

IV.2.1.3.L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 en présence de CaCl₂ et EDTA et la trypsine

L'auto-agrégation, l'hydrophobicité et l'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 dans plusieurs milieux à savoir 50 M de CaCl₂ et EDTA et 1mg/ml de trypsine, les résultats obtenus sont montrés par les figures : 9 et 10 et les photos 5 et 6.

IV.2.1.3.1.Effet des solutions sur l'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

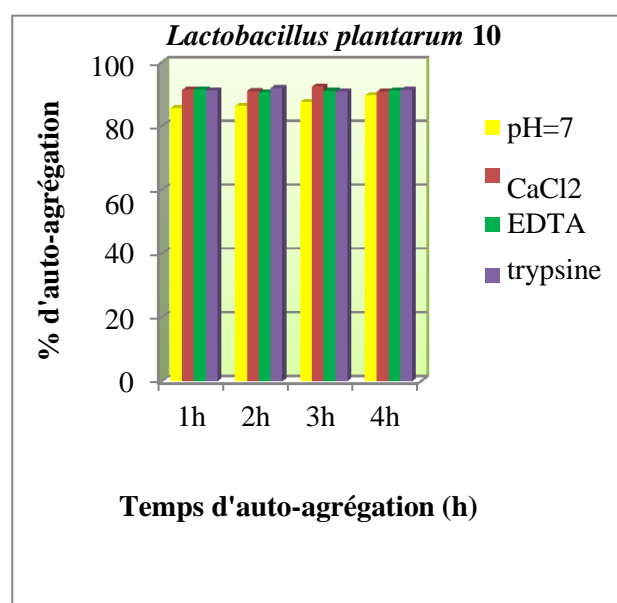
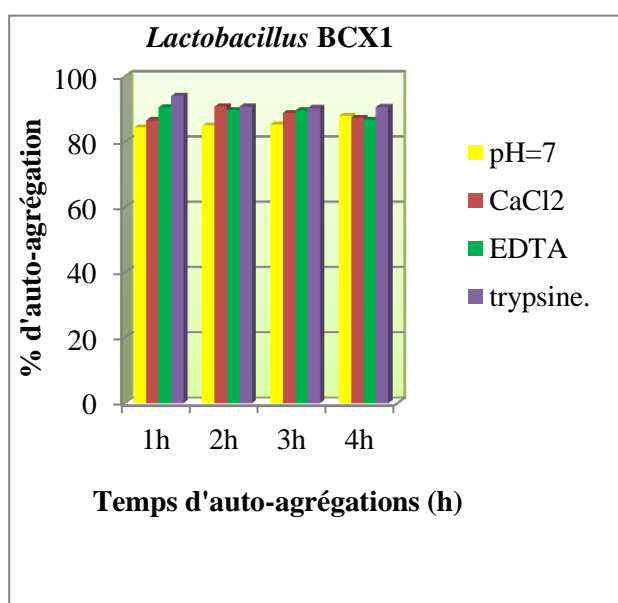


Figure 9: Le pourcentage d'auto-agrégation de *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: CaCl₂, EDTA et trypsine.

Figure 10: Le pourcentage d'auto-agrégation de *Lactobacillus plantarum* 10 avec les solutions: CaCl₂, EDTA et trypsine.

D'après ces résultats, il apparaît que *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* présente un taux d'auto-agrégation variable vis-à-vis des différentes solutions en fonction du temps.

Il apparaît après 1h d'incubation que *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* montre un taux d'auto-agrégation à pH7 inférieur aux taux d'auto-agrégation en présence de CaCl₂, EDTA et la trypsine. Avec la souche *Lactobacillus* BCX1 on remarque que l'auto-agrégation en présence CaCl₂, EDTA et trypsine est supérieure à celle du pH 7 en fonction du temps (3h) et une réduction après 4h d'incubation.

Il s'avère important de noter que, l'auto-agrégation a montré une réduction au cours du temps avec les solutions CaCl₂, EDTA et trypsine, ces résultats sont en accord avec ceux de **Malik et al**,

(2003) qui ont été trouvés une réduction d'agrégation lorsque ont été ajoutés l'EDTA à la souche *Acinetobacter johnsonii* S35.

IV.2.1.3.2. Effet des solutions sur l'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10

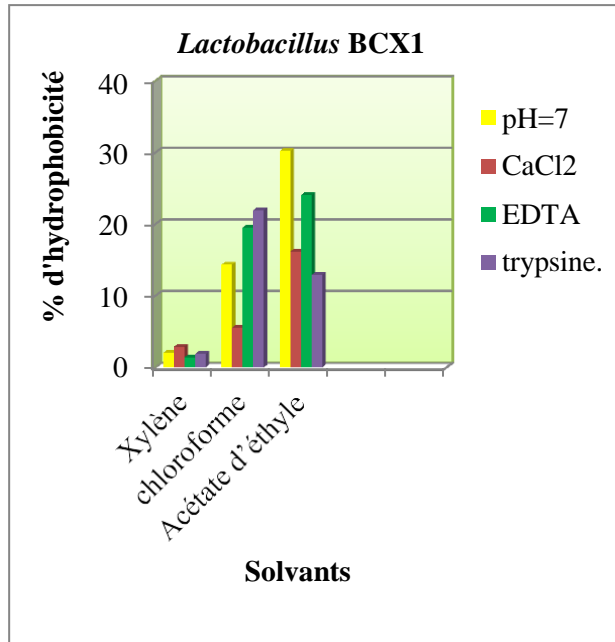


Figure 11: Les résultats du pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: CaCl₂, EDTA et trypsine.

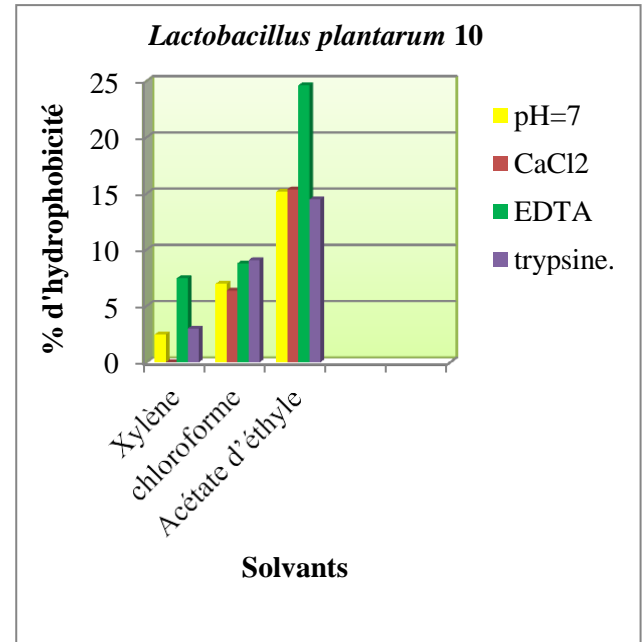


Figure 12: Les résultats de pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus plantarum* 10 avec les solutions: CaCl₂, EDTA et trypsine.

Avec le xylène, *Lactobacillus* BCX1 a un taux d'hydrophobicité à pH7 de 2.02%, supérieur au taux d'hydrophobicité des solutions: EDTA et trypsine, mais inférieur au taux d'hydrophobicité avec la solution CaCl₂ qui est 2.86%. Le taux d'hydrophobicité avec le chloroforme en présence de trypsine et l'EDTA est supérieur à ceux du pH 7 et CaCl₂. Avec l'acétate d'éthyle, l'hydrophobicité à pH7 a une valeur maximale de 30.22%, elle est supérieure aux taux d'hydrophobicité des autres solutions, CaCl₂ (16.18%), EDTA (24.06%) et trypsine (12.91%).

Ces résultats montrent que *Lactobacillus* BCX1 a une faible hydrophobicité en présence de CaCl₂, EDTA et trypsine. L'hydrophobicité est faible avec le xylène en présence d'EDTA et trypsine, ces résultats sont en accord avec ceux du **Kos et al, (2003)** qui ont trouvé une réduction de l'hydrophobicité avec le xylène pour l'enzyme pepsine et le pronase avec *Lactobacillus acidophilus* M92. L'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 avec le xylène en présence des solutions était significativement faible que pour le chloroforme et l'acétate d'éthyle.

L'hydrophobicité de *Lactobacillus* BCX1 avec le chloroforme en présence de ces es solutions était faible qu'avec l'acétate d'éthyle. Ces résultats ne sont pas d'accord avec **Kos et al, (2003)**, qui fait le test avec *Lactobacillus acidophilus* M92 et qui a trouvé une forte affinité pour le chloroforme que l'acétate d'éthyle.

Les résultats de la figure 12, montrent l'hydrophobicité de *Lactobacillus plantarum* 10. Avec le xylène *Lactobacillus plantarum* 10 présente un taux d'hydrophobicité à pH7 2.47%, inférieur au taux d'hydrophobicité dans les solutions EDTA et trypsine, mais supérieur au taux d'hydrophobicité avec CaCl_2 qui est 0.00%. L'hydrophobicité de la paroi cellulaire avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle n'a pas été influencée (à l'exception en présence de l'EDTA avec l'acétate d'éthyle).

IV.2.1.3.3.L'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 en présence de CaCl_2 et EDTA et de trypsine

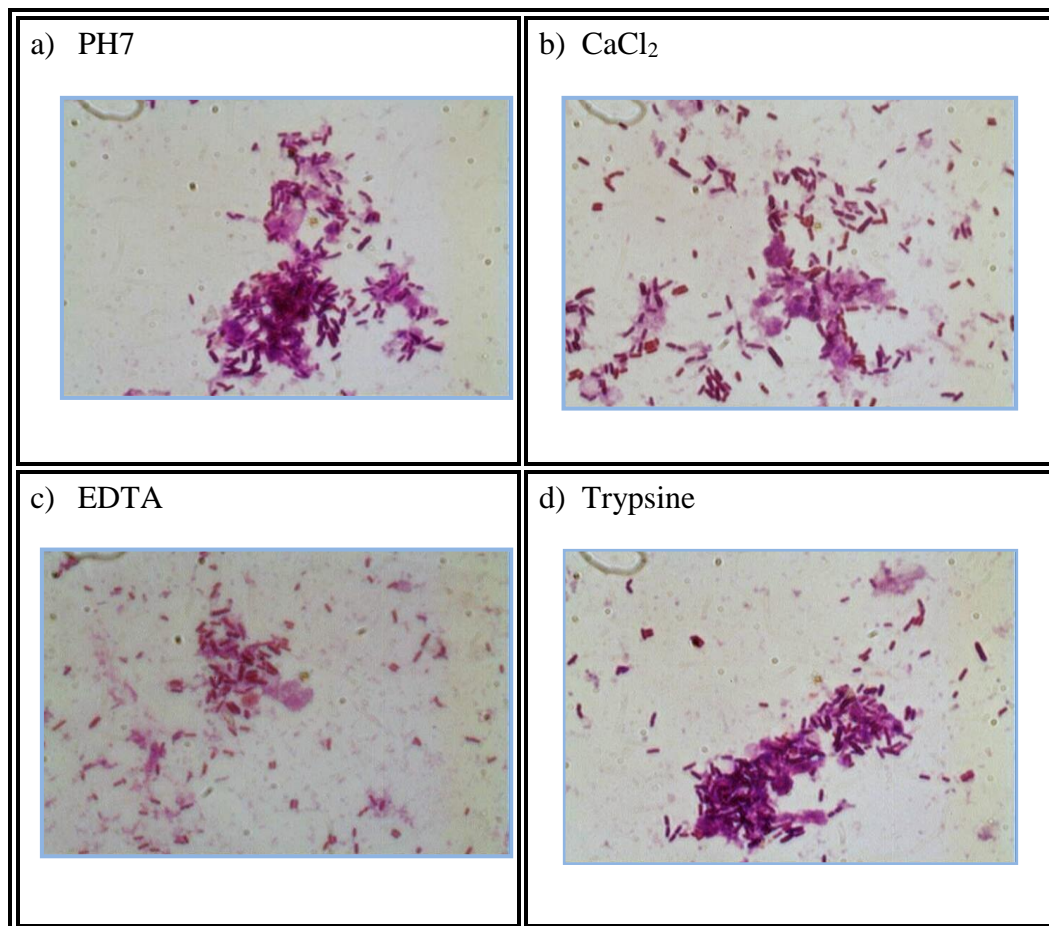


Photo 05: photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 aux cellules épithéliales à différentes solutions.

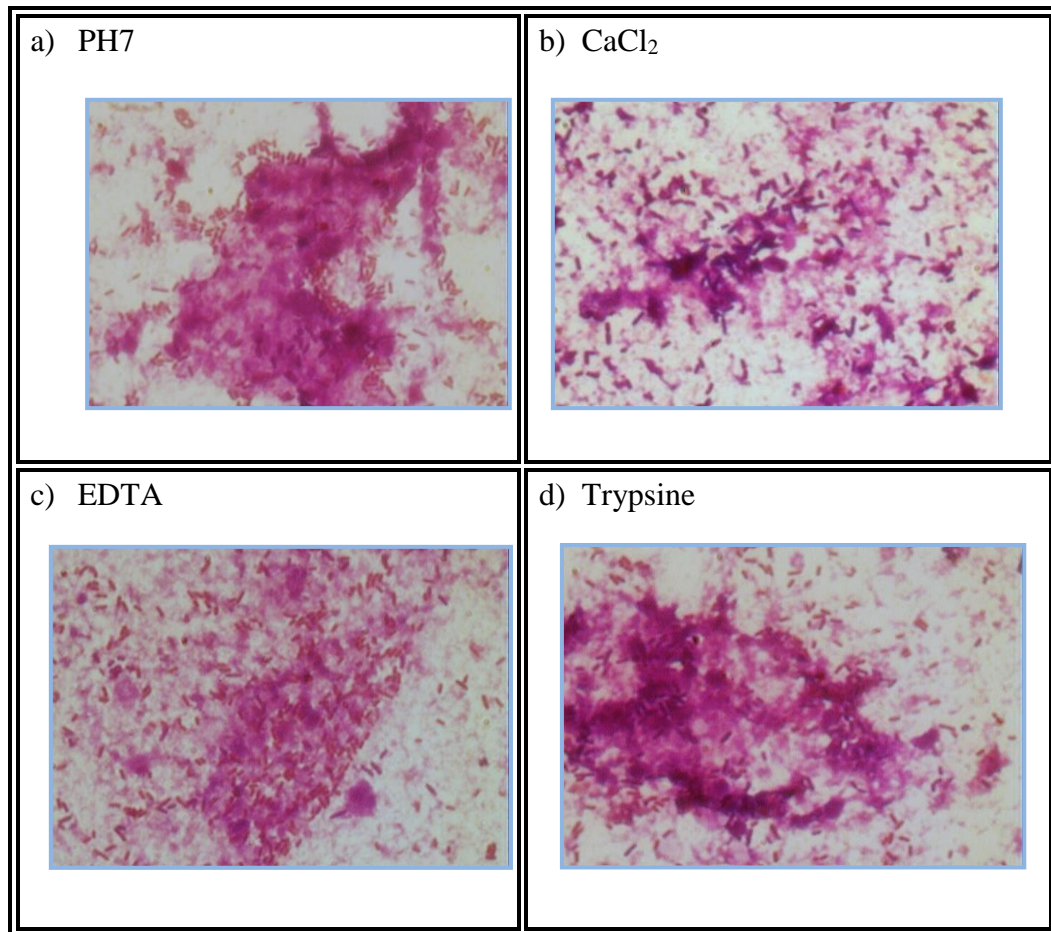


Photo 06: photomicrographie d'adhésion de *Lactobacillus plantarum* 10 à différentes solutions.

Les observations microscopiques représentées dans les photos 5 et 6 montrent une différence d'adhésion de *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 aux cellules épithéliales à différentes solutions par rapport au pH7.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que *Lactobacillus* BCX1 a présenté une adhésion aux cellules épithéliales faibles avec CaCl₂ et EDTA. Au contraire en présence de la trypsine l'adhésion est plus élevée, ces résultats ne sont pas en accord avec **Yadav et al, (2015)** qui ont observé que le prétraitement avec la trypsine n'entraînait qu'une légère diminution de l'adhésion.

Avec la souche *Lactobacillus plantarum* 10 on remarque une faible adhésion aux cellules épithéliales en présence de CaCl₂ par rapport à pH7.

Au contraire avec l'EDTA et la trypsine, l'adhésion est plus élevée, ces résultats ne sont pas en accord avec **Yadav et al, (2015)** qui ont observé que le prétraitement avec la trypsine n'entraînait qu'une légère diminution de l'adhésion. Nous constatons également ici qu'il y a une relation entre l'auto-agrégation et l'adhésion chez *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10, contrairement, à l'hydrophobicité qui n'a aucune relation avec l'adhésion. En conclusion nous constatons que, *Lactobacillus* BCX1 et *Lactobacillus plantarum* 10 ont une bonne adhésion dans les différents solutions ; CaCl₂, EDTA et trypsine.

IV.3. Comparaison entre les deux la souche étudiées

La comparaison entre *Lactobacillus plantarum* 10 et *Lactobacillus* BCX1, est montré dans les **tableaux 14** et **15**. La souche *Lactobacillus plantarum* 10 présente une bonne auto-agrégation et une bonne hydrophobicité par rapport à *Lactobacillus* BCX1. On constate que *Lactobacillus plantarum* 10 d'origine ruminale possède des bons critères pour être sélectionnée comme une souche probiotique par rapport à *Lactobacillus* BCX1 d'origine laitière.

D'après tous ces résultats nous constatons que l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales et leur auto-agrégation étaient bonnes quoique les pourcentages d'hydrophobicité fussent faibles. Ces constatations sont confirmées par **Janković et al, (2012)** et **(Melgar-Lalanne et al, 2013)** et qui affirment que l'adhésion et l'auto-agrégation n'ont aucune relation avec l'hydrophobicité des cellules bactériennes.

L'Adhésion bactérienne aux cellules épithéliales est l'un des critères utilisés pour sélectionner une souche probiotique. Les résultats obtenus à partir du test d'adhésion, montrent que les deux souches, *Lactobacillus plantarum* 10 d'origine ruminale et *Lactobacillus* BCX1 d'origine laitière présentent une bonne adhésion aux cellules épithéliales.

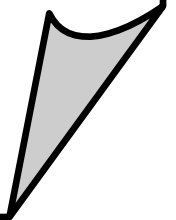
Tableau 14 : comparaison entre les résultats d'auto-agrégation de *Lactobacillus plantarum* 10 et *Lactobacillus* BCX 1.

	Les paramètres	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10				<i>Lactobacillus</i> BCX1			
		1h	2h	3h	4h	1h	2h	3h	4h
Auto-agrégation	pH7	85,62	86,32	87,49	89,6	84,35	84,94	85,37	87,89
	pH4	86,26	86,43	88,74	90,22	86,21	86,01	87,40	88,89
	pH5	84,73	83,05	88,11	88,56	86,30	84,75	87,87	88,70
	pH8	86,35	85,58	87,49	89,60	86,95	86,08	86,63	89,43
	Galactose	90,74	90,61	90,01	89,76	90,94	90,54	88,90	91,51
	maltose	90,37	90,25	89,15	90,05	92,23	91,27	90,69	90,10
	fructose	88,24	87,69	86,32	87,20	90,89	88,70	88,89	81,28
	lactose	91,14	90,99	88,84	90,88	90,71	90,31	89,69	89,64
	CaCl ₂	91,40	91,02	92,36	90,79	86,64	90,84	88,87	87,32
	EDTA	91,52	90,60	91,06	91,13	90,62	89,74	89,63	86,71
	trypsine	91,22	91,95	90,80	91,36	94,08	90,77	90,39	90,70

Tableau 15 : comparaison entre les résultats d'hydrophobicité de *Lactobacillus plantarum* 10 et *Lactobacillus* BCX 1

	paramètres	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10			<i>Lactobacillus</i> BCX1		
		Xylène	chloroforme	A. d'éthyle	Xylène	chloroforme	A. d'éthyle
Hydrophobicité	pH7	2,47	6,97	15,17	2,02	14,35	30,22
	pH4	3,42	16,17	26,94	4,92	4,99	19,29
	pH5	3,03	9,77	12,83	5,90	98,18	16,92
	pH8	2,07	11,43	19,07	4,38	0,61	16,16
	Galactose	1,39	9,73	18,49	3,65	6,25	16,78
	maltose	1,80	7,08	16,53	3,64	4,39	14,52
	fructose	2,15	8,60	18,40	0,00	7,82	5,39
	lactose	2,02	8,11	10,64	3,16	4,42	13,65
	CaCl ₂	0,00	6,36	15,38	2,86	5,55	16,18
	EDTA	7,47	8,81	24,62	1,40	19,53	24,06
	trypsine	3,00	9,08	14,48	1,87	21,96	12,91

Conclusion



La capacité des lactobacilles à survivre et interagir avec la muqueuse intestinale de l'hôte est un critère essentiel pour retenir la qualification de probiotique.

D'après les résultats obtenus nous concluons que nos souches ont une faible hydrophobicité, et une grande capacité d'auto-agrégation et d'adhérence au tissu épithélial intestinal.

Nous avons démontré que le traitement physicochimique et enzymatique a un effet non significatif sur le pouvoir d'adhésion et d'auto-agrégation. Les souches lactiques ont montré une bonne adhésion et auto-agrégation dans des conditions hostiles: acidité, alcalinité, présence de l'enzyme protéolytique « trypsine», EDTA, CaCl₂ et sucres.

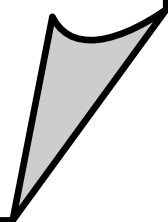
Ces résultats indiquent que les deux souches étudiées possèdent certains critères probiotiques mais ne permettent pas de bien juger les performances des souches, d'autres études sur d'autres paramètres seront nécessaires pour confirmer les aptitudes probiotiques.

D'après les résultats obtenus, *Lactobacillus plantarum* 10 montre un bon critère de sélection pour une souche probiotique par rapport au *Lactobacillus* BCX1.

D'autres études seront nécessaires pour mieux étudier les performances de ces souches :

- Le développement de nouveaux tests suffisamment sensible pour identifier les constituants associés à la paroi bactérienne aussi bien que des cellules épithéliales de l'hôte.
- Une meilleure caractérisation des activités des souches de lactobacilles à intérêt probiotique.

Références
Bibliographiques



- Acharya, M. R., & Shah, R. K. (2002).** Selection of human isolates of Bifidobacteria for their use as probiotics. *Applied biochemistry and biotechnology*, 102(1-6), 81-98.
- Adlerberth, I., Ahrné, S. I. V., Johansson, M. L., Molin, G., Hanson, L. A., & Wold, A. E. (1996).** A mannose-specific adherence mechanism in *Lactobacillus plantarum* conferring binding to the human colonic cell line HT-29. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7), 2244-2251.
- Al-Khafaji, Z.M. (2008)** Probiotics (For Life). Published and Printed by House and Documentation Baghdad. Library of Control No. pp 133, 186, 200.
- Alvarez-Calatayud, G., & Margolles, A. (2016)** Dual-coated lactic acid bacteria: an emerging innovative technology in the field of probiotics. *Future microbiology*, 11(3), 467-475.
- Anania, C., Celani, C., Chiesa, C. & Pacifico, L. Probiotics (2016)** Usage in Childhood Helicobacter pylori Infection IN Watson, R. R. & Preedy, V. R. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Bioactive Foods in Health Promotion. Academic Press is an imprint of Elsevier. Amsterdam, pp 669.
- Anukam, K. C., & Reid, G. (2007).** Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's observation. *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology*, 1, 466-474.
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011).** Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt—A review. *International journal of food microbiology*, 149(3), 194-208.
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2014).** Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(7), 938-956.
- Aslim, B., Onal, D., & Beyatli, Y. (2007).** Factors influencing auto-aggregation and aggregation of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* isolated from handmade yogurt. *Journal of food protection*, 70(1), 223-227.
- 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.
- Atlan, D., Béal, C., Vergès, M.C.C., Chartier, M.P.C., Chouayekh, H., Bousquet, M. C., (2008).** *Métabolisme et ingénierie métabolique* IN Corrieu, G. et Lquet, F. Bactéries lactiques De

la génétique aux ferments. Collection sciences et techniques agroalimentaire. Paris, pp : 307, 444, 446.

Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A. M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., ... & Zuccotti, G. V. (2011). Probiotics and health: an evidence-based review. *Pharmacological Research*, 63(5), 366-376.

Axelsson, L. (2004) Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology IN Salminen S., and Wright A. v. Ouwehand A. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, 3, Marcel Dekker, New York, pp 19.

Bahri, F., Lejeune, A., Dubois-Dauphin, R., Elmejdoub, T., Boulahrouf, A., & Thonart, P. (2014). Characterization of *Lactobacillus* strains isolated from Algerian children faeces for their probiotic properties. *African Journal of Microbiology Research*, 8(3), 297-303.

Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Muzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary microbiology*, 114(3), 173-186.

Boclé J. C. and Thomann C. (2005) Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults, afssa, France, pp 36.

Bunt, C. R., Jones, D. S., & Tucker, I. G. (1993). The effects of pH, ionic strength and organic phase on the bacterial adhesion to hydrocarbons (BATH) test. *International Journal of Pharmaceutics*, 99(2-3), 93-98.

Canani, R. B., Sangwan, N., Stefka, A. T., Nocerino, R., Paparo, L., Aitoro, R., ... & Nagler, C. R. (2016). *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented formula expands butyrate-producing bacterial strains in food allergic infants. *The ISME Journal*, 10(3), 742-750.

Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.

Chamba, J. F. (2008) Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères IN Corrieu G. et Lquet F. *Bactéries lactiques De la génétique aux ferments. Collection sciences et techniques agroalimentaire. Paris*, pp 789, 790,791,795.

Collado, M. C., Meriluoto, J., &Salminen, S. (2008). Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1065-1073.

Dabonné, S., Yahaya, K., Pamphile, K. B., Philomène, Z., & Simplie, G. T. (2013). Xylinasic and amylasic activities of some microorganisms in the digestive exudate of termites (*Macrotermes Subhyalinus* and *Macrotermes Bellicosus*). *Scientific Journal of Biological Sciences*, 2(12), 244-255.

- Dainese-Plichon, R., Schneider, S., Piche, T., & Hébuterne, X. (2014).** Malabsorption et intolérance au lactose chez l'adulte. *Nutrition clinique et métabolisme*, 28(1), 46-51.
- Davis, T. J., & Volk, B. (2016).** Are probiotics effective for the prevention of upper respiratory infections in children?
- Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., & Palenzona, D. (2000).** Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in applied microbiology*, 31(6), 438-442.
- Delcenserie, V., Martel, D., Lamoureux, M., Amiot, J., Boutin, Y., & Roy, D. (2008).** Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current issues in molecular biology*, 10(1/2), 37.
- Deng, Y., Misselwitz, B., Dai, N., & Fox, M. (2015).** Lactose intolerance in adults: biological mechanism and dietary management. *Nutrients*, 7(9), 8020-8035.
- Emara, M. H., Elhawari, S. A., Yousef, S., Radwan, M. I., & Abdel-Aziz, H. R. (2016).** Emerging role of probiotics in the management of *Helicobacter pylori* infection: histopathologic perspectives. *Helicobacter*, 21(1), 3-10.
- Espeche, M. C., Pellegrino, M., Frola, I., Larriestra, A., Bogni, C., & Nader-Macías, M. F. (2012).** Lactic acid bacteria from raw milk as potentially beneficial strains to prevent bovine mastitis. *Anaerobe*, 18(1), 103-109.
- FAO, W. H. O. (2001).** Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food, including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agricultural Organization of United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report.
- Fayol-Messaoudi, D., Berger, C. N., Coconnier-Polter, M. H., Lievin-Le Moal, V., & Servin, A. L. (2005).** pH-, Lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic Lactobacilli against *Salmonella enterica* Serovar *typhimurium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 6008-6013.
- Fedorak, R. N., Feagan, B. G., Hotte, N., Leddin, D., Dieleman, L. A., Petrunia, D. M., ... & Rostom, A. (2015).** The probiotic VSL# 3 has anti-inflammatory effects and could reduce endoscopic recurrence after surgery for Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 13(5), 928-935.
- Fijan, S. (2014).** Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(5), 4745-4767.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E., & Bonos, E. (2013).** Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. In *Lactic Acid Bacteria-R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. InTech.

- Giori, G. S. & Hébert, E. M. (2001)** Methods to Determine Proteolytic Activity of Lactic Acid Bacteria IN Spencer, J. F. T. & Spencer, A.L. R. Food Microbiology Protocols, Humana Press, pp 197.
- Giraffa, G., Chanishvili, N., & Widyastuti, Y. (2010).** Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. Research in Microbiology, 161(6), 480-487.
- Goldin, B. R. (2011)** Probiotics and Health: From History to Future IN Kneifel W. and Salminen S. Probiotics and Health Claims. 1ed, Wiley-Blackwell, UK, pp 2-7.
- Hamilton-Miller, J. M. T. (2003).** The role of probiotics in the treatment and prevention of Helicobacter pylori infection. International Journal of Antimicrobial Agents, 22(4), 360-366.
- Hanning, I., Lingbeck, J. & Ricke, S. C. (2016)** Cardiovascular Health and Disease Prevention: Association with Foodborne Pathogens and Potential Benefits of Probiotics IN Watson, R. R. & Preedy, V. R. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Bioactive Foods in Health Promotion. Academic Press is an imprint of Elsevier. Amsterdam, pp: 796.
- Hardy, H., Harris, J., Lyon, E., Beal, J., & Foey, A. D. (2013).** Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. Nutrients, 5(6), 1869-1912.
- Herich, R., & Levkut, M. (2002).** Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. VETERINARNI MEDICINA-PRAHA-, 47(6), 169-180.
- Holzappel, W. H. (2006)** Introduction to Prebiotics and Probiotics IN Goktepe I., Juneja V. K., Ahmedna M. Probiotics in Food Safety and Human Health, Taylor & Francis, New York, pp 21.
- Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014).** Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy. John Wiley & Sons. USA , pp 34 .
- Huang, Y., Wang, X., Wang, J., Wu, F., Sui, Y., Yang, L., & Wang, Z. (2013).** *Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. Journal of Dairy Science, 96(5), 2746-2753.
- Hughenoltz, J. (2006)** Citrate metabolism in lactic acid bacteria, FEMS Microbiology Reviews, 12 (1-3), pp 165-178.
- Idoui T., Boudjerda D., Leghouchi E., Karam N. (2009)** Activité probiotique de *Lactobacillus plantarum*:étude réalisée chez le poulet de chair 15, *Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo, 25 et 26 mars 2009.*
- Jacobs, A., &Chenia, H. Y. (2009).** Biofilm-forming capacity, surface hydrophobicity and aggregation characteristics of *Myroides odoratus* isolated from South African *Oreochromis mossambicus* fish. Journal of Applied Microbiology, 107(6), 1957-1966.

- Janković, T., Frece, J., Abram, M., & Gobin, I. (2012).** Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Journal of Sanitary Engineering Research*, 6(1), 17-22.
- Jones, M. L., Tomaro-Duchesneau, C., Martoni, C. J., & Prakash, S. (2013).** Cholesterol lowering with bile salt hydrolase-active probiotic bacteria, mechanism of action, clinical evidence, and future direction for heart health applications. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 13(5), 631-642.
- Kaur I. P., Kuhad A., Garg A., and Chopra K. (2010)** Probiotics Potential Pharmaceutical Applications IN Cho S. S. and Finocchiaro E. T. Handbook of prebiotics and probiotics ingredients health benefits and food applications. CRC Press, New York, pp 388-399.
- Khalighi, A., Behdani, R., & Kouhestani, S. (2016).** Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. In *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. InTech.
- Kos, B., Šušković, J., Vuković, S., Šimpraga, M., Frece, J., & Matošić, S. (2003).** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 94(6), 981-987.
- Kumar, A., & Kumar, D. (2014).** Isolation and characterization of bacteria from dairy samples of Solan in Himachal Pradesh for identification of *Lactobacillus* spp. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 25, 110-114.
- Kumar, M., Kisson-Singh, V., Coria, A. L., Moreau, F., & Chadee, K. (2017).** Probiotic mixture VSL# 3 reduces colonic inflammation and improves intestinal barrier function in Muc2 mucin-deficient mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 312(1), G34-G45.
- 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.
- Lee, Y. K. (2009)** Probiotic microorganisms IN Lee, Y. K. & Salminen, S. Handbook of probiotics and prebiotics, 2 ed, wiley, Canada, pp 3, 4.
- Lin, T. Y., & Chien, M. F. C. (2007).** Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, 100(4), 1419-1423.
- Loh, J. Y. (2017).** The Role of Probiotics and Their Mechanisms of Action: An Aquaculture Perspective. *WORLD AQUACULTURE*, 19.

- Luis Balcázar, J., Decamp, O., Vendrell, D., De Blas, I., & Ruiz-Zarzuela, I. (2006).** Health and nutritional properties of probiotics in fish and shellfish. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 18(2), 65-70.
- Ly, N. P., Litonjua, A., Gold, D. R., & Celedón, J. C. (2011).** Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity?. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(5), 1087-1094.
- Maleki, D., Homayouni, A., Khalili, L. & Golkhalkhali, B. (2016)** Probiotics in Cancer Prevention, Updating the Evidence IN Watson, R. R. & Preedy, V. R. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Bioactive Foods in Health Promotion. Academic Press is an imprint of Elsevier. Amsterdam, pp: 788 .
- Malik, A., &Kakii, K. (2003).** Intergeneric coaggregations among Oligotrophacarboxidovorans and Acinetobacter species present in activated sludge. *FEMS Microbiology Letters*, 224(1), 23-28.
- Marin, M. L., Benito, Y., Pin, C., Fernandez, M. F., Garcia, M. L., Selgas, M. D., & Casas, C. (1997).** Lactic acid bacteria: hydrophobicity and strength of attachment to meat surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 24(1), 14-18.
- Marschan E. (2007)** Immunological effects of probiotic bacteria in prevention and treatment of allergic diseases in children, the National Public Health Institute, Helsinki, pp 22, 43
- 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.
- Ménard, S. & Heyman, M. (2006).** Modulation of Epithelial Function and Local Immune System by Probiotics: Mechanisms Involved IN Goktepe I., Juneja, V. K. & Ahmedna, M. Probiotics in Food Safety and Human Health, Taylor & Francis, New York, pp 355.
- Monnet, C., Latrille, E., Beal, C., & Corrieu, G. (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des babactéries lactiques. IN Corrieu, G. et Lquet, F. Bactéries lactiques De la génétique aux ferments. Collection sciences et techniques agroalimentaire. Paris, pp 543.
- Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L. (2006).** The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24.
- Mozzi, F., Torino, M. I., & de Valdez, G. F. (2001).** Identification of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria: a method for the isolation of polysaccharides in milk cultures. *Food Microbiology Protocols*, 183-190.

Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A., & Maneerat, S. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1337-1345.

Nagpal, R., Yadav, H., Kumar, M., Jain, S., Yamashiro, Y. & Marotta, F. (2014). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: An Introduction IN Ötles S. Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health, CRC Press, New york, pp :1, 4, 6.

Nikita, C., & Hemangi, D. (2012). Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from dairy sludge sample. *Journal of Environmental Research and Development* 7(1A): 1-11.

Ortakci, F., Broadbent, J. R., Oberg, C. J., & McMahon, D. J. (2015). Growth and gas formation by *Lactobacillus wasatchensis*, a novel obligatory heterofermentative nonstarter lactic acid bacterium, in Cheddar-style cheese made using a *Streptococcus thermophilus* starter. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7473-7482.

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.

Pakdaman, M. N., Udani, J. K., Molina, J. P., & Shahani, M. (2016). The effects of the DDS-1 strain of *Lactobacillus* on symptomatic relief for lactose intolerance-a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial. *Nutrition Journal*, 15(1), 56.

Pedersen, T. B., Vogensen, F. K., & Ardö, Y. (2016). Effect of heterofermentative lactic acid bacteria of DL-starters in initial ripening of semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 57, 72-79.

Perez, R. H., Perez, M. T. M., & Elegado, F. B. (2015). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: A Review of Biosynthesis, Mode of Action, Fermentative Production, Uses, and Prospects. *International Journal of Philippine Science and Technology*, 8(2), 61-67.

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.

Saavedra, L., Castellano, P., & Sesma, F. (2001). Purification of Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria IN Spencer, J. F. T. & Spencer, A.L. R. *Food Microbiology Protocols* , Humana Press, pp331.

- Sartor, R. B. (2004).** Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology*, 126(6), 1620-1633.
- Schultz, M., & Sartor, R. B. (2000).** Probiotics and inflammatory bowel diseases. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(1), S19-S21.
- Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Hanmoungjai, P., & Techapun, C. (2011).** Exopolysaccharide production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 33(4).
- Sica, M. G., Brugnoli, L. I., Marucci, P. L., & Cubitto, M. A. (2012).** Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from an estuarine environment for application in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) farming. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101(4), 869-879.
- Silva, D., Geromi, M., Halken, S., Host, A., Panesar, S. S., Muraro, A., ... & Dubois, A. E. J. (2014).** Primary prevention of food allergy in children and adults: systematic review. *Allergy*, 69(5), 581-589.
- Sobh, M., Fadli, A., Foullous, A., Rhaïem, N., Hammoumi, A., Bengueddour, R., & Ouhssine, M. (2014).** Biological conservation of food products. *BioTechnology: An Indian Journal*, 9(11).
- Suarez, F. L., Savaiano, D. A., & Levitt, M. D. (1995).** A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. *New England Journal of Medicine*, 333(1), 1-4.
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010).** Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- Szajewska, H., & Mrukowicz, J. Z. (2001).** Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 33, S17-S25.
- Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C. S., & Cone, R. A. (2017).** The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology*.
- Tannis A. (2008).** The Urogenital Tract and Probiotics: Yeast Buster and More. IN *Probiotic Rescue*, Wiley, Canada, pp:116.
- Tannis A. (2008).** Probiotics and Cancer IN *Probiotic Rescue*, Wiley, Canada, pp152.

- Taranto, M. P., Perdigón, G., Médici, M., & Font de Valdez, G. (2004).** Animal model for in vivo evaluation of cholesterol reduction by lactic acid bacteria. *Public Health Microbiology: Methods and Protocols*, 417-422.
- 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.
- Trivedi, D., kumar Jena, P., kumar Patel, J., & Seshadri, S. (2013).** Partial purification and characterization of a bacteriocin DT24 produced by probiotic vaginal *Lactobacillus brevis* DT24 and determination of its anti-uropathogenic *Escherichia coli* potential. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 5(2), 142-151.
- Tuck, C. J., McNamara, L. S., & Gibson, P. R. (2017).** Rethinking predictors of response to the low FODMAP diet—should we retire fructose and lactose breath-hydrogen testing and concentrate on visceral hypersensitivity?. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 45(9), 1281-1282.
- Tung, J. M., Dolovich, L. R., & Lee, C. H. (2009).** Prevention of *Clostridium difficile* infection with *Saccharomyces boulardii*: a systematic review. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 23(12), 817-821.
- Vandamme, P., Bruyne, K. D., & Pot, B. (2014).** Phylogenetics and systematics IN Holzapfel W. H. and Wood B. J.B. *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy*, 1 ed wiley-blackwell , USA , pp 34
- Vanderpool, C., Yan, F., & Polk, D. B. (2008).** Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, 14(11), 1585-1596.
- Varankovich, N. V., Nickerson, M. T., & Korber, D. R. (2015).** Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology*, 6, 685.
- Wedajo, B. (2015).** Lactic Acid Bacteria: Benefits, Selection Criteria and Probiotic Potential in Fermented Food. *Journal of Probiotics and Health*, 3-129.
- Wright, A. V. & Axelsson, L. (2012).** Lactic Acid Bacteria: An Introduction IN Lahtine S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Wright, A. V. *Lactic Acid Bacteria microbiological and functional aspects*, 4, CRC Press, New York, pp 2.
- Yadav, A. K., Tyagi, A., Kumar, A., Saklani, A. C., Grover, S., & Batish, V. K. (2015).** Adhesion of indigenous *Lactobacillus plantarum* to gut extracellular matrix and its physicochemical characterization. *Archives of Microbiology*, 197(2), 155-164.

Yao, T. C., Chang, C. J., Hsu, Y. H., & Huang, J. L. (2010). Probiotics for allergic diseases: realities and myths. *Pediatric Allergy and Immunology*, 21(6), 900-919.

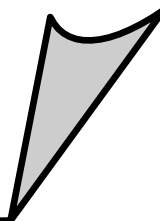
Zárate, G. & Chaia, A.P., (2015). Propionibacteria also have Probiotic Potential. IN, Venema K. and do Carmo A. P., *Probiotics and prebiotics current research and future trends*, Caister Academic Press, pp 74.

Zheng, X., Chu, H., Cong, Y., Deng, Y., Long, Y., Zhu, Y., & Fox, M. (2015). Self-reported lactose intolerance in clinic patients with functional gastrointestinal symptoms: prevalence, risk factors, and impact on food choices. *Neurogastroenterology & Motility*, 27(8), 1138-1146.

Ziyadi, S., Homayouni, A., Mohammad-Alizadeh-Charandabi, S., & Bastani, P. (2016). Probiotics and usage in bacterial vaginosis. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion* ed. Watson, RR and Preedy, VR, 655-668.

Zuppa, A. A., Alighieri, G., Scorrano, A., & Catenazzi, P. (2016). Prebiotics and Probiotics in Infant Nutrition IN Watson, R. R. & Preedy, V. R. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Bioactive Foods in Health Promotion*. Academic Press is an imprint of Elsevier. Amsterdam, pp 108.

Annexe



Annexe I : Composition des milieux de culture, et tampons**❖ Bouillon MRS (Man-Rogosa-Sharpe) :**

Ingrédients	Unité
Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Phosphate bipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Tween 80	1ml
Eau distillée	1000ml

❖ Bouillon phosphate saline (PBS) pH 7.4 :

Ingrédient	Unité
NaCl	8g
Kcl	0.20g
NaH₂PO₄	1.44g
K₂HPO₄	0.24g
Eau distillé	1000ml

Annexe II : Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100). Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

Annexe III : tableau

Tableau 2 : Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus* BCX1 à pH=4, 5, 7, 8

pH	pourcentage d'auto-agrégation %			
	<i>Lactobacillus</i> BCX1			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
pH=7	84,35	84,94	85,37	87,89
pH=4	86,21	86,01	87,40	88,89
pH=5	86,30	84,75	87,87	88,70
pH=8	86,95	86,08	86,63	89,43

Tableau 3: Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus* BCX1 à pH=4, 5, 7, 8

pH	pourcentage d'hydrophobicité %		
	<i>Lactobacillus</i> BCX1		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
pH=7	2,02	14,35	30,22
pH=4	4,92	4,99	19,29
pH=5	5,90	98,18	16,92
pH=8	4,38	0,61	16,16

Tableau 4 : Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.

solutions	pourcentage d'auto-agrégation %			
	<i>Lactobacillus</i> BCX1			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
Galactose	90.94	90.54	88.90	91.51
Maltose	92.23	91.27	90.69	90.10
Lactose	90.89	88.70	88.89	81.28
fructose	90.71	90.31	89.69	89.64

Tableau 5: Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus plantarum*10 avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose.

solutions:	pourcentage d'hydrophobicité %		
	<i>Lactobacillus</i> BCX1		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
Galactose	3,65	6,25	16,78
Maltose	3,64	4,39	14,52
Lactose	0,00	7,82	5,39
Fructose	3,16	4,42	13,65

Tableau 6: Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: CaCl₂, EDTA, trypsine.

solutions	pourcentage d'auto-agrégation %			
	<i>Lactobacillus</i> BCX1			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
CaCl ₂	86,64	90,84	88,87	87,32
EDTA	90,62	89,74	89,63	86,71
trypsine.	94,08	90,77	90,39	90,70

Tableau 7 : Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus* BCX1 avec les solutions: CaCl₂, EDTA, trypsine

solutions:	pourcentage d'hydrophobicité %		
	<i>Lactobacillus</i> BCX1		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
CaCl ₂	2,86	5,55	16,18
EDTA	1,40	19,53	24,06
trypsine.	1,87	21,96	12,91

Tableau 8: Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus plantarum*10 à pH=4, 5, 7, 8

pH	pourcentage d'auto-agrégation %			
	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
pH=7	85,62	86,32	87,49	89,6
pH=4	86,26	86,43	88,74	90,22
pH=5	84,73	83,05	88,11	88,56
pH=8	86,35	85,58	87,49	89,60

Tableau 9 : Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus plantarum*10 à pH=4, 5, 7, 8

pH	pourcentage d'hydrophobicité %		
	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
pH=7	2,47	6,97	15,17
pH=4	3,42	16,17	26,94
pH=5	3,03	9,77	12,83
pH=8	2,07	11,43	19,07

Tableau 10 : Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus plantarum10* avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose

solutions	pourcentage d'auto-agrégation %			
	Souches <i>Lactobacillus plantarum10</i>			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
Galactose	90.74	90.61	90.01	89.76
Maltose	90.37	90.25	89.15	90.05
Lactose	88.24	87.69	86.32	87.20
Fructose	91.14	90.99	88.84	90.88

Tableau 11 : Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus plantarum10* avec les solutions: galactose, maltose, lactose, fructose

solutions	pourcentage d'hydrophobicité %		
	<i>Lactobacillus plantarum10</i>		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
Galactose	1,39	9,73	18,49
Maltose	1,80	7,08	16,53
Lactose	2,15	8,60	18,40
Fructose	2.02	8,11	10,64

Tableau 12 : Le pourcentage d'auto-agrégation de souche *Lactobacillus plantarum10* avec les solutions: CaCl₂, EDTA, trypsine.

solutions	pourcentage d'auto-agrégation %			
	Souches <i>Lactobacillus plantarum10</i>			
	T=1h	T=2h	T=3h	T=4h
CaCl ₂	91,40	91,02	92,36	90,79
EDTA	91,52	90,60	91,06	91,13
trypsine.	91,22	91,95	90,80	91,36

Tableau 13 : Le pourcentage d'hydrophobicité de souche *Lactobacillus plantarum10* avec les solutions: CaCl₂, EDTA, trypsine

solutions	pourcentage d'hydrophobicité %		
	Souches <i>Lactobacillus plantarum10</i>		
	Xylène	chloroforme	Acétate d'éthyle
CaCl ₂	0,00	6,36	15,38
EDTA	7,47	8,81	24,62
trypsine.	3,00	9,08	14,48

Réalisé par:*Saida SAHNOUNE**Houda LEMOUARI**Yassamina BOUNEBIRAT***Jury:****Présidente:** *Dr. H. OULED HADDAR.***Examinatrice:** *M^{me}. S. AMIRA.***Encadreur:** *M. T. KHENNOUF.***Thème:**

Evaluation de quelques effets probiotique (propriétés) des Lactobacillus d'origine ruminale et laitière: étude comparative in vitro

Résumé :

Pour évaluer certains critères de sélection des probiotique principalement du genre *Lactobacillus*, nous avons étudié la capacité d'auto-agrégation, de l'hydrophobicité et d'adhésion des cellules bactériennes au tissu épithélial intestinale, des souches *Lactobacillus* BCX1 (du lait de la chèvre) et *Lactobacillus plantarum* 10 (rumen de la chèvre).

Ces paramètres sont étudiés dans différentes conditions expérimentales à savoir le pH, en présence de différents sucres, et en présence de CaCl₂, EDTA et la trypsine.

Les résultats obtenus montrent que les traitements physicochimique et enzymatique ont une influence non significative sur l'auto-agrégation, sur l'hydrophobicité et sur l'adhésion, et que ces paramètres pourraient être utilisés pour évaluer la performance des souches étudiés.

Les mots clé : *Lactobacillus*, auto-agrégation, hydrophobicité, adhésion.

Summary :

In order to evaluate certain criteria for the selection of probiotics mainly the genus *Lactobacillus*, we studied the ability of auto-aggregation, hydrophobicity and adhesion of bacterial cells to intestinal epithelial tissues, *Lactobacillus* BCX1 (milk goat) and *Lactobacillus Palntarum*10 (goat rumen).

These parameters are carried out under different experimental conditions, mainly, pH, in presence of the different sugars, and presence of CaCl₂, EDTA and trypsin.

The results obtained show that physicochemical and enzymatic treatments have a non-significant influence on auto-aggregation, hydrophobicity and adhesion, and that these parameters could be used to evaluate the performance of the strains tested.

Key words: *Lactobacillus*, auto-aggregation, hydrophobicity, adhesion.

الملخص :

من اجل تقييم بعض الخصائص المتعلقة بانتقاء بكتريا البروبيوتيك و خاصة الجنس *Lactobacillus*، اجريت دراسة حول قدرة التجمع الذاتي للخلايا البكتيرية auto-aggregation، الخاصية الكارهة للماء hydrophobicity والتصاق الخلايا البكتيرية بالانسجة الطلائية المعوية adhesion الخاصة

بالبكتيريا اللبنية *Lactobacillus* BCX1 (من حليب الماعز) و *Lb. plantarum* 10 (من كرش الماعز) واجريت هذه الدراسة في ظروف تجريبية مختلفة مثل درجة الحموض (pH4,pH5,pH7,pH8)، مختلف السكريات (لاكتوز فريكتوز، مالتوز، جالاكتوز) و مختلف المحاليل (EDTA, CaCl₂ والتريسين).

تشير النتائج المتحصل عليها أن العلاجات الأنزيمية و الفيزيوكيميائية ليس لها تأثير كبير على التجمع الذاتي للخلايا البكتيرية، الخاصية الكارهة للماء، وتعتبر هذه الخصائص معايير يمكن استخدامها لتقييم كفاءة العزلة المدروسة.

الكلمات المفتاح: البكتيريا اللبنية، قدرة التجمع الذاتي، الخاصية الكارهة للماء، الالتصاق..