

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Sciences
de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلية

**Mémoire De Fin D'étude Pour L'obtention Du Diplôme
Des Etudes Supérieures en Biologie
Option : Microbiologie
Intitulé**



Effets probiotiques des bifidobactéries

Membres de Jury :

Président : M^{elle} Keramane Badria

Encadreur : M^r Khennouf Tarek

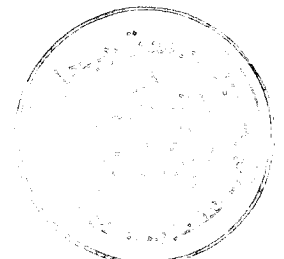
Présenté par :

Bouridane Amina

Boukerra Selma



Année Universitaire :2011/2012



Keramine Badria.

Lis et Approuvé!

[Signature]

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





Remerciement

Nous tentions à remercier tout d'abord Allah le tout puissant et maître de l'univers qui nous a donné la capacité nécessaire, la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail et qui nous a toujours guidé vers le bon chemin.

*Puis, nous tenons à cœur à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur Mr **KHENNOUF TAREK** qui nous a suivis tout au long de ce travail et à le remercier infiniment pour ses conseils avisés, pour sa disponibilité continue et pour son encadrement déterminé.*

Merci de nous partager vos connaissances avec tant d'enthousiasme, de patience et de gentillesse.

*Nous remercions vivement notre examinateur M^{lle} **Keramane Badria** d'avoir accepté de faire partie de notre jury et qui a sacrifié de son temps afin d'examiner et d'évaluer ce travail. Nous lui témoignons toutes nos reconnaissances.*

*Notre plus vif remerciement au chef de département biologie moléculaire et cellulaire de l'université de Jijel Mr **IDOUI TAYEB** pour son aide et ses conseils précieux.*

Et à tout les enseignants en particuliers ceux qui nous ont transmis leur savoir durant les quatre ans.

Nous ne serions bien sûr jamais arrivée là sans l'aide et le soutien de nos famille. Merci à nos parents pour avoir toujours cru en nous, merci de nous avoir soutenu dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes, merci pour tout j'espère vous rendre le bonheur que vous m'apportez.

AMINA, SELMA



SOMMAIRE

Introduction	01
---------------------------	----

Chapitre I : Les bactéries lactiques :

I.1. Définition	02
I.2. Caractéristiques généraux.....	02
I.3. l'origine des bactéries lactiques	02
I.4. Caractéristique des principaux genres	04
I.4.1. Le genre <i>Streptococcus</i>	04
I.4.2. Le genre <i>Lactococcus, Vagococcus</i>	04
I.4.3. Le genre <i>Enterococcus</i>	04
I.4.4. Le genre <i>Leuconstoc et Oenococcus</i>	04
I.4.5. Le genre <i>Pediococcus, Tetragenococcus</i>	05
I.4.6. Le genre <i>Lactobacillus</i>	05
I.4.7. Le genre <i>Carnobacterium</i>	05
I.4.8. Le genre <i>Propionibacterium</i>	06
I.4.9. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	06
I.5. Classification des bactéries lactiques.....	07
I.6. Technique identification des bactéries lactiques.....	08
I.6.1. Méthodes classiques	08
I.6.2. Méthode moléculaire	08
I.7. Les propriétés technologie des bactéries lactiques	08
I.7.1. Activité acidifiante	08
I.7.2. Propriété Aromatisants.....	09
I.7.3. propriété texturants	09
I.7.4. Propriété protéolyse	09
I.7.5. Production des bactériocines	09

I.7.6. Fermentation des citrates	09
I.8. utilisation des bactéries lactiques	10
Chapitre II : Les probiotiques :	
I. Définition et historique.....	11
II .Caractéristiques générales des probiotiques	12
II .1. Les microorganismes utilisés comme probiotiques	12
II .2. Vivants et actifs	13
II .3.Administrés en quantité adéquate	13
III. Critères de sélection d'une souche probiotique.....	13
IV. Les mécanisme d'action des probiotiques	14
V. Les produits probiotiques	15
VI. Les effets bénéfiques des probiotiques	15
VI.1. Effet anti-inflammatoire.....	15
VI.2. Raccourcissement et prévention de la digestion intestinale	15
VI.3. Allergie/Eczéma.....	17
VI.4. Amélioration de la digestion du lactose	17
VI.5. Prévention du cancer.....	18
VI.6. Les effets antibactériens	18
VI.7. Les bienfaits nutritionnel	18
VI.8. Prévention Hépatique.....	19
VI.9. Prévention des hyperlipidémies	19
VI .10. Modulation du system immunitaires.....	19
VI. 11.Carie dentaire.....	19
VI .Utilisation des probiotiques chez des sujets par ailleurs sains.....	20

Chapitre III : Les effets probiotiques des bifidobactéries

I. Les effets probiotiques des bifidobactéries	21
I.1. Généralité et historique	21
I.2. Caractères généraux.....	21
I.2.1. La morphologie du <i>Bifidobacterium</i>	21
I.2.2 .La physiologie du <i>Bifidobacterium</i>	26
I.3. Identification des bifidobactéries	27
I.3.1. Recherche pratique d'enzyme clé de la fermentation des hexoses, le fructose 6-phosphate-phosphocétolase (F6PPK)	27
I.4 .Activité des probiotiques des bifidobactéries.....	29
I.4.1. Pouvoir pathogène	29
I.4.2. Les effets bénéfiques du <i>Bifidobacterium</i> sur la santé de l'hôte.....	30
I.4.2.1.Amélioration du transit gastro-intestinal	30
I.4. 2.2. Diminution du risque de cancer	30
I.4.2.3. Effets immunomodulateurs	31
I.4.2.4.Activité antimicrobienne	31
I.4.2.5. Effets anti-inflammatoires dans les inflammations intestinales	32
I.4.2.6. Effet hypocholestérolémiant	32
I.4.2.7. Répression de l'intolérance du lactose	33
I.4.2.7. Déconjugaison des acides biliaires, de réduction des nitrosamines, et l'inhibition de la réduction des nitrates	33
I.4.2.9. Effets nutritionnelle	33
I.4.2.10. Intérêt technologiques.....	34
Conclusion	35

Références

Résumé

Liste d'abréviation.

°C: degré celsius.

A : Aspergillus.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

ARN: Acide ribonucléique.

ATP : Adénosine Triphosphate.

B: *Bifidobacterium*.

C : Candida.

CO₂ : dioxyde de carbone.

Ec : Enterococcus.

FAO : Food and Agriculture Organization.

G : Genre.

G+C %: Pourcentage de guanine+cytosine.

H : *Helicobacter*.

H₂O₂: Eau oxygénée.

H Cl: Chlorure d'hydrogène.

L: *Lactobacillus*.

Lc: *Lactococcus*.

Ln: *Leuconostoc*.

M: mole.

MRS: Man Rogosa Sharpe.

mg/l: milligramme.

mm: millimetre.

Na Cl: Chlorure de sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P: Phosphate.

Pc: *Pediococcus*.

pH: potentiel redox hydrogène.

S : *Saccharomyces*.

sp : Espèce.

ssp : sous espèce.

UFC / ml: Unités formant des colonies par millilitre.

g : gramme.

g/l: gramme par litre.

BAL : Bactérie lactique.

IgE : Immunoglobuline E.

RAPD: Randomly Amplified Polymorphic DNA finger printing.

IBD : Intestinal Bowel Disease.

Liste des figures

- Figure 01 :** La fermentation du glucose chez les bactéries lactiques.
- Figure 02 :** La classification des bactéries lactique selon : « Manuel de, Bergy's ».
- Figure 03 :** Modèle pariétal d'une bactérie Gram positive
- Figure 04 :** Les différents types morphologiques des cellules du genre *Bifidobacterium*
- Figure 05 :** Voie métabolique des hexoses chez le *Bifidobacterium*.

Liste des tableaux

- Tableau 01 :** Caractéristiques les différents genres de bactéries lactiques et leurs principale
- Tableau 02:** Les principaux microorganismes utilisés et /ou étudiés comme probiotiques.
- Tableau 03:** Les effets bénéfiques des probiotiques.
- Tableau 04:** Historique du genre *Bifidobacterium*
- Tableau 05:** Les vitamines produites par quelques espèces du genre *Bifidobacterium*.

Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques forment un groupe microbien hétérogène. Dans le domaine agroalimentaire, ces micro-organismes sont utilisés et employés pour la fabrication des produits fermentés carnés et laitiers (fromages, yaourts, laits fermentés) mais également, on les retrouve à la surface des végétaux et sur les muqueuses des animaux et l'homme. Certains microorganismes peuvent provoquer des maladies (par exemple des infections dues à *Streptococcus pneumoniae*), ou au contraire ont un rôle bénéfique (Monnet et al., 2005).

En effet les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme état sans danger par les autorités, elles sont ingérées vivantes en grande quantité, elles peuvent survivre dans le tractus digestif de l'hôte, où elles sont susceptibles d'exercer diverses actions bénéfiques sur l'hôte après leur ingestion (Bermúdez-Humarán, 2009).

Un sujet qui est à la fois aussi ancien que l'humanité et d'une brûlante actualité : les aliments probiotiques. Aujourd'hui, nous les connaissons notamment sous la forme de produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques vivantes qui exercent un effet favorable sur la santé. Les probiotiques, sont des bactéries vivantes présentes naturellement ou ajoutées dans certains aliments. Mais pour être qualifié de probiotiques, il faut que les microorganismes ait fait preuve de bénéfices sur la santé, il doit être capables de séjourner dans le milieu très acide de l'estomac et de résister à l'action de la bile, et qu'ils survivent suffisamment longtemps dans l'intestin pour agir et puissent atteindre leur site d'action, néanmoins s'ils ne s'installent pas de manière durable, le probiotique amène néanmoins des bénéfices de manière transitoire, ce qui explique qu'il faut consommer régulièrement ces produits contenant des probiotiques, dès que l'on s'arrête, l'effet disparaît bien souvent. Parmi ces bactéries, les bactéries lactiques dont le genre le plus dominant dans le tractus digestifs de l'homme et des animaux, c'est le genre de *Bifidobacterium*. Les recherches menées semblent indiquer que ces dernière ont plusieurs vertus probiotiques potentielles, en particulier des effets antimicrobiens, immuno- modulateurs, de réduction du risque de cancer, et qu'elles influent sur l'équilibre de la microflore intestinal. Au fur et à mesure que sont surmontées les problèmes technologiques liés à la viabilité et au dénombrement, les laits fermentés par ces microorganismes seuls ou en association avec des bactéries lactiques donnent des produits d'une qualité de plus en plus satisfaisante et régulière avec nombre important d'organismes viables (Corthier et al., 2005).

Dans notre travail nous allons étudier et montrer le rôle des bactéries lactiques et plus spécifiquement les souches du genre *Bifidobacterium* en tant que probiotique sur la santé de l'homme.

Chapitre I: Les bactéries lactiques

I- Les bactéries lactiques :

De très nombreux produits alimentaires subissent une fermentation lactique avant leur consommation, ce qui leur assure des caractéristiques bien particulières d'arôme et de texture, mais aussi une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits par les bactéries sous la même appellation de « bactéries lactiques » (Leveau *et al.*, 1993).

I.1- Définition :

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme (Dortu *et al.*, 2009) (figure 01).

Le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini par ORLA-JENSEN (1916) et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter des glucides en produisant de l'acide lactique (Novel, 1993). Elles se rattachent à deux arbres généalogiques ou phylum (Dacosta, 2000). Le phylum des Clostridium, dont l'ADN des chromosomes contient un pourcentage de G+C < 50%, comprend le groupe des bactéries lactiques au sens strict. Le phylum des Actinomycètes, dont l'ADN des chromosomes contient un pourcentage G+C > 50% comprend des genres apparentés, qu'on range souvent au sens large sous l'appellation de bactéries pseudo-lactique.

I.2- Caractéristiques générales :

Ce sont des bactéries à coloration de Gram positif, généralement immobiles, asporulées, dépourvues de catalase et de cytochromes oxydases, dépourvues de nitrate réductase, anaérobies ou aérotolérantes (Pilet *et al.*, 2005). L'absence de la catalase mais parfois une pseudocatalase est détectée dans des cultures sur une faible concentration en sucre (Pot, 2008). De puis 1952, il a été montré que de nombreuses souches de bactéries lactiques peuvent libérer du peroxyde d'hydrogène à des concentrations suffisantes pour provoquer leur auto-inhibition ou inhiber d'autres contaminants de leur environnement (Pilet *et al.*, 1998). Elles métabolisent les saccharides par deux mécanismes: (Larpen, 1996)

Le processus homofermentaire (voie d'Endben-Meyerhof) : l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé de la fermentation de glucose.

Le processus hétérofermentaire (Dickens-Horecker) : d'autre composé sont aussi présents : acide acétique, éthanol. CO₂... etc.

Les bactéries lactiques présentent d'autres caractéristiques communes qui expliquent leur regroupement : (Novel, 1993).

1- Leur capacité de biosynthèse est faible ce qui explique leur polyauxotrophie pour divers acides aminés, des bases nucléique, des vitamines et des acides gras mais aussi leur métabolisme fermentaire incapables de synthétiser le noyau hème des porphyrines.

2- Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, microaérophiles, incapable de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose.

I.3- l'origine des bactéries lactiques :

D'une manière générale, les bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels : végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavité buccale et vaginale, fèces, lait ...) (Dacosta, 2000). Les bactéries lactiques se trouvent généralement associées à d'autres microorganismes dans de nombreux produits d'origine animale et végétale fermentés, laits fermentés (fromage, beure,...), viandes fermentés, légumes et fruits fermentés (Monnet *et al.*, 2005).

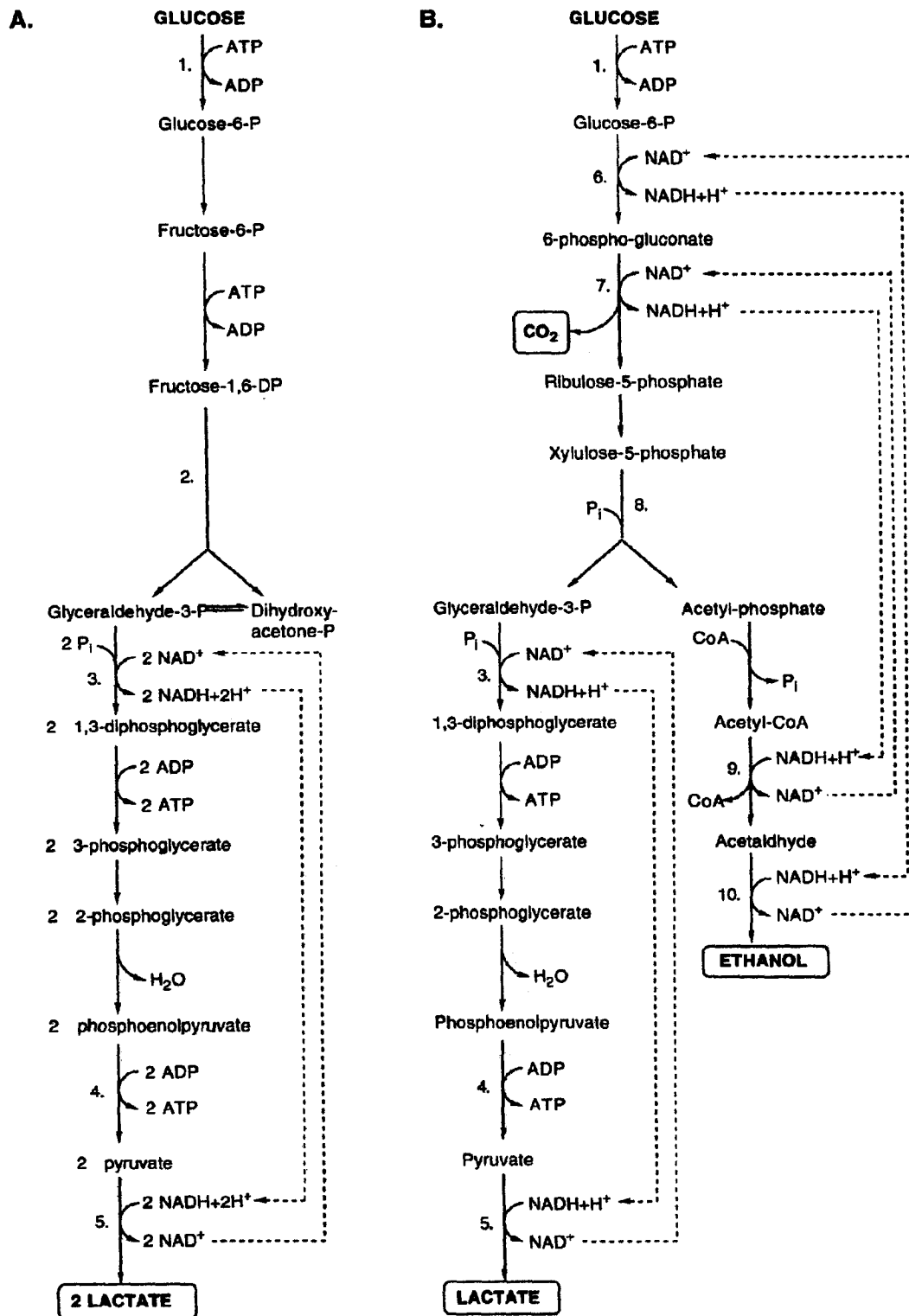


Figure 01 : fermentation du glucose chez les bactéries lactiques, (A) fermentation homolactique (B) fermentation hétérolactique: 1.Glucokinase, 2.fructose-1,6-diphosphate aldolase, 3. glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, 4.pyruvate kinase, 5.Lactate déshydrogénase, 6.glucose-6-phosphate déshydrogénase; 7. 6-phosphogluconate déshydrogénase, 8.phosphocétolase; 9.acétaldéhyde déshydrogénase, 10.alcool déshydrogénase (Axelsson, 2004).

I.4- Caractéristique des principaux genres :

Les bactéries lactiques sont représentées par plusieurs genres d'importance d'ailleurs différente. Leurs cellules sont, soit des coques, c'est le cas de *Streptococcus*, mais aussi de *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*, qui sont des cocci, sphériques ou ovoïdes, en paires, en chaînettes ou en tétrades, en générale immobiles (Larpen, 1996 et Novel, 1993). La différence entre les groupes est basée sur l'arrangement des cellules et sur le type de fermentation lactique (homo ou hétérolactique) (Guiraud et al., 2004). Soit des bacilles : *Lactobacillus*. A ces genres, a été ajouté le genre *Bifidobacterium* (Novel, 1993) (tableau 01).

I.4.1- Le genre *Streptococcus* :

Comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes, d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*) (Pilet et al., 1998). Ces espèces diffèrent principalement entre elles par la présence d'un antigène de groupe dit antigène de Landefeld et par leur capacité de croître à des températures extrêmes : 45°C pour les thermophiles, 10 C°, pour les mésophiles. L'espèce *S. thermophilus* se différencie des autres par son habitat (laits et produits laitiers, et son caractère non pathogène (Novel, 1993).

I.4.2- Les genres *Lactococcus*, *Vagococcus* :

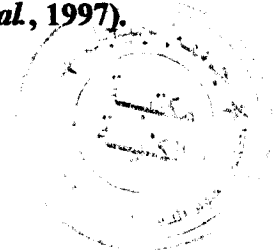
Le genre *Lactococcus* (*Streptocoques* du groupe N) représente les streptocoques dits : « lactiques », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires (Pilet et al., 2005). Ils sont mésophiles, mais se développent jusqu'à 10°C. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers. Certaines espèces isolées de poissons et d'eau douce et qui possèdent la particularité d'être mobiles, ont été répertoriées dans le nouveau genre *Vagococcus* (Pilet et al., 1998). Le genre *Lactococcus* est composé de plusieurs espèces et sous espèces non pathogènes qui intéressent le monde agro-alimentaire (Dacosta, 2000).

I.4.3- Le genre *Enterococcus* :

Rassemble la plupart des *Streptocoques* du groupe D et comprend notamment les espèces anciennement désignées sous le terme « Streptocoques fécaux » (Pilet et al., 2005). Elles sont thermo résistants, elle se caractérisent par leur développement à 10°C et 45°C, halophiles à cause de leur grande résistance aux facteurs de l'environnement (Pelmont, 2005).

I.4.4- Les genres *Leuconostoc* et *Oenococcus* :

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou chaînettes, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique, de CO₂ et l'éthanol (Pilet et al., 2005). Ils se développent entre 20 et 30°C pas à 45°C, ils sont généralement capsulés, cette propriété entraîne fréquemment l'apparition d'une viscosité dans le milieu (Guiraud, 1998). Les *Leuconostoc* sont soit acidifiants (*Ln. Lactis*), soit aromatisant (*Leuconostoc. mesenteroides subsp. cremoris*). Ces bactéries inhibent les microorganismes contaminants acides sensibles. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 30°C, croissances toujours lente (Larpen, 1996, Larpen-Gourgand et al., 1997).



I.4.5- Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus* :

Sont des germes microaérophiles à besoins nutritifs complexes. Leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance, et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose. Par contre, certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sel très élevées, comme *Pc. halophilus*, renommée *Tetragenococcus halophilus* qui tolère jusqu'à 18% de Na Cl (Pilet et al., 1998). Ils sont saprophytes et contaminent les produits végétaux. Ce sont des agents de dégradation en brasserie, la bière est rendue visqueuse par accumulation de matériel polysaccharidique extracellulaire, et il peut également y avoir formation de diacétyle. Les pédiococoques causent aussi des altérations (viscosité), dans les produits végétaux et parfois les viandes et les poissons... etc. (Guiraud et al., 2004).

I.4.6- Le genre *Lactobacillus* :

Lactobacillus est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans beaucoup d'industries ou qui sont rencontrés comme contaminants (Guiraud, 1998). Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Guiraud et al., 2004).

Le groupe I : anciennement appelé «thermobactérium». Il comprend les espèces homofermentaires stricts, c'est-à-dire : produisant exclusivement de l'acide lactique à partir de glucose (Larpen, 1996). Ce groupe formé d'environ 30 espèces et sous espèces, dont les principales se trouvent dans les aliments sont :

- *Lactobacillus delbrueckii* avec 3 sous espèces (lait fermenté, fromage à pâte cuite) ;
- *Lactobacillus farciminis* (saucissons, levains de panification) ;
- *Lactobacillus helveticus* (fromage à pâte cuite, légumes fermentés) ;
- *Lactobacillus mali* (cidre) ;
- *Lactobacillus acidophilus* (lait fermenté à usage probiotique) (Dacosta, 2000).

Le groupe II : anciennement appelé «*Streptobacterium*». Ce groupe comprend des espèces à métabolisme hétérofermentaire facultatif (Larpen, 1996). Ce groupe formé d'environ 20 espèces et sous-espèce dont les principales dans les aliments sont :

- *Lactobacillus plantarum* (légumes fermentés, olives en saumure, poisson sous vide) ;
- *Lactobacillus alimentaire* (levains panification, poissons marins) ;
- *Lactobacillus bavaricus* (légumes fermentés, olives, ...) (Dacosta, 2000).

Le groupe III : anciennement appelé «*Betabacterium*» se sont des espèces hétérofermentaires stricts, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses (Larpen, 1996). Les espèces les plus fréquents dans l'alimentation sont : *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus bucheri*, *Lactobacillus buchmeri*, *Lactobacillus viridiscens*, *Lactobacillus kefir*, *Lb. fructivorans*, *Lb. hilgardrü*, *Lb. sanfrancisco*... etc (Guiraud et al., 2004).

I.4.7- Le genre *Carnobacterium* :

Ce genre a été créé par COLLIND et al. (1978) pour regrouper les *Lactobacillus* atypique, le pourcentage G+C de L'ADN varie de 33 à 37% (Novel, 1993). La croissance est possible à 0°C et 10°C mais pas à 45°C, ni en présence de NaCl 8% ni sur milieux à l'acétate (Larpen, 1996). Les espèces de ce genre se trouvent dans les viandes emballées sous vide ou, certains d'autre dans les fromages. Ils tolèrent difficilement un pH inférieur à 5) (Guiraud et al., 2004).

I.4.8- Le genre *Propionibacterium* :

Le genre *Propionibacterium* sera placé dans la famille des Propionibacteriaceae. Il contient des bâtonnets pléomorphes, non mobiles, non sporulants souvent en forme de masse avec une extrémité effilée et l'autre arrondie. Il contient des germes anaérobies facultatifs ou aérotolérants, ils sont considérés comme bactéries lactiques car fermentent l'acide lactique et les sucres. Ils produisent de grande quantités d'acide propionique et acétique, et souvent du dioxyde de carbone. *Propionibacterium* contribue de façon substantielle à la production de fromage (Prescott et al., 2003)

Tableau 01 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (Pilet et al., 1998) .

Genre	Morphologie	Fermentation	T° optimale	Nb espèces
<i>Lactobacillus</i>	bacilles	Homofermentaire ou hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	G.I : 23 G.II : 16 G.III : 22
<i>Carnobacterium</i>	bacilles	hétérofermentaires	psychrotrophes	6
<i>Lactococcus</i>	coques	Homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	coques	Homofermentaires	Mésophiles ou Thermophiles	19
<i>Enterococcus</i>	coques	Homofermentaires	Mésophiles	13
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	2
<i>Pediococcus</i>	Coques en térades	Homofermentaires	Mésophiles	7
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en térades	Homofermentaires	Mésophiles	1
<i>Leuconostoc</i>	coques	Homofermentaires	Mésophiles	11
<i>Oenococcus</i>	coques	Homofermentaires	Mésophiles	1
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

I.4.9- Le genre *Bifidobacterium* :

Bifidobacterium appelé anciennement « *Lactobacillus bifidus* » Est un bacille Gram+, catalase -, immobile, anaérobie, présente dans la flore intestinale du nouveau né. Il est utilisé dans certains yaourts (probiotiques). Sa présence entrainerait un effet anti infectieux au niveau intestinal à cause de la présence de facteurs bifidogènes. Le *Bifidobacterium* est phylogéniquement proche des Actinomycètes alors que les autre bactéries lactiques sont proches des clostridies (Guiraud et al., 2004). Les cellules se caractérisent par leur forme très irrégulier, souvent en V, elles se différencient des autre bactéries lactiques par leur caractère anaérobie

(mais la tolérance à l'oxygène dépende du milieu de culture). Leur G+C% élevé, leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 47°C, ils se développent à pH supérieur à 5. (Pilet et al., 1998).

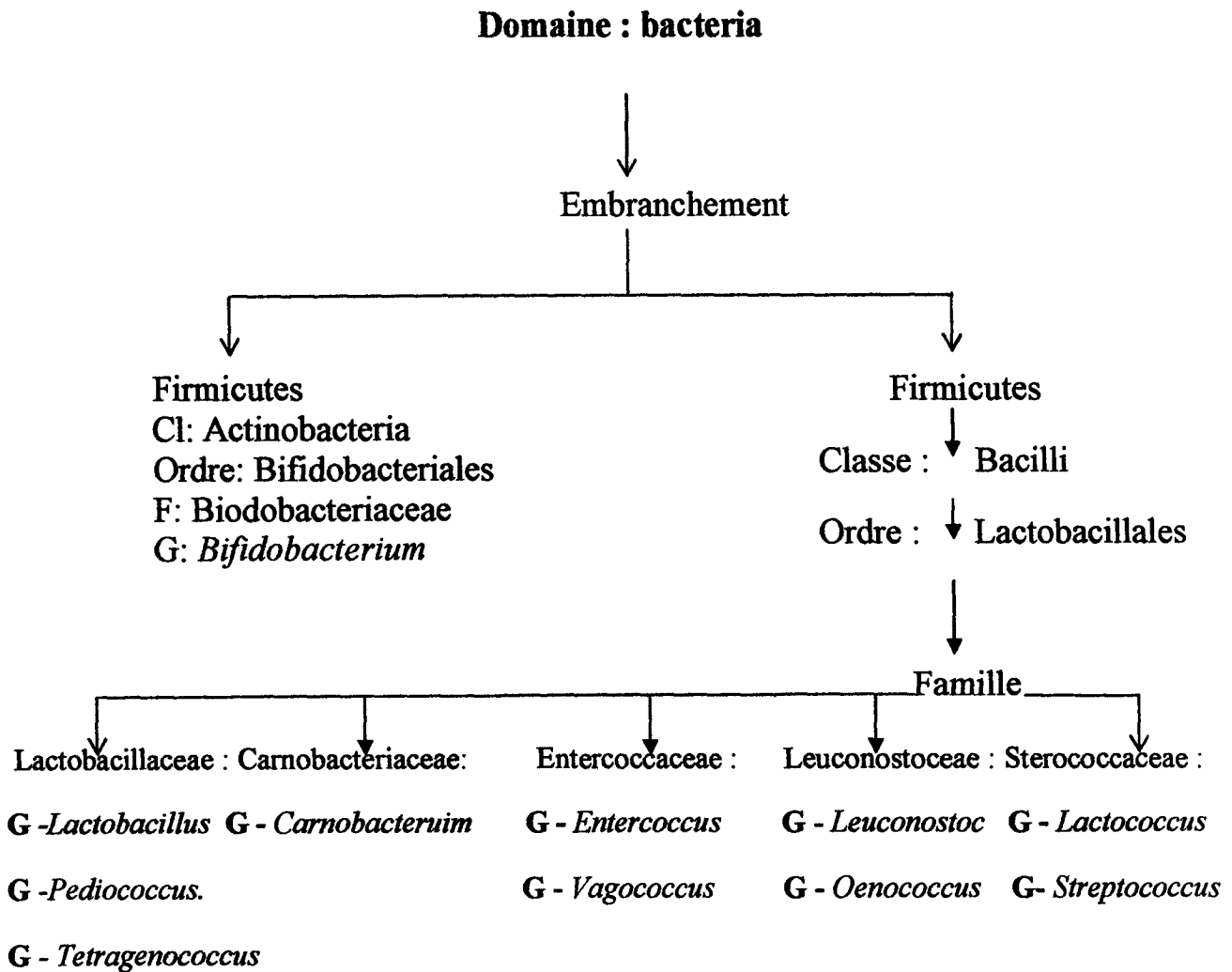
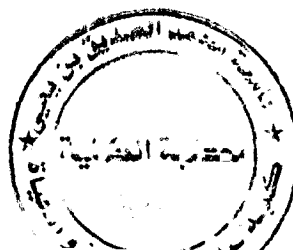


Figure 02 : La classification des bactéries lactique selon : « Manuel de Bergy's » (Tortora, 2003).

I.5- Classification des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont présentées par plusieurs groupes (Novel, 1993). Selon la classification officielle, la plupart des genres impliqués se trouvent dans la classe des Bacilli, ordre des Lactobacillales, familles des Lactobacillaceae (*Lactobacillus* et *Pediococcus*), la famille des Aerococcaceae (*Aerococcus*) des Carnobacteriaceae (*Carnobacterium*), la famille des Enterococcaceae (*Enterococcus*), des Leuconostocaceae (*Leuconostoc*) et des Streptococcaceae (*Streptococcus* et *Lactococcus*). En revanche, la famille des Bifidobacteriaceae (*Bifidobacterium*) relève de l'ordre des Bifidobacteriales classe des Actinobacteria (Guiraud et al., 2004) (figure 02).



I.6- Techniques identification des bactéries lactiques :

I.6.1- Méthodes classiques :

Sur les milieux spécifiques MRS, Rogosa, Elliker ou M17, les bactéries lactiques forment des petites colonies (2 à 3 mm de diamètre) blanches à crème, bombées. Les principaux tests utilisés pour l'identification des bactéries lactiques :

- Croissance à 5°C, 10°C, 15°C et 45°C, pH = 9,6.
- Croissance en présence de NaCl : 4%, 6,5% et 8%.
- Croissance en présence d'acétate (gélose Rogosa).
- Caractère homofermentaire ou hétérofermentaire,
- Profil de fermentation des glucides (Pilet et *al.*, 2005).
- Croissance sur lait de Scherman(0,1 et 0,3 bleu de méthylène), lait Tournesolé, hydrolyse de l'arginine (Leveau et *al.*, 1991).

L'appartenance au groupe se fait sur la base de la coloration de Gram positive de la catalase et oxydase négative et éventuellement l'absence de réduction des nitrates. L'identification du genre est d'abord orienté par la morphologie, puis par le type fermentaire et les conditions physiologiques de croissances par le type fermentaire et les conditions physiologique de croissances (Pilet et *al.*, 1998).

I.6.2- Méthodes moléculaires :

Elles se sont particulièrement développées dans le cas des bactéries lactiques d'une part, pour l'identification des espèces on peut citer par :

- Le séquençage de L'ARN 16S reste une des molécules les plus appliquées pour obtenir une identification précise en complément des méthodes classique (Pilet et *al.*, 2005).
- Pour la différenciation spécifique les différentes méthodes moléculaires utilisées sont :
- La technique RAPD (Randomoly Amplifides Poly morphic DNA finger printing).
- L'analyse des fragments de restriction de l'ADN par l'électrophorèse en champ pulsé (R- ECP). A également, été développée la technique de ribotypase à profil l'hybridation de gène d'ARN avec L'ADN génomique clivé par endonucléase de restriction (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1997).

I.7- Les propriétés technologiques des bactéries lactiques :

La plupart des produits obtenus par fermentation résultent de procédés traditionnels, dont l'objectif initial la conservation ou la valorisation des matières premières. La participation de la flore lactique aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et sanitaires du produit et est exercés par différentes propriétés métaboliques(Chamba, 2008).

I.7.1- Activité acidifiante :

C'est une des principales fonctions des bactéries lactiques. Elle peut être caractérisée par :

- le pH final ou la production d'acide lactique ;
- la cinétique d'acidification dépend directement de trois paramètres principaux :

La nature des différentes bactéries lactiques, leur niveau de population et la température du milieu.

La post- acidification (le métabolisme principal des bactéries lactiques a pour effet une production important d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable).

- Certaines propriétés métaboliques des bactéries lactiques contribuent à ralentir l'acidification (Atlan et al., 2008).

I.7.2- Propriétés Aromatisantes :

Les bactéries lactiques produisent, en plus de l'acide lactique, divers métabolites secondaires tels que l'éthanol, CO₂...etc. Cette liste n'est pas exhaustive car plusieurs dizaines de composés volatils, susceptibles d'avoir un impact d'aromatique, ont été recensés. Il ya deux des principaux aromes produites par les bactéries lactiques: le diacétyle et l'acétaldéhyde.

Le diacétyle : est un composé volatil synthétisé principalement par les bactéries lactiques, telles que *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar. Diacetylactis* ou *Leuconostoc sp.* Capables de métaboliser le citrate (Monnet et al., 2005). Le diacétyle est un arôme essentiel dans les produits laitiers comme le beurre, le fromage et les laits battus, il est produit par décarboxylation oxydative chimique de l' α acétolactate (α - Al) (Atlan et al., 2008).

L'acétaldéhyde (CH₃COH) est un composé très volatil, avec un point d'ébullition de 21°C, de nombreuses études indiquent que son impact aromatique s'exprime dans le yaourt, dont les notes « fruits » lui sont attribuées (Atlan et al., 2008).

I.7.3- propriété texturant :

Les propriétés texturants des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés, ainsi la production de polysaccharides par les bactéries lactiques pour l'améliorer les propriétés mécanique des gels lactiques en augmentant leur texture et leur viscosité, certains bactéries lactiques, notamment les *Leuconostoc* et certains *Lactobacilles* produisent des polysaccharides (Pilet et al., 1998).

I.7.4- Propriété protéolytique :

La protéolyse peut être modifiée dans les produits laitiers afin d'accélérer l'affinage des fromages et/ou d'en intensifier ou en modifier la flaveur (Atlan et al., 2008 , Chamba, 2008). La protéolyse qui joue un rôle est un phénomène d'une grande complexité (Chamba, 2008). On peut mettre en évidence l'activité des bactéries lactiques à hydrolyser les protéines, elle est déterminée de façon rapide par l'examen du lait tournesolé ou un test de dégradation de la caséine ou sur les différents milieux appropriés (Guiraud J.Y., 1998). Les bactéries lactiques sont peu protéolytiques (Larreta garde V., 1997).

I.7.5- Production des bactériocines :

Les bactériocines des bactéries lactiques sont généralement des peptides cationiques et amphiphiles, responsables de la perméabilisation de la membrane des cellules cibles, ont été caractérisées chez de nombreuses espèces de bactéries lactiques. les bactériocines sont utilisées de façon préventive elles empêchent la colonisation du contaminant (Dortu et al., 2008). Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un grand nombre de souches de bactéries lactiques. Ils sont généralement thermorésistants, actifs uniquement sur des bactéries Gram positif (Morisset et al., 2005 , Pilet et al., 1998).

I.7.6- Fermentation des citrates :

Deux espèces de bactéries lactiques mésophiles *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar diacetylactis* et *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, sont capables de produire des quantités significatives de diacétyle (jusqu'à 55 mg //de culture) à partir du citrate. Cette production est favorisée par l'aération (Chamba, 2008).

I.8- utilisation des bactéries lactiques :

Les bactéries lactique sont utilisées de puis fort long temps dans les procédés de fermentation et la conservation des aliments. cet usage prolongé à établi, sans ambiguïté, l'innocuité d'un certain nombre de souches et d'espèces appartenant à un nombre restreint de genres microbiens (**Pernoud et al., 2005**). Les bactéries lactiques utilisées seraient capables d'excréter des protéines antigéniques de surface, induisant une réaction immunitaire (**Pilet et al., 1998**).

Ainsi, les bactéries lactiques peuvent être utilisées comme probiotiques. Ce sont des bactéries Gram positif qui sont incluses principalement dans les deux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* elles sont utilisées dans les aliments, pour donner des effets bénéfiques sur l'hôte, grâce à leur caractère non pathogène, leur absence de toxicité, leur stabilité et leur bonne viabilité, leur résistance au pH et à l'acide lactique et leurs effets bénéfiques sur certains maladies et dysfonctionnements de l'organisme (**Pernoud et al., 2005 , FAO/OMS, 2001**).

Chapitre II: Les probiotiques

I - Définition et historique :

Les termes d'aliments ou de nutraceutiques ont été introduit à la fin du siècle pour désigner des aliments ou des composants alimentaires ayant des propriétés curatives ou préventives de certaines maladies. Ces termes ne sont pas employés par les industriels de l'aliment ni des médicaments qui de part et d'autre souhaitent garder une frontière nette entre les médicaments et les aliments. En Europe, les allégations faisant état de prévention, traitement ou guérison de maladies humaines ne sont pas autorisées pour les aliments dont les propriétés spécifiques vont au-delà du simple effet nutritif associé aux éléments nutritifs qu'il contient et qui revendiquent des modifications physiques bénéfiques de l'organisme. Les allégations fonctionnelles de certains produits alimentaires sont autorisées dans un cadre strict. Il est par exemple possible pour un produit d'alléguer qu'il améliore l'absorption du calcium mais pas qu'il prévient l'ostéoporose. Au Etat Unis ou au Japon, où les allégations santé sont permises, le chewing-gum contre les caries, des pilules empêchant le cancer ou les boissons protègent des maladies cardiovasculaires ces produits de plus en plus développés vont de jus de fruits multivitaminés, céréales aux fibres, œufs aux acides gras oméga 3, barres vitaminées, lait enrichi en fer et en calcium, à divers probiotiques tels des produits laitiers aux bifidus actif (Marteau et al., 2005).

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui sont évalués dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques

En 1907, Metchnikoff, ayant suggéré que l'ingestion des bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries purifiantes, ou produisant des toxines (Metchnikoff, 2004).

Lilly et Stillwell qui furent apparemment les premiers en 1965 à utiliser le terme, choisirent des facteurs promoteurs de croissance produits par les microorganismes (Lilly et Stillwell, 1965).

En 1974 Parker choisit élargir la définition : le terme probiotique dérive de deux mots grecs (pro) et (bio) et signifie littéralement en faveur de la vie par opposition au terme antibiotique signifiant contre la vie (Parker, 1974).

On reprocha à cette nouvelle définition d'inclure potentiellement les antibiotiques et proposa alors : Des microorganismes ajoutés à l'aliment et influencent de manière bénéfique l'animal hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale (Caramia et Silrei, 2011).

Les probiotiques sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale (Larpent - Gourgaud, 1997).

Füller 1991, trois éléments sont depuis venus influencer une révision de la définition. Le premier est que certains microorganismes peuvent avoir des effets sur l'hôte par une immunomodulation. Les termes de microorganismes en transit et d'agents biothérapeutiques étaient alors proposés, ils apparaissent plus factuels puisqu'ils ne préjugeaient pas d'un mécanisme d'action mais n'ont pas été retenus probablement du fait de la connotation très positive du terme probiotique (Füller, 1991).

La seconde est l'intérêt de certains industriels à ne pas labelliser (probiotique) des microorganismes génériques tout particulièrement ceux des yaourts standards pour réserver ce label à des produits contenant des microorganismes dont la valeur ajoutée justifie un coût supérieur

Le troisième été le désir de certains chercheurs et de nombreux industriels d'exclure de la définition les microorganismes tués. En effet, si certains microorganismes tués par la chaleur peuvent exercer certains effets bénéfiques pour l'hôte, des travaux ont montrés que ces effets étaient en règle générale moins marquées que ceux des microorganismes ingérés vivants.

L'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'organisation mondiale de la santé (OMS) établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme probiotique dans les aliments et formulé la définition suivante : **les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lors qu'ils sont administrés en quantités adéquates produisant un bénéfice pour la santé de l'hôte (FAO/ OMS, 2002).**

II - Caractéristiques générales des probiotiques :

II.1- Les microorganismes utilisés comme probiotiques :

Les probiotiques sont des microorganismes ingérés vivants, généralement, il s'agit des bactéries ou des levures présents soit dans des aliments, notamment les produits laitiers fermentés soit dans des médicaments ou des compléments alimentaires.

Les genres bactériens les plus fréquemment retrouvés dans les préparations revendiquant des propriétés probiotiques sont :

- *Lactobacillus* : le premier groupe est le plus grand dont les espèces incluent sont : *L. acidophiles*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. delbrueckii ssp bulgaricus*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. gasseri* et *L. plantarum*.
- *Bifidobacterium* : les espèces les plus utilisées sont ; *Bifidobacterium breve*, *B. animalis sub lactis anciennement B. lactis* et *B. longum biotype infantis* (Thantsha et al., 2012 ; Marteau et al., 2005) (Tableau 02).

Tableau 02: les principaux micro-organismes utilisés et /ou étudiés comme probiotiques (Normand et al., 2006).

Espèce de <i>Lactobacillus</i>	Espèce de <i>Bifidobacterium</i>	Autre bactéries lactique	Autre bactéries	Levures et moisissures
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Ec. faecium</i>	<i>Bacillus .cereus</i>	<i>S .boulardii</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Lc. lactis</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>S .cerevisiae</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Ln. mesenteroides</i>	<i>E .coli</i>	<i>C .pintolopesii</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. breve</i>	<i>Pc. acidilactici</i>		<i>A .niger</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>S. thermophilus</i>		
<i>L. reuteri</i>	<i>B. lactis</i>			
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. longum</i>			
<i>L. salivarius</i>				
<i>L. forciminis</i>				

D'autres genres des bactéries lactiques aussi utilisées comme probiotiques tels que : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium* et *Pediococcus*.

On retrouve parmi les microorganismes utilisés comme probiotiques :

- Les levures utilisées comme : *saccharomyces cerevisiae*, *saccharomyces boulardii*.

- Les champignons filamenteux tels que : *Aspergillus sp.* (Thantsha et al., 2012).

II .2- Vivants et actifs :

Les probiotiques doivent être vivants dans le produit consommé, ils doivent :

- Survivre aux traitements technologiques que va subir le produit vecteur ;
- Rester stables lors de la conservation de ce produit. Généralement, il est aussi important qu'ils restent vivants dans l'intestin pour être actifs (Normand et al., 2006).

II .3- Administrés en quantité adéquate :

- Lors de leur arrivée dans le côlon , les bactéries ingérées ont subi une perte allant d'environ 70% à plus de 99% (selon les souches étudiés). Dans le colon, les microorganismes probiotiques se retrouvent en compétition avec une flore extrêmement abondante, et doivent donc être présentes en quantité suffisante pour y faire face (Normand et al., 2006).

III - Critères de sélection d'une souche probiotique :

Une souche microbienne doit remplir un certain nombre de propriétés ou de critères spécifiques pour être considérée comme probiotique. Ces critères sont classés en sécurité, de performance, et les aspects technologiques.

Les critères sont plus dépendants sur le but spécifique de la souche et de l'emplacement pour l'expression de la propriété spécifique (Boaventura et al., 2012).

En ce qui concerne la sécurité, parmi ces critères :

- La souche probiotique doit être d'origine humaine, isolée du tractus gastro-intestinal d'une personne en bonne santé ;
- Absence de toxicité ou de pathogénie ;
- Les souches probiotiques doivent posséder un antibiogramme de profil souhaitable, il doit également être génétiquement stable, sans mécanisme de transfert de plasmide (Béal et al., 2008).

En ce qui concerne leur performance :

- le potentiel des souches probiotiques doivent être résistantes à la bile et aux enzymes pancréatiques, doivent être capables de survivre en quantité suffisante ;
- Adhérence à diverses lignées de cellules intestinales et au mucus ;
- Possédant une activité antagoniste contre les agents pathogènes tels que les Salmonelles, *Clostridium* ;
- Les souches probiotiques doivent être capables de produire des substances antimicrobiennes (bactériocines) contre les bactéries pathogènes et l'absence de translocation ;
- Résistance aux acides (acides gastriques) (Thantsha et al., 2012).

Pour les aspects technologiques :

- Les souches probiotiques doivent être capables de se multiplier rapidement ;
- Les souches probiotiques doivent être résistantes aux phages et avoir de bonnes propriétés sensorielles ;

- Les souches probiotiques doivent être de bons véhicules pour la livraison cible spécifique des peptides et des protéines recombinantes dans le tractus gastro-intestinal humain ;
- Possibilité de production en grand échelle (Thantsha et al., 2012).

IV- Les mécanismes d'action des probiotiques :

Les modes d'action des probiotiques restent encore imparfaitement élucidés, l'effet bénéfique du à l'administration des probiotiques pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes:

- 1- Inhibition des bactéries indésirables : la production à partir des glucides de la ration alimentaire d'acides organiques tels que l'acide lactique ou l'acide acétique limite le développement des entérobactéries. Le peroxyde d'hydrogène produit par les *Lactobacillus* est inhibiteur, ce serait la raison du rôle inhibiteur de ces bactéries contre les Salmonelles dans le jabot des volailles (Larpent - Gourgaud, 1997).
- 2- Certaines souches probiotiques produisent des bactériocines capables d'inhiber les germes responsables d'infections dans les élevages.
- 3- Certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de déconjuguer les sels biliaires, les formes de déconjugaison ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées (Larpent - Gourgaud, 1997).
- 4- Les souches probiotiques pourraient aussi agir en inhibant l'implantation des germes pathogènes par compétition pour la colonisation : l'adhésion des bactéries probiotiques aux cellules intestinales permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif par exemple, chez le porc, l'adhésion des souches probiotiques de *Lactobacillus* aux villosités de l'intestin grêle inhiberait la fixation d'*E. coli* entéropathogène.
- 5- Les probiotiques réduiraient l'absorption des substances toxiques et diminueraient les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques.
- 6- Elles produiraient également des métabolites susceptibles la neutralisation (*in situ*) certains toxiques bactériens.
- 7- Certaines bactéries probiotiques notamment les *Lactobacillus* excrètent la β - galactosidase souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilitent donc la digestion du lactose. Chez les poulets, certaines souches de *Lactobacillus* augmentent la vitesse d'amylolyse et la production d'acide lactique.
- 8- Les bactéries probiotiques stimuleraient l'activité enzymatique des microorganismes endogènes, permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments telles stimuleraient également les activités lactase ou invertase des cellules épithéliales du tractus digestif.
- 9- Les probiotiques stimuleraient l'activité des macrophages, l'administration orale ou intrapéritonéale des souches des bactéries lactiques active les macrophages
- 10- Les microorganismes probiotiques favorisent la production d'anticorps notamment les IgA inhibent l'adhésion des bactéries pathogènes à la surface des muqueuses agglutinant les bactéries, en se fixant sur les adhésines/récepteur cellulaires.
- 11- Certaines bactéries utilisées comme probiotiques possèderaient même une activité anticancérogène, ces souches bactériennes peuvent être classées en deux catégories :
 - la prévention de l'initiation d'un cancer soit en détruisent des substances pré-cancérogènes présentes dans l'organisme, soit en inhibant des bactéries présentes dans le tractus digestif, productrices d'enzymes telles que la β -glucosidase, la β - blucuronidase et la nitroréductase qui catalysent la conversion des substances cancérogènes.
 - la suppression des cellules tumorales soit directement soit de façon indirecte en favorisant l'activité des macrophages qui sont impliqués dans la destruction des cellules tumorales (Muller- Main et al., 2004).

V- Les produits probiotiques :

Les probiotiques reconnus actuellement appartiennent pour la plupart à la famille très répandue des bactéries lactiques que l'on trouve naturellement sur de nombreux produits alimentaires : (Thantsha et al., 2012, Quillien, 2001)

1. Les produits laitiers tels que le lait en poudre, yaourt, doux, semi dures et durs, fromages et crème glacée.
2. Autres produits tels que les boissons à base de malt et jus de fruits saucissons de viandes. Ces aliments sont appelés par les autres comme des aliments fonctionnels, les probiotiques peuvent consommés aussi comme composants non alimentaires.
3. Le produit probiotique testé est administré sous sa forme commerciale, afin d'en démontrer les effets physiologiques dans les conditions normales d'utilisation (Pernoud et al., 2005)

VI- Les effets bénéfiques des probiotiques :

Les effets bénéfiques sur la santé des aliments contenant des microbes vivants (probiotiques), et en particulier des produits laitiers, sur les enfants et d'autres groupes de population à haut risque sont de plus en plus vanté par les professionnels de la santé, il a été signalé que ces probiotiques peuvent jouer un rôle important dans les fonctions immunologiques, digestifs et respiratoires et pourraient avoir un effet sensible en réduisant les maladies infectieuses chez les enfants (FAO/OMS, 2001) (Tableau 03).

VI.1- Effet anti-inflammatoire

Les maladies intestinales inflammatoires comportent deux sous types : la colite ulcéreuse et la maladie de crohn, ainsi que le syndrome du colon irritable, peuvent être causées ou aggravées par des altérations dans la flore intestinale incluant les infections. La colite ulcéreuse est déterminée par une inflammation continue, qui commence dans le rectum et il est limité à deux points, alors que l'inflammation de la maladie de crohn peut survenir dans n'importe quelle région du tractus gastro-intestinal.

Selon certaines études, les probiotiques pourraient jouer un rôle dans la thérapie et la prophylaxie et des combinaisons des souches pourraient avoir un rôle à jouer dans le traitement thérapeutique. La microflore intestinale joue probablement un rôle décisif en cas d'inflammation de l'intestin, et les probiotiques pourraient y remédier grâce à la modulation de la microflore (Boaventura, 2012, FAO/OMS, 2001).

VI.2- Raccourcissement et prévention de la digestion intestinale :

La présence de bifidobactéries dans le lait artificiel peut contribuer à l'induction d'une augmentation significative de bifidobactéries dans le tractus intestinale, favorise le développement d'une microflore de protection semblable à celui la du nouveau né nourrir au sein, contribue à la de la modulation du système immunitaire de défense (Thantsha et al., 2012). La diarrhée d'origine infectieuse est un grave problème sanitaire mondiale, responsable chaque année de la mort de plusieurs millions de personnes si la majorité des décès se produit parmi les enfants des pays en développement, on estime que jusqu'à 30% de la population même dans les pays développés souffrent chaque année de ce problème d'origine nutritionnel. L'une des applications principales de microorganismes probiotiques est à la prévention ou dans le traitement de troubles gastro-intestinaux. Parmi lesquelles : *Lactobacillus GG* ou *Lactobacillus*

reuteri (ATCC55f30) supplémentassions a été démontrée pour être efficace dans la prévention de la diarrhée infantile aigue dans différents contextes.

Les bifidobactéries ont également donné des résultats prometteurs potentiels dans la prévention à la fois et la protection nosocomiale de la gastro-entérite et la diarrhée chez les nourrissons dans les établissements des soins résidentiels. *Lactobacillus* GG a aussi été signalée à réduire sensiblement la durée de la diarrhée aigue et la durée de rotavirus (Thantsha et al., 2012).

Tableau 03: les effets bénéfiques des probiotiques (Salminen et al., 2004).

Souche	Effets rapportés dans les études cliniques
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Coloniser le tractus intestinal, le raccourcissement de la diarrhée à rotavirus, équilibrer la flore intestinale
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Amélioration immunitaire, les effets microbiote intestinal
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> DR10	Amélioration immunitaire, adhérence à la muqueuse, les effets du microbiote, l'amélioration de la condition des personnes âgées
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019	Amélioration immunitaire, équilibrer la flore intestinale
combinaison probiotique(VSL3)	Effet positif de la maladie inflammatoire de l'intestin et le syndrome du côlon irritable; traitement et la prévention de la pochite, la prévention et la réduction de la diarrhée associée une radiothérapie.
<i>Escherichia coli</i> NISSLE	Effet positif dans la maladie intestinale inflammatoire
Probiotique mixte VSL 3(<i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , et <i>B. breve</i>)	Effets positifs dans la maladie du côlon irritable.
<i>S. boulardii</i> (souvent inscrit en tant que non pharmaceutique dans les aliments)	La prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques, traitement de la colite à <i>Clostridium. difficile</i> .

Lactobacillus GG est particulièrement efficace dans le traitement de la diarrhée infectieuse aigue chez les nourrissons et les enfants. Les probiotiques possèdent également un certains effet protecteur contre les diarrhées associées aux antibiotiques tel que : *Clostridium difficile*, qui est un microorganisme pathogène dans le colon, et aussi tel que, *Helicobacter pylori*, qui est un agent d'ulcère du duodénum et de l'estomac et de certains cancers et lymphomes gastriques (Marteau et al., 2005).

VI.3- Allergie/Eczéma

Les bactéries lactiques probiotiques jouent un rôle important dans la régulation inflammatoire associée à des réactions d'hypersensibilité chez les patients présentant une allergie alimentaire.

Dans un essai randomisé double aveugle, le *L. rhamnosus GG* à été administre aux mères des enfants à risque d'allergie pendant six mois ce qui entraine une réduction importante de la maladie atopique précoce.

Cette étude illustre le potentiel de microorganismes probiotiques de moduler la réponse immunitaire et d'empêcher l'appariation d'allergies (Thantsha et al., 2012, Marteau et al., 2005, Jeanne et al., 2003).

Dans autres études chimiques, sur des nourrissons allergiques au lait de vache, la dermatite atopique a été soulagée grâce à l'ingestion de souches probiotiques de *L. rhamnosus GG* et *B. lactis BB-12* (FAO/OMS, 2001).

Les résultats des travaux fondamentaux, ont permis d'attribuer aux probiotiques différents effets positifs :

- Augmentation des fonctions protectrices de la barrière intestinale.
- Diminution de la réponse inflammatoire avec réduction de la production des cytokines pro-inflammatoires (Muller-maine et al., 2004).

VI.4- Amélioration de la digestion du lactose :

Le lactose est un disaccharide formé de glucose et de galactose, il est présent essentiellement dans le lait et dans ses dérivées et plusieurs situations peuvent en diminuer la digestibilité. Les probiotiques permettent d'améliorer la digestibilité de nombreux nutriments : leur rôle essentiel est de garantir une bonne hygiène digestive en favorisant la dégradation et l'absorption de certains aliments. En pratique clinique le remplacement du lait par le yaourt conduit à une meilleure adsorption et à une meilleure tolérance du lactose chez les sujets présentant une intolérance primaire au lactose ou une intolérance secondaire survenant au cours d'une diarrhée persistante ou après résection intestinale étendue (Marteau, 2005).

Des bactéries stimulent l'activité enzymatique des microorganismes endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments. Ces microorganismes produisent des enzymes qui aident à la digestion des protéines, des graisses et du lactose ils produisent également les B-galactosidases qui aident l'individu intolérant avec décomposition ou de la digestion du lactose, productrice d'acide gras à chaine courte dans le colon lors de la fermentation par microflore colique et le principale processus qui empêche le cancer colorectal (Marteau, 2005).

VI.5- Prévention du cancer :

La flore intestinale et le système immunitaire jouent un rôle dans la cancérogenèse colique, ces paramètres pourraient être influencées par des probiotiques, un certain nombre de travaux en utilisant des probiotiques ont été réalisés chez l'animal puis chez l'homme pour tenter de prévenir la cancérogenèse. Plusieurs auteurs ont montré que certains probiotiques pourraient diminuer l'activité d'enzymes de mutagenèse ou des acides biliaires secondaires dans les sels qui pourraient être impliquées dans la cancérogenèse colique, de même l'administration des probiotiques diminue la cancérogénicité de l'azoxymetane chez le rat, deux essais randomisés contrôlés ont montré que l'administration orale de *L. casei* dominaient de manière significative du risque de récurrence tumorales superficielles de la vessie chez l'homme (Marteau, 2005)

VI.6- Les effets antibactériens :

Inhibition de *Helicobacter pylori* et les agents pathogènes intestinaux. Concernant les applications des probiotiques, on a également découvert qu'ils sont actifs contre *Helicobacter pylori*, un agent pathogène intestinal, Gram négatif, joue un rôle majeur pour favoriser les risques d'un ulcère du duodénum et de l'estomac et de certains cancers et lymphomes gastriques (Vasiljevic, 2008 ; Marteau, 2005). Actuellement les infections à *H. pylori* est traité par un combiné traitement consistant en deux antibiotiques et un inhibiteur de pompe à protons qui provoquant quelques effets secondaires, y compris diarrhée associée aux antibiotiques et la probabilité d'induction de la résistance aux antibiotiques chez les pathogènes intestinaux (Vasiljevic, 2008). Les données in vitro et sur les animaux indiquent que les probiotiques peuvent inhiber la croissance des agents pathogènes et diminuer l'activité des uréases nécessaires pour que l'agent pathogène reste dans le milieu acide de l'estomac. En revanche, l'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes par les probiotiques peut se faire de différentes façons :

- La production d'acides organiques (acide lactique ou acide acétique) à partir de glucides ingérés lors de la prise d'aliment limite la croissance des pathogènes en abaissant le pH (la baisse des coliformes dans le tube digestif serait due au pH très bas) (FAO/OMS, 2001).
- En milieu humide, les bactéries lactiques produisent du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et d'acide lactique peut bloquer le développement de certains espèces pathogènes comme le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons comme le *Candida albicans*, ou encore certains bactéries comme : *S. aureus*, *E. coli* (FAO/OMS, 2001).

Les probiotiques pourraient également réprimer la croissance des bactéries pathogènes par production des substances antimicrobiennes, de type bactériocines (Marteau, 2005).

VI.7- Les bienfaits nutritionnel :

L'action microbienne dans l'intestin, en particulier par les cultures bénéfiques, a été montré pour améliorer la biodisponibilité, la quantité et la digestibilité de certains nutriments. L'ingestion des probiotiques est associée à une production accrue de riboflavine, de niacine, thiamine, les vitamines B₆, B₁₂ et acide folique. Les probiotiques jouent un rôle dans la biodisponibilité de plus en plus de calcium, fer, manganèse, cuivre, en phosphore et augmenter la digestibilité des protéines et de matière grasse dans le yaourt. L'hydrolyse enzymatique des protéines et de matière grasse conduit à une augmentation d'acides aminés et d'acides gras à chaîne courte. Les acides organiques tels que l'acétate et le lactate produits pendant la fermentation par les bactéries lactiques abaissent le pH de l'intestin (Thantsha et al., 2012).

VI.8- Prévention Hépatique :

Les probiotiques peuvent de même intervenir en cas de cirrhose en modifiant la circulation sanguine au niveau du système hépatique. Les complications à reformuler vers une cirrhose et des varices œsophagiennes. Le patient est traité de forte concentration de probiotique (6 g/J de bactéries d'acide lactique à 10^{11} /g) pendant 1 mois. On y retrouve du *Streptococcus thermophilus*, *S. faecium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* et *L. casei*, *L. delbrueckii ssp bulgaricus*. On retrouve chez les malades atteints d'une cirrhose du foie de nombreux changements de la flore microbienne et celle de l'intestin grêle est en général augmentée. C'est pourquoi des antibiotiques sont fréquemment administrés pour réduire la microflore digestive et pour limiter la production de médiateurs qui peuvent aboutir à une encéphalopathie hépatique, à une hypertension au niveau du système porte hépatique et au saignement des varices œsophagiennes (Jeanne et al., 2003).

VI.9- Prévention des hyperlipidémies :

Le cholestérol est considéré comme facteur de risque dans différentes maladies tels que le cancer du colon, maladies cardiovasculaires et hypercholestérolémies. La réduction des niveaux excessifs de cholestérol dans le sang diminue le risque de ces maladies. Plusieurs auteurs ont rapportés que *Lactobacillus acidophilus NCFM* et *L. Sporogenese* peuvent prendre le cholestérol en présence de la bile et en absence d'oxygène (Jeanne et al., 2003). Ces bactéries sont fréquemment associées à des effets favorables à la santé dans le tractus intestinal humaine et animale (Mahrouse et al., 2011 ; Klaver et al., 1993).

VI.10- Modulation du system immunitaire :

On attribue aux probiotiques un rôle dans le renforcement des défenses naturelles. L'intestin est l'organe ayant le plus d'influence sur le système immunitaire, 70 % des cellules immunitaires étant logées dans la muqueuse intestinale. Les réponses immunologiques aux protéines alimentaires provoquant des allergies et aux micro-organismes pathogènes (virus, bactéries et parasites) sont modulées par la composition de la flore intestinale. La flore offre une barrière physique et immunologique face aux envahisseurs. Le système immunitaire intestinal produit aussi des réponses immunitaires protectrices par la synthèse d'anticorps. Ces derniers peuvent bloquer la translocation bactérienne, neutraliser les toxines et inhiber la multiplication virale.

Les mécanismes de défense sont plus performants lorsque la flore est dominée par de bonnes bactéries. Ces dernières empêchent la croissance des bactéries virulentes qui pourraient nuire à notre santé et produisent des bactériocines qui luttent contre les pathogènes. De plus, les probiotiques modulent l'expression des molécules inflammatoires touchant notamment la réponse aux allergènes potentiels (Huot, 2009) (Tableau 03).

VI.11- Probiotiques et carie dentaire

La carie dentaire est une maladie multifactorielle d'origine bactérienne caractérisée par une déminéralisation acide de l'email de la dent. Elle apparaît à la suite de changements dans l'homéostasie de l'écosystème buccal menant à une prolifération du biofilm bactérien composé notamment de streptocoques du groupe mutans. Pour aider à réduire ou à prévenir la carie dentaire, un probiotique doit adhérer aux surfaces dentaires et s'intégrer aux communautés bactériennes constituant le biofilm dentaire. Le probiotique doit également exercer une compétition et un antagonisme vis-à-vis des bactéries cariogènes dans le but d'empêcher leur prolifération. Enfin, le métabolisme des sucres de l'alimentation par le probiotique doit mener à une faible production d'acides. L'avantage d'incorporer les probiotiques à des produits laitiers réside dans leur capacité de neutraliser l'acidité produite (Bonifait et al., 2009).

VII- Utilisation des probiotiques chez des sujets sains

De nombreux produits probiotiques sont utilisés par les consommateurs qui par ailleurs se considèrent en bonne santé. Ils le font en supposant que les probiotiques peuvent maintenir leur santé et leur bien-être et réduire les risques à long terme de maladies des intestins, des reins, des voies respiratoires et du cœur. Il y a lieu de faire plusieurs remarques sur cette hypothèse et ses implications. La Consultation a reconnu que l'emploi des probiotiques ne saurait remplacer des habitudes saines de vie quotidienne et une alimentation équilibrée chez des sujets par ailleurs sains (FAO /OMS, 2002).



Chapitre III:

Les effets probiotiques des bifidobactéries

I - Les effets probiotiques des bifidobactéries :

I.1- Généralité et historique :

Si l'introduction des bifidobactéries en industrie laitière s'est fait il y a plus d'une vingtaine d'années dans les pays technologiquement avancés elle n'est par contre, pas encore envisageable dans certains autres pays comme l'Algérie, cette situation est liée aux contraintes posées par le genre de *Bifidobacterium* qui est très sensible à l'acidité développée dans le lait et l'aérobiose relative qui y règne, ce genre est rarement utilisé seul en raison de sa faible aptitude fermentaire sur milieu lait et il est souvent associé aux bactéries lactiques classiques telles que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* (Riazi et al., 2010). Ont d'abord été décrites comme bactéries commensales de l'homme. Présentes au sein de différentes flores humaines, intestin, vagin, bouche, elles sont également isolées chez les animaux (Romond et al., 1993).

En 1899 et 1900, à l'institut Pasteur et Tissier met en évidence les premiers isolats de souche provenant de matière fécale de nourrissons, qui sont des bacilles à Gram positifs incurvés, souvent bifides, qu'il nomme : *Bacillus bifidus communis* (Delcenserie et al., 2002, Gavini et al., 1990).

En 1957, cette espèce est incluse dans la famille des *Lactobacillus bifidus*. Jensen en 1924, reconnaît l'existence du genre *Bifidobacterium*, mais étant donné ses similitudes avec le genre *Lactobacillus*, les bifidobactéries resteront assimilées.

En 1974 la 8^{ème} édition du Bergey's of Determinative Bacteriology que le genre *Bifidobacterium* est reconnu, il est inclus dans la famille *Actinomycetaceae* de l'ordre des *Actinomycetales*, comprend 24 espèces, qui sont regroupés en fonction de leur origine, colique, dont 10 sont considérées comme spécifiquement d'origine humaine, 14 d'origine animale et 2 prévenant l'environnement hydrique (Gavini et al., 1990). Actuellement le genre regroupe 32 espèces (Biavati B., and Mattarelli P., 2006) (Tableau 1).

I.2 - Caractères généraux :

Les bifidobactéries constituent une partie importante de la microflore colique humaine tout au long de la vie et jouent un rôle dans la santé chez l'homme utilisée pour fermenter le lait. Elles permettent d'obtenir un profil organoleptique différent des produits ne contenant que des bactéries lactiques.

I.2.1 - La morphologie du *Bifidobacterium* :

Les bifidobactéries sont des bacilles à Gram positif, non sporulés immobiles, non acidocolorés, les cellules sont de morphologie variable selon le milieu de culture, cellules courtes, coccoidales, cellules ramifiées spatulées isolées ou en chaînettes (Romand, 1997, Larpent, 1996, Romand et al., 1993). La forme caractéristique est un bâtonnet à extrémité renflée, spatulée voir divisée en deux branches en Y (forme bifide en Y) (Romand, 1997). En V (est caractéristique chez *B. angulatum*). De nombreux facteurs du milieu modifient la morphologie de la bactérie : concentration en N-acétylglucosamine, en acides aminés, les ions (Ca^{++}) (Larpent, 1996) (Figure 04).

Tableau 04 : historique du genre *Bifidobacterium*.

Nom	Auteurs	Anée
<i>Bacillus bifidus</i>	Tissier	1900
<i>Bacteroides bifidus</i>	Castellani et Chalmers	1919
		1923-1934
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Bergey's Manual , eds 1-4	1920
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Holland	1924
<i>Bacterium bifidum</i>	Orla -Jense	1927
<i>Tisseria bifida</i>	Lehmann et Neumann	1929
<i>Nocardia bifida</i>	Pribram	1931
<i>Actynomices bifidus</i>	Vuillemin	1934
<i>Actinobacterium bifidus</i>	Nannizzi	1937
<i>Lactobacillus acidoph</i> <i>ilus</i> <i>var. bifidus</i>	Puntoni	1938
	Weiss et Rettger	
<i>Lactobacillus parafidus</i>		1938
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Weiss et Rettger	1938
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Prevot	1939-1957
<i>Cohnistreptothrix bifidus</i>	Bergey's Manual , eds 5-7	1944
<i>Corynebacterium bifidum</i>	Negrovi et Fischer	1949
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Oslén	1950
<i>Lactobacillus bifidus</i> <i>var</i> <i>.pennsylvanicus</i>	Norris et al.	1953
		1957
5 groupes de bacteries bifidus	György	
Description des espèces humaines	Dehnert	1963
Nouvelles espèces animales	Reuter	1969
Nouvelles espèces animales	Mitsuoka	1969
Nouvelles espèces animales	Scardovi	1972
Creation de genre <i>Bifidobacterium</i>	Holdemann et Moore	1974
Constitue de 11 espèces	Bergey's Manual, ed .8	

La paroi cellulaire des bifidobactéries a une structure spécifique aux bactéries Gram positif (**Delcenserie et al., 2002**). Dont le principal constituant de la paroi sont les macro-peptides, peptidoglycanes, ou muréine, c'est des macromolécules constituées de chaînes de polysaccharides linéaires qui sont liées les uns aux autres par des ponts tétra-peptides associés avec des peptides (acides aminés) (**Ballongue, 2004**). La couche de muréine ou peptidoglycanes permet à ces bactéries de vivre dans un milieu ambiant qui est fréquemment hypotonique. Les protéines déterminent le caractère hydrophobe de la surface des bifidobactéries (**Delcenserie et al., 2002**) (Figure 03).

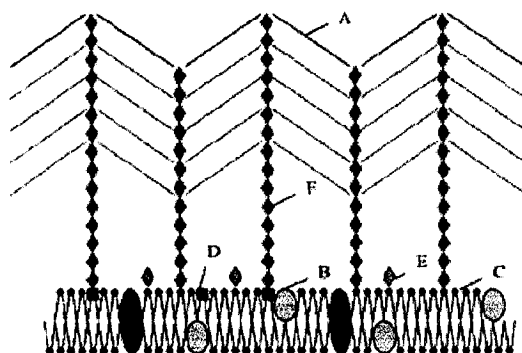


Figure 03 : Modèle pariétal d'une bactérie Gram positive (**Delcenserie et al., 2002**).

- A : peptidoglycane
- B : protéine
- C : phospholipide
- D : glycolipide
- E : phosphatidylglycolipide
- F : acide lipotéichoïque

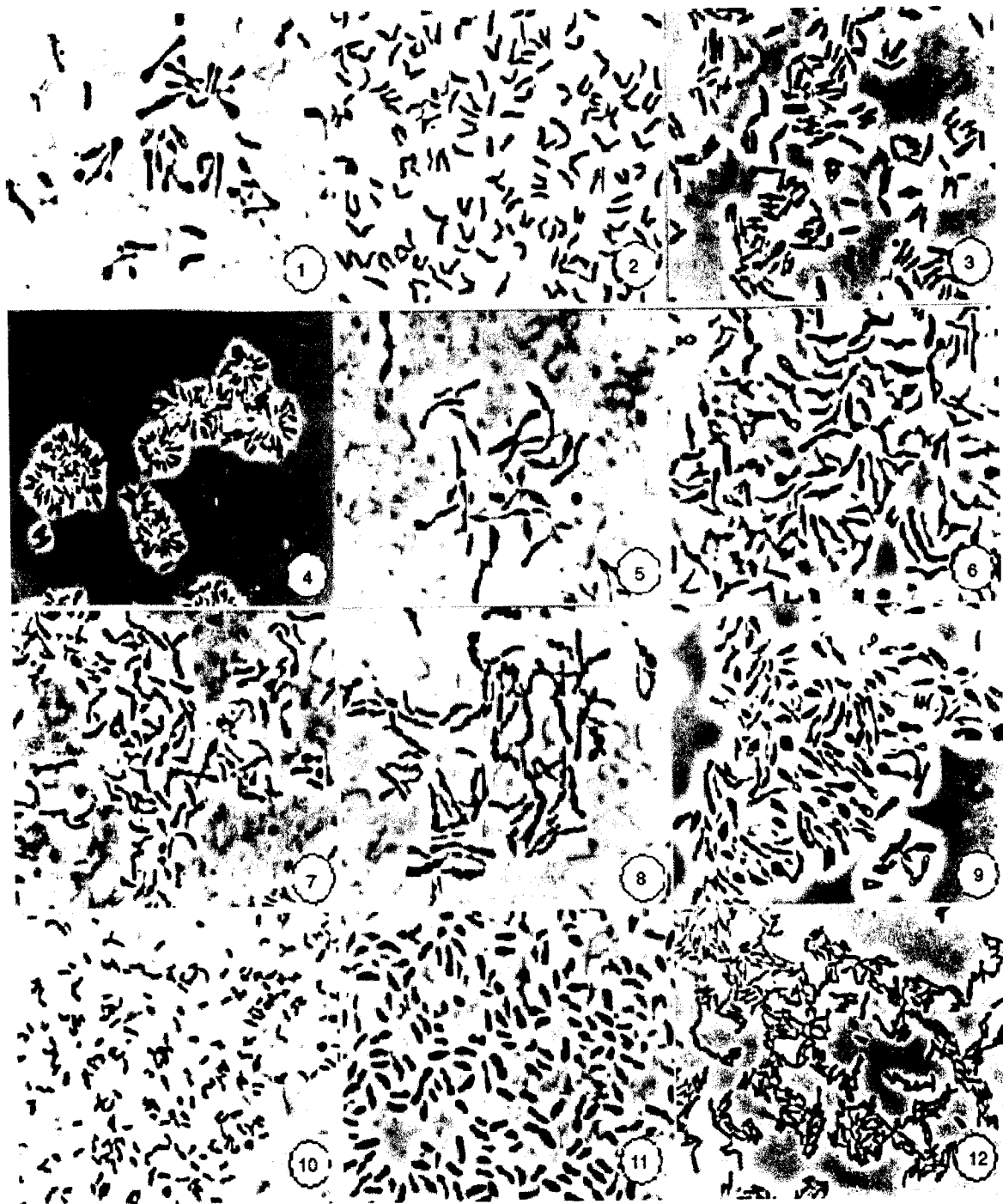


Figure 04a: les différents types morphologiques des cellules du genre *Bifidobacterium* souches développées sur milieu trypticase-phytône-yeast extract (TPY) (1) *B. adolescentis*, (2) *B. angulatum*, (3) *B. animalis*, (4) *B. asteroides*, (5) *B. bifidum*, (6) *B. boum*, (7) *B. breve*, (8) *B. catenulatum*, (9) *B. choerimum*, (10) *B. coryneforme*, (11) *B. cuniculi*, and (12) *B. denticolens* (Blavati B., and Mattarelli P., 2006).

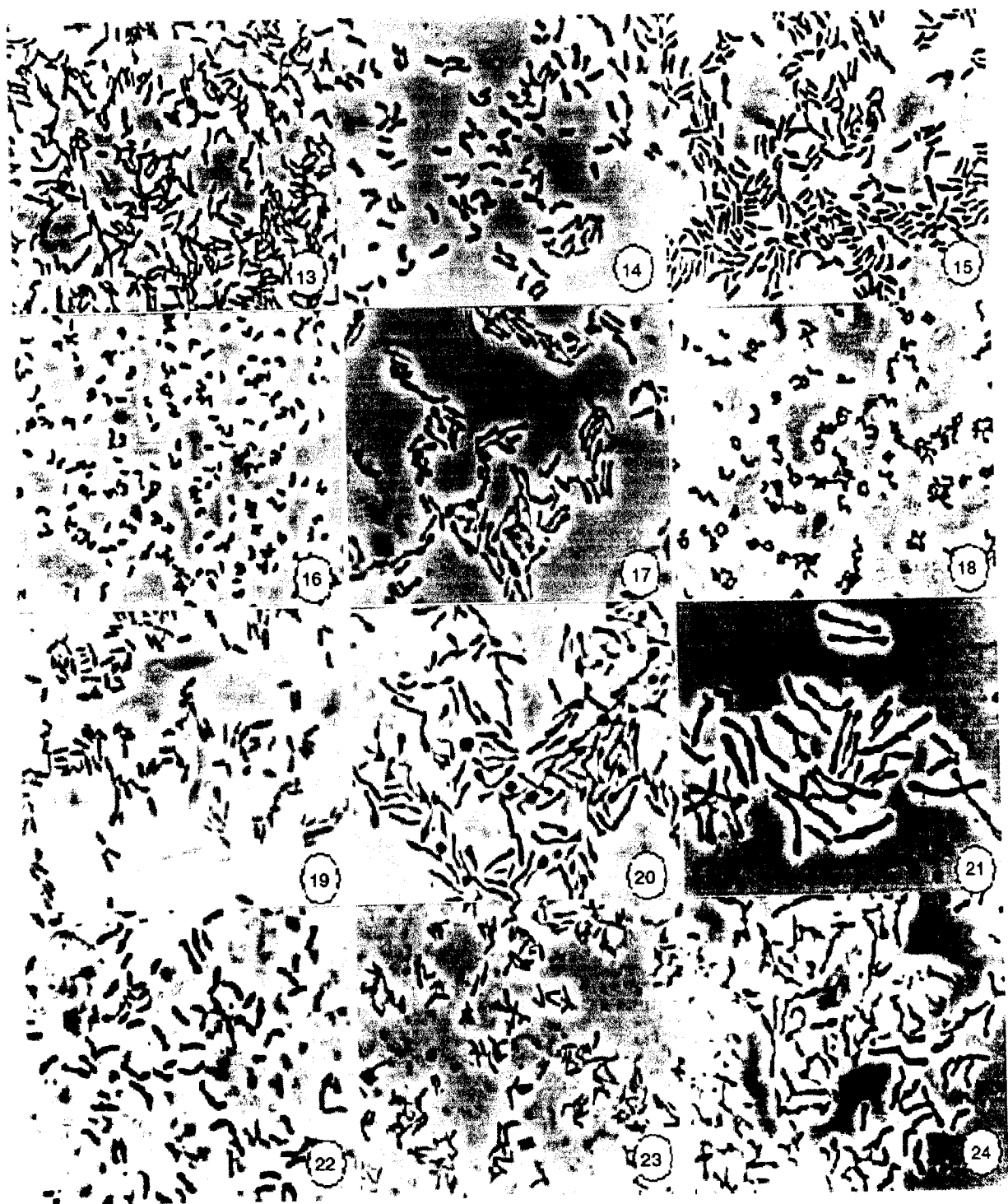


Figure 04b: les différents types morphologiques des cellules du genre *Bifidobacterium* (suite)
(13) *B. dentium*, (14) *B. infantis*, (15) *B. gallicum*, (16) *B. gallinarum*, (17) *B. indicum*, (18) *B. inopinatum*, (19) *B. lactis*, (20) *B. longum*, (21) *B. magnum*, (22) *B. merycicum*, (23) *B. minimum*, and (24) *B. pseudocatenulatum* (Blavati B., and Mattarelli P., 2006).

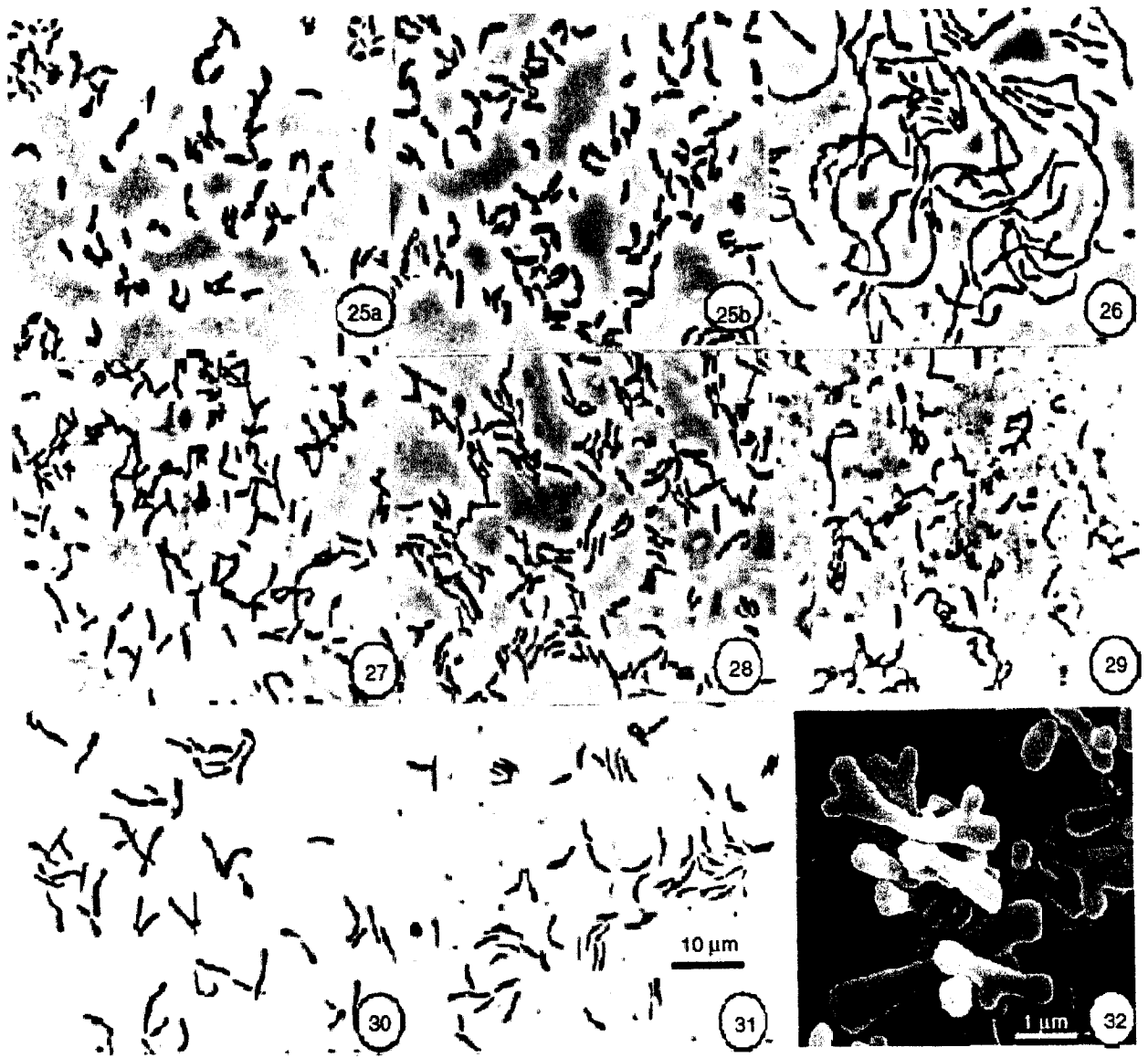


Figure 04c: les différents types morphologiques des cellules du genre *Bifidobacterium* (suite) (25a) *B. pseudolongum* subsp. *pseudolongum*, (25b) *B. pseudolongum* subsp. *globosum*, (26) *B. pullorum*, (27) *B. ruminantium*, (28) *B. saeculare*, (29) *B. subtile*, (30) *B. suis*, (31) *B. thermophilum*, and (32) (Blavati B., and Mattarelli P., 2006).

Différentes morphologies cellulaires sont obtenues selon les conditions de culture. Une comparaison de la morphologie cellulaire a été réalisée sur un grand nombre de souches remises en culture en anaérobiose dans le milieu TPY (*Trypticase-Phytone-Yeast*). Cette étude a montré que certaines espèces présentaient une forme cellulaire caractéristique qui pouvait aider à leur reconnaissance. Par exemple, la disposition en «V» ou en palissade est caractéristique chez *B. angulatum*, l'alignement d'éléments globulaires chez *B. catemulatum*, de longues chaînes de cellules régulières chez *B. pullorum*...etc. Mais, le plus souvent, la morphologie cellulaire ne permet pas une bonne différenciation du genre et de l'espèce. Même l'aspect bifide des extrémités des bâtonnets sont rencontrés aussi chez les genres *Corynebacterium* et *Propionibacterium*. Cette caractéristique a donné lieu à de nombreuses études et à des interprétations contradictoires. Anciennement, les formes vésiculeuses étaient considérées

comme des formes de souffrance indiquant une mort prochaine. Une autre hypothèse serait que les massues sont des amas d'ADN en rapport avec un processus de conjugaison. Les formes globuleuses ont été assimilées aux protoplastes : il s'agirait de formes ayant une paroi incomplète, apparaissant sur des milieux capables de provoquer la croissance mais incapables de servir à la synthèse des constituants de la paroi (Dalcenserie et al., 2002).

I.2.2 - La physiologie du *Bifidobacterium* :

Les bifidobactéries sont des microorganismes strictement anaérobies, mais la tolérance à l'oxygène dépend du milieu de culture (Larpent et al., 1996). Il existe des souches moins strictes que d'autres pouvant supporter une tension d'oxygène de 10 cm de mercure. Certaines souches ont même données naissance à des mutants facultatifs. D'une manière générale, les espèces du genre *Bifidobacterium* ne peuvent pas se développer en présence d'oxygène, mais survivent ce pendant (Dalcenserie et al., 2002). Les bifidobactéries sont caractérisées par la présence d'une enzyme : la fructose-6-phosphate phosphocétolase (F6PPK) qui dégrade les hexoses-P en érythro-4-P et acétyl phosphate. Cependant, la dégradation du pyruvate en acide formique et acétyl phosphate en éthanol peuvent modifier les rations en faveur d'une production d'acétate, acide formique et éthanol plutôt en faveur d'une production de lactate (Larpent, 1996, Romand, 1993) (Figure 05).

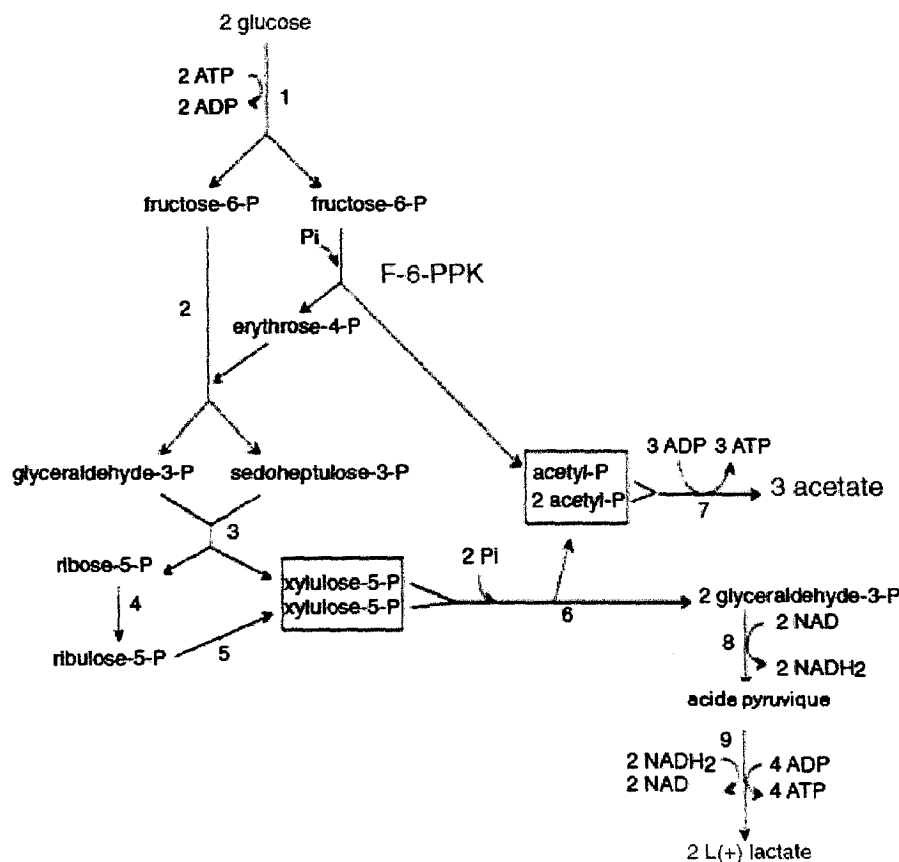


Figure 05: Voie métabolique des hexoses chez le *Bifidobacterium* (Blavati B., and Mattarelli P., 2006).

1 : hexocinase et glucose-6-phosphate isomérase; 2 : transaldolase; 3 : transketolase; 4 : ribose-5-phosphate isomerase; 5 : ribulose-5-phosphate epimerase; 6 : xylulose-5-phosphate phosphoketolase; 7 : acétate kinase; 8 : enzymes de la voie homofermentative ; 9 : L(+) lactate déshydrogénase.

La plupart des bifidobactéries d'origine humaine poussent à une température optimale de 36 à 38°C. Alors que celles d'origine animale supportent des températures plus élevées (43-45°C). En dessous de 20°C, leur croissance n'est plus détectée. Le pH optimal de croissance initiale est compris entre 6.6 et 7, il n'y a pas de croissance inférieure à 5 ou supérieure à 8 (Larpent, 1996, Romand, 1993).

L3 - Identification des bifidobactéries :

Depuis qu'un aspect ramifié est vu dans d'autres genres bactériens (*Arthrobacter*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*), il ne peut pas être considéré comme caractéristique spécifique, mais seulement un critère indicatif. Si bien que les conditions de culture des bifidobactéries, anaérobiose à 37°C pour les espèces d'origine humaines ou à 42°C et plus élevée pour les espèces d'origine animale et nécessitent un temps d'incubation de 48 heures. La détermination par chromatographie en phase gazeuse des acides organiques produits à la fin de la fermentation et notamment l'acide acétique et l'acide lactique de proportions d'environ 3/2 fournit un excellent critère pour l'identification du genre *Bifidobacterium*. Il existe d'autres critères peuvent être utilisée pour l'identification de ces genre (Ballongue, 2004).

L'identification phénotypique se base sur les caractères biochimiques et le profile fermentaire, on doit assurer que la souche est du genre *Bifidobacterium*. Le test de confirmation le plus efficace est le test de la fructose-6-phosphate- phosphokétolase (F6PPK). Cette enzyme est absente chez les bactéries Gram-positives anaérobies ayant une morphologie pseudo bifide telles que les *Arthrobacter*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium* et *Actinomyces* et est donc un bon élément de différenciation étant donné que toutes les espèces du genre *Bifidobacterium*, possèdent l'enzyme. La formation d'acétyl-P à partir de fructose-6-P est visualisée par la formation d'une couleur violette (absorption maximum à 505 nm) due à la chélation du fer de la molécule $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. C'est un test facile à réaliser, qui permet une bonne identification finale des bifidobactéries en culture pure (Delcenserie et al., 2002).

L3.1- Recherche pratique d'enzyme clé de la fermentation des hexoses, La fructose 6-phosphate-phosphocétolase (F6PPK) :

La formation d'acétyl phosphatase à partir du fructose 6-phosphate est mise en évidence par développement d'une coloration rouge-violette due à la formation d'un hydroxamate ferrique chélaté.

Réactifs :

A-tampon phosphate 0.05M pH 6.5 supplémenté en chlorhydrate de cystéine (500mg/l) ;

B-solution de Na F (6mg/l) et d'iodoacétate de sodium ou de potassium (10 mg/l) ;

C-hydroxylamine HCl (13.9g/l) ramenée extemporanément à pH 6.5 par de la soude ;

D-acide trichloracétique (15% poids/volume) en eau ;

E-HCL 4M;

F- $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 5% ;

G-fructose-6-phosphate (80mg/ml) en eau.

Tableau 04 : le profil fermentaire des espèces du genre *Bifidobacterium* (Blavati B., and Mattarelli P., 2006).

Species	Xylose	D-Mannose	D-Fructose	D-Galactose	Sucrose	Maltose	Trehalose	Melibiose	Mannitol	Salicin	Sorbitol	L-Arabinose	Raffinose	D-Ribose	Starch	Lactose	Inulin	Cellulobiose	Melezitose	Gluconate
1. <i>B. bifidum</i>	-	-	+ ^b	+	v ^c	- ^d	-	v	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
2. <i>B. longum</i>	v	v	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	v	-	-
3. <i>B. infantis</i>	v	v	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	v	-	v	-
4. <i>B. breve</i>	-	+	+	+	+	+	v	+	v	+	v	-	+	+	-	+	v	-	-	-
5. <i>B. adolescentis</i>	+	v	+	+	+	+	v	+	v	+	v	+	+	+	+	+	v	+	+	+
6. <i>B. angulatum</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	v	+	+	+	+	+	+	-	-	v
7. <i>B. catenulatum</i>	+	-	+	+	+	+	v	+	v	+	+	+	+	+	-	+	v	+	-	v
8. <i>B. pseudocatenulatum</i>	+	+	+	+	+	+	v	+	-	+	v	+	+	+	+	+	-	v	-	v
9. <i>B. gallicum</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
10. <i>B. dentium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
11. <i>B. denticolens</i>	-	-	+	+	+	+	v	+	-	+	nd	v	+	+	+	+	+	+	-	-
12. <i>B. inopinatum</i>	+	-	+	-	+	+	-	+	+	v	nd	-	+	+	+	v	v	-	v	-
13. <i>B. pseudolongum</i>																				
subsp. <i>pseudolongum</i>	+	+ ^e	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	v	-	v	v	-
subsp. <i>globosum</i>	v	-	+ ^f	+	+	+	-	+	-	-	-	v	+	+	+	+	-	-	-	-
14. <i>B. cuniculi</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
15. <i>B. choerinum</i>	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
16. <i>B. animalis</i>	+	v	+	+	+	+	v	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	v	v	-
17. <i>B. lactis</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
18. <i>B. thermophilum</i>	-	- ^h	+	+	+	+	v	+	-	v	-	-	+	-	+	v	v	v	v	-
19. <i>B. thermacidophilum</i>	- ^d	-	+	+	+	nd	-	+	-	-	+	+	+	+	v	- ^d	-	nd	v	-
20. <i>B. boum</i>	-	-	+	+ ¹	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	v	+	-	-	-
21. <i>B. merycicum</i>	+	-	+ ¹	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	v	-	-
22. <i>B. ruminantium</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
23. <i>B. magnum</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
24. <i>B. pullorum</i>	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
25. <i>B. gallinarum</i>	+	v	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	v	v	nd
26. <i>B. saeculare</i>	+	+ ^b	+	+ ²	+	+ ²	+	+	-	v	- ^h	+	+	+	-	+ ²	+	-	+	-
27. <i>B. suis</i>	+	v ⁱ	v ⁱ	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
28. <i>B. minimum</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
29. <i>B. subtile</i>	-	-	+	+	+	+	v	+	-	v	+	-	+	+	+	-	v	-	+	+
30. <i>B. coryneforme</i>	+	-	+	nd	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	nd	+	-	+
31. <i>B. asteroides</i> ^k	+ ¹	- ^d	+	v	+	v	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+
32. <i>B. indicum</i> ^k	-	v	+	v	+	v	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+

Protocole :

- Centrifugation 10ml d'une culture de 48h en bouillon TGY ;
- Lavage 2fois en solution A et mise en suspension dans 1ml du même tampon ;
- Mettre les échantillons en bain de glace 4 x 30 sec (repos de 30secondes entre chaque essai) ;
- Addition 0.25ml B + 0.25ml de la solution G ;
- Incubation 30min à 37°C ;
- Arrêt par addition de 2.5 ml du réactif C ;
- Incubation 10min à la température ambiante ;
- Addition de 1ml de la solution D+1ml de la solution E (le mélange peut être laissé à la température ambiante) ;
- Addition de 1ml de la solution F et agitation par inversion des tubes ;

Le développement immédiat de la coloration spécifique rouge-violette est le signe d'une réaction positive. Un blanc peut être réalisé en omettant d'ajouter le fructose-6-phosphate dans le milieu réactionnel (Romand *et al.*, 1997). Après avoir confirmé le genre *Bifidobacterium*, une identification de l'espèce du genre *Bifidobacterium* d'après ses caractéristiques phénotypiques est possible en se basant sur le profil fermentaire des sucre (Tableau 2).

L'identification moléculaire est possible par l'étude de la composition en bases cytosine guanine de l'ADN, le séquençage le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S, Le gène codant pour la protéine Hsp60, l'espace intergénique 16S-23S, recherche des plasmides et l'hybridation ADN-ADN.

I.4 - Activité des probiotiques des bifidobactéries :

Les avantages théoriques de bifidobactéries probiotiques comprennent à la fois intestinal et effets systémique, médiées par la modulation de la fonctionnalité de la flore intestinale, la barrière intestinale, et/ou le système immunitaire de l'hôte. Les deux rôles thérapeutiques et prophylactiques ont été proposés et traités dans des modèles animaux et chez l'homme. Dans les dernières années, des études des effets probiotiques de bifidobactéries ont été concentrées dans quatre domaines principaux, modulation du système immunitaire de l'hôte, résistance aux maladies infectieuses, lutte contre les maladies inflammatoires de l'intestin, prévention de cancer colorectal. Bien que souffrant de nombreuses limitations de la consommation de bifidobactéries probiotiques pourrait être traduit en effets observables sur la santé de l'hôte. Ces dernières années, un nombre croissant d'un certain nombre d'études ont intégré l'attention voulue à la dose, la stabilité, y compris la randomisation des sujets, contrôles placebo, aveuglante, le croisement des traitements, et effets sur la santé significatifs. Il est maintenant démontré de façon concluante que certaines souches des *Bifidobacterium* peuvent survivre au, transit intestinal et persistant de façon transitoire dans le côlon, surtout, les souches utilisées comme probiotiques à ce jour semblent être sans danger. Quelques études ont prévues des améliorations mesurables dans des critères cliniques et une amélioration démontrable des symptômes de la maladie dans le cas de l'eczéma atopique chez les nourrissons. Il est important, gagner un éclairage sur certains des mécanismes d'action potentiels des probiotiques par bifidobactéries (Crittenden, 2004).

I.4.1. Pouvoir pathogène :

Les espèces de ce genre ne possèdent ni endotoxine (bactérie Gram positif) ni exotoxine, ce genre n'est pas considéré comme pathogène. Cependant, son pouvoir acidogène est tellement intense qu'il peut provoquer des irritations locales (cystites hémorragiques) ou même des destructions, ainsi la présence de l'espèce *B. dentium* dans les dents cariées a incité de nombreux auteurs à l'incriminer comme agent de corrosion de la dentine et de l'émail. A ce jour, l'espèce *B. dentium* est considérée comme potentiellement pathogène, bien que l'on trouve dans la flore intestinale humaine à des taux relativement bas (10^4 , 10^5 UFC/g de matière fécale). *B. longum*, également a été incriminée dans un cas de septicémie. L'injection aux animaux des cultures ou des suspensions microbiennes ne provoquent cependant aucune lésion ni aucun trouble. Bien au contraire, sa présence dans l'intestin est une cause ou un témoin de l'équilibre bactérien intestinal, et son implantation dans un intestin dont la microflore est déséquilibrée rétablit rapidement cet équilibre d'où la thérapie possible des troubles intestinaux par l'ingestion ou l'implantation indirecte de la bifide. Ces microorganismes sont de plus en plus régulièrement

incorporés à des denrées alimentaires dans l'espoir qu'un apport supplémentaire de cette bactérie dans l'alimentation ait un effet favorable sur la santé humaine (Delcenserie et al., 2002).

I.4.2- Les effets bénéfiques du *Bifidobacterium* sur la santé de l'hôte :

I.4.2.1- Amélioration du transit gastro-intestinal :

L'application de bifidobactéries comme probiotiques a donné un nouvel élan pour la recherche visant à fournir une compréhension de l'écologie de ces bactéries dans le transit gastro-intestinal humain. Chez les personnes âgées, une légère constipation peut être partiellement corrigée par la consommation de lait fermenté par des bifidobactéries (Seki et al., 1978). Le transit colique chez la femme est significativement accéléré dans le colon sigmoïde après consommation d'un lait fermenté par des *Bifidobacterium sp.*, et les ferments du yoghourt (Grimaud et al., 1993). En particulier chez les femmes dont le transit était initialement lent. Cet effet n'a pas été observé avec le yoghourt traditionnel (sans bifidobactéries), ce qui démontre la spécificité des bifidobactéries pour une meilleure motilité colique (Grimaud et al., 1994). Il a été suggéré que la prise de fibres alimentaires insolubles conduit à une diminution de la durée du transit intestinal et à une réduction des possibilités d'interaction entre les carcinogènes fécaux et l'épithélium intestinal (Thebaudin et al., 1997). Les laits fermentés par des bifidobactéries pourraient avoir un effet similaire. Chez les adultes, on a observé que la diversité des espèces de *Bifidobacterium* dans le tractus intestinal diminue avec l'âge. Bien qu'il existe des variations considérables entre les individus, *B. adolescentis* et *B. longum*, sont les espèces les plus communes intestinales chez les personnes âgées, le *B. bifidum* et *B. angulatum* également été signalées (Crittenden, 2004). Chez les nourrissons, les bifidobactéries colonisent le tractus intestinal de l'homme pendant ou peu après la naissance des nourrissons, formant jusqu'à 90 % de la voie fécale des bactéries totales l'espèce, *Bifidobacterium* le plus souvent isolé de nourrissons allaités, au sein sont *B. bifidum*, *B. breve* et *B. longum /infatis* (Crittenden, 2004).

I.4.2.2- Diminution du risque de cancer :

Plusieurs études épidémiologiques sont en accord avec l'hypothèse d'un facteur préventif du lait fermenté contre le cancer du colon (Boutron et al., 1996, Perters et al., 1992). Certaines observations montrent chez l'homme que la consommation de lait fermenté par des bifidobactéries diminue la teneur dans les selles de certaines enzymes fécales, telles que la β -glucuronidase, qui sont impliquées dans la conversion des procarcinogènes en carcinogènes (Bouhnik et al., 1996). Les bifidobactéries inhibent les nitrites et nitrosamines procarcinogènes selon des mécanismes non enzymatiques et intracellulaires (Grill et al., 1995). Ainsi, certains auteurs ont suggéré que le risque du cancer pouvait être réduit en abaissant le pH de l'intestin car cet abaissement empêcherait la colonisation de l'intestin par les bactéries putréfiantes et aurait pour conséquence la réduction de composés potentiellement carcinogènes tels que les produits N-nitroso, les produits phénolés. Elles fixent également les amines hétérocycliques (carcinogènes formés au cours de la cuisson de la viande rouge) qui, une fois fixées, peuvent alors être éliminées dans les selles (Orrhage et al., 1994). De nombreuses études sur le rat ingérant des bifidobactéries ont indiqué la suppression de la formation de foyers glandulaires aberrants dans le colon (Onoue et al., 1997, kulkarni et al., 1994) et une diminution significative de la fréquence d'apparition d'une tumeur du colon et du nombre de tumeurs (Singh et al., 1997). Les bifidobactéries pourraient être efficaces dans l'intestin humain, soit par action directe contre les carcinogènes soit en modifiant l'action de la microflore endogène. La diminution potentielle du risque du cancer du sein a fait l'objet d'un intérêt plus récent. Deux

études de cas ont conclu que la consommation de laits fermentés est associée à une diminution du risque de cancer du sein (Van't Veer et al., 1989, Iê et al., 1986).

La flore colique a été démontré d'être impliqués dans la cancérogenèse colique, cet effets est médié par les enzymes microbiennes telles que β -glucuronidase, β -glucosidase, nitroréductase et de l'uréase, qui convertissent les procancérogènes en cancérogènes. Des expériences effectuées dans des modèles animaux ont montré que quelques souches de *L. acidophilus* et *Bifidobacterium spp.*, sont capables de diminuer les niveaux d'enzymes responsables de l'activation de certains procarcinogènes, et par conséquent réduire le risque de développement de tumeur. Des études dans le corps humain en utilisant les mêmes enzymes que les points finaux démontré une réduction générale des activités enzymatiques microbiennes et concomitante de diminuer la mutagénicité fécale, les effets bénéfique pourrait être expliquée par un avis favorable changer la composition de la flore intestinal suivant à l'introduction de la bactérie précités. En outre, il a été démontré, du moins pour *Lactobacillus casei* (souche Shirota), qu'il ya une opportunité potentielle dans le domaine « de la prévention alimentaire » d'un cancer. Les mécanismes qui semblent être impliquées dans la lutte contre activité de la tumeur de façon systémique administré des bifidobactéries comprennent l'activation des facteurs cellulaires non spécifiques comme les polynucléaires, les macrophages et les cellules tueuses naturelles par la réglementation de la production de l'interféron, l'interféron présent également des effets antiviral et antiproliférative. Administré par voie orale les bifidobactéries jouent un rôle dans l'augmentation, dans une certaine mesure, la production d'anticorps IgA et les fonctions des cellules des plaques de Peyer (Ana et al., 1999).

I.4.2.3- Effets immunomodulateurs :

Les bifidobactéries peuvent moduler différents paramètres du système immunitaire. Deux études sur des échantillons de sang humain (*in vivo*). Dans l'une des publications (Link –Amster et al., 1994), des échantillons de sang prélevés sur des sujets consommant un lait fermenté par différents ferments, aux quel sont ajoutés des bifidobactéries et *L. acidophilus*, présentent une plus forte augmentation de la réponse humorale en IgA, lorsque les sujets qui ont une forme atténuée de *Salmonella typhi*, par rapport aux échantillons prélevés sur des sujets n'ayant pas pris de lait fermenté. Dans la seconde étude (Schiffrin et al., 1995). *B. bifidum* ajouté à un lait fermenté a provoqué une augmentation de l'activité phagocytaire globale contre *E. coli* dans le sang périphérique, l'élévation est plus importante que celle observée avec un lait fermenté contenant *L. acidophilus* mais pas de bifidobactéries, de plus des études *in vitro* ont démontré une production d'interleukines IL6, IL-1b et d'interféron g (molécules servant de signaux de communication entre cellules au cours de la réponse de bifidobactéries, mais cette production est plus élevée avec *S. thermophilus* (Aattouri et al., 1997).

I.4.2.4- Activité antimicrobienne :

Les nourrissons recevant un lait maternisé auquel on ajoute *B. bifidum* et *S. thermophilus*, ont moins de diarrhées hospitalières et de plus faibles taux d'excrétion de rotavirus que les nourrissons recevant un aliment formulé normal. Des observation similaire ont été décrites chez les souris avec *B. bifidum* (Duffy et al., 1994). Les études *in vitro* sont plus nombreuses et portent sur l'effet antagoniste contre différent pathogènes tels que *Escherichia coli* (Fujiwara et al., 1997, Gibson et al., 1994) *Shigella dysenteriae* (Misra et al., 1995) et *Yersinia enterocolitica* (Ozbas et al., 1995). Une étude n'a pas mis en évidence d'effet inhibiteur, avec une souche de *B. bifidum* contre *Helicobacter pylori* (Midolo et al., 1995). Deux mécanismes semblent possibles : la production d'acide acétique et lactique abaisse le pH de l'intestin et par conséquent empêche la croissance des bactéries indésirables (Ozbas et al., 1995, Gibson et al., 1994). Certaines bifidobactéries excrètent des substances antimicrobiennes (en particulier, des bactériocines et

même des antibiotiques). Ainsi que de la sécrétion d'enzymes, les vitamines, les facteurs de croissance (Ballongue, 2004).

I.4.2.5- Effets anti-inflammatoires dans les inflammations intestinales :

Les maladies inflammatoires intestinales (IBD) est un groupe de trouble caractérisés par des effets chroniques, récurrente que l'inflammation intestinale comprend la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse, et la pochite. Une prédisposition génétique est reconnue, mais l'étiologie reste inconnue. La théorie dominante, soutenue par preuves expérimentales et cliniques, est que les résultats de l'inflammation une ventilation dans la tolérance immunitaire normale de composants (pour l'intestin non identifié) de la microflore intestinale. Les thérapies actuelles stéroïdiens provoquent souvent des effets secondaires importants, et depuis les probiotiques peut moduler à la fois le système immunitaire intestinal et le microbiote intestinal, de leur application dans le contrôle de ces maladie a été étudiée (Ballongue, 2004).

Un mélange de probiotiques (VSL#3), qui contenait trois souches de bifidobactéries avec une addition des lactobacilles et *Streptococcus thermophilus*, a été traîné dans une étude randomisée, en double aveugle, contrôlée contre placebo de 40 patients atteints de pochite chronique. Les patients en rémission clinique ont été traités avec le probiotique ou un placebo pendant une période de 9 mois et ont été régulièrement évalués cliniquement. L'analyse bactériologique a démontré la récupération des probiotiques dans les fèces du groupe de traitement. Il est impossible d'ignorer le rôle que les bifidobactéries jouent dans ce sens. Toutefois, un lait fermenté par bifidobactéries maintenant été traîné individuellement chez les patients atteints de colite ulcéreuse avec des effets positifs dans une étude randomisée, essai contrôlé. Aucun effet indésirable n'a été observé dans ces essais indiquant que les bifidobactéries peuvent être utilisés sans danger dans les maladies inflammatoires intestinales. Il semble probable que la sélection des souches de *Bifidobacterium* se révélera capable de fournir des avantages cliniques importants dans le maintien de la rémission (Ballongue, 2004).

I.4.2.6- Effet hypocholestérolémiant

Plusieurs études ont tendance à démontrer une réaction entre la présence d'une microflore lactique et une réduction du cholestérol plasmatique. L'administration des laits fermentés contenant des quantités très importantes de *Bifidobacterium* (10^9 bactéries par gramme) entraîne une chute dans le taux de cholestérol total. La consommation de produits laitiers fermentés pourrait conduire à une réduction de cholestérol. Les bactéries productrices de l'acide lactique produit également hydroxy- méthyle- COA réductase (HMG-CoA réductase). Qui est impliqué dans la synthèse du cholestérol, Rao et al., 1981 ont montré que les métabolites produits à partir de l'acide orotique pendant la fermentation des produits fermentés pourrait être responsables de cet effet hypocholestérolémique. Jaspers et al., 1984 ont montré que les acides à la fois orotique et de réduire le sérum hydroxyméthylglutarique, le cholestérol, acide urique que inhibe la synthèse du cholestérol. *In vitro*, les bifidobactéries semblent affecter l'activité de la HMG-CoA réductase. Il est difficile de déterminer le rôle qui devrait être attribué aux bifidobactéries, et des études sont en cours destiné à montrer l'implication des bifidobactéries dans la réduction du taux de cholestérol (Ballongue, 2004).

I.4.2.7- Répression de l'intolérance au lactose :

Les bifidobactéries, contrairement à *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, sont résistants à biosalts et à la suite peuvent avoir un effet de situ sur le métabolisme du lactose (Ballongue, 2004). Il existe des preuves convaincantes de plusieurs études que les individus intolérants au lactose souffrent moins de symptômes si le lait dans l'alimentation est remplacée par les produits laitiers fermentés. La réduction de niveaux de lactose dans des produits fermentés, du fait de l'hydrolyse partielle du lactose pendant la fermentation peuvent contribuer à la plus grande tolérance du yaourt (Salminen et al., 2004).

I.4.2.7- Déconjugaison des acides biliaires, de réduction des nitrosamines, et l'inhibition de la réduction des nitrates :

Les acides biliaires sont sécrétés dans le duodénum dans leur forme deconjuguées avec la glycine ou la taurine. La plupart des souches du genre *Bifidobacterium* sont capables d'hydrolyser le taurocholate de sodium et glycocholate dans le côlon (Ballongue, 2004).

I.4.2.9- Effets nutritionnelle :

La production des vitamines (B1, B6, B12) , acides aminées (alanine, la valine, l'acide aspartique et la thréonine), et le fait qu'ils ne produisent que l'acide lactique L+, ce qui est métabolisé complètement par les êtres humains améliore les caractéristiques nutritionnelles des bifidobactéries (Ballongue , 2004).

Tableau 05: les vitamines produites par quelques espèces du genre *Bifidobacterium*

	<i>B. breve</i>	<i>B. infatis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. adolescentis</i>
Thiamine (B1)	+	+++	+	+++	+
Riboflavine(B2)	+	+	+++	++	+
Pyridoxine (B6)	++	++	+++	+	++
Acide folique(B9)	+	+++	+	++	+
Cobalamine(B12)	+	++	+++	+	+
Acide ascorbique (C)	++	++	+++	++	+
Acide nicotinique (PP)	+++	+++	+	+++	+
Biotine (H)	++	+++	++	++	++

I.4.2.10- Intérêt technologiques :

Les bifidobactéries tendent à perdre rapidement leur viabilité dans les laits fermentés (Micanel et al., 1997) et elle ne survivent pas bien à un pH inférieur à environ 4,5 ou dans des conditions aérobies (Klaver et al., 1993). Les bifidobactéries sont utilisés dans les aliments fonctionnels fournit de grands défis technologiques. Les produit laitiers fermentés sont toujours les véhicules alimentaires majeurs dans lesquels les probiotiques bifidobactéries sont livrés. Ils ont été utilisés dans les fermentations des laits de chèvre, de brebis et lait de chamelle et dans le soja fermenté et à base de produits d'avoine, les bifidobactéries ont été signalés à croître et à survivre dans une variété de fromages et de rester viable dans la crème glacé et dans le yaourt

glacé. Une application intéressante de ces bactéries a été comme un agent de lutte biologique dans la viande fermentée une souche *B. lactis* incorporé dans un salami hongrois a été signalé à inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* un certain nombre de paramètres, y compris les interactions avec autres souches de démarrage et de probiotique, sels, sucres, et aromatisants et composés colorants, peuvent influencer sur la survie des bifidobactéries dans ces produits , cependant, l'oxygène et le pH peut exercer la plus grande influence sur la survie de *Bifidobacterium* pendant le stockage (Crittenden, 2004).

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques sont des microorganismes caractérisés par la production des acides organiques, en particulier l'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Elles sont utilisées dans les aliments industriels (fromage, yaourt, lait fermenté, et les produits carnés) pour améliorer ces aliments. Qui constitué de plusieurs germes y compris *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. Mais actuellement plusieurs auteurs considèrent que le genre *Bifidobacterium* appartient à des bactéries lactiques.

Un certains nombre de ces bactéries peuvent être utilisées comme probiotiques tels que *Lactobacillus*, mais les bactéries du genre *Bifidobacterium* d'origine humaine ou animale semble également être des bons candidats.

Les bifidobactéries probiotiques peuvent être utilisés dans les infections gastro-intestinales, dans la prévention et la réduction de la gravité des diarrhées aiguës chez les enfants, réduction du risque du cancer, la lutte contre d'allergie, activité antimicrobienne, raccourcissement et prévention des maladies inflammatoires. La présence des bifidobactéries permet aussi de réduire le niveau de cholestérol sérique et aident à la déconjugation des acides biliaires, la réduction des nitrosamines et l'inhibition de la réduction des nitrate. À la fin de ce travail, on distingue que les espèces du genre *Bifidobacterium* ont un grand intérêt sur la santé de l'homme.

Bibliographie

Bibliographie

- Aattouri N., and Lemonnier D., 1997.** Production of interferon induced by *Streptococcus thermophilus*: role of CD4+ and CD8+ lymphocytes. *J. Nutr. Biochem.* **8**, 25-31.
- Ana M.P., Gomes and Xavier Malcata F., 1999.** *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, **10**, 139-157.
- Atlan D., Béal C., Champomier- Vergèse M-C., Chapot-Chartier M- P., Chouayekh H., Coccagn- Bousquet M., Deghorain M., Gaudu P., Gilbert C., Goffin p., Guédon È., Guillourd I., Guzzo J., Hols P., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Magiun E., Mannet C., RUL F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M.** Métabolisme et ingénierie métabolique. IN : Corrieu G., Luquet F.M., 2008. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. TEC et DOC. Lavoisier pp 271-509.
- Axelsson L.** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. IN Salminen S., Wright A.V., Ouwehand A, 2004. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Third Edition, Marcel Dekker, USA, pp 19-67.
- Ballongue J.** Bifidobacteria and probiotic action. IN: Salminen S., Wright A.V., Ouwehand A, 2004. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Third Edition, Marcel Dekker, USA, pp 67-124.
- Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P.** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. IN: Corrieu G., Luquet F.M., 2008. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. TEC et DOC. Lavoisier pp 661-785.
- Blavati B. and Mattarelli P., 2006.** The Family Bifidobacteriaceae., *Prokaryotes* **3**, 322-382.
- Boaventura C., Azevedo R., Uetanabaro A., Nicoli J. and Braga L. G.** The Benefits of Probiotics in Human and Animal Nutrition. IN Tomasz Brzozowski, 2012. New advances in the basic and clinical gastroenterology. Janeza Trdine Rijeka, Croatia, pp 21-50.
- Bonifait L., DEA, Chandad F., PhD, Grenier D., PhD, 2009.** Les probiotiques en santé buccale : mythe ou réalité? *JADC*, **75(8)**, 585-590.
- Bouhnik Y, Flourié B, Andrieux C, Bisetti N, Briet F et Rambaud J-C., 1996.** Effects of *Bifidobacterium sp.* fermented milk ingested with or without inulin on colonic bifidobacteria and enzymatic activities in healthy humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 269-273.
- Boutron MC., Faivre J., Marteau P., Couillault C., Denesse P. et Quipourt V., 1996.** Calcium, phosphorus, vitamin D, dairy products and colorectal carcinogenesis: a French case-control study. *Brit. J. Cancer* **74**, 145-151.
- Boutron R., Christine M., 2007.** Probiotiques et cancer colorectal, *Nutrition Clinique et métabolisme.* **21**, 85-88.
- Caramia G. and Silvi S.** Probiotics: From the Ancient Wisdom to the Actual Therapeutical and Nutraceutical Perspective. IN Malago J.J, Koninkx J F. J. G, Marinsek-Logar R. 2001. Probiotic Bacteria and Enteric Infections. « Cytoprotection by Probiotic Bacteria ». © Springer Science+Business Media B.V. London New York. 3-36.
- Chamba J-F.** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques, TEC et DOC. Lavoisier pp 787-821.

Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes, 2001. Cordoba, Argentine. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

Crittenden R. An Update on Probiotic Bifidobacteria. IN: Salminen S., Wright A.V., Ouwehand A., 2004. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Third Edition, Marcel Dekker, USA, pp 125-158.

Dacosta Y., 2000. La Bio-Protection des aliments « l'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologiques ». Rue Guersant, Paris, pp 1, 2, 5.

Delcenserie V., China B., Gavini F., Beerens H., Daube G., 2002. Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments : le genre *Bifidobacterium*. *Ann.Méd.Vét.* 146, 279-281.

Dortu C., Thonart P., 2008. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agrom. Soc. Environ.*, 13(1), 143-154.

Duffy LC., Zielezny MA., Riepenhoff-Talty M., Dryja D., Sayahthaheri-Altaie S., Griffiths E., Ruffin D., Barrett H., Rossman J. and Ogra PL., 1994. Effectiveness of *Bifidobacterium bifidum* in mediating the clinical course of murine rotavirus diarrhea. *Pediatr. Res.* 35, 690-695.

Fujiwara S., Hashiba H., Hirota T. et Forstner JF., 1997. Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to ganglioside GM1. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 506-512.

Füller R., 1992. Probiotics: the scientific basis. Chapman and Hall Ltd, London, p.1.

Gavini F., Pourcher A.M., Bahaka D., Freney J., Romond C., Izard D., 1990. Le genre *Bifidobacterium*. Classification, identification, aspects critiques, médecine et maladies infectieuses 20(3), 53-62.

Gibson GR. et Wang X., 1994. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 77, 412-420.

Grill J-P., Crociani J. et Ballongue J., 1995. Effect of bifidobacteria on nitrites and nitrosamines. *Letters Appl. Microbiol.* 20, 328-330.

Grimaud JC, Bouvier JG, Bertolino JG, Salducci J, Chiarelli P et Bouley C., 1993. Effets du lait fermenté contenant du *Bifidobacterium* sur le temps de transit colique. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 17, A127.

Grimaud JC., Bouvier M., Marteau P., Bommelaer G., Salducci J., Chiarelli P. et Bouley C., 1994. Effect of *Bifidobacterium* fermented milk (Bio strain) on the colonic transit time in healthy humans. In *Les bactéries lactiques*, Actes du Colloque Lactique 94, 7-9 Sept. 1994, Caen, France: Presses Universitaires de Caen, pp 406.

Guiraud J-P., 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, pp 89-90.

Guiraud J-P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR, pp 237-249.

Huot I., 2009. *Les probiotiques, faut-il s'y abonner? La médecine de Québec*, 44(3), 57-62.

Jaspers, DA., Massey, LK., Leudecke, L.O., 1984. Effect of consuming yogurts prepared with different culture strains on human serum lipoproteins. *J. Food Sci.*, 49, 1178.

- Jeanne A., Drisko, MD., CNS., Cherly K.Giles, MD., Bett J., Bischoff, RD., 2003.** Probiotics in Health Maintenance and Disease Prevention, *Alternative Medicine Review* 8(2), 143-145.
- Klaver FAM., Kingma F. et Weerkamp AH., 1993.** Growth and survival of bifidobacteria in milk. *Netherlands Milk Dairy* 47, 151- 164.
- Kulkarni N. et Reddy B., 1994.** Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* cultures on the azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation and fecal bacterial β -glucuronidase (43817). *Proc. Soc. Experim. Biol. Med.* 207, 278-283.
- Larparent J.P.** Les bactéries lactiques. IN : Bourgeois C.M., Larparent J.P., 1996. Microbiologie alimentaire, 2^{ème} édition. TEC et DOC .Lavoisier pp 3-39.
- Larparent J-P., Larparent-Gourgaud M., 1997.** Mémento Technique de laboratoire. 3^{ème} édition, TEC et DOC pp 555-558.
- Larparent-Gourgaud M., Michaux O., Larparent J.P., Desmasures N., Desmazeaud M., Mangin L., Masson F., Montel M.C., Tailliez P.** Les fermentation lactique et bactéries apparentées. IN : Larparent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire « techniques de laboratoire ». TEC ET DOC. Lavoisier pp 199-255.
- Larreta garde V., 1997.** Enzymes en alimentation, édition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 56.
- Lê MG., Moulton LH., Hill C. and Kramar A., 1986.** Consumption of dairy produce and alcohol in a case-control study of breast cancer. *J. Nation. Cancer Inst.* 77, 633-636.
- Leveau J.Y et Bouix M, 1991.** La flore lactique: Techniques d'analyse et de contrôle dans IAA T3, 2^{ème} éditions, Tec et Doc. Lavoisier pp:6-36.
- Leveau J.Y et Bouix M, 1993.** Microbiologie industriel « les microorganismes intérêt industrielle». Tec et Doc. Lavoisier pp 170.
- Lilly D.M., Stillwell R.H., 1965.** Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 33(4), 253-255.
- Link-Amster H., Rochat F., Saudan KY., Mignot O. et Aeschlimann JM., 1994.** Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 10, 55-64.
- Mahrous H., Shaalan U.F. and Ibrahim A.M., 2011.** The role of some probiotic lactic acid bacteria in the reduction of cholesterol on mice. *International Research Journal of Microbiology (IRJM)*, 2(7), 242-248.
- Marteau MC.** Bactéries lactiques probiotiques et immunité. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. TEC et DOC. Lavoisier pp 211-253.
- Marteau P. et Rambaud., 1996.** Journée pratique de nutrition qui sont les probiotiques ?. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 3, 184-185.
- Marteau P. et Seksik P.** probiotiques et alicaments. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. TEC et DOC. Lavoisier pp 255-289.
- Metchnikoff E., 2004.** The production of life, in optimistic studies, Springer Publishing Company, New York.
- Micanel N., Haynes I.N. and Playne M.J., 1997.** Viability of probiotic cultures in commercial Australian yogurts. *Australian J. Dairy Technol.* 52, 24-27.

- Midolo PD., Lambert JR., Hull R., Luo F. et Grayson ML.,1995.** In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 475-479.
- Misra AK. and Kuila RK., 1995.** Antimicrobial substances from *Bifidobacterium bifidum*. *Indian J. Dairy Sci.* **48**, 612-614.
- Monnet C., Latrillé É., Béal C. et Corrieu G.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques, TEC et DOC. Lavoisier pp 511-611.
- Morisset D., Beyeaud JM., Frère J. et Héchard Y.** Bactériocines de bactéries lactiques. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. TEC et DOC. Lavoisier PP 113-194.
- Muller-marin K, Rieutord D., 2004.** Probiotiques : Bilan et perspectives. 3ème Convention Internationale Paris.
- Normond M., Roland N., Richoux R., Kerjean J.R., 2006.** Propriétés probiotiques des bactéries propionique laitières. Programme Nutrition Santé en Bretagne.
- Novel G.** Les bactéries lactiques. IN : Leveau J-Y., Bouix M., 1993. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc. Lavoisier pp 170-374.
- Onoue M., Kado S., Sakaitani Y., Uchida K. et Morotomi M., 1997.** Specific species of intestinal bacteria influence the induction of aberrant crypt foci by 1, 2-dimethylhydrazine in rats. *Cancer Letters* **113**, 179-186.
- Orrhage K., Sillerström E., Gustafsson JA., Nord CE. and Rafter J., 1994.** Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutation Res.* **311**, 239-248.
- Ozbas ZY. and Aytac SA., 1995.** Behaviour of *Yersinia enterocolitica* and *Aeromonas hydrophila* in yogurt made with probiotic bacteria: *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwiss.* **50**, 626-629.
- Parker RB.** Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health* 1974, **29**, 4-8.
- Pelmont J., 2005.** Biodégradations et Métabolismes : Les bactéries pour les technologies de l'environnement. EDP Sciences, Paris, p 250.
- Pernoud Schneid-Citrain N., Agnetti V., Breton S., Faurie JN, Marchal L., Oudot E., Paquet D., Robinson T.** Application des bactéries lactiques dans les produits laitier frais et effets probiotiques. IN : Luquet F.M., Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. TEC et DOC. Lavoisier pp 1-112.
- Peters RK., Pike MC., Garabrant D. and Mack TM., 1992.** Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control* **3**, 457-473.
- Pilet MF., Magras C. et Fedegrihi M.** Bactéries lactiques. IN : Fedegrihi M., 2005. Bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliments, 2^e édition ECONOMICA, pp 220-255.
- Pilet MF., Magras C. et Federighi M.** Bactéries lactiques. IN Sutra L., Federighi M., Jouver J-L., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire, Polytechnica. Lavoisier, pp 235-260.
- Pot B.** The taxonomy of lactic acid bacteria. IN: Corrieu G., Luquet F.M, 2008. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. TEC et DOC. Lavoisier pp 1-152.

- Prescott LM., Harley JP., Klein DA., 2003.** Microbiologie. 2^e édition française deboek, pp 546-549.
- Quillien G., 2001.** Les probiotiques. Institut National de la Recherche Agronomique. France. pp 1-16.
- Rao, DR.; Chawan, CB., Pulusani, SR., 1981.** Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterogenesis in rats. *J. Food Sci.*, **46**, 1339.
- Report of FAO/WHO., 2002.** Report of a joint FAO/WHO working group on drafting for the evaluation of probiotics in food. London. Ontario, Canada, April 30 and May 1, pp 1-11.
- Riazi A., Zian H., 2010.** Croissance et Viabilité des bifidobactéries dans le lait écrémé additionné de miel d'abeille. *Nature et Technology*, **2**, 17-24.
- Romond MB., Bifidobacterium : Isolement et identification.** IN : Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire « Techniques de laboratoires ». TEC et DOC. Lavoisier, pp 382-390.
- Romond MB., Romond C. Bifidobacterium.** IN : Leveau J-Y., Bouix M., 1993. Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc. Lavoisier pp 376-388.
- Salminen S., Gorbach S., Lee YK., Benno Y.** Human Studies on Probiotics: What is Scientifically Proven Today? IN Salminen S., Wright A.V., Ouwehand A, 2004. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Third Edition, Marcel Dekker, USA, pp 515-530.
- Schiffrin EJ., Rochat F., Link-Amster H., Aeschlimann JM. and Donnet-Hughes A., 1995.** Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* **78**, 491- 497.
- Seki M., Igarashi M., Fukuda Y., Simamura S., Kawashima T. et Ogasa K., 1978.** The effect of Bifidobacterium cultured milk on the "regularity" among aged group. *Nutr. Food* **4**, 379-387
- Singh J., Rivenson A., Tomita M., Shimamura S., Ishibashi N. et Reddy BS., 1997.** *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* **18** , 833-841.
- Thantsha MS., Mamvura CI. et Booyens J.** Probiotics- What They Are, Their Benefits and Challenges. IN : Tomasz Brzozowski, 2012. New advances in the basic and clinical gastroenterology, Janeza Trdine Rijeka, Croatia, pp 75-100.
- Thebaudin JY., Lefebvre AC., Harrington M. et Bourgeois CM., 1997.** Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends Food Sci. Technol.* **8**, 41-48.
- Tortora GJ., Funke BR., Case CL., 2003.** Introduction a la microbiologie, édition De Renouveau pédagogique INC, Saint- LAURENT, Québec, CANADA
- Van't Veer P., Dekker J., Lamers JWJ., Kok FJ., Schouten EG., Brants HAM., Sturmans F. et Hermus RJJ., 1989.** Consumption of fermented milk products and breast cancer: A case-control study in the Netherlands. *Cancer Res.* **49**, 4020-4023.
- Vasiljevic T., Shah NP., 2008.** Probiotics from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, **18**, 714-728.

Effets probiotiques des bifidobactéries

Résumé

L'homme considère que tous les microorganismes sont pathogènes, mais en fait certains d'entre eux présentent des avantages à la santé humaine tels que les bactéries lactiques ces dernières inclus un genre très dominant dans le tractus digestifs de l'homme et des animaux, c'est le genre de *Bifidobacterium* qui se considère comme un probiotique importants qui est utilisés dans les industries alimentaires. Les effets bénéfiques de *Bifidobacterium* dans la fermentation alimentaires sont: le traitement des tractus gastro-intestinaux, inhibition de la croissance des bactéries pathogènes, elles contribuent aussi d'autres effets bénéfiques tels que la diminution de l'intolérance au lactose, le taux de cholestérol ainsi que la durée de la diarrhée liée au traitement antibiotique, prévention de cancer, amélioration de tube digestif, immunomodulateurs.

Mots clés : bactéries lactiques, probiotiques, *Bifidobacterium*, effets bénéfiques de *Bifidobacterium*

Abstract

Men consider that any microorganisms are pathogeneous, but in fact, lots of them exert a beneficial effect for human health. This is the case of lactic acid bacteria.

Bifidobacterium is a genus of this group of lactic acid bacteria and a natural part of the bacterial flora in the human and animal bodies. *Bifidobacterium* considered as a probiotic, is used in food industry for the manufacture of fermented products.

The beneficial health effects of *Bifidobacterium* of fermented food include: treatment of intestinal disorders, inhibition of harmful bacteria, they assign other benefits such as reduction of lactose intolerance, cholesterol levels and the duration of diarrhea related to antibiotic treatment, prevention of cancer and modulation of immune reprise.

Key words: lactic acid bacteria, *Bifidobacterium*, probiotics, beneficial effect of *Bifidobacterium*

ملخص

يعتبر الإنسان أن جميع الكائنات الحية الدقيقة ممرضة, لكن في الواقع بعض منها لديه مزايا تعود على صحة الإنسان بالفائدة مثل البكتريا اللبنية, هذه الأخيرة تملك جنس سائد في الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان هو *Bifidobacterium* التي تعتبر مثل probiotiques بحيث تستخدم في صناعة المواد الغذائية لتخفيف و علاج الاضطرابات المعوية. تمارس أنشطة صحية متنوعة خاصة ضد البكتريا الممرضة, ونذكر فوائد أخرى مثل: التقليل من الحساسية المفرطة للاكتوز, و معدل الكوليسترول و أيضا مدة الإسهال الناتجة عن العلاج بالمضادات الحيوية, الوقاية من السرطان و تنشيط الجهاز المناعي.

الكلمات المفتاح : البكتريا البنية, *Bifidobacterium*, probiotiques, التأثيرات الإيجابية لـ: *Bifidobacterium*