

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 2429

Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel

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



كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم التغذية

## Mémoire de fin d'études

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

Option : Microbiologie Appliquée

*Thème*

**Etude des propriétés de surface de certaines souches  
du genre *Lactobacillus***

### Membre du Jury

**Présidente** : Dr. Akroum S.  
**Examineur** : Dr. Sifour M.  
**Encadreur**: Mr. Khennouf T.



### Présenté par :

**Mr** : Beghal Nacereddine  
**M<sup>elle</sup>** : Goutas Messaouda

Années Universitaire 2015-2016

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

# Remerciements

*Nous tenons en premier lieu à remercier Allah qui nous a donné la volonté pour étudier et réalisé ce travail.*

*Le grand merci à notre encadreur Mr. Khannouf Tarek qui a fait pour nous un travail supplémentaire et nous a guidé lors de l'élaboration de ce travail avec ses encouragements, sa patience et ses conseils judicieux, nous la prions d'accepter nos sincères remerciements, notre profond respect et entiers dévouement.*

*Nous remercions également Dr. Akroum souad pour l'honneur qu'il nous a fait de présider ce jury et Dr. Sifour Mohammed voir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier tous les enseignants, ingénieurs, techniciens et administrateurs du département de Microbiologie Appliquée et sciences alimentaires, qui m'ont aidé, guidé et encouragé.*

*Dans le souci de n'oublier personne, que ceux qui nous ont aidé de près où de loin, trouve dans ces lignes l'expression de notre gratitude.*

# Table des Matières

---

## *Table des Matières*

---

---

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction .....01

### **I. Synthèse Bibliographique**

#### **Chapitre I : Les bactéries lactiques**

I.1. Présentation des bactéries lactique.....02

I.2. Habitat et origine des bactéries lactiques .....02

I.3. Classification.....02

I.4. *Les lactobacillus* .....03

I.4.1. Définition de genre *Lactobacillus*.....04

I.4.2. **Habitat**.....04

I.4.3. **Classification**.....04

I.4.4. **Utilisation**.....05

I.5. Utilisations des bactéries .....05

I.5.1. **Domain alimentaire**.....05

I.5.2. **Domaine sanitaire** .....05

I.6. Les principales bactéries lactiques utilisées comme probiotiques.....06

#### **Chapitre II : Les probiotiques**

II.1. Historique de la définition des probiotiques .....07

II.2. Les différents groupes des microorganismes probiotiques.....07

II.3. Les critères de sélection des probiotiques .....08

II.3.1. Critères de sécurité .....	08
II.3.2. Critères technologiques .....	08
II.3.3. Critères fonctionnels.....	08
II.3.3.1. La viabilité .....	08
II.3.3.2. Résistance à l'acidité gastrique, la bile et la survie dans le tractus gastro-intestinal .....	08
II.3.3.3. Adhésion au mucus ou aux cellules épithéliale.....	08
II.3.3.4. Activité antimicrobienne contre des bactéries potentiellement pathogènes.....	08
II.3.3.5. Activité immunomodulatrice .....	09
II.3.3.6. Les interactions avec le système immunitaire de l'hôte .....	08
II.4. Mécanismes d'actions des probiotiques.....	08
II.4.1. Adhésion des Probiotiques au mucus intestinal et les cellules épithéliales .....	08
II.4.2. L'antagonisme des probiotiques.....	10
II.4.3. La production de substances antimicrobiennes .....	10
II.4.3.1. Action anti-oxydante par la production de peroxyde d'hydrogène .....	10
II.4.3.2. Production de bactériocine .....	11
II.5. Effet Bénéfique des probiotiques .....	12
II.5.1. La prévention du cancer .....	12
II.5.2. Les effets immunitaires de bactéries probiotiques .....	12
II.5.3. Diarrhée aiguë .....	12
II.5.4. Prévention des troubles des voies urogénitales .....	12
II.5.5. Prévention ou le traitement des infections à <i>Helicobacter pylori</i> .....	13
II.6. Les propriétés de surface des bactéries probiotiques .....	13
II.6.1. Hydrophobicité .....	13
II.6.2. Auto-agrégation et co-agrégation.....	13



II.6.3. Adhésion .....	14
------------------------	----

### **III. Matériel et Méthodes**

III.1. Matériel .....	15
III.1.2. Milieux de culture... ..	15
III.1.3. Les tampons... ..	15
III.1.4. Les produits chimiques et réactifs.....	15
III.1.5. Appareillage... ..	16
III.2. Méthodes... ..	16
III.2.1. Revivification et vérification de la pureté des souches.....	16
III.2.1.1.Examen macroscopique.....	16
III.2.1.2.Examen microscopique.....	16
III.2.1.3.Coloration de Gram.....	16
III.2.2. Test d'hydrophobicité des souches du genre <i>Lactobacillus</i> .....	17
III.2.2.Test d'auto-agrégation des souches du genre <i>Lactobacillus</i> .....	18
III.2.4. Effet des sels biliaires sur la surface de cinq souches du genre <i>Lactobacillus</i> .....	18
III.2.5. Effet de la présure sur la surface de cinq souches du genre <i>Lactobacillus</i> .....	19
III.2.6. Evaluation statistique .....	19

### **IV. Résultats et Discussion**

IV.1. Revivification et vérification de la pureté des souches.....	20
IV. 2. L'hydrophobicité des souches du genre <i>Lactobacillus</i> .....	20
IV.2.1. L'effet de différents pH sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	21
IV.2.1.1.L'effet de pH 3 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	21
IV.2.1.2.L'effet de pH 4 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	22

IV.2.1.3. L'effet de pH 5 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	23
IV.2.1.4. L'effet de pH 8 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	24
IV.2.2. Effet des sels biliaires sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	25
IV.2.3.Effet de l'enzyme présure à différents concentrations sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	25
IV.2.3.1.Effet de l'enzyme présure à concentration (0.5 g/l) sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	25
IV.2.3.2.Effet de l'enzyme présure à concentration (1g/l) sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	26
IV.3. Auto-agrégation sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	28
IV.3.1. L'effet de différents pH sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	29
IV.3.1.1. L'effet de pH 3 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	29
IV.3.1.2. L'effet de pH 4 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	30
IV.3.1.3. L'effet de pH 5 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	31
IV.3.1.4. L'effet de pH 8 sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	32
IV.3.2. Effet des sels biliaires sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	33
IV.3.3. Effet de l'enzyme présure à différents concentrations sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	33
IV.3.3.1. Effet de l'enzyme présure à concentration (0.5 g/l) sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	33
IV.3.3.2. Effet de l'enzyme présure à concentration (1 g/l) sur la surface des cinq souches de <i>Lactobacillus</i> .....	34
<b>Conclusion</b> .....	36
<b>Références bibliographiques</b> .....	37

## **Annexes**



---

---

## *Liste des Tableaux*

---

---

- Tableau 01 :** Les différents genres des bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques.....03
- Tableau 02 :** Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques.....08
- Tableaux 3:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (7.2)
- Tableaux 04:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches *Lactobacillus* à pH (3.0)
- Tableaux 0 5:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (4.0)
- Tableaux 6:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (5.0)
- Tableaux 7:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (8.0)
- Tableaux 8:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* en présence des sels biliaires 0.3%
- Tableaux 9:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* en présence d'enzyme présure (0.5g/l)
- Tableaux 10:**Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* en présence d'enzyme présure (1g/l)
- Tableaux 11:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des cinq souches de *Lactobacillus* à pH (7.2)
- Tableaux 12:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH (3.0)
- Tableaux 13:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH (4.0)
- Tableaux 14:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH (5.0)
- Tableaux 15:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH (8.0)
- Tableaux 16:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de sel biliaire 0.3%
- Tableaux 17:**Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de la présure (0.5g/l)



**Tableaux 18:** Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de présure (1g/l)

**Tableaux 19:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* dans différent pH

**Tableaux 20:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* en présence des sels biliaires 0.3%

**Tableaux 21:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* en présence d'enzyme présure (0.5g/l et 1g/l)

**Tableaux 22:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence de différent pH.

**Tableaux 23:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence des sels biliaires 0.3%

**Tableaux 24:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence d'enzyme (présure (0.5g/l et 1g/l)

---

---

## *Liste des figures*

---

---

<b>Figure 01</b> : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (7.2).....	18
<b>Figure 02</b> : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (3.0).....	20
<b>Figure 03</b> : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (4.0).....	20
<b>Figure04</b> : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (5.0).....	21
<b>Figure 05</b> : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (8.0).....	22
<b>Figure 06</b> : Effet des sels biliaire sur l'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> .....	23
<b>Figure 07</b> : L'effet d'enzyme (présure 0.5g/l) l'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> .....	24
<b>Figure 08</b> : L'effet d'enzyme (présure 1g/l) l'hydrophobicité des souches de <i>Lactobacillus</i> s.....	25
<b>Figure 09</b> : Pourcentage d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (7.2).....	27
<b>Figure 10</b> : Pourcentage d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (3.0).....	28
<b>Figure 11</b> : Pourcentage d'autoagrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (4.0).....	29
<b>Figure 12</b> : Pourcentage d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (5.0).....	29
<b>Figure 13</b> : Pourcentage d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> pH (8.0).....	30
<b>Figure 14</b> : Effet des sels biliaire sur l'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> .....	31
<b>Figure 15</b> : L'effet d'enzyme (présure 0.5g/l) d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> .....	32
<b>Figure 16</b> : L'effet d'enzyme (présure 1g/l) d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i> .....	32

---

## *Liste des Abréviations*

---

**GRAS:** Generally Regarded As Safe

**MRS :** de Man-Rogosa et Sharp

**FAO:** Food and Agriculture Organization

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**PBS:** Phosphate Buffer Salin



# Introduction

Depuis une dizaine d'années, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation des bactéries lactiques comme probiotiques à effets bénéfiques pour la santé. Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme, représenté par : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Lactococcus* et *Enterococcus* (Lavanya et al., 2011).

Parmi ces genres qui sont considérés comme des microflores du tractus gastro-intestinal humain et qui contribuent à la microflore autochtone qui colonise l'intestin de façon stable durant toute la vie de l'hôte, le genre *Lactobacillus*, a été largement étudié grâce à ces utilisations dans des fermentations industrielles et alimentaires où il joue un rôle important dans la production de différentes substances à effets bénéfiques comme les bactéricides (Zhu et al., 2009). Grâce à sa large exploitation dans différentes industries, plusieurs études récentes sur le genre *Lactobacillus* ont été basées sur l'évaluation d'autres performances probiotiques telles que la tolérance aux conditions hostiles du tractus gastro-intestinal (l'acidité, la bile) ainsi que la capacité d'adhésion aux cellules épithéliales et la résistance aux antibiotiques (Sebastian et Keerthi, 2013).

L'adhérence bactérienne est différente d'une souche à une autre, et est initialement basée sur des interactions physiques non spécifiques entre deux surfaces, qui permettent alors des interactions spécifiques entre protéines adhésives et des récepteurs complémentaires (Del Re et al., 2000 ; Xu et al., 2009).

Les caractéristiques physico-chimiques de la surface cellulaire telles que l'hydrophobicité et l'auto-agrégation sont dues en grande partie à la nature des composés présents à sa surface cellulaire utiles pour l'adhésion (Del Re et al., 2000). La capacité d'auto-agrégation et l'hydrophobicité des bactéries sont deux caractères indépendants, et leur détermination a été proposée comme une méthode indirecte pour l'évaluation de la capacité d'adhérence des bactéries (Deepika et al., 2009).

Ce travail a été accompli en deux parties, une synthèse bibliographique qui a permis en premier temps d'élargir nos connaissances sur les bactéries lactiques et les probiotiques. Une deuxième partie portant sur l'étude expérimentale dont laquelle nous avons étudié les propriétés de la surface de certaines souches de genre *Lactobacillus*, dont l'hydrophobicité et l'auto-agrégation ainsi l'effet de différent pH acide et basique, l'effet des sels biliaires et l'effet de la présure sur ces deux propriétés membranaires des *Lactobacillus*.

# Synthèse Bibliographique



### I.1. Présentation des bactéries lactiques

Le groupe des bactéries lactiques a été défini pour la première fois par *Orla-Jensen (1919)*, il est appelé : les bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique (*König et Fröhlich, 2009*). Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène des procaryotes généralement Gram positif, appartenant au Phylum Firmicutes qui produisent de l'acide lactique comme produit final principal lors de la fermentation du sucre (*Lorca et al., 2007 et Sun et al., 2014*). Elles sont immobiles, non sporulées, anaérobies facultatives mais aérotolérantes, elles peuvent avoir des formes de coques ou de bâtonnets et ne possédant pas de catalase (certains souches possédant une pseudo catalase), de nitrate réductase et de cytochrome oxydase, elles sont protéolytiques, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (*König et Fröhlich, 2009 ; Charles et al., 2011 ; Divya et al., 2012 ; Sun et al., 2014*). Toutes les bactéries lactiques se caractérisent par un métabolisme fermentaire strict en utilisant les glucides (*Gong et al., 2012*). Selon le mode de fermentation obligatoire ou préférentiel utilisé, les bactéries lactiques sont dites :

- **Homolactique** : l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé à partir de la glycolyse.
- **Hétéro-lactique** : Les bactéries lactiques fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub>) (*Axelsson, 2004 ; Reis et al., 2012*).

### I.2. Habitat et origine

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ubiquitaires qui se retrouvent dans une grande variété d'habitats avec une alimentation riche en nutrition où elles disposeront de glucides en abondance, de produit de dégradation des protéines, d'acides nucléiques et de vitamines. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales, ainsi que les cavités buccales, vaginales et intestinales de l'Homme (*Lorca et al., 2007 ; König et Fröhlich, 2009 ; Sun et al., 2014*).

### I.3. Classification

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par *Orla-Jensen* basée sur différentes caractéristiques à savoir les propriétés morphologiques des genres, bâtonnets (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) ou cocci (tous les autres genres), biochimiques, (le mode de fermentation du glucose (homo ou hétéro-fermentation)) et physiologiques (*Axelsson, 2004 ; Sakaridis et al., 2014*). Les nouvelles techniques pour l'identification des bactéries lactiques font intervenir couramment les approches phénotypiques qui sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes

concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, l'exigence à des facteurs de croissance et la capacité à synthétiser certaines enzymes (Axelsson, 2004 ; Charles *et al.*, 2011). La classification des bactéries lactiques peut se faire aussi selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires et plus particulièrement l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont permis d'affiner cette classification (Axelsson, 2004 ; Sakaridis *et al.*, 2014). Actuellement, Dortu et Thonart (2009) regroupent les bactéries lactiques en treize genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* et le genre *Bifidobacterium* (Tableau 01) (Dortu et Thonart, 2009).

**Tableau 01:** Les différents genres des bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (Lorca *et al.*, 2007 ; Sun *et al.*, 2014).

Genres	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques principale	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo- ou Hétérofermentaires	Thermophile ou mésophiles	Homme, produits Laitiers,
<i>Bifidobacterium</i>	Formes irrégulières	Hétérofermentaires	mésophiles	L'intestin de l'homme et des animaux
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, ou psychrophiles	Produits laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	thermophiles	Produits laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles ou thermorésistants	Intestin des de l'homme et animaux
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits laitiers, végétaux.
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétéro fermentaires	Mésophiles	vin
<i>Pediococcus</i>	Coques ou en tétrades	Homofermentaires	mésophiles, halotolérants	Bière, saucissons



<i>Tetragenococcus</i>	Coques ou en tétrades	Homofermentaires	mésophiles, halophile	Saumures
<i>Cornobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaires	Psychrophiles et peu acidotolerants	Produits carnés, poissons
<i>Weissella</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits laitiers, végétaux

#### I.4. Les lactobacilles

##### I.4.1. Définition de genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* a été proposé la première fois par **Beijerinck (1896)**. Ce genre appartient au groupe des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli*, à l'ordre des *Lactobacillales* et à la famille des *Lactobacillaceae*. Les lactobacilles se présentent sous forme de bacilles longs Gram positif ou des coccobacilles courts isolés, comme elles peuvent former des chaînes. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. De plus ces microorganismes sont auxotrophes avec de fortes exigences en facteurs de croissance tels que des glucides, des acides aminés, des dérivés d'acides nucléiques, des sels et des vitamines, non sporulés, catalase négative et homo ou hétéro-fermentaire (**Sun et al., 2014**). Le genre *Lactobacillus* se caractérise par une paroi complexe constituée de différentes protéines comme des adhésives spécifiques du mucus, des protéines de la matrice extracellulaire, des cellules épithéliales intestinales et les acides lipotéichoïques qui peuvent être impliqués dans l'adhésion aux cellules épithéliales (**Sieladie et al., 2011 ; Sun et al., 2014**).

##### I.4.2. Habitat

Les lactobacilles sont isolés de diverses niches écologiques telles que les plantes, le sol, l'eau, les produits laitiers, carnés ou végétaux fermentés ou en décomposition. Ils appartiennent à la flore normale de la cavité buccale, urogénitale et du tractus gastro-intestinal de l'Homme et de l'animal (**Kirtzalidou et al., 2011 ; Sun et al., 2014**).

##### I.4.3. Classification

Les lactobacilles représentent le groupe le plus important des bactéries lactiques, contenant plus de 120 espèces et 20 sous espèces. Ce genre a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes:

**Groupe I** : anciennement appelé « *Thermobacterium* ». Ces bactéries comprennent les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* et *Lactobacillus acidophilus*.



**Groupe II :** anciennement appelé « *Streptobacterium* ». Il regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétéro-fermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sake* et *Lactobacillus plantarum*.

**Groupe III :** anciennement appelé « *Betabacterium* ». Ces espèces sont des lactobacilles hétéro-fermentaires strictement. Il rassemble des espèces relativement hétérogènes comme, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus sanfransisco* (Axelsson, 2004 ; Charles et al., 2011)

#### I.4.4. Utilisation des lactobacilles

Les lactobacilles font partie des ferments de départ pour la fabrication de différents produits fermentés dans l'industrie laitière. Ce genre contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants (Guiraud, 1998). Les lactobacilles jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre de la microflore intestinale et vaginale et la stabilisation de la microflore intestinale, en empêchant la colonisation des micro-organismes pathogènes (Todorov et al., 2006).

#### I.5. Utilisations des bactéries lactiques

##### I.5.1. Domaine alimentaire

Les bactéries lactiques jouent un rôle très important sur les caractéristiques organoleptiques, la texture et la conservation des aliments. Elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentations. Les domaines alimentaires principaux dans lesquels le rôle des bactéries lactiques est reconnu sont les produits laitiers et carnés fermentés, la panification et la vinification, elles jouent plusieurs rôles relatifs aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles de l'aliment (Aswathy et al., 2008 et Sun et al., 2014). Leurs principales fonctions comprennent la production d'acides organiques, d'alcools, de composés aromatiques et la production des bactériocines, qui sont des peptides antimicrobiens généralement thermorésistants, actifs uniquement sur les bactéries à Gram positif ainsi que d'autres effets tels que la stimulation des levures, l'inhibition des flores non lactiques et la dégradation des composés toxiques (Aswathy et al., 2008).

##### I.5.2. Domaine sanitaire

Les bactéries lactiques peuvent être utilisées comme probiotiques et peuvent jouer plusieurs rôles bénéfiques sur l'organisme à savoir : l'amélioration de la digestibilité du lactose, l'abaissement du taux de cholestérol sanguin, des effets sur l'activation du système immunitaire, l'inactivation de

composés toxiques et la protection contre certaines infections intestinales (**Kotzamanidis et al., 2011**)

#### **I.6. Les principales bactéries lactiques utilisées comme probiotiques**

Les bactéries lactique utilisés en tant que probiotiques a des effets bénéfiques, parmi elles la digestion du lactose, l'équilibration de la microflore intestinale, la prévention de la diarrhée, la diminution du risque d'allergie alimentaire, la stimulation et la modulation du système immunitaire (**FAO/WHO, 2002 ; Xiao et al., 2014**). Ces effets sur la santé peuvent s'expliquer par des mécanismes tels que certaines activités microbiennes spécifiques (production de certaines enzymes ou facteurs de croissance), des interactions microbiennes (production de peroxyde d'hydrogène, acides organiques et peptides antibactériens), des interactions avec l'épithélium intestinal (concurrence pour les récepteurs situés sur l'épithélium intestinal) (**Aswathy et al., 2008 ; Musikasang et al., 2009 ; Xiao et al., 2014**). La capacité d'interaction avec la muqueuse intestinale de l'hôte pour une bactérie lactique probiotique, dépend principalement de ses propriétés de surface et par conséquent de la composition de la paroi du microorganisme qui représente l'élément structural exposé aux constituants de l'épithélium intestinal (**Amara et al., 2013 et Xiao et al., 2014**).

### II.1. Historique et définitions des probiotiques

Le terme probiotique dérive de deux mots grecs " pros" et " bios" qui signifient littéralement "pour la vie" » contrairement au terme antibiotique signifiant « contre la vie », et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l'Homme et les animaux (Farineau, 2001). L'idée très ancienne est de Eli Metchnikoff, 1907 (Prix Nobel médecine en 1908), qui met l'hypothèse que « les microbes intestinaux dépendent sur la nourriture de l'individu, il est possible de modifier la flore dans nos corps et à remplacer les microbes nuisibles par les microbes utiles » (FAO/WHO, 2001). Ce terme a été introduit pour la première fois par Lilly et Stillwell en 1965, qui ont proposé que le mot "probiotique" désigne des substances secrétées par des micro-organismes stimulant la croissance d'autres microorganismes (Smolyansky, 2010). Plus tard, Fuller en 1989 a défini les probiotiques comme « suppléments alimentaires constitués de micro-organismes vivants qui influent de façon favorable sur l'animal hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » et en 1996, Shaafasma propose que les micro-organismes vivants qui lors de l'ingestion d'un nombre adéquat exercent des avantages pour la santé au-delà inhérente de la nutrition de base (Nagpal et al., 2014). Enfin, en 2002 un groupe de travail mixte, la FAO (Food and Agriculture Organisation) et l'OMS (Organisation mondiale de la santé, 2001) définissent les probiotiques comme étant des « Micro-organismes vivants qui, ingérés en quantité suffisante exercent un effet positif sur la santé de l'hôte » (FAO/OMS, 2002).

### II.2. Les différents groupes des microorganismes probiotiques

Les microorganismes les plus fréquemment utilisés comme probiotiques sont principalement des souches bactériennes appartenant à différents genres des bactéries lactiques, par exemple *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus* et d'autres microorganismes comme les levures du genre *Saccharomyces* (Tableau 02) (Meierregger et al., 2011).



**Tableau 02** : Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques (Ouwehand et al., 2002 ; Caramia et Silvi, 2011).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bacteries lactiques	Autres microorganismes
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>freudenreichii</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp.	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Lactis</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp.	<i>cerevisiae</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. thermophilum</i>	<i>Cremoris</i>	<i>Leuconostoc</i>
<i>L. reuteri</i>			<i>mesenteroides</i>
<i>L. rhamnosus</i>			<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. salivarius</i>			

### II.3. Les critères de sélection des probiotiques

#### II.3.1. Critères de sécurité

La non pathogénicité (innocuité) des souches probiotique est un critère très important, les souches ayant le statut GRAS (*Generally Regarded As Safe*) sont d'ailleurs à favoriser. Toutefois, le critère de viabilité ou de survie demeure essentiel dans la sélection des probiotiques qui doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin, et donc résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte. Les bactéries étant administrées par voie orale, il faut qu'elles franchissent les obstacles majeurs du transit digestif : le pH acide, les sels biliaries, les enzymes pancréatiques...etc (Saarela et al., 2000 ; Mattila-Sandholma et al., 2002).

#### II.3.2. Critères technologiques

En plus de l'innocuité et des propriétés fonctionnelles, des critères technologiques sont également pris en considération dans la sélection des souches probiotiques. Selon Saarela et al. (2000), ces critères sont :

- Bonnes propriétés sensorielles ;
- Résistance aux phages ;
- Viabilité durant le traitement technologique ;
- Stabilité dans le produit et durant le stockage.



### II.3.3. Critères fonctionnels

Le tractus intestinal humain contient une variété de lactobacilles adaptés à son écosystème, elles parviennent sous une forme viable dans le tractus intestinal. Selon la FAO les tests clefs utilisés *in vitro* pour étudier la potentialité des souches probiotiques sont :

#### II.3.3.1. La viabilité

Le critère de viabilité ou de survie est essentiel dans la sélection des souches probiotiques qui doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin, et donc résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte. Les bactéries étant administrées par voie orale, il faut qu'elles franchissent les obstacles majeurs du transit digestif : le pH acide, les sels biliaires et les enzymes pancréatiques (Normand *et al.*, 2006 ; Bejar *et al.*, 2011).

#### II.3.3.2. Résistance à l'acidité gastrique, la bile et la survie dans le tractus gastro-intestinal

Pour les probiotiques destinés à des applications de santé de l'intestin et contre les infections entériques, des tests *in vitro* évaluant l'effet de l'exposition à différentes valeurs de pH et à la présence de bile doivent habituellement corrélérer avec la survie *in vivo* par colonisation fécale pour déterminer la tolérance des probiotiques de survivre dans les différentes parties du tractus gastro-intestinal (Both *et al.*, 2010 ; Forssten *et al.*, 2011).

#### II.3.3.3. Adhésion au mucus ou aux cellules épithéliales

Les souches probiotiques ont la capacité de persister dans le tractus intestinal donc de réduire l'adhésion du pathogène. La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est un des critères de sélection les plus importants des probiotiques parce qu'elle est considérée comme une condition préalable à la colonisation et la croissance; l'effet probiotique serait maximal si les organismes adhèrent aux cellules muqueuses intestinales (Lee, 2009).

#### II.3.3.4. Activité antimicrobienne contre des bactéries potentiellement pathogènes

La production des substances antimicrobiennes (bactériocines, acides organiques, peroxyde d'hydrogène ou autres composés inhibiteurs) et antagonismes envers le pathogène (Pascal et Barberis, 2011).

#### II.3.3.5. Activité immuno-modulatrice

Une réponse immunitaire est caractérisée par : l'équilibre entre l'activation des lymphocytes et la tolérance induite par un antigène, sa nature est déterminée par la spécificité et la fonction des lymphocytes activés par l'antigène et les mécanismes de régulation (reconnaissance, activation et phase effective). L'effet immuno-modulateur peut être également induit par les protéines de la paroi

et d'autres composants intracellulaires (acides nucléiques, peptides, protéines) ou extracellulaires (exo polysaccharides) (Hidalgo-Cantabrana et al., 2012)

#### **II.3.3.6. Les interactions avec le système immunitaire de l'hôte**

Les interactions hôte-bactérie sont des critères de sélection très importants des probiotiques à des propriétés immuno-modulatrices comme l'amélioration d'accueillir des fonctions immunitaires innées ou en modulant l'inflammation de l'hôte avec des essais de culture des cellules épithéliales ou des cellules immunitaires ou les animaux comme modèle *in vivo*. Ce mécanisme porte sur l'interaction des lactobacilles avec le système immunitaire pour accroître la réponse immune de l'hôte contre les pathogènes (Kotzamanidis et al., 2011). Les bactéries probiotiques peuvent réguler les populations cellulaires de l'immunité. Par exemple, certains probiotiques seraient en mesure de faire pencher la balance lymphocytes T helper (LTh) en faveur des lymphocytes Th1 (au détriment des Th2), ce qui aurait un effet positif sur la diminution des réponses allergiques médiées par les Th2. Les probiotiques agissent également en modulant la production de cytokines, par exemple, l'action sur l'augmentation de la sécrétion de cytokines anti inflammatoires comme IL-10 par des macrophages et les lymphocytes T isolées de la muqueuse d'un colon inflammatoire (Forssten et al., 2011).

#### **II.4. Mécanismes d'actions des probiotiques**

Les mécanismes d'action des probiotiques sur l'hôte sont complexes, souvent multiples et dépendent de la souche bactérienne considérée, les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer les principes stricts qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, substances antimicrobiennes) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tractus digestif (Lahtinen et Ouwehand et al., 2009).

##### **II.4.1. Adhésion des probiotiques au mucus intestinal et les cellules épithéliales**

L'adhésion des probiotiques à la muqueuse intestinale peut empêcher d'être exclue et faire bloquer l'entrée de l'agent pathogène dans la cellule épithéliale en fournissant une barrière physique, appelée résistance à la colonisation et d'autre part, créer une barrière de mucus en provoquant la libération de cellules caliciformes mucus (Lahtinen et Ouwehand, 2009).

##### **II.4.2. L'antagonisme des probiotiques**

Les probiotiques affectent les bactéries intestinales en augmentant le nombre de bactéries anaérobies bénéfiques et en diminuant la population des microorganismes potentiellement pathogènes. Elles présentent des effets antagonistes contre les agents pathogènes par la concurrence pour les sites d'adhésion ou des sources d'énergies. L'adhésion est faite par un processus complexe



impliquant des liaisons non spécifique (hydrophobie) et des mécanismes ligand-récepteur spécifiques. La co-agrégation des probiotiques avec les bactéries pathogènes rend ces derniers plus facile à retirer de l'environnement intestinal). L'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes peut se faire par différentes façons comme la production des substances antimicrobiennes de type bactériocine, la production des acides organiques (l'acide lactique ou l'acide acétique) grâce au pH très bas dans le tube digestif (Collado et Salminen, 2009).

#### **II.4.3. La production de substances antimicrobiennes**

Les lactobacilles, d'origine humaine, peuvent produire des substances antimicrobiennes, actives *in vitro* et *in vivo* sur les pathogènes. Ces substances sont les acides organiques (acide lactique et acétique), le peroxyde d'hydrogène et des substances de nature protéiques appelées bactériocines. Les acides lactique et acétique sont produits lors de la fermentation lactique. Leurs activités antibactériennes contre les germes pathogènes s'expriment avec une action directe où ils acidifient le cytoplasme après dissociation et inhibent l'activité enzymatique cellulaire des pathogènes acido-sensibles. Cette diminution du pH peut donc affecter la viabilité des pathogènes. Une action indirecte due à la tolérance de l'acidité par les lactobacilles et par conséquent, dans un milieu acide leur compétitivité bactérienne est avantagée par rapport aux autres bactéries (Merk et Korting, 2005 ; Pascal et Barberis, 2011).

##### **II.4.3.1. Action anti-oxydante par la production de peroxyde d'hydrogène**

La production du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  par certaines souches de *Lactobacillus* est l'un des mécanismes qui contribue à la régulation de l'écosystème vaginale. La toxicité du peroxyde d'hydrogène est due à l'effet oxydatif exercé par la molécule elle-même (Mastromarino et al., 2002 ; Pascal et Barberis, 2011).

##### **II.4.3.2. Production de bactériocine**

les bactériocines sont des agents antimicrobiens produit par les lactobacilles, elles sont des substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action (Klaenhammer, 1988 et Dortu et Thonart, 2009). Ces molécules ont une activité dirigée contre les bactéries Gram+. La membrane externe des bactéries à Gram négatif ne permet pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne. Elles agissent généralement sur la membrane cytoplasmique des cellules sensibles et cela par la formation de petits pores membranaires. Les lactobacilles sont largement connus par leur production de bactériocines telles que : l'acidocine B (*L. acidophilus* M46) et la lactacine F (*L. johnsonii*) (Luquet et Courrieu, 2005).

## **II.5.Effets bénéfiques des probiotiques**

### **II.5.1.La prévention du cancer**

La flore intestinale et le système immunitaire jouent un rôle dans la carcinogenèse colique, ces deux paramètres pouvant être eux-mêmes modulés par des probiotiques. Plusieurs études ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes dans les selles, qui pourraient être impliqués dans la carcinogenèse colique. Les probiotiques pourraient empêcher la croissance d'autres souches qui transfèrent les procarcinogènes en carcinogènes, réduisant ainsi la quantité de carcinogenèse dans l'intestin (Tannis, 2008 ; Chong, 2014 ).

### **II.5.2. Les effets immunitaires des bactéries probiotiques**

Les bactéries probiotiques auraient une action stimulante sur le système immunitaire de l'hôte en agissant sur les cellules impliquées soit dans l'immunité innée soit dans l'immunité spécifique. Les souches probiotiques stimulent le système immunitaire inné en signalant les cellules dendritiques, qui vont ensuite se déplacer vers les ganglions lymphatiques mésentériques et conduire à l'induction de cellules T régulatrices et la production d'anti-inflammatoires et de cytokines. Les probiotiques sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes, en transmettant des signaux qui modifient la réponse immunitaire de l'organisme-hôte. Ensuite, elles induisant la réponse humorale, cellulaire ou non spécifique. Les probiotiques ont aussi la propriété de réduire ou supprimer la réponse immunitaire induite par les ingrédients alimentaires en induisant la tolérance orale et en prévenant les allergies. Les effets des probiotiques sur le système immunitaire ne dépendent pas absolument de la viabilité des souches probiotiques (Tang, 2009 ; Kipnis et al., 2013).

### **II.5.3. Diarrhée aiguë**

Plusieurs types de diarrhées sont dus à des infections microbiennes. Des effets protecteurs de souches probiotiques contre certaines infections intestinales ont été observés sur des modèles animaux. Les mécanismes potentiellement impliqués incluent la production d'acide lactique, peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, la compétition pour les nutriments ou les récepteurs d'adhésion, des actions antitoxines et la stimulation du système immunitaire. Plusieurs études ont montré l'efficacité des souches probiotiques pour prévenir ou atténuer les perturbations digestives liées à la prise d'antibiotiques et les diarrhées nosocomiales infantiles dues surtout à des rotavirus (Piquet et al., 2007 ; Fung et al., 2011).



#### **II.5.4. Prévention des troubles des voies urogénitales**

Les infections vaginales et urinaires sont causées par des bactéries pathogènes telles que *Candida* (Tannis, 2008). Les probiotiques doivent réussir à assurer la colonisation de la muqueuse vaginale et possèdent la capacité inhibitrice contre les agents pathogènes urogénitaux par la production de substances antimicrobiennes ou la concurrence pour les sites d'adhésion (Pintado et al., 2014).

#### **II.5.5. Prévention ou traitement des infections à *Helicobacter pylori***

*Helicobacter pylori* est un agent pathogène Gram négatif responsable de la gastrite de type B, d'ulcères peptiques et du carcinoïde gastrique (FAO-WHO, 2001). Les probiotiques traitent l'infection par la production des substances antimicrobiennes, la stimulation de la sécrétion du mucus, la concurrence pour les sites d'adhésion ou la stimulation de la réponse immunitaire spécifique et non spécifique, (Lee et Salminen, 2009).

### **II.6. Les propriétés de surface des bactéries probiotiques**

#### **II.6.1. Hydrophobicité**

L'hydrophobicité de la surface cellulaire est l'une des propriétés physico-chimiques qui facilitent le contact entre le micro-organisme et les cellules hôtes. L'hydrophobicité d'une bactérie est due en grande partie à la nature des composés présents à sa surface et utiles pour l'adhésion. Les bactéries à surface hydrophobe paraissent avoir une capacité d'adhésion supérieure par rapport aux bactéries à surface hydrophile (Aswathy et al., 2008). L'hydrophobie/hydrophilie des cellules bactériennes est estimée sur la base de leur partition entre une phase aqueuse dans laquelle elles sont initialement mises en suspension et une phase apolaire (Pan et al., 2006). Les propriétés de surface des cellules microbiennes montrent que la présence de glyco-protéines à la surface cellulaire aboutit à un caractère hydrophobe plus élevé, tandis que la présence de polysaccharides donne des surfaces hydrophiles (Kos et al., 2003). L'adhésion des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal humain est assuré par la fixation des cellules et par des interactions hydrophobes sur ses tissus (Vinderola et Reinheimer, 2003). Les fortes valeurs de pH et des sels biliaires affectent la survie des bactéries par la destruction des phospholipides et des protéines de la membrane cellulaire, le changement de l'hydrophobicité des bactéries les rend résistants à ces conditions (Wang et Han, 2007 ; Shakirova et al., 2013).

#### **II.6.2. Auto-agrégation et co-agrégation**

L'adhésion des microorganismes ou leur floculation sous forme d'agrégats dans les fluides sont des propriétés classiques des bactéries. Leur regroupement et leur accumulation sur une surface conduisent à la formation de dépôt plus ou moins structurés. Ce phénomène est appelé l'auto agrégation (Del Re et al., 2000). L'agrégation bactérienne est liée à l'adhésion d'une cellule

agrégation (Del Re et al., 2000). L'agrégation bactérienne est liée à l'adhésion d'une cellule bactérienne à une autre de la même souche (auto-agrégation) ou entre des souches génétiquement différentes (co-agrégation) (Collado et Salminen, 2009). La capacité des souches probiotiques de coloniser la muqueuse peut être assurée par l'agrégation des micro-organismes à la surface de l'hôte (Kos et al., 2003). L'agrégation cellulaire implique des interactions entre les composants de la surface cellulaire tels que l'acide lipotéichoïque, les protéines, les glycoprotéines, les lipoprotéines (Marcotte et al., 2004). La co-agrégation et l'auto-agrégation des souches vaginales de différentes espèces de *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus* et *L. reuteri*) est de créer un microenvironnement hostile autour de certains agents pathogènes urogénitaux spécifiques (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*) (Macías et Tomás, 2015). La co-agrégation des organismes facilite l'expulsion des agents pathogènes de l'environnement intestinal (Collado et al., 2008). Des souches avec une capacité de auto-agrégation et co-agrégation élevée ont été isolées à partir des voies orale, vaginale et intestinale des humains et des animaux (Marcotte et al., 2004). Plusieurs chercheurs ont rapporté une bonne relation entre l'auto-agrégation et la capacité d'adhérence (Del Re et al., 2000 et Xu et al., 2009). La co-agrégation est une interaction entre différentes espèces, ou entre souche et bactéries pathogène, c'est une propriété importante pour les microorganismes probiotiques. La co-agrégation des souches bactériennes probiotiques forme une barrière physicochimique contre la colonisation des bactéries pathogènes. La co-agrégation permet l'isolement des pathogènes dans des agrégats (formés par l'adhésion des cellules de *Lactobacillus* entre elles) et empêche leur implantation dans les intestins (Collado et al., 2007).

### II.6.3. Adhésion

L'adhérence est un processus complexe impliquant le contact entre la membrane cellulaire des bactéries et des surfaces en interaction non spécifique par (hydrophobicité) et des mécanismes ligand-récepteur spécifiques. L'adhésion à la muqueuse intestinale est essentielle pour la persistance des bactéries dans l'intestin. Cependant, les molécules de la surface adhésive de probiotiques et de leurs récepteurs tissulaires restent mal caractérisées (Sun et al., 2007).



# Matériel et Méthodes



### III. Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences et de la nature et de la vie de l'Université de Jijel. Il a pour objectif de recouvrir les points suivants :

L'étude de la capacité d'hydrophobicité et d'auto-agrégation de cinq souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* et enquêter sur les facteurs et les changements des conditions qui affectent ces paramètres.

#### III.1. Matériel

##### III.1.1. Les souches bactériennes

Dans ce travail cinq souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* elles sont codées : BC11, BC22, BC31, BC44, BC51 d'origine de l'ait de chèvre, conservées à -20°C en présence de glycérol avant de les utiliser les souches sont réifiées et purifiées.

##### III.1.2. Milieux de culture

- Bouillons MRS (Biokar)
- MRS additionné par 0.3 % sels biliaires.

##### III.1.3. Les tampons

- Tampon PBS « tampon phosphate saline » pH 7.2 (Eau distillée : 1000 ml, (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1.44g), (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 0.24g), (NaCl : 8g), (KCl : 0.20g) préparé au laboratoire pour le lavage et la conservation des cellules bactériennes et la réalisation des tests d'hydrophobicité et d'auto-agrégation.
- Tampon PBS pH 3, 4, 5 et 8, préparé au laboratoire pour la réalisation de test de tolérance à des conditions acides et basiques.

##### III.1.4. Les produits chimiques et réactifs

- Colorants : Violet de Gentianes ; Fuschine ; Lugol et alcool (pour la coloration de Gram).
- Enzymes : L'enzyme utilisée dans cette étude est la présure.
- HCl 1N et la soude NaOH 1N (pour l'ajoutement du pH) KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaCl ; Tween 80, xylène, chloroforme, acétate d'éthyle (pour les tests d'hydrophobicité et d'auto-agrégation).
- Sels biliaires (Institut pasteur d'Alger) ont été utilisés pour étudier le pouvoir des bactéries lactiques à résister à cet inhibiteur dans un milieu liquide.
- L'huile à immersion pour l'observation microscopique ;
- Tween 80 additionné au milieu MRS ;

### III.1.5. Appareillage

Les appareillages utilisés lors de notre travail sont les suivants :

- Autoclave (Pbi Berand).
- Balance (KERN).
- Balance analytique (KERN).
- Centrifugeuse (Hettich).
- Etuves 37°C (Memmert).
- pH mètre (Hanna).
- Réfrigérateur (ENEIM).
- Spectrophotomètre (JENWAY).
- Vortex électrique (VWR).
- Micropipettes (SMART)
- Microscope optique.

### III.2. Méthodes

#### III.2.1. Revivification et vérification de la pureté des souches

Au début, nous avons procédé à la réification des souches utilisée. Les 5 souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 ont été réifiées par examen macroscopique ou examen microscopique.

##### III.2.1.1.Examen macroscopique

L'examen macroscopique des colonies obtenues sur gélose MRS, montre qu'elles sont circulaire ou lenticulaire, de couleur blanche de taille variable à surface lisse, plus ou moins bombé et à contour régulier ou irrégulier. Selon Hariri et al., (2009) les colonies des *lactobacillus* présentent les mêmes caractéristiques retrouvée dans notre étude

##### III.2.1.2.Examen microscopique

La revivification des souches par un examen microscopique après coloration de Gram se fait sur le bouillon MRS suivi par incubation à 37° C pendant 18- 24 heures (Hariri et al., 2009)

##### III.2.1.3.Coloration de Gram

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

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;



- Faire une contre coloration en utilisant la fuchsine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
  - Laver à l'eau ;
  - Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).
- Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

### III.2.2. L'hydrophobicité des souches du genre *Lactobacillus*

L'hydrophobicité est une des propriétés physicochimique qui facilitent le premier contact entre le micro-organisme et les cellules de l'hôte.

Ce test permet d'évaluer l'hydrophobicité de la surface cellulaire des bactéries lactiques vis-à-vis aux solvants qui peut refléter le potentiel de colonisation de ces bactéries aux cellules intestinale par interaction hydrophobe (Oleschalaeger, 2010). La répartition des cellules entre la phase aqueuse et xylène « un solvant apolaire » résulte de l'interaction hydrophobe entre les microorganismes.

Les pourcentages obtenus de l'adhérence des souches au xylène indiquent l'hydrophobicité de leur surface alors que l'adhésion des souches aux chloroforme « solvant acétique mono polaire, accepteur d'électrons » et l'acétate d'éthyle « solvant basique mono polaire, donneur d'électron » a été testé pour évaluer les caractéristique de Lewis acide-base de la surface bactériennes (Kos et al., 2003). L'évaluation de l'hydrophobicité des cellules bactériennes déterminent selon la méthode écrivez au même temps par Jacobs et Chenia, (2009). Pour la réalisation de ce test, trois solvants sont utilisés : xylène, l'éthyle acétate et le chloroforme. Des cultures jeunes de 18h à 24h ont été préparées dans le bouillon MRS. Le culot bactérien a été récupéré par centrifugation à 6000 g /15min suivie de deux lavages successifs par une solution saline tamponnée au phosphate (PBS; pH 7,2), puis resuspendu en suspension dans le même tampon stérile dont La densité optique initiale de la suspension a été ajustée approximativement à 0.8 à 550nm (DO initiale). Ensuite 0.4 ml du solvant xylène (solvant apolaire), du chloroforme (solvant polaire acide) et/ou de l'acétate d'éthyle (solvant basique polaire) ont été ajouté doucement à 3 ml de la suspension bactérienne. Ce mélange a été agité en utilisant un vortex pendant 2 min. Après 2 heures la phase aqueuse est récupérée à l'aide d'une pipette graduée et on procède à la mesure de la densité optique finale (DO finale). Nous avons procédé de la même manière, pour la récupération de chaque culot bactérien à différents pH (3, 4, 5 et 8). La différence de la densité optique est considéré comme une mesure de l'hydrophobicité de la surfaces cellulaire (H%) calculé par l'équation suivants :

$$\% \text{ Hydrophobicité} = (\text{DO initiale} - \text{DO finale} / \text{DO initiale}) \times 100$$



### III.2.2. Test d'auto-agrégation

Pour réaliser ce test, la technique décrite par Kos *et al.*, (2003) a été appliquée : les cinq souches bactériennes ont été cultivées pendant 18 heures à 37° C dans un milieu liquide MRS. Les cellules ont été récoltées par centrifugation à 6000 g pendant 15 min, lavées deux fois dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 7,2) et remis en suspension dans le même tampon pour obtenir une DO de 0,25 à 600 nm. Puis, les suspensions bactériennes ont été incubées à des températures ambiantes et ont été suivies pendant des périodes différentes ( $t_0$  ;  $t_2$  : 1h ;  $t_3$  : 3h ;  $t_4$  : 5h). Ensuite, la suspension supérieure de la culture (0,1 ml) a été prélevé et transférée dans un autre tube et mélangé avec 3.9 ml de PBS (pH =7.2) et nous procédons à la mesure de la densité optique à 600 nm. Nous avons étudié l'effet du milieu acide et basique de la même manière, pour la récupération de chaque culot bactérien à différents pH (3, 4, 5 et 8). Lorsque la densité optique a été mesurée le pourcentage d'auto-agrégation a été exprimé comme suit :

$$\% \text{ Auto-agrégation} = (\text{DO initiale} - \text{DO finale} / \text{DO initiale}) \times 100$$

### III.2.4. Effet des sels biliaires

Les sels biliaires sont un facteurs important qui affecte la viabilité des cellule des bactéries lactiques, bien que la composition du fluide intestinale en bile ne soit pas exactement identique à la solution de sels biliaires à 0.3%, plusieurs études ont employé cette composition comme produit de remplacement pour la bile humaine en raison de leur similitude (Lin *et al.*, 2006). Les cinq souches ont été cultivées sur bouillon MRS avec sels biliaires (0.3%), l'effet du stress de la bile sur les propriétés de surfaces des souches de *Lactobacillus* est complexe en raison de la variation de la concentration de la bile et le temps de passage à l'intérieur les différentes parties du tractus gastro-intestinal.

Les sels biliaires sont l'une des barrières à franchir par les bactéries probiotiques pour gagner leur site, de ce fait leur effet sur nos souches a été évalué. Ce test est considéré comme contrôle pour l'étude de l'effet des sels biliaires sur l'hydrophobicité et l'auto-agrégation des ces bactéries lactiques. Ce test a été réalisé selon la méthode déjà décrite par Jacobs *et Chenia* (2009) et Kos *et al.*, (2003). Avant de réaliser ce test, chaque culture jeune de 18h-24h a été inoculée dans 10 ml du bouillon MRS avec 0.3 % de sels biliaires. Ensuite, ces cultures des cellules bactériennes ont été incubées pendant 18h à 37° C. Nous avons procédé de la même manière, pour la récupération de chaque culot bactérien pour les deux tests d'hydrophobicités et d'auto-agrégation.

### III.2.5. Effet de la présure

Pour réaliser ce test, la méthode déjà décrite par Jacobs et Chenia (2009) et Kos et *al.*, (2003) a été appliquée, cette expérience considérée comme contrôle pour l'étude de l'effet de la présure sur l'hydrophobicité et l'auto-agrégation. Les cellules bactériennes d'une culture jeune ont été obtenues par centrifugation à 6000g/15min, suivi d'un lavage par le tampon PBS à pH=7.2. Ensuite, les culots bactériens sont resuspendus dans le tampon PBS pH 7.2 contenant quelque gouttes de 5g/l de la présure après la standardisation à (0.8 à 550 nm) pour réaliser le test d'hydrophobicité et (0.25 à 600 nm) pour réaliser le test d'auto-agrégation. Le mélange laissé à température ambiante pendant 30 min. Après ce temps d'incubation, une autre centrifugation à 6000 g /15min a été réalisée, les surnagent ont été éliminés et les culots ont été resuspendus dans le tampon PBS pour l'utilisation dans les deux tests.

### III.2.6. Etude statistique

L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics, version 22.

- $p > 0,05$  = la différence n'est pas significative.
- $0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative.
- $0,01 > p > 0,001$  = la différence est hautement significative.
- $p < 0,001$  = la différence est très hautement significative (Xu et *al.*, 2009).

# Résultats et discussion



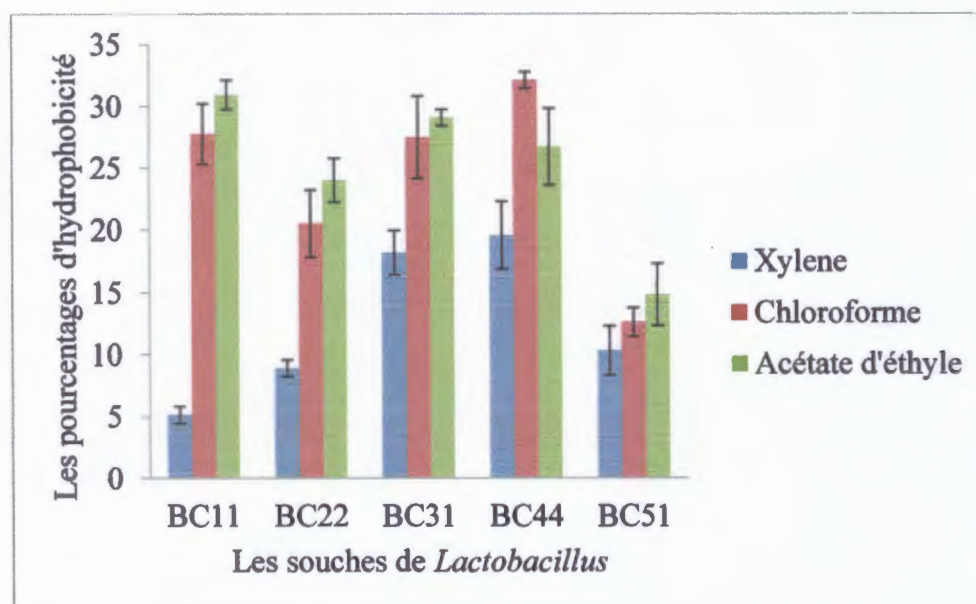


#### IV.1. Revivification et vérification de la pureté des souches du *Lactobacillus*

L'examen microscopique après coloration de Gram, a révélé que tous les souches bactériennes présentaient la couleur bleu violacée de gentiane, ce qui indique qu'il s'agit de bactérie à Gram positif

#### IV.2. L'hydrophobicité des souches du genre *Lactobacillus*

Dans notre étude, nous avons évalué l'hydrophobicité de la surface cellulaire des cinq souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 vis-à-vis de trois solvants : xylène, chloroforme et l'acétate d'éthyle à différent pH acide et basique. Les résultats d'hydrophobicité à pH (7.2) sont présentés dans la figure 1.



**Figure 1 :** Pourcentage d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (7.2)

Les résultats obtenus illustrés par **figure 1** montrent que les cinq souches à des degrés variables d'hydrophobicité avec les trois solvants, l'affinité des souches *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31 et BC51 à l'acétate d'éthyle est modéré par rapport aux chloroforme dont les pourcentages d'hydrophobicité était de  $(27,77 \pm 2,47)$ ,  $(20,54 \pm 2,68)$ ,  $(27,51 \pm 3,35)$  et  $(12,64 \pm 1,15)$ , respectivement et à exception de la souche *lactobacillus* BC44 a un pourcentage faible était de  $(12,64 \pm 1,15)$ . Ainsi nous remarquons une affinité élevée au chloroforme du *lactobacillus* BC44  $(32,15 \pm 0,68)$ . Cette forte affinité des souches *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31 et BC51 à l'acétate signifié qu'elles étaient donneur d'électrons.

Les résultats d'étude menée par Xu et al., (2009) sur la pluparts des souches probiotiques ont montrés que les valeurs d'hydrophobicité obtenue pour les souches *Bifidobacterium longum* B6 (53.6%) et *Lactobacillus rhamnosus* GG (46.5%), suivi par *Lactobacillus brevis* (37.1%), *Leuconostoc mesenteroides* (30.3%) et *Lactobacillus casei* (27.5%) sont plus élevés que celle des

souches *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44, BC51. D'après les mêmes auteurs pour l'affinité au chloroforme les souches *Lactobacillus brevis* (52.9%), *Leuconostoc mesenteroides* (51.2%) et *Lactobacillus rhamnosus* GG (47.7%), tandis que les moindres affinités ont été observées chez *Lactobacillus acidophilus* ADH (22.6%) et *Pediococcus acidilactici* (25.8%) par contre au chloroforme l'adhérence des bactéries à l'acétate d'éthyle a été faible (5,1 à 16,9%).

#### IV.2.1. L'effet de différents pH sur la surface des cinq souches de *Lactobacillus*

Les traitements auront pour but d'altérer plus au moins spécifiquement la surface de la paroi bactérienne, d'observer les effets induits sur l'hydrophobicité et/ou le caractère acide-base de Lewis.

##### IV.2.1.1. L'effet du pH 3

Les résultats obtenus illustrés par la **figure 2** montrent que les souches *Lactobacillus* BC44 et BC22 mises au test présentent une affinité plus élevée au xylène et donc une bonne hydrophobicité avec un pourcentage d'hydrophobicité ( $39,50 \pm 3,26$ ) et ( $38,03 \pm 2,45$ ) par rapport aux souches *Lactobacillus* BC11, BC31 et BC51 à faible affinité à ce solvant apolaire avec ( $10,41 \pm 1,44$ ), ( $24,16 \pm 0,72$ ) et ( $23,57 \pm 2,53$ ) respectivement, cela témoigne une bonne sélectivité des surfaces membranaires du BC22 et BC44. La valeur la plus élevée (39.50%) est enregistrée avec la souche *Lactobacillus* BC22 et la plus faible est celle de *Lactobacillus* BC11 (10,41 %).

Les caractéristiques basiques et acides de la surface cellulaire de nos souches ont été étudiées par l'estimation de la capacité d'adhésion au chloroforme et l'acétate d'éthyle. Les souches ont montré une adhérence élevée au chloroforme par rapport à l'acétate d'éthyle, dont les pourcentages d'hydrophobicité sont *Lactobacillus* BC11 ( $45,41 \pm 3,6$ ), BC22 ( $60,07 \pm 0,24$ ), BC31 ( $47,91 \pm 2,88$ ), BC44 ( $59,60 \pm 0,25$ ) et BC51 ( $62,59 \pm 0,24$ ) pour le chloroforme est ( $45,41 \pm 3,6$ ), ( $20,00 \pm 3,75$ ), ( $24,27 \pm 3,77$ ), ( $20,77 \pm 2,45$ ) et ( $22,35 \pm 1,86$ ) pour l'acétate respectivement. Donc ces résultats signifiaient que les souches sont donatrices d'électrons forts.

Nos résultats sont d'accord avec celles trouvés par Kos et al., (2003) sur l'hydrophobicité de *Lactobacillus acidophilus* M92 à pH (2.8), montrent aussi une bonne hydrophobicité avec les mêmes solvants.



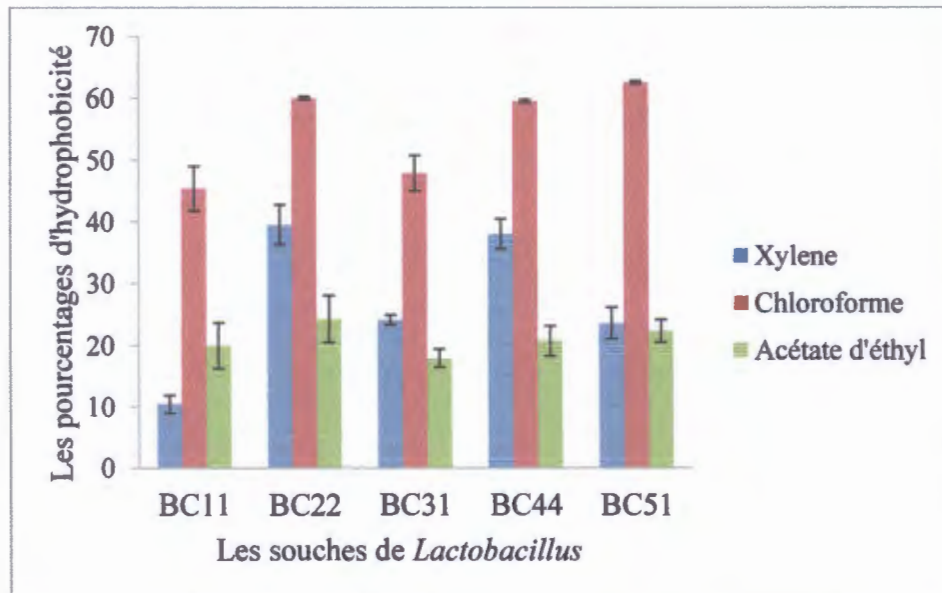


Figure 2 : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (3.0)

#### IV.2.1.2. L'effet du pH 4

La figure 3 illustre l'effet du pH 4 sur l'hydrophobicité des cinq souches de genre *Lactobacillus* aux solvants. Les souches *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 ont une hydrophobicité modérée (38,09 ± 2,06), (48,18 ± 6,02), (27,05 ± 3,53), (52,93 ± 4,23) et (46,81 ± 3,43) au xylène respectivement. L'affinité des quatre souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 est très élevée au chloroforme dont les pourcentage d'hydrophobicité était de (46,42 ± 3,15), (52,56 ± 6,87), (40,00 ± 3,52), (76,44 ± 13,90) et (57,33 ± 2,99), respectivement, que l'acétate d'éthyle *Lactobacillus* BC11 (26,98 ± 3,63), BC22 (20,07 ± 4,22), BC31(15,29 ± 2,35), BC44 (25,87 ± 1,17) et BC51 (20,62 ± 2,47), cela indique que les souches sont des faible acceptrices d'électrons.

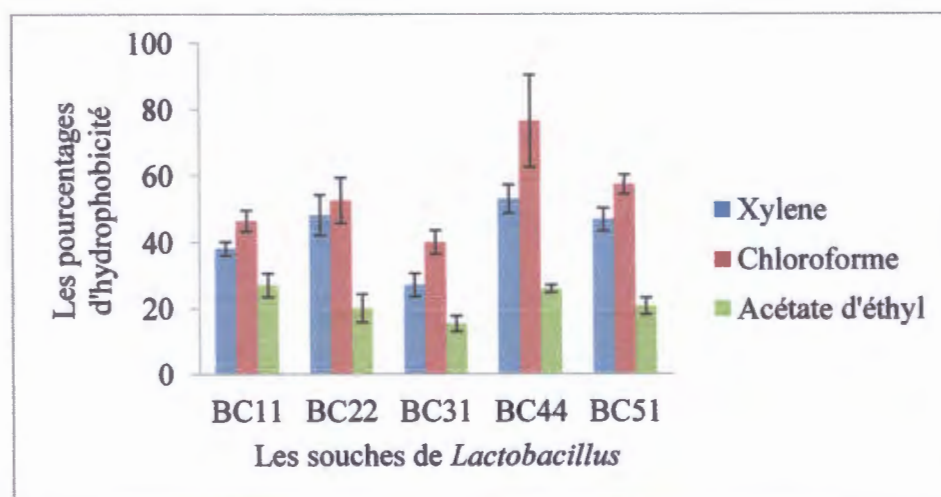


Figure 3 : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (4.0)



#### IV.2.1.3. L'effet du pH 5

La figure 4 représente les résultats de l'effet de pH 5 sur l'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* BC22, BC31 et BC44 ont une forte affinité au chloroforme (des fortes donneurs d'électrons), tandis que les souches *Lactobacillus* BC11 et BC51 ont une affinité élevée à l'acétate d'éthyle (des fortes accepteurs d'électrons), en cas de xylène, l'hydrophobicité de la souche de *Lactobacillus* BC22 est très élevée par rapport aux autres souches, les pourcentages d'hydrophobicités représenté dans le tableau 19 (Annexes).

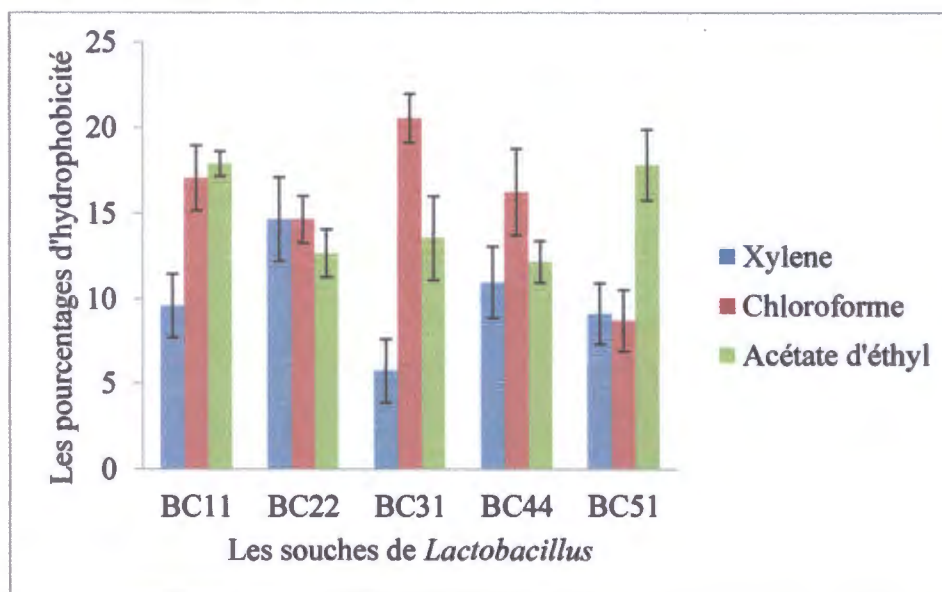
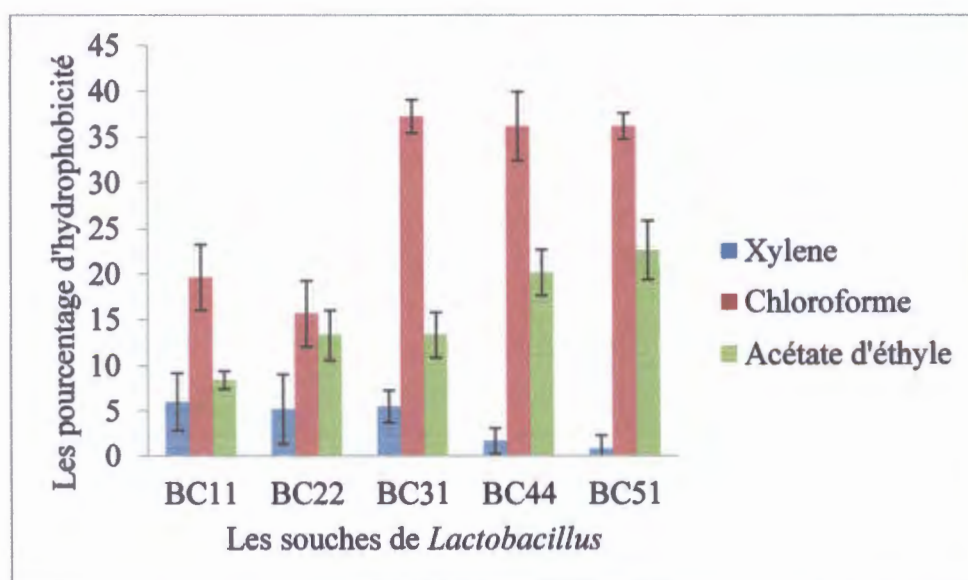


Figure 4 : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (5.0)

Les mêmes résultats ont été trouvés par Kos et *al.*, (2003) où que le pourcentage d'hydrophobicité de *Lactobacillus acidophilus* M92 à pH (4.5) est très élevé aussi avec les trois solvants.

#### IV.2.1.4. L'effet du pH 8

A partir de la figure 5 qui représente l'effet de pH 8. L'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus*, au xylène est très faible avec *Lactobacillus* BC11 (06,00 ±3,17), BC31 (05,48 ±1,79) et BC22 (05,20 ±3,85) suivi par BC44 (01,64 ±1,42) et BC51 (00,82 ±1,42). La capacité d'adhésion au chloroforme est très élevée avec des pourcentages maximale de *Lactobacillus* BC31 (37,25 ±1,80), BC44 (36,20 ±3,77), BC51 (36,20 ±1,42) suivi par BC11 (19,64 ±3,64) et BC22 (15,65 ±3,61) que en cas d'acétate d'éthyle où BC44 et BC51 ont des pourcentages d'hydrophobicité élevé (20,16 ±2,53) et (22,63 ±3,24) suivie par BC31 (13,33 ±2,42), BC22 (13,32 ±2,67) et BC11(08,42 ±0,98).

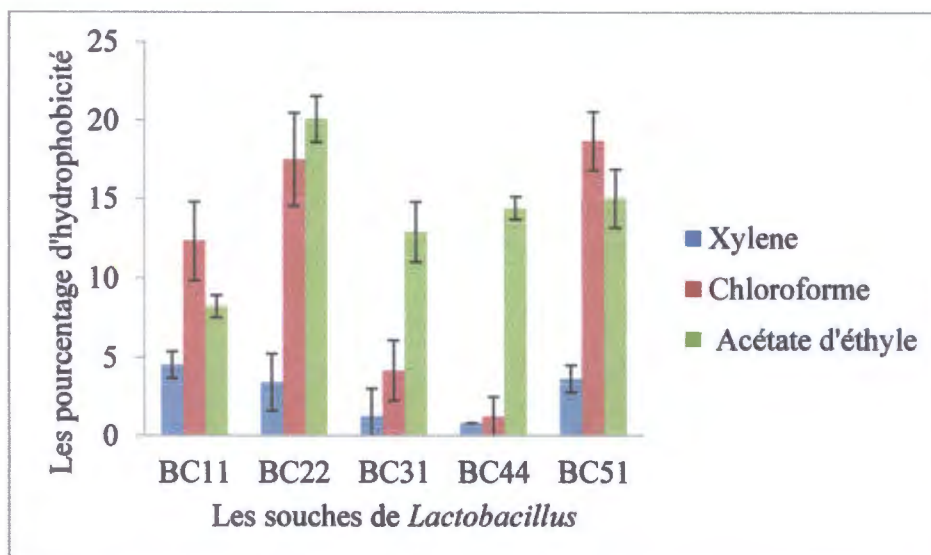


**Figure 5 :** Pourcentage d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (8.0)

Contrairement à nos résultats Wang et Han, (2007), a trouvé que la variation de pH n'a aucune influence sur l'hydrophobicité des souches bactérienne, donc n'a aucun effet sur la surface de la paroi des bactéries.

#### IV.2.2. Effet des sels biliaires sur la surface des cinq souches de *Lactobacillus*

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 6, l'affinité de *Lactobacillus* BC22, BC31 et BC44 à l'acétate d'éthyle est plus élevée (fortes acceptatrices d'électrons) suivi par BC51 et BC11 alors que l'affinité de BC11 et BC51 au chloroforme est plus élevée (fortes donatrices d'électrons) suivi par BC22, BC31 et BC44. En cas du xylène, *Lactobacillus* BC11 a le maximum d'hydrophobie suivi par BC22, BC31, BC44 et BC51. Les pourcentages d'hydrophobicité sont présentés dans le tableau 20 (Annexes). Nous pouvons noter qu'il y a une diminution de ces pourcentages en présence des sels biliaires.



**Figure 6 :** Effet des sels biliaries sur l'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus*

Nos résultats sont en accord et ceux de **Shakirova et al., (2013)**, une diminution d'hydrophobicités de *Bifedobactérium lactis* Bb12 en présence de sels biliaries a été observée. **Gueimonde et al., (2005)** ont testé l'effet des sels biliaries sur l'hydrophobicité, quatre des sept groupes testés, étaient significativement plus hydrophobes que les souches initiales correspondantes, par contre, les autres souches présentent une diminution d'hydrophobicité. D'après les mêmes auteurs, cette différence peut être liée aux changements dans la composition de surface

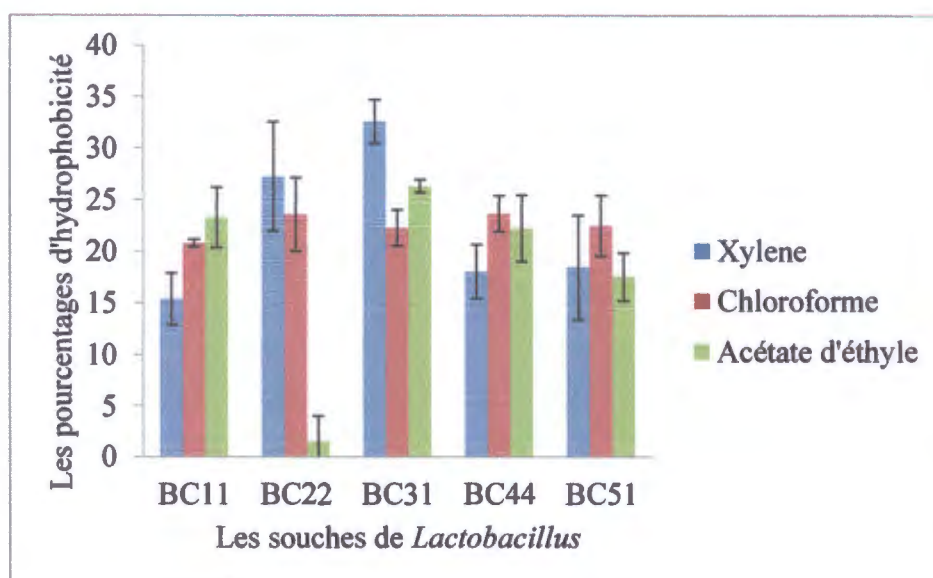
#### **IV.2.3. Effet de la présure à différentes concentrations**

Les traitements enzymatiques ont pour but d'altérer plus ou moins spécifiquement les constituants des surfaces cellulaires responsables de l'adhésion. Les cellules bactériennes ont été soumises à un traitement par la présure à deux concentrations (0.5 g/l) et (1g/l), par la suite, les cellules ont été récupérées par centrifugation.

##### **IV.2.3.1. Effet de la présure à concentration (0.5 g/l)**

Les résultats de l'effet du traitement par l'enzyme à une concentration de (0.5g/l) sur l'hydrophobicité sont illustrés par la **figure 7**.





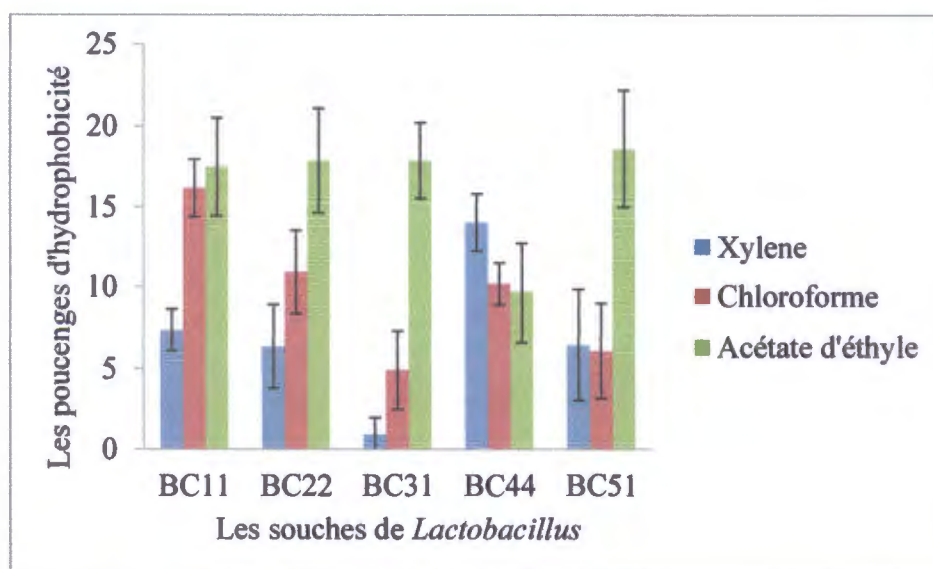
**Figure 7:** L'effet d'enzyme (présure 0.5g/l) sur l'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus*

D'après la **figure 7** nous constatons qu'il y a une différence importante entre l'hydrophobicité des souches vis-à-vis les trois solvants. L'affinité des souches *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 à l'acétate d'éthyle est plus élevée que pour le chloroforme et le xylène, dont les pourcentages d'hydrophobicité sont de (22,27 ± 1,75), (23,64 ± 1,73), (22,47 ± 2,94), (23,27 ± 2,92) et (17,35 ± 2,47) pour l'acétate d'éthyle, respectivement, donc l'hydrophobicité des souches a augmenté par rapport au pH (7.2). Les résultats montrent que les souches ont une capacité faible d'adhérence au chloroforme mais plus élevée par rapport au test sans enzymes du pressurage, les pourcentages d'hydrophobicités du *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 sont (20,79 ± 0,36), (23,56 ± 3,57), (22,27 ± 1,75), (23,64 ± 1,73) et (22,47 ± 2,94), respectivement. Pour le solvant apolaire l'hydrophobicité est modérée, les pourcentages sont (15,36 ± 2,50), (35,09 ± 5,32), (30,14 ± 2,14), (16,40 ± 2,59) et (18,44 ± 5,03).

Contrairement **Kos et al., (2003)**, n'a pas trouvé une influence des enzymes utilisées (pronase et pepsine) sur la surface des cellules de *Lactobacillus acidophilus* M92

#### IV.2.3.2. Effet d'enzyme présure à concentration (1g/l)

Les résultats de l'effet du traitement par l'enzyme à une concentration de (1g/l) sur l'hydrophobicité sont illustrés par la **figure 8**.



**Figure 8** : L'effet d'enzyme (présure 1g/l) sur l'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus*

A partir de cette **figure 8** et le **tableau 21** (Annexes), nous remarquons que l'hydrophobicité des souches BC11, BC22, BC31, BC44, BC51 a des pourcentages faible par rapport à l'hydrophobicité du pH (7.2) sans traitement enzymatique (présure) et avec l'enzyme à la concentration (1g/l).

D'une manière générale, si nous compare ces résultats à ceux du contrôle, nous trouvons plusieurs différences :

D'après les résultats de **tableau 19** (Annexes), l'effet de pH a conduit à une augmentation considérable de l'hydrophobicité de la pluparts des souches de *Lactobacillus*. Par contre les sels biliaries ont exercé un effet négatif sur l'hydrophobicité des cinq souches (Tableau 20 ; Annexes). La diminution de l'hydrophobicité des souches après traitements par les sels biliaries, suggère que l'adsorption de la bile pourrait être due à des interactions hydrophobe (Zavaglia et al., 2002).

Les résultats du **tableau 21** (Annexes) montrent que l'hydrophobicité a augmenté considérablement pour la pluparts des souches après traitement avec la présure. L'augmentation de l'hydrophobicité peut être expliquée par le démasquage des sites apolaire de la surface bactérienne suite à leur dégradation partielle par cette enzyme.

Nous pouvons emmètre l'hypothèse d'une modification des propriété de surface de la bactérie avec une élimination de certain constituants des propriétés de surface de la bactérie avec une élimination de certains constituants faiblement adsorbés à la paroi des cellules bactériennes, consécutivement à la modification du pH du milieu, il y a un démasquage des composés apolaires, justifiant l'augmentation de l'hydrophobicité de surface.

Les acides téichoïques jouent un rôle important dans l'interaction entre les bactéries et les cellules hôtes lorsqu'ils confèrent des charges négatives à la paroi cellulaire bactérienne, induisant ainsi un caractère hydrophile (Nivoliez et al., 2015). Les pourcentages plus élevés d'hydrophobicité des



lactobacilles sont généralement associés à la présence de structures fibrillaires sur la surface des cellules et des protéines spécifiques de la paroi cellulaire (Kos *et al.*, 2003).

Nous avons constaté différence non significative de hydrophobicité ( $p > 0,05$ ) pour les souches *Lactobacillus* BC22 et BC51 (pH 3.0) et BC51 (pH 5.0) avec l'acétate d'éthyle, BC22 (avec traitement par les sels biliaries), *Lactobacillus* BC22, BC31 et BC51 (pH 4.0) au chloroforme et BC11 et BC51 (traitement des sels biliaries), BC11(pH 8.0), BC44 et BC51 (pH 5.0) et BC31(pH 3.0), aussi la souche BC51 pour les traitement enzymatiques avec la présure pour les deux concentrations par rapport au contrôle (pH =7.2). Par ailleurs, une variation significative des autres souches pour les trois solvants ( $P < 0.05$ ).

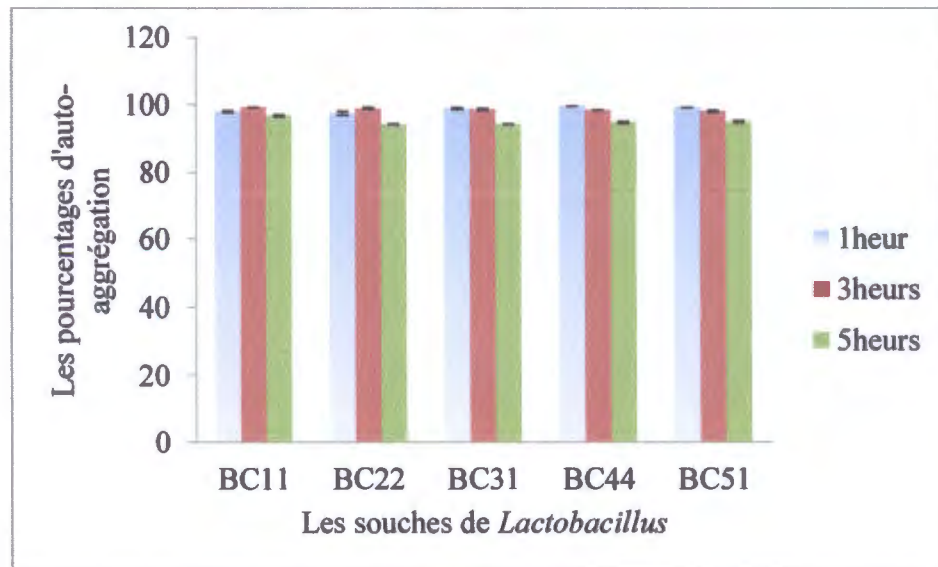
A travers ces résultats, il en ressort que la surface de ces souches lactobacilles a été affectée par le traitement enzymatique a des concentrations très élevé et les sels biliaire à 0.3%. Par contre la surface bactérienne n'a pas été affectée par les conditions acides. Donc, cette surface de la plupart des souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 devient plus hydrophile à des pH plus bas (3.0 ; 4.0 ; 5.0).

### IV.3. Auto-agrégation

La formation de grumeaux multicellulaires entre les micro-organismes de la même souche, ou l'auto-agrégation, est l'un des mécanismes d'adhésion des lactobacilles aux cellules épithéliales et les protège (Tomas *et al.*, 2005 et Maldonado *et al.*,2012). Plusieurs propriétés de surface, telles que l'adhésion et l'auto-agrégation, pourraient être liés à la formation de biofilm par différents micro-organismes sur les surfaces muqueuses (Nader-Macías et Tomás, 2015).

Les propriétés d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* sont présentés sur la **Figure 9** et **tableaux 22** (Annexes). La capacité d'auto-agrégation des souches diminue avec la durée d'incubation, Parmi les souches, *Lactobacillus* BC11et BC51 ont montré la plus forte capacité d'auto- agrégation ( $96,78 \pm 0,21$ ) et ( $95,12 \pm 0,21$ ) après 5 heures d'incubation, suivie par BC44 ( $94,93 \pm 0,21$ ), BC22 ( $94,44 \pm 0,00$ ) et BC31 ( $94,40 \pm 0,00$ ).





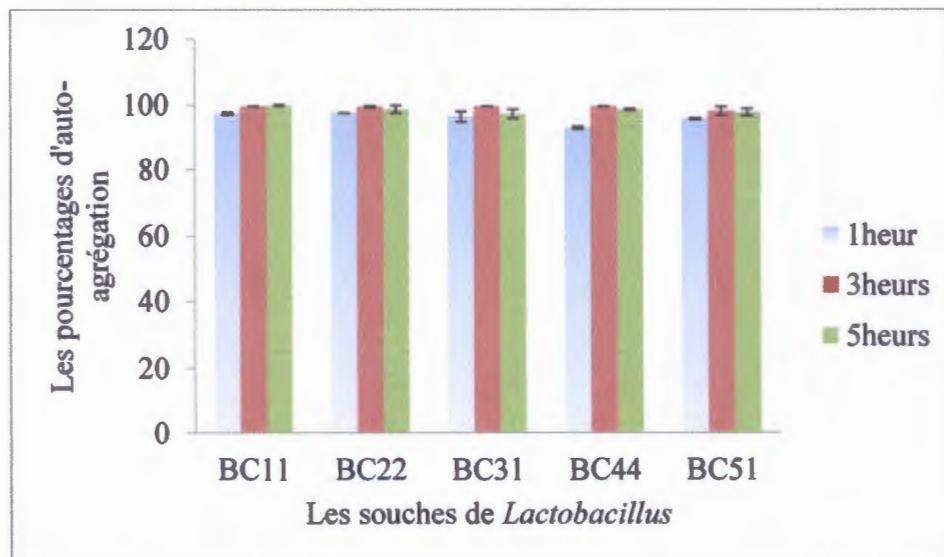
**Figure 9 :** Pourcentage de l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pH (7.2)

Contrairement à nos résultats **Ekmekci et al., (2009)** ont trouvé que *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus jensenii* A1 et *Lactobacillus acidophilus* S1 ont une auto-agrégation élevée à pH (7.0), ainsi que **Nikolic et al., (2010)** montre que les souches *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8, BGDPI-84 et BGNJ1-61 ont une auto-agrégation élevée au même pH.

#### IV.3.1. L'effet de différents pH sur la surface des cinq souches de *Lactobacillus*

##### IV.3.1.1. L'effet de pH 3

Les résultats de l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* sont présentés par la **Figure10** et le **tableau 22** (Annexes). Les cinq souches montrent une augmentation d'auto-agrégation à ce pH acide, la valeur la plus élevée est observée chez la souche *Lactobacillus* BC11 ( $99,87 \pm 0,21$ ), suivie par BC22 ( $98,62 \pm 1,18$ ), BC44 ( $98,53 \pm 0,23$ ), BC51 ( $97,79 \pm 0,96$ ) et BC31 ( $97,25 \pm 1,41$ ), après 5 heures d'incubation.



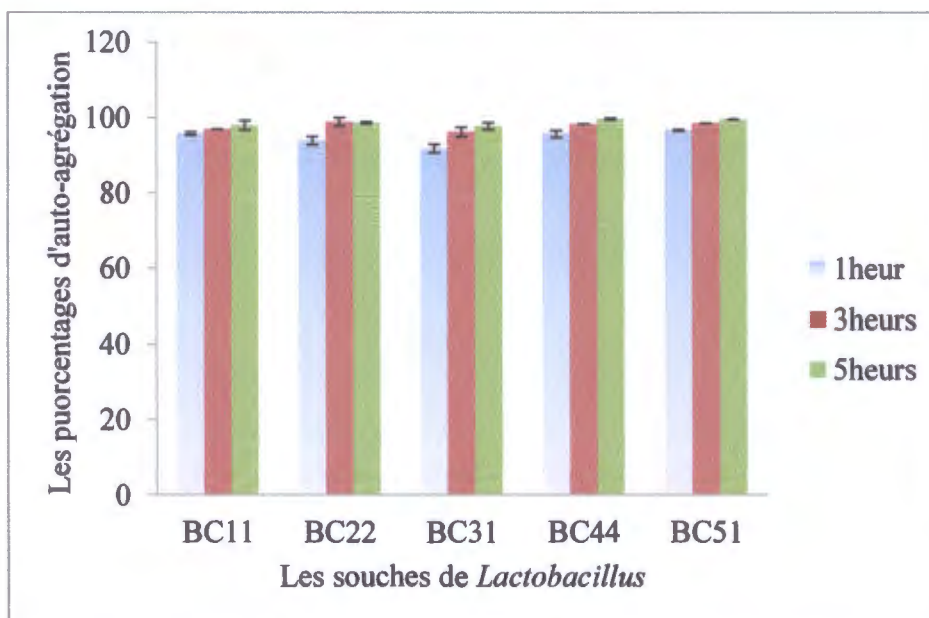
**Figure 10** : Pourcentage d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pH (3.0)

Nos résultats sont en accord et ceux de Ekmekci et al., (2009) qui ont trouvés une auto-agrégation très élevé (98%) avec la souche *L. salivarius* I1 au pH (3.0).

L'auto-agrégation obtenue au milieu acide a été expliqué par des modifications de la charge bactérienne extérieure, qui pourrait favoriser le rapprochement des cellules (Tomas et al., 2005).

#### IV.3.1.2. L'effet de pH 4

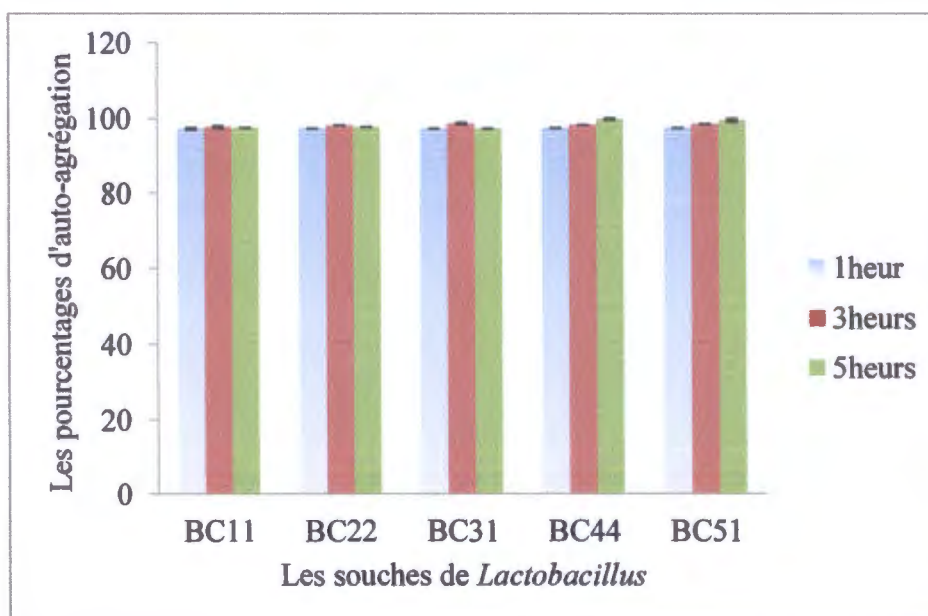
La capacité d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH 4 sont présentés sur la **Figure 11**, **tableau 22** (Annexes). La capacité des souches à auto-agrégation augmente avec la durée d'incubation. Parmi les isolats, *Lactobacillus* BC44 et BC51 ont montré la plus forte capacité d'auto- agrégation ( $99,72 \pm 0,24$ ) et ( $99,64 \pm 0,00$ ), après 5 heures d'incubation, suivi par *Lactobacillus* BC22, BC11 et BC31 avec ( $98,66 \pm 0,23$ ), ( $98,00 \pm 1,19$ ) et ( $97,82 \pm 0,94$ ), respectivement.



**Figure 11:** Pourcentage d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pH (4.0)

#### IV.3.1.3. L'effet de pH 5

Les résultats de l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* sont présentés par la **Figure 12**. D'après cette figure, nous constatons que l'auto-agrégation augmente avec le temps d'incubation ((3heurs et 5 heure), *Lactobacillus* BC44 et BC51 ont le pourcentage le plus élevé d'auto-agrégation ( $99,80 \pm 0,18$ ) et ( $99,50 \pm 0,42$ ), suivi par BC22 ( $97,71 \pm 0,00$ ), BC11 ( $97,53 \pm 0,00$ ) et BC31 ( $97,23 \pm 0,00$ ).



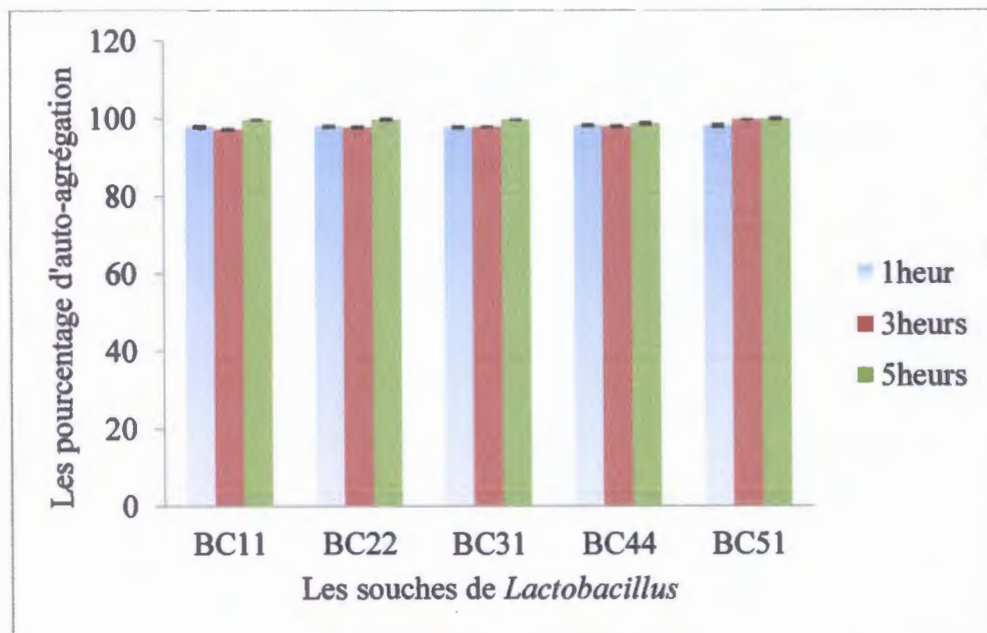
**Figure 12:** Pourcentage d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pH (5.0)



Nos résultats sont en accord a ceux de **Tomas et al., (2005)** qui ont trouvés une auto-agrégation élève de la souche *Lactobacillus johnsonii* CRL1294 au même pH .

#### IV.3.1.4. L'effet du pH 8

L'auto-agrégation augmente avec la durée d'incubation. Toutes les souches ont une forte capacité d'auto-agrégation, *Lactobacillus* BC51 ( $99,87 \pm 0,21$ ), BC22 ( $99,76 \pm 0,20$ ), BC31 ( $99,64 \pm 0,00$ ), BC11 ( $99,61 \pm 0,00$ ) et BC44 ( $98,71 \pm 0,22$ ), après 5 heures d'incubation.



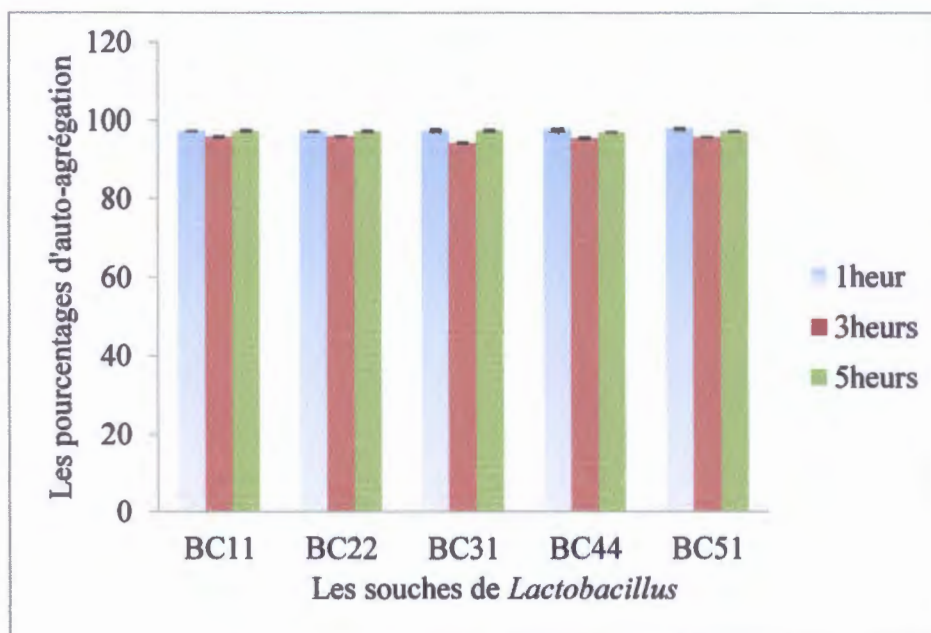
**Figure 13 :** Pourcentage d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pH (8.0)

Nos résultats sont en accord a ceux de **Ekmekci et al., (2009)** qui ont montré que les souches *L. cellobiosus* I3, *L. jensenii* A1, et les souches de *L. acidophilus* S1 présentent une bonne auto-agrégation au même pH .

#### IV.3.2. Effet des sels biliaires sur la surface des cinq souches de *Lactobacillus*

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 14 montrent qu'il n'y a aucune différence d'auto-agrégation entre les temps d'incubation (1 heure, 2 heures et 5 heures) dont *Lactobacillus* BC11 et BC22 a une faible augmentation ( $97,40 \pm 0,18$ ) et ( $97,33 \pm 0,18$ ), BC31 la même que celle de 1 heure ( $97,51 \pm 0,18$ ) et BC44 et BC51 ont une faible diminution ( $97,08 \pm 0,00$ ) et ( $97,33 \pm 0,00$ ).

Les sels biliaire stimule l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* pour former un biofilm dans les jeunes cultures (**Ambalam et al., 2014**).



**Figure14** : Effet des sels biliaries sur l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus*

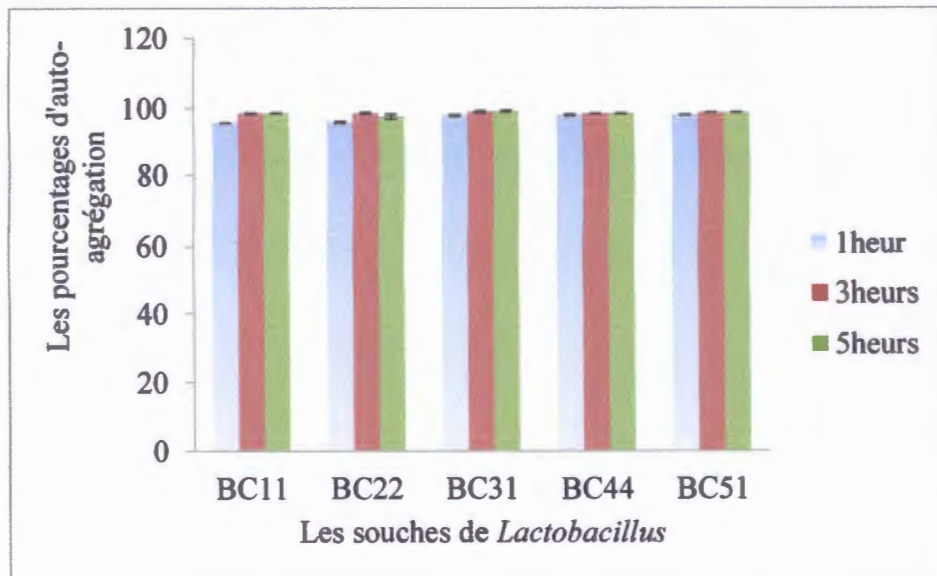
Nos résultats sont en accord et ceux de **Pumbwea et al., (2007)** qui ont trouvé que le traitement avec les sels biliaries a une augmentation significatif de l'agrégation

#### IV.3.3.Effet d'enzyme présure à différents concentrations

##### IV.2.3.1.Effet d'enzyme présure à une concentration de (0.5 g/l)

Les résultats présentés dans la **figure 15** montrent que la capacité des souches à l'auto-agrégation augmente avec la durée d'incubation, les pourcentages sont présentés au **tableau 24** (Annexes) D'après une comparaison avec le test de contrôle pH (7.2) la capacité d'auto-agrégation de la souche BC51 est non significative par contre les souches BC11 et BC44 sont hautement significatives ( $P < 0,01$ ) et *L*.BC22 et BC31 sont très hautement significatives ( $P < 0,001$ ).

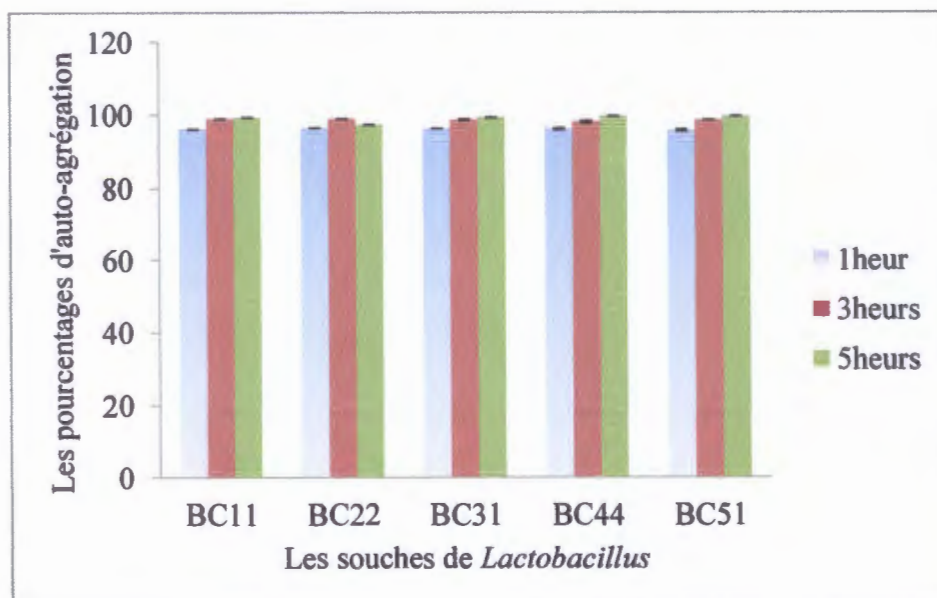
Nos résultat sont contradictoire a ceux trouvés par plusieurs études ou le traitement enzymatique par les protéases a diminué l'auto-agrégation (**Canzi et al., 2005 ; Wang et Han, 2007**). Ainsi que **Ekmekci et al., (2009)** ont montré que la capacité de l' auto-agrégation des souches *L. salivarius* I1 , *L. cellobiosus* I3 , *L. acidophilus* R9 et *L. acidophilus* S1 diminué après un traitement avec la lipase et la pepsine.



**Figure 15 :** L'effet d'enzyme (présure 0.5g/l) sur l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus*

#### IV.3.3.2.Effet d'enzyme présure à concentration (1 g/l)

Les résultats illustrée dans la **figure 16** montrent que la a capacité des souches à l'auto-agrégation augmente avec la durée d'incubation, les pourcentages d'auto agrégation sont représentés dans le **tableau 24** (Annexe).D'après une comparaison avec le contrôle pH (7.2) la capacité d'auto-agrégation des souches *Lactobacillus* BC11et BC51 est hautement significative ( $P < 0,01$ ) et les souches BC22, BC31 et BC44 est très hautement significative ( $P < 0,001$ ).



**Figure 16 :** L'effet d'enzyme (présure 1g/l) sur l'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus*



Nos résultats sont en accord et ceux de **Ekmekci et al., (2009)** montrent que la capacité d'auto-agrégation des souche *Lactobacillus salivarius* I1, *Lactobacillus cellobiosus* I3 , *Lactobacillus acidophilus* R9 et *Lactobacillus acidophilus* S1 a été affecté par les deux enzymes ( la pepsine et la lipase). Ainsi que **Boris et al.,(1997)** n'ont trouvé aucune agrégation pour la souche *Lactobacillus plantarum* LL441 après traitement par le protéase K.

Les résultats indiquent que la capacité d'auto-agrégation est dépendante de plusieurs facteurs tels que le changement du pH et le traitement enzymatique. En outre, les propriétés de surface des cellules bactériennes jouent un rôle important dans l'auto-agrégation.

Dans notre étude, nous avons étudié des propriétés de surface de certaines souches de genre *Lactobacillus* telles que l'hydrophobicité et l'auto-agrégation, l'effet du pH (3, 4, 5 et 8) ainsi que l'effet de 0.3% sels biliaries et de la présure (0.5g/l et 1g/l) sur ces deux propriétés de *Lactobacillus* ont été évalués.

D'après nos résultats obtenus nous concluons que l'effet de pH acide (3.0 et 4.0) a conduit à une augmentation considérable de l'hydrophobicité et l'autoagrégation de la pluparts des souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51. Par contre les sels biliaries ont exercé un effet négatif sur l'hydrophobicité des cinq souches .

Nous avons constaté que l'hydrophobicité et l'auto-agrégation sont augmenté considérablement pour la pluparts des souches après traitement avec la pressure et ont une différence non significative de hydrophobicité ( $p > 0,05$ ) pour les souches *Lactobacillus* BC22 et BC51 (pH 3.0) et BC51 (pH 5.0) avec l'acétate d'éthyle, *Lactobacillus* BC22, BC31 et BC51 (pH 4.0) au chloroforme, BC22, BC11 et BC51 (avec traitement par les sels biliaries) et une différence significative des autres souches pour les trois solvants ( $P < 0.05$ ).

Enfin, nous ressort que la surface de ces souches lactobacilles ont été affectée par le traitement enzymatique a des concentrations très élevé et les sels biliaire à 0.3%. Par contre la surface bactérienne n'a pas été affectée par les conditions acides. Donc, cette surface de la plupart des souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 et BC51 devient plus hydrophile à des pH plus bas (3.0 ; 4.0 ; 5.0).

Il reste à noter que parmi les différentes souches testées, seule la surface de la souche *Lactobacillus* BC51 a gardé son état intact au cours des différents traitements.

# Références Bibliographiques



**A**

**Amara, A. A., & Shibl, A. (2015).** Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(2), 107-114.

**Ambalam, P., Kondepudi, K. K., Nilsson, I., Wadström, T., & Ljungh, Å. (2014).** Bile enhances cell surface hydrophobicity and biofilm formation of *Bifidobacteria*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(4), 1970-1981.

**Aswathy, R. G., Ismail, B., John, R. P., & Nampoothiri, K. M. (2008).** Evaluation of the probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151(2-3), 244-255.

**Axelsson, L. (2004).** Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology*-New York-Markel Dekker, 139, 1-66.

**B**

**Bejar, W., Farhat-Khemakhem, A., Smaoui, S., Makni, M., Farhat, M. B., Abdelmalek, B., Maguin, E., Bejar, S. & Chouayekh, H. (2011).** Selection of *Lactobacillus plantarum* TN627 as a new probiotic candidate based on in vitro functional properties. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16(6), 1115-1123.

**Boris, S., Suárez, J. E., & Barbés, C. (1997).** Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, a vaginal isolate. *Journal of Applied Microbiology*, 83(4), 413-420.

**Both, E., Gyorgy, E., Kibedi-Szabo, C. Z., Tamas, E., Abraham, B., Miklossy, I., & Lanyi, S. (2010).** Acid and bile tolerance, adhesion to epithelial cells of probiotic microorganisms. *UPB Buletin Stiintific, Series B: Chemistry and Materials Science*, 72(2), 37-44.

**Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (Eds.). (1996).** Microbiologie alimentaire: tome 1-Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. tome 2-Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc Lavoisier, 16-29.

**C**

- Canzi, E., Guglielmetti, S., Mora, D., Tamagnini, I., & Parini, C. (2005).** Conditions affecting cell surface properties of human intestinal *Bifidobacteria*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 88(3-4), 207-219.
- Caramia, G., & Silvi, S. (2011).** Probiotics: from the ancient wisdom to the actual therapeutical and nutraceutical perspective. *In: Probiotic bacteria and enteric infections*. Springer Netherlands, 3-37.
- Chong, E. S. L. (2014).** A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2), 351-374.
- Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2008).** Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1065-1073.
- Collado, M.C. and Salminen, S. (2009).** Combined probiotics and pathogene adhesion and aggregation. *In: Handbook of probiotics and prebiotics*. 2éd. John Wiley & Sons, Canada: 384-391.
- Costerton, J. W. (2001).** Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends in Microbiology*, 9(2), 50-52.

**D**

- Deepika, G., Green, R. J., Frazier, R. A., & Charalampopoulos, D. (2009).** Effect of growth time on the surface and adhesion properties of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1230-1240.
- Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., & Palenzona, D. (2000).** Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in Applied Microbiology*, 31(6), 438-442.
- Divya, J. B., Varsha, K. K., & Nampoothiri, K. M. (2012).** Newly isolated lactic acid bacteria with probiotic features for potential application in food industry. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(5), 1314-1324.

**Dortu, C., & Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires/Bacteriocins from lactic acid bacteria: interest for food products biopreservation. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 143.

### E

**Ekmekçi, H. A. V. V. A., Aslim, B., & Darilmaz, D. O. (2009).** Some factors affecting the autoaggregation ability of vaginal lactobacilli isolated from Turkish women. *Archives of Biological Sciences*, 61, 407-12.

### F

**FAO and OMS. (2002).** Guidelines for the evaluation of probiotics in food, report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in Food.

**FAO/WHO (2001).** Report of a joint expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.

**FAO/WHO (2002).** Report of a joint Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.

**Farineau F.K., (2001).** 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. Rapport Cordoba, Argentine: 4- 6.

**Forssten, S.D., Lahtinen S.J. and Ouwehand, A.C. (2011).** The intestinal microbiota and probiotics. *In: Probiotic bacteria and enteric infections cytoprotection by probiotic bacteria.* Springer Dordrecht Heidelberg, London: 41-63.

**Franz, C. M., & Holzapfel, W. H. (2011).** The importance of understanding the stress physiology of lactic acid bacteria. *In: Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*, Springer US, 3-20.

**Fung, W. Y., Lye, H. S., Lim, T. J., Kuan, C. Y., & Liong, M. T. (2011).** Roles of Probiotic on Gut Health. *In: Probiotics*, Springer Berlin Heidelberg, 139-165.



**König, H., & Fröhlich, J. (2009).** Lactic acid bacteria. *In: Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer Berlin Heidelberg, 3-29.

**Kos, B., Šušković, J., Vuković, S., Šimpraga, M., Frece, J., & Matošić, S. (2003).** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 94(6), 981-987.

**Kotzamanidis, C., Kourelis, A., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., & Yiangou, M. (2010).** Evaluation of adhesion capacity, cell surface traits and immunomodulatory activity of presumptive probiotic *Lactobacillus* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2), 154-163.

### L

**Lahtinen, S., & Ouwehand, A. (2009).** Adhesion to intestinal mucus and epithelium by probiotics. *In: Handbook of probiotics and prebiotics*, 2nd ed. Wiley, Hoboken, NJ, 377-384.

**Lahtinen, S., Ouwehand, A., Collado, M. C., Salminen, S., Vesterlund, S., Tang, M., & Satokari, R. (2009).** Mechanisms of probiotics. *Handbook of probiotics and prebiotics*, 2nd edn. Wiley, Hoboken, 377-440.

**Lavanya, B., Sowmiya, S., Balaji, S., & Muthuvelan, B. (2011).** Screening and characterization of lactic acid bacteria from fermented milk. *British Journal of Dairy Sciences*, 2(1), 5-10.

**Lee, Y. K. (2009).** Selection and maintenance of probiotic microorganisms. *Handbook of probiotics and prebiotics*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 177-187.

**Lee, Y. K., & Salminen, S. (2009).** *Handbook of probiotics and prebiotics*. John Wiley & Sons, 276-321.

**Lin, W. H., Hwang, C. F., Chen, L. W., & Tsen, H. Y. (2006).** Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. *Food Microbiology*, 23(1), 74-81.

**Lorca, G. L., Barabote, R. D., Zlotopolski, V., Tran, C., Winnen, B., Hvorup, R. N., ... & Saier, M. H. (2007).** Transport capabilities of eleven gram-positive bacteria: comparative genomic analyses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1768(6), 1342-1366.

**Luquet, F.M. et Corrieu, G., (2005).** *Bactéries lactiques et probiotiques*. Edition Techniques et Documentation, Lavoisier. Paris, 307.

**M**

**Maldonado, N. C., de Ruiz, C. S., Otero, M. C., Sesma, F., & Nader-Macías, M. E. (2012).** Lactic acid bacteria isolated from young calves—characterization and potential as probiotics. *Research in Veterinary Science*, 92(2), 342-349.

**Marcotte, H., Ferrari, S., Cesena, C., Hammarström, L., Morelli, L., Pozzi, G., & Oggioni, M. R. (2004).** The aggregation-promoting factor of *Lactobacillus crispatus* M247 and its genetic locus. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 749-756.

**Mastromarino, P., Brigidi, P., Macchia, S., Maggi, L., Pirovano, F., Trinchieri, V., ... & Matteuzzi, D. (2002).** Characterization and selection of vaginal *Lactobacillus* strains for the preparation of vaginal tablets. *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 884-893

**Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., & Saarela, M. (2002).** Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12(2), 173-182.

**Meierregger, A., Mayrhuber, E., & Peter Lettner, H. (2011).** Probiotics and health claims: the perspective of the feed industry. *Probiotics and health claims*, 223-248.

**Merk, K., Borelli, C., & Korting, H. C. (2005).** Lactobacilli—bacteria—host interactions with special regard to the urogenital tract. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(1), 9-18.

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

**N**

**Nader-Macías, M. E. F., & Tomás, M. S. J. (2015).** Profiles and technological requirements of urogenital probiotics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 92, 84-104.

**Nagpal R., Yadav H., Kumar M., Jain Sh., Yamashiro Y. and Marotta F. (2014).** Probiotics, prebiotics and synbiotics: an introduction. *In: Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health* (Ötles S.). Taylor & Francis Group, New York: 1-24.



**Nikolic, M., Jovcic, B., Kojic, M., & Topisirovic, L. (2010).** Surface properties of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from homemade cheeses showing auto-aggregation ability. *European Food Research and Technology*, 231(6), 925-931.

**Nivoliez, A., Veisseire, P., Alaterre, E., Dausset, C., Baptiste, F., Camarès, O., ... & Bornes, S. (2015).** Influence of manufacturing processes on cell surface properties of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35®. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(1), 399-411.

**Normand, M., Roland, N., Richoux, R. and Karjeau, J.R. (2006).** Propriétés probiotiques des bactéries propioniques laitier .*Britagne* : 2-10.

### O

**Oelschlaeger, T. A. (2010).** Mechanisms of probiotic actions—a review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1), 57-62.

**Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002).** Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82(1-4), 279-289.

### P

**Pan, W. H., Li, P. L., & Liu, Z. (2006).** The correlation between surface hydrophobicity and adherence of *Bifidobacterium* strains from centenarians' faeces. *Anaerobe*, 12(3), 148-152.

**Pascual, L., & Barberis, L. (2011).** Prevention Strategy of Urogenital Infections by Using *Lactobacilli* with Probiotic Properties. *Urinary Tract Infections Journal*: 245-263

**Pintado, M. M., Gomes, A. M., & Freitasb, A. C. (2014).** Probiotics and Their Therapeutic Role. *Probiotic Bacteria: Fundamentals, Therapy, and Technological Aspects*. Taylor & Francis Group, 47.

**Piquet, M. A., Gloro, R., Justum, A. M., & Reimund, J. M. (2007).** Les probiotiques, des outils thérapeutiques pour moduler les effets biologiques de la flore intestinale : une introduction. *Obésité*, 2(3), 227-233.

**Pumbwe, L., Skilbeck, C. A., Nakano, V., Avila-Campos, M. J., Piazza, R. M., & Wexler, H. M. (2007).** Bile salts enhance bacterial co-aggregation, bacterial-intestinal epithelial cell adhesion, biofilm formation and antimicrobial resistance of *Bacteroides fragilis*. *Microbial pathogenesis*, 43(2), 78-87.



R

**Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. (2012).** *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. *Food Research International*, 49(2), 619-625.

**Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012).** Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140.

S

**Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000).** Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.

**Sakaridis, I., Ganopoulos, I., Soutos, N., Madesis, P., Tsaftaris, A., & Argiriou, A. (2014).** Identification of lactic acid bacteria isolated from poultry carcasses by high-resolution melting (HRM) analysis. *European Food Research and Technology*, 238(4), 691-697.

**Sebastian, A. P., & Keerthi, T. R. (2013).** Adhesion and cell surface properties of wild species of spore formers against enteric pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(2), 110-114.

**Shakirova, L., Grube, M., Gavare, M., Auzina, L., & Zikmanis, P. (2013).** *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium lactis* Bb12 cell surface hydrophobicity and survival of the cells under adverse environmental conditions. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 40(1), 85-93.

**Sieladie, D. V., Zambou, N. F., Kaktcham, P. M., Cresci, A., & Fonteh, F. (2011).** Probiotic properties of *Lactobacilli* strains isolated from raw cow milk in the western highlands of Cameroon. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 9, 12.

**Smolyansky, J. (2010).** Probiotics: a historical perspective. *In: Bioactive foods in promoting health probiotics and prebiotics (Watson R.R. and Preedy V. R.)*. Elsevier, London, 43-45.

**Sun, J., Le, G. W., Shi, Y. H., & Su, G. W. (2007).** Factors involved in binding of *Lactobacillus plantarum* Lp6 to rat small intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology*, 44(1), 79-85.

Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., & Zhang, H. (2014). Phylogenesis and evolution of lactic acid Bacteria. *In: Lactic Acid Bacteria*. Springer Netherlands, 1-101.

**T**

Tang, M. L. (2009). Probiotics and prebiotics: immunological and clinical effects in allergic disease. *In: Microbial Host-Interaction: Tolerance Versus Allergy* Karger Publishers, 64, 219-238.

Tannis, A. (2010). Probiotic Rescue: How you can use probiotics to fight cholesterol, cancer, superbugs, digestive complaints and more. John Wiley & Sons, 269.

Todorov, S. D., Botes, M., Danova, S. T., & Dicks, L. M. T. (2007). Probiotic properties of *Lactococcus lactis ssp. lactis* HV219, isolated from human vaginal secretions. *Journal of Applied Microbiology*, 103(3), 629-639.

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

**V**

Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9), 895-904.

**W**

Wang, Y. B., & Han, J. Z. (2007). The role of probiotic cell wall hydrophobicity in bioremediation of aquaculture. *Aquaculture*, 269(1), 349-354.

**X**

Xiao, J., Zhang, Y., & Yang, Z. (2014). Lactic acid bacteria in health and disease. *In: Lactic Acid Bacteria*. Springer Netherlands, 303-374.

Xu, H., Jeong, H. S., Lee, H. Y., & Ahn, J. (2009). Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains. *Letters in Applied Microbiology*, 49(4), 434-442.

Z

**Zavaglia Gomez , A., Kociubinski, G., Perez, P., Disalvo, E., & De Antoni, G. (2002).** Effect of bile on the lipid composition and surface properties of *Bifidobacteria*. *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 794-799.

**Zhu X.H., Yang Z.Q., Gu R.X., Sun Y., Lu M.L., Zhang Y.F. and Wang H.J. (2009).** Screening lactic acid bacteria isolates with potential probiotics properties of cholesterol lowering from Chinese traditional fermented dairy products. *Research Journal of Dairy Sciences*, 3(2-4): 25-31.



# Annexes

---

---

## Annexe I

---

---

### Composition des milieux de cultures et des tampons

- **Bouillon MRS (pH 6.5)**

Peptone .....	10g
Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure .....	5g
Glucose .....	20g
Tween 80.....	1ml
Phosphate bipotassique.....	2g
Acétate de sodium .....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g
Sulfate de magnésium.....	0.2g
Sulfate de manganèse.....	0.5g
Eau distillée .....	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 121°C pendant 20 min.

- **Tampon PBS « tampon phosphate saline »**

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.44g
K <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0.24g
NaCl.....	8g
Eau distillée .....	1000ml

**Tableaux 19:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* dans différent pH

Les solvants		pH (3.0)	pH (4.0)	pH (5.0)	pH (7.0)	pH (8.0)
Xylène	BC11	10,41 ±1,44	38,09 ±2,06	09,58 ±1,90	05,15 ±0,68	06,00 ±3,17
	BC22	39,50 ±3,26	48,18 ±6,02	14,67 ±2,47	08,91 ±0,67	05,20 ±3,85
	BC31	24,16 ±0,72	27,05 ±3,53	05,75 ±1,88	18,21 ±1,77	05,48 ±1,79
	BC44	38,03 ±2,45	52,93 ±4,23	10,97 ±2,11	19,60 ±2,71	01,64 ±1,42
	BC51	23,57 ±2,53	46,81 ±3,43	09,12 ±1,81	10,34 ±1,99	00,82 ±1,42
Chloroforme	BC11	45,41 ±3,6	46,42 ±3,15	17,08 ±17,08	27,77 ±2,47	19,64 ±3,64
	BC22	60,07 ±0,24	52,56 ±6,87	14,67 ±14,67	20,54 ±2,68	15,65 ±3,61
	BC31	47,91 ±2,88	40,00 ±3,52	20,57 ±20,57	27,51 ±3,35	37,25 ±1,80
	BC44	59,60 ±0,25	76,44 ±13,90	16,25 ±16,25	32,15 ±0,68	36,20 ±3,77
	BC51	62,59 ±0,24	57,33 ±2,99	08,72 ±8,72	12,64 ±1,15	36,20 ±1,42
Acétate d'éthyle	BC11	20,00 ±3,75	26,98 ±3,63	17,91 ±0,72	30,95 ±1,19	08,42 ±0,98
	BC22	24,27 ±3,77	20,07 ±4,22	12,69 ±1,37	24,02 ±1,77	13,32 ±2,67
	BC31	17,91 ±1,44	15,29 ±2,35	13,57 ±2,46	29,11 ±0,66	13,33 ±2,42
	BC44	20,77 ±2,45	25,87 ±1,17	12,19 ±1,22	26,74 ±3,10	20,16 ±2,53
	BC51	22,35 ±1,86	20,62 ±2,47	17,85 ±2,06	14,85 ±2,50	22,63 ±3,24

**Tableaux 20:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* en présence des sels biliaries 0.3%

Les solvants	Les souches	pH (7.2)	Sel biliaire (0.3/)
Xylène	BC11	05,15 ±0,68	4,52 ±1,44
	BC22	08,91 ±0,67	3,41 ±3,26
	BC31	18,21 ±1,77	1,25 ±0,72
	BC44	19,60 ±2,71	0,82 ±2,45
	BC51	10,34 ±1,99	3,65 ±2,53
Chloroforme	BC11	27,77 ±2,47	12,34 ±3,6
	BC22	20,54 ±2,68	17,52 ±0,24
	BC31	27,51 ±3,35	4,17 ±2,88
	BC44	32,15 ±0,68	1,23 ±0,25
	BC51	12,64 ±1,15	18,70 ±0,24
	BC11	30,95 ±1,19	8,22 ±3,75



Acétate d'éthyle	BC22	24,02 ±1,77	20,08 ±3,77
	BC31	29,11 ±0,66	12,91 ±1,44
	BC44	26,74 ±3,10	14,4 ±2,45
	BC51	14,85 ±2,50	15,03 ±1,86

**Tableaux 21:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'hydrophobicité des *Lactobacillus* en présence d'enzyme (présure 0.5g/l et 1g/l)

Les solvants	Les souches	pH (7.2)	Enzyme de concentration 1g/l	Enzyme de concentration 0.5g/l
Xylène	BC11	05,15 ±0,68	07,37 ±1,26	15,36 ±2,50
	BC22	08,91 ±0,67	06,33 ±2,56	35,09 ±5,32
	BC31	18,21 ±1,77	00,92 ±1,06	30,14 ±2,14
	BC44	19,60 ±2,71	14,04 ±1,76	16,40 ±2,59
	BC51	10,34 ±1,99	06,42 ±3,43	18,44 ±5,03
Chloroforme	BC11	27,77 ±2,47	16,17 ±1,76	20,79 ±0,36
	BC22	20,54 ±2,68	10,94 ±2,61	23,56 ±3,57
	BC31	27,51 ±3,35	4,92 ±2,42	22,27 ±1,75
	BC44	32,15 ±0,68	10,20 ±1,32	23,64 ±1,73
	BC51	12,64 ±1,15	6,06 ±2,91	22,47 ±2,94
Acétate d'éthyle	BC11	30,95 ±1,19	17,48 ±3,04	23,27 ±2,92
	BC22	24,02 ±1,77	17,87 ±3,23	02,35 ±2,47
	BC31	29,11 ±0,66	17,88 ±2,34	26,31 ±0,62
	BC44	26,74 ±3,10	9,69 ±3,08	22,22 ±3,23
	BC51	14,85 ±2,50	18,59 ±3,58	19,21 ±2,33

**Tableaux 22:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence de différent pH

		pH (3.0)	pH (4.0)	pH (5.0)	pH (7.2)	pH (8.0)
T1=1h	BC11	97,47±0,21	95,76±0,42	97,25±0,24	98,01±0,21	97,95±0,21
	BC22	97,53±0,00	93,86±1,15	97,33±0,00	97,52±0,56	97,96±0,20
	BC31	96,36±1,57	91,72±1,17	97,23±0,00	98,93±0,23	97,72±0,20
	BC44	92,93±0,46	95,72±0,95	97,42±0,00	99,62±0,00	98,19±0,22
	BC51	95,72±0,21	96,69±0,20	97,43±0,00	99,23±0,00	98,13±0,37

T2=3h	BC11	99,62±0,00	97,01±0,00	97,66±0,23	99,25±0,00	97,18±0,21
	BC22	99,44±0,23	98,93±1,15	98,09±0,00	99,00±0,21	97,72±0,20
	BC31	99,61±0,00	96,20±1,30	98,67±0,22	98,66±0,23	97,84±0,00
	BC44	99,60±0,00	98,34±0,00	98,16±0,00	98,51±0,00	97,93±0,21
	BC51	98,16±1,27	98,58±0,00	98,53±0,00	98,20±0,22	99,62±0,00
T3=5h	BC11	99,87±0,21	98,00±1,19	97,53±0,00	96,78±0,21	99,61±0,00
	BC22	98,62±1,18	98,66±0,23	97,71±0,00	94,44±0,00	99,76±0,20
	Bc31	97,25±1,41	97,82±0,94	97,23±0,00	94,40±0,00	99,64±0,00
	Bc44	98,53±0,23	99,72±0,24	99,80±0,18	94,93±0,21	98,71±0,22
	Bc51	97,79±0,96	99,64±0,00	99,50±0,42	95,12±0,21	99,87±0,21

**Tableaux 23:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence des sels biliars 0.3%

		pH (7.2)	Sel biliaire
T1=1h	BC11	98,01±0,21	97,27 ±0.00
	BC22	97,52±0,56	97,20 ±0.00
	BC31	98,93±0,23	97,51 ±0,22
	BC44	99,62±0,00	97,77 ±0,23
	BC51	99,23±0,00	97,96 ±0,21
T2=3h	BC11	99,25±0,00	95,84 ±0,18
	BC22	99,00±0,21	96,00 ±0.00
	BC31	98,66±0,23	94,24 ±0,18
	BC44	98,51±0,00	95,55 ±0,19
	BC51	98,20±0,22	95,81 ±0.00
T3=5h	BC11	96,78±0,21	97,40 ±0,18
	BC22	94,44±0,00	97,33 ±0,18
	BC31	94,40±0,00	97,51 ±0,18
	BC44	94,93±0,21	97,08 ±0.00
	BC51	95,12±0,21	97,33 ±0.00

**Tableaux 24:** les moyennes des pourcentages et l'écartype de l'auto-agrégation des *Lactobacillus* en présence d'enzyme (présure 0.5g/l et 1g/l)

		pH (7.2)	Enzyme de concentration 0.5g/l	Enzyme de concentration 1.0g/l
T1=1h	BC11	98,01±0,21	95,62 ±0,00	96,07 ±0,00
	BC22	97,52±0,56	95,69 ±0,21	96,39 ±0,00
	BC31	98,93±0,23	97,55 ±0,21	96,28 ±0,00
	BC44	99,62±0,00	97,50 ±0,22	96,17 ±0,21
	BC51	99,23±0.00	97,44 ±0,00	95,75 ±0,21
T2=3h	BC11	99,25±0.00	98,41 ±0,17	98,92 ±0,00
	BC22	99,00±0,21	98,40 ±0,17	98,91 ±0,00
	BC31	98,66±0,23	98,65 ±0,17	98,63 ±0,17
	BC44	98,51±0.00	98,03 ±0,00	98,14 ±0,30
	BC51	98,20±0,22	98,17 ±0,00	98,54 ±0,00
T3=5h	BC11	96,78±0,21	98,54 ±0,00	99,28 ±0,00
	BC22	94,44±0.00	97,33 ±0,68	99,27 ±0,00
	BC31	94,40±0.00	98,77±0,17	99,25 ±0,00
	BC44	94,93±0,21	98,03 ±0,00	99,63 ±0,00
	BC51	95,12±0,21	98,17 ± 0,00	99,63 ±0,00



**Tableaux 15:** Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* à pH (8.0)

pH (8.0)		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,261	-	0,279	-	0,279	-	0,259	-	0,269	-
T <sub>1</sub> =1h	A <sub>1</sub>	0,005	98,08	0,006	97,84	0,006	97,84	0,004	98,45	0,006	97,76
	A <sub>2</sub>	0,005	98,08	0,006	97,84	0,007	97,84	0,005	98,06	0,005	98,14
	A <sub>3</sub>	0,006	97,70	0,005	98,2	0,006	97,49	0,005	98,06	0,004	98,51
T <sub>2</sub> =3h	A <sub>1</sub>	0,007	97,31	0,007	97,49	0,006	97,84	0,006	97,68	0,001	99,62
	A <sub>2</sub>	0,008	96,93	0,006	97,84	0,006	97,84	0,005	98,06	0,001	99,62
	A <sub>3</sub>	0,007	97,31	0,006	97,84	0,006	97,84	0,005	98,06	0,001	99,62
T <sub>3</sub> =5h	A <sub>1</sub>	0,001	99,61	0,001	99,64	0,001	99,64	0,004	98,46	0,000	100,0
	A <sub>2</sub>	0,001	99,61	0,001	99,64	0,001	99,64	0,003	98,84	0,000	100,0
	A <sub>3</sub>	0,001	99,61	0,000	100,0	0,001	99,64	0,003	98,84	0,001	99,62

**Tableaux 16:** Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de sel biliaire 0.3%

pH (7.2) Sel biliaire 0.3%		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,257	-	0,250	-	0,255	-	0,240	-	0,263	-
T <sub>1</sub> =1h	A <sub>1</sub>	0,007	97,27	0,007	97,20	0,006	97,64	0,006	97,50	0,005	98,09
	A <sub>2</sub>	0,007	97,27	0,007	97,20	0,006	97,64	0,005	97,91	0,005	98,09
	A <sub>3</sub>	0,007	97,27	0,007	97,20	0,007	97,25	0,005	97,91	0,006	97,71
T <sub>2</sub> =3h	A <sub>1</sub>	0,011	95,71	0,010	96,00	0,014	94,50	0,010	95,83	0,011	95,81
	A <sub>2</sub>	0,011	95,71	0,010	96,00	0,015	94,11	0,011	95,41	0,011	95,81
	A <sub>3</sub>	0,010	96,10	0,010	96,00	0,015	94,11	0,011	95,41	0,011	95,81
T <sub>3</sub> =5h	A <sub>1</sub>	0,006	97,66	0,007	97,20	0,006	97,64	0,007	97,08	0,007	97,33
	A <sub>2</sub>	0,007	97,27	0,007	97,20	0,006	97,64	0,007	97,08	0,007	97,33
	A <sub>3</sub>	0,007	97,27	0,006	97,60	0,007	97,25	0,007	97,08	0,007	97,33

**Tableaux 17:** Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de la pression 0.5g/l

pH (7.2)	Pressure	<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51		
	0.5g/l	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	
	DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,274	-	0,271	-	0,273	-	0,254	-	0,274	-
T <sub>1</sub> =1h	A <sub>1</sub>	0,012	95,62	0,012	95,57	0,006	97,80	0,007	97,24	0,007	97,44	
	A <sub>2</sub>	0,012	95,62	0,012	95,57	0,007	97,43	0,006	97,63	0,007	97,44	
	A <sub>3</sub>	0,012	95,62	0,011	95,94	0,007	97,43	0,006	97,63	0,007	97,44	
T <sub>2</sub> =3h	A <sub>1</sub>	0,005	98,17	0,004	98,52	0,004	98,53	0,005	98,03	0,005	98,17	
	A <sub>2</sub>	0,004	98,54	0,005	98,15	0,004	98,53	0,005	98,03	0,005	98,17	
	A <sub>3</sub>	0,004	98,54	0,004	98,52	0,003	98,90	0,005	98,03	0,005	98,17	
T <sub>3</sub> =5h	A <sub>1</sub>	0,004	98,54	0,004	98,52	0,003	98,90	0,005	98,03	0,005	98,17	
	A <sub>2</sub>	0,004	98,54	0,004	98,52	0,003	98,90	0,005	98,03	0,005	98,17	
	A <sub>3</sub>	0,004	98,54	0,003	98,89	0,004	98,53	0,005	98,03	0,005	98,17	

**Tableaux 18:** Les densités optiques et les pourcentages d'auto-agrégation des souches de *Lactobacillus* en présence de pression 1g/l

pH (7.2)	Pressure	<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51		
	1g/l	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	DO	Ag%	
	DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,280	-	0,277	-	0,269	-	0,270	-	0,275	-
T <sub>1</sub> =1h	A <sub>1</sub>	0,011	96,07	0,010	96,39	0,010	96,28	0,010	96,29	0,011	96,00	
	A <sub>2</sub>	0,011	96,07	0,010	96,39	0,010	96,28	0,010	96,29	0,012	95,63	
	A <sub>3</sub>	0,011	96,07	0,010	96,39	0,010	96,28	0,011	95,92	0,012	95,63	
T <sub>2</sub> =3h	A <sub>1</sub>	0,003	98,92	0,003	98,91	0,004	98,51	0,004	98,51	0,004	98,54	
	A <sub>2</sub>	0,003	98,92	0,003	98,91	0,004	98,51	0,006	97,77	0,004	98,54	
	A <sub>3</sub>	0,003	98,92	0,003	98,91	0,003	98,88	0,005	98,14	0,004	98,54	
T <sub>3</sub> =5h	A <sub>1</sub>	0,002	99,28	0,002	99,27	0,002	99,25	0,001	99,63	0,001	99,63	
	A <sub>2</sub>	0,002	99,28	0,002	99,27	0,002	99,25	0,001	99,63	0,001	99,63	
	A <sub>3</sub>	0,002	99,28	0,002	99,27	0,002	99,25	0,001	99,63	0,001	99,63	



## Annexes II

### Les tableaux de l'hydrophobicité et l'auto-agrégation

**Tableaux 3:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (7.2).

pH (7.2)		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,84	-	0,86	-	0,86	-	0,85	-	0,87	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,79	05,95	0,79	08,13	0,70	18,60	0,71	16,47	0,76	12,64
	A <sub>2</sub>	0,80	04,76	0,78	09,30	0,72	16,27	0,67	21,17	0,79	09,19
	A <sub>3</sub>	0,80	04,76	0,78	09,30	0,69	19,76	0,67	21,17	0,79	09,19
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,59	29,76	0,71	17,44	0,59	31,39	0,58	31,76	0,76	12,64
	A <sub>2</sub>	0,63	25,00	0,67	22,09	0,64	25,58	0,58	31,76	0,77	11,49
	A <sub>3</sub>	0,60	28,57	0,67	22,09	0,64	25,58	0,57	32,94	0,75	13,79
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,59	29,76	0,65	24,41	0,62	28,73	0,57	29,62	0,70	15,66
	A <sub>2</sub>	0,57	32,14	0,64	25,58	0,61	29,88	0,62	23,45	0,69	16,86
	A <sub>3</sub>	0,58	30,95	0,67	22,09	0,62	28,73	0,59	27,16	0,73	12,04

**Tableaux 4:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches *Lactobacillus* à pH (3.0)

pH (3.0)		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,80	-	0,81	-	0,80	-	0,85	-	0,82	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,71	11,25	0,47	41,97	0,61	23,75	0,55	35,29	0,65	20,73
	A <sub>2</sub>	0,71	11,25	0,52	35,80	0,61	23,75	0,51	40,00	0,61	25,60
	A <sub>3</sub>	0,73	08,75	0,48	40,74	0,6	25,00	0,52	38,82	0,62	24,39
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,47	41,25	0,33	59,25	0,39	51,25	0,31	63,52	0,30	63,41
	A <sub>2</sub>	0,42	47,50	0,32	60,49	0,43	46,25	0,36	57,64	0,31	62,19
	A <sub>3</sub>	0,38	47,50	0,34	60,49	0,44	46,25	0,36	57,64	0,46	62,19
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,67	16,25	0,64	20,98	0,65	18,75	0,65	23,52	0,64	21,95
	A <sub>2</sub>	0,64	20,00	0,58	28,39	0,67	16,25	0,68	20,00	0,65	20,73



	A <sub>3</sub>	0,61	23,75	0,62	23,45	0,65	18,75	0,69	18,80	0,62	24,39
--	----------------	------	-------	------	-------	------	-------	------	-------	------	-------

**Tableaux 5:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (4.0)

pH (4.0)		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,84	-	0,83	-	0,85	-	0,85	-	0,84	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,54	35,71	0,48	42,16	0,62	27,05	0,43	49,41	0,43	48,80
	A <sub>2</sub>	0,51	39,28	0,43	48,19	0,59	30,58	0,36	57,64	0,43	48,80
	A <sub>3</sub>	0,51	39,28	0,38	54,21	0,65	23,52	0,41	51,76	0,48	42,85
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,42	50,00	0,44	46,98	0,54	36,48	0,26	96,41	0,35	58,33
	A <sub>2</sub>	0,47	44,04	0,33	60,24	0,48	43,52	0,23	72,94	0,33	60,71
	A <sub>3</sub>	0,46	45,23	0,41	50,48	0,51	40,00	0,24	71,76	0,38	54,76
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,64	23,8	0,66	20,48	0,74	12,94	0,63	25,88	0,65	22,61
	A <sub>2</sub>	0,58	30,95	0,70	15,66	0,72	15,29	0,62	27,05	0,69	17,85
	A <sub>3</sub>	0,62	26,19	0,63	24,09	0,70	17,64	0,64	24,70	0,66	21,42

**Tableaux 6:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (5.0)

pH (5.0)		<i>Lactobacillus</i> BC11		<i>Lactobacillus</i> BC22		<i>Lactobacillus</i> BC31		<i>Lactobacillus</i> BC44		<i>Lactobacillus</i> BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,80	-	0,84	-	0,81	-	0,82	-	0,84	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,72	10,00	0,74	11,90	0,76	06,17	0,71	13,41	0,76	09,52
	A <sub>2</sub>	0,71	11,25	0,70	16,66	0,75	07,40	0,74	09,75	0,78	07,14
	A <sub>3</sub>	0,74	07,50	0,71	15,47	0,78	03,70	0,74	09,75	0,75	10,71
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,65	18,75	0,71	15,47	0,65	19,75	0,68	17,07	0,75	10,71
	A <sub>2</sub>	0,68	15,00	0,71	15,47	0,63	22,22	0,71	13,41	0,77	08,33
	A <sub>3</sub>	0,66	17,50	0,73	13,09	0,65	19,75	0,67	18,29	0,78	07,14
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,65	18,75	0,72	14,28	0,68	16,04	0,72	12,19	0,67	20,23
	A <sub>2</sub>	0,66	17,50	0,74	11,90	0,70	13,58	0,71	13,41	0,70	16,66
	A <sub>3</sub>	0,66	17,50	0,74	11,90	0,72	11,11	0,73	10,97	0,70	16,66

**Tableaux 7:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* à pH (8.0)

PH (8.0)		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>	
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,83	-	0,83	-	0,85	-	0,81	-	0,81	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,75	09,60	0,75	09,60	0,80	05,88	0,79	2,46	0,81	00,00
	A <sub>2</sub>	0,80	03,60	0,80	03,60	0,82	03,52	0,79	2,46	0,79	02,46
	A <sub>3</sub>	0,79	04,80	0,81	02,40	0,79	07,05	0,81	00,00	0,81	00,00
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,64	22,80	0,67	19,27	0,55	35,29	0,49	39,50	0,53	34,56
	A <sub>2</sub>	0,66	20,48	0,73	12,04	0,52	38,83	0,55	32,09	0,51	37,03
	A <sub>3</sub>	0,70	15,66	0,70	15,66	0,53	37,64	0,51	37,03	0,51	37,03
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,76	8,43	0,71	14,45	0,74	12,94	0,62	23,45	0,64	20,98
	A <sub>2</sub>	0,75	09,63	0,75	09,63	0,71	16,47	0,67	17,28	0,59	27,17
	A <sub>3</sub>	0,77	07,22	0,70	15,88	0,76	10,58	0,65	19,75	0,65	19,75

**Tableaux 8:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* en présence des sels biliaires 0.3%

pH (7.2) sels biliaires 0.3%		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>	
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51	
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%
DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,81	-	0,78	-	0,80	-	0,81	-	0,82	-
Xylène	A <sub>1</sub>	0,78	3,70	0,75	3,84	0,78	2,50	0,80	0,00	0,79	3,65
	A <sub>2</sub>	0,77	4,93	0,78	0,00	0,79	1,25	0,79	2,46	0,80	2,43
	A <sub>3</sub>	0,77	4,93	0,73	6,41	0,80	0,00	0,80	0,00	0,78	4,87
Chloroforme	A <sub>1</sub>	0,71	12,34	0,67	14,10	0,75	6,25	0,79	2,47	0,65	20,73
	A <sub>2</sub>	0,69	14,81	0,63	19,23	0,77	3,75	0,80	1,23	0,67	18,29
	A <sub>3</sub>	0,73	9,87	0,63	19,23	0,78	2,50	0,81	0,00	0,68	17,07
Acétate d'éthyle	A <sub>1</sub>	0,74	8,64	0,61	21,79	0,71	11,25	0,69	14,81	0,71	13,41
	A <sub>2</sub>	0,74	8,64	0,63	19,23	0,68	15,00	0,70	13,58	0,68	17,07
	A <sub>3</sub>	0,75	7,40	0,63	19,23	0,70	12,50	0,69	14,81	0,70	14,63

**Tableaux 9:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus sp.* en présence d'enzyme (présure 0.5g/l)

pH (7.2)	Pressure	<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51		
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	
	DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,84	-	0,77	-	0,80	00,00	0,84	-	0,83	-
Xylène		A <sub>1</sub>	0,78	07,25	0,71	08,01	0,80	00,63	0,78	07,00	0,79	03,76
		A <sub>2</sub>	0,76	09,39	0,72	06,59	0,80	00,00	0,63	25,62	0,77	06,91
		A <sub>3</sub>	0,80	05,47	0,74	04,39	0,78	02,13	0,76	09,49	0,75	08,61
Chloroforme		A <sub>1</sub>	0,71	15,34	0,71	08,14	0,75	06,38	0,76	10,44	0,78	06,06
		A <sub>2</sub>	0,69	18,19	0,67	13,31	0,75	06,25	0,75	11,39	0,80	03,15
		A <sub>3</sub>	0,72	14,98	0,69	11,37	0,78	02,13	0,77	08,78	0,75	08,97
Acétate d'éthyle		A <sub>1</sub>	0,69	18,19	0,64	17,70	0,64	20,38	0,74	11,86	0,64	22,30
		A <sub>2</sub>	0,72	14,15	0,61	21,19	0,66	17,50	0,79	06,17	0,70	15,15
		A <sub>3</sub>	0,67	20,10	0,66	14,73	0,67	15,75	0,75	11,03	0,67	18,30

**Tableaux 10:** Les densités optiques et les pourcentages d'hydrophobicité des souches de *Lactobacillus* en présence d'enzyme (présure 1g/l)

pH (7.2)	Pressure	<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		
		BC11		BC22		BC31		BC44		BC51		
		DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	DO	H%	
	DO <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	0,84	-	0,85	-	0,82	-	0,81	-	0,78	-
Xylène		A <sub>1</sub>	0,68	19,69	0,53	37,29	0,57	30,99	0,67	18,19	0,60	22,51
		A <sub>2</sub>	0,76	10,25	0,52	38,23	0,56	31,47	0,68	16,48	0,64	17,43
		A <sub>3</sub>	0,71	16,15	0,59	29,76	0,59	27,96	0,70	14,53	0,66	15,39
Chloroforme		A <sub>1</sub>	0,66	21,10	0,61	27,52	0,65	20,46	0,61	25,51	0,63	19,21
		A <sub>2</sub>	0,67	20,87	0,67	20,58	0,64	22,39	0,63	22,10	0,59	24,93
		A <sub>3</sub>	0,67	20,40	0,65	22,58	0,62	23,97	0,62	23,32	0,60	23,28
Acétate d'éthyle		A <sub>1</sub>	0,62	26,41	0,83	02,11	0,61	26,15	0,60	25,76	0,61	21,24
		A <sub>2</sub>	0,67	20,63	0,80	04,94	0,61	25,78	0,66	19,41	0,65	16,66
		A <sub>3</sub>	0,65	22,75	0,85	00,00	0,60	26,99	0,64	21,49	0,63	19,72



<b>Présenté par :</b>	<b>Encadré par :</b>	<b>Soutenu</b>
<b>BEGHAL Nacerddine</b> <b>GOUTAS Messaouda</b>	<b>Mr KHENNOUF T.</b>	<b>Le 29. 06. 2016</b>

## Etudes des propriétés de surface de certaines souches de genre *Lactobacillus*

### Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer les propriétés de surface de cinq souches de *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44, BC51 isolées à partir de lait du chèvre. Dans cette étude, nous avons étudié l'hydrophobicité, l'auto-agrégation, l'effet du pH (3.0 ; 4.0 ; 5.0 et 8.0) pour la détermination des propriétés acide-base de la surface ainsi que l'effet de 0.3% sels biliaries et de la présure sur ces deux propriétés de *Lactobacillus*. Nos résultats indiquaient que la souche *Lactobacillus* BC51 la seule souche testé qui avait un pourcentage d'hydrophobicité et d'auto agrégation non significatif ( $P > 0,05$ ).

**Mots clés :** *Lactobacillus*, auto-agrégation, hydrophobicité, lait de chèvre.

### Abstract

The objective of this study is to assess the surface properties of five strains of *Lactobacillus* BC11, BC22, BC31, BC44 and BC51 isolated from goat milk. In this study, we are investigated the hydrophobicity and auto-aggregation properties strains by the effect of pH (3.0; 4.0; 5.0 and 8.0) for the determination of the acid-base properties of the bacterial surface, as well as the effect of 0.3% bile salt and pressure. Our results indicated that only *Lactobacillus* strain BC51 had insignificant ( $P > 0.05$ ) percentage of hydrophobicity and autoaggregation.

**Keywords :** *Lactobacillus*, auto-aggregation, hydrophobicity, goat milk.

### ملخص

هدف هذه الدراسة هو تقييم خصائص خمس سلالات لبنية BC41, BC31, BC22, BC11 معزولة من حليب الماعز. في هذه الدراسة قمنا باختبار الخصائص: الهيدروفوبية (Hydrophobicité) و الالتصاق الذاتي (Auto-agrégation) و تأثير درجات مختلفة من الحموضة (pH8, pH5, pH4, pH3) لتحديد الخصائص الحمضية والقاعدية لسطح السلالات اللبنة وتأثير 0.3% من الأملاح الصفراوية و انزيم présure .

النتائج أظهرت ان السلالة اللبنة BC51 الوحيدة التي لها نسبة منوية عالية من الهيدروفوبية والالتصاق الذاتي .

الكلمات المفتاحية : الهيدروفوبية , الالتصاق الذاتي, سلالات, لبنة, حليب لماعز.