

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid
Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présentée par :

Melle ABBOUD Soumia

Melle ADDA Kheira

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : QUALITÉ DES PRODUITS ET SÉCURITÉ ALIMENTAIRE

THÈME :

Étude des critères d'adhésion de Certaines Souches Probiotiques

Soutenue publiquement le : 23/09/2024

DEVANT LE JURY :

Président	M. BENABDELMOUMEN Djillali	Grade	MCA
Examineur	M. DAHOU Abdelkader El Amine	Grade	MCA
Encadrant	M. BENBOUZIANE Bouasria	Grade	MCA
Co-Encadrant	M. BENTAHAR Mohamed Chérif	Grade	Doctorant

Année universitaire : 2023-2024

*Thème réalisé au laboratoire pédagogique de biologie moléculaire de la faculté des
Sciences de la Nature et de la Vie*

Dédicace

*Je dédie ce travail pour mes très chers parents
Mr ABBOUD Ahmed et Mme AID Sabria, que j'aime tant,
sans lesquels je ne serai jamais arrivée là et qui me sont très
chers en témoignage à leur soutien pendant toute ma vie car
aucun mot ne pourra exprimer ma haute gratitude et
profonde affection*

*À mes frères « Fethi, Sofiane, Mohamed et Rachid ». À mes
sœurs « Sarah et Khadidja » puisse Dieu vous accorder
santé, bonheur et succès.*

À mon très chère amie et binôme Houda.

*À tous mes amis de la promo master 02 Qualité des produits
et sécurité alimentaire.*

*À tous ceux qui ont pu m'aider et me soutenir dans ce
travail, merci à tous*

ABBOUD Soumia

Dédicace

Je dédie cette humble à :

*- À ma chère mère et à mon très cher père
Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que
vous avez consentis pour me former et m'aider à devenir la
personne que je suis aujourd'hui, et ce que j'aspire à être à
l'avenir, inch'Allah.*

*Votre soutien inconditionnel et votre amour ont été les
piliers de mon parcours. Merci du fond du cœur pour tout ce
que vous avez fait pour moi.*

Avec tout mon amour et ma reconnaissance,

Je vous aime beaucoup

- À ma chère amie et collègue ABBOUD Soumia

*Je tiens à te remercier sincèrement pour tous tes efforts et
tes encouragements tout au long de notre parcours d'études
et durant la réalisation de ce projet de fin d'études.*

*Merci, Soumi, non seulement d'être une amie exceptionnelle, mais
aussi d'avoir été le meilleur binôme que je pouvais espérer.*

Nour el houda

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Allah le Tout-Puissant qui nous a guidé à travers nos parcours d'études jusqu'à cette expérience professionnelle.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadrant Monsieur BENBOUZIANE Bouasria, ainsi que notre Co-encadrant Monsieur Mohamed Cherif BENTAHAR.

Nos sincères remerciements vont également aux membres du jury, Monsieur BENABDELMOUMEN Djilali, qui nous a honorés en acceptant de présider le jury, ainsi que Monsieur DAHOU Abdelkader, qui a accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements s'étendent également à toute l'équipe pédagogique de la formation « Qualité des produits et sécurité alimentaire » du département des Sciences Alimentaires, et à tous les professeurs de l'université de Mostaganem, faculté SNV, qui nous ont enseigné et qui, par leurs compétences, nous ont soutenus dans la poursuite de nos études.

Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé

Les lactobacilles figurent parmi les principaux candidats microbiennes en tant que probiotiques, ayant un effet bénéfique majeur sur la santé humaine. Cette étude vise à évaluer certaines caractéristiques probiotiques des souches de *Lactobacillus* isolées de beurre de lait de chèvre et de thé fermenté. Douze souches ont été sélectionnées et examinées par des tests in vitro pour évaluer leur adhérence, en particulier leur capacité d'auto-agrégation qui atteint $69,42 \pm 0,6$ %, la Co-agrégation variant entre 26,31 % et 27,06 %, un pourcentage de pouvoir d'autolyse atteignant jusqu'à $67,27 \pm 1,57$ %, leur niveau d'hydrophobicité global variant entre 42 % et 98 %, ainsi que leur tolérance aux conditions gastro-intestinales. Les résultats ont montré que la plupart des souches de *Lactobacillus* répondaient aux critères probiotiques in vitro, se présentant comme de bons candidats pour des essais in vivo.

Mots clé : *Lactobacillus*, probiotiques, adhérence, auto-agrégation, hydrophobicité, gastro-intestinal

Abstract

Lactobacilli are among the main microbial candidates as probiotics, having a significant beneficial effect on human health. This study aims to evaluate certain probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from goat milk butter and fermented tea. Twelve strains were selected and examined through in vitro tests to assess their adherence, particularly their self-aggregation capacity, which reaches $69.42 \pm 0.6\%$, co-aggregation varying between 26.31% and 27.06%, a percentage of autolysis power reaching up to $67.27 \pm 1.57\%$, their overall hydrophobicity level varying between 42% and 98%, as well as their tolerance to gastrointestinal conditions. The results showed that most *Lactobacillus* strains met the in vitro probiotic criteria, presenting themselves as good candidates for in vivo trials.

Key words: *Lactobacillus*, probiotics, adhesion, self-aggregation, hydrophobicity, gastrointestinal

ملخص

تعتبر البكتيريا اللبنية من بين المرشحين الرئيسيين كميكروبات بروبيوتيك، حيث لها تأثير مفيد كبير على صحة الإنسان. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم بعض الخصائص البروبيوتيك لسلاسل *Lactobacillus* المعزولة من زبدة حليب الماعز والشاي المخمر. تم اختيار اثني عشر سلالة وفحصها من خلال اختبارات مخبرية (in vitro) لتقييم قدرتها على الالتصاق، وبشكل خاص قدرتها على التجمع الذاتي التي تصل إلى $69.42 \pm 0.6\%$ ، بينما تتراوح قدرة التجمع المشترك بين 26.31% و 27.06% ، ونسبة قوة الأوتوليسيس تصل إلى $67.27 \pm 1.57\%$ ، ومستوى الهيدروفوبية العام يتراوح بين 42% و 98% ، بالإضافة إلى قدرتها على التحمل في ظروف الجهاز الهضمي. أظهرت النتائج أن معظم سلالات *Lactobacillus* استوفت المعايير البروبيوتيك في المختبر، مما يجعلها مرشحة جيدة للتجارب الحية.

الكلمات المفتاحية: اللاكتوباسيلوس، البروبيوتيك، الالتصاق، التجمع الذاتي، الكراهية المائية، الجهاز الهضمي

Table des matières

Dédicace.....	I
Remerciements.....	II
Résumé.....	III
Abstract.....	IV
ملخص.....	V
Table des matières.....	VI
Liste des abréviations.....	X
Liste des tableaux.....	X
Liste des figures.....	XI

Partie bibliographique

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Les bactéries lactiques

1. Introduction	3
2. Définition des bactéries lactiques:	3
3. Caractères généraux des bactéries lactiques	4
4. Habitats des bactéries lactiques :	4
5. Classification des bactéries lactiques :	4
6. Les principaux genres des bactéries lactiques	5
6.1. Genre Lactobacillus	5
6.1.1. Caractères morphologiques	6
6.1.2. Caractères biochimiques	6
6.1.3. Intérêt technologique des lactobacillus	8
6.2. Autres genres des bactéries lactique	8
7. Applications industrielles des bactéries lactiques	8
7.1. Les aliments fermentés	8
7.2. Les bactéries lactiques dans la bio préservation.....	10
7.3. Ingrédients alimentaires/additifs	10
7.4. LAB en tant que probiotiques	10
1. Définition :.....	12
2. Définition des prébiotiques :.....	12
3. Les synbiotiques :.....	13

4.	Historique des probiotiques :	13
5.	Les microorganismes probiotiques classification :	14
6.	Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques :	14
8.	Mécanisme d'action :	15
a.	La digestion :	16
b.	Transit intestinal.....	16
c.	Modification du pH intestinal	16
d.	Renforcement de la barrière épithéliale :	16
e.	Production de substances inhibitrices	17
f.	Compétition pour l'adhésion.....	17
g.	Compétition pour les nutriments	17
9.	Rapport FAO/OMS évaluant la sécurité des probiotiques dans les aliments.....	17
10.	Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine.....	18
1.	Matériels	20
1.1.	Objectif du travail.....	20
1.2.	Présentation du lieu et durée de travail :	20
1.3.	Isolats des bactéries lactiques.....	20
1.4.	Matériel expérimental.....	21
1.4.1.	Les souches bactériennes	21
1.4.2.	Le milieu de culture	21
1.4.3.	Produits chimiques.....	21
1.4.4.	Tampon	22
1.4.5.	Appareillage	22
1.4.6.	Verrerie et petit matériel	22
2.	Méthode :	22
2.1.	Procédure expérimentale :	22
1.1.1	Revivification des souches :	23
1.1.2	Étude des caractères morphologiques	24
1.1.3	Études de critères d'adhérence des souches probiotique :	24
1.	Étude des caractères morphologiques	31
1.1.	Examen macroscopique	31
1.2.	Examen microscopique.....	31
1.3.	Test de la catalase.....	31
2.	Études de critères d'adhérence des souches probiotique :	33
2.1.	Auto-agrégation.....	33
2.2.	Co-agrégation.....	34

2.3. Autolyse.....	36
2.4. Hydrophobicité.....	37
2.5. Résistance au pH gastrique	39
2.6. Activité acidifiante	40
Conclusion	42
Référence Bibliographiques	44
Annexes	53

Liste des abréviations

BEI : barrière épithéliale intestinale

°C : degré Celsius

DO : Densité Optique

E. coli : Escherichia coli

EMP : d'Emden-Meyerhof-Parnas

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

GIT : tractus gastro-intestinal

H : hydrophobicité

LAB : Les bactéries lactiques

LGG : *Lactobacillus rhamnosus GG*

Log UFC/g : Logarithme des unités formant colonie par gramme

L. brevis : *Levilactobacillus brevis*

L. pentosus : *Lactiplantibacillus pentosus*

L. plantarum : *Lactobacillus plantarum*

MATH : Microbial Adhesion to Hydrocarbons

Min: minute

ML : Millilitre

MRS : Man Rogosa et Sharpe

Nm: nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PH : potentiel hydrogène

PBS: Tampon Phosphate Salin

rpm : révolutions par minute

RSM : Lait écrémé reconstitué

µL : microlitre

Liste des tableaux

Tableau 1. Les principaux groupes du genre <i>Lactobacillus</i> , selon le type fermentaire	7
Tableau 2. Bactéries lactiques dans la production de certains produits alimentaires fermentés	9
Tableau 3. Les microorganismes probiotiques	14
Tableau 4. les critères de sélection des souches	15
Tableau 5. les principaux effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine	19
Tableau 6. Milieux utilisés et conditions d'incubation des souches	21
Tableau 7. Caractère des souches de <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> , <i>Levilactobacillus brevis</i> et <i>Lactobacillus rhamnosus LGG</i>	32
Tableau 8. Le pourcentage d'auto-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i>	34
Tableau 9. Le pourcentage de Co-agrégation des souches de <i>Lactobacillus</i>	35
Tableau 10. Le pourcentage d'autolyse des souches de <i>Lactobacillus</i>	37

Liste des figures

Figure 1. Différenciation des espèces selon la classification récente	5
Figure 2. Aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observé par microscope électronique ...	6
Figure 3. schéma résumant l'action des postbiotiques	13
Figure 4. Évaluation globale de la sécurité et de la fonctionnalité du probiotique pour une utilisation dans des applications alimentaires	18
Figure 5. Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale	23
Figure 6. Pourcentage d'hydrophobicité des souches de lactobacilles.....	39
Figure 7. Taux de survie des souches de Lactobacillus aux pH gastrique	40
Figure 8. Variations du pH dans Lait écrémé reconstitué (RSM) moyen après 6 et 24 heures	41

Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques sont des microorganismes très répandus dans l'industrie alimentaire dans diverses formes de fermentation, telles que la création de produits à base de viande, légumes et produits laitiers (**Zapašnik et al., 2022**).

Les bactéries lactiques (LAB) sont d'une importance capitale dans de nombreuses applications industrielles alimentaires. Les industries sont constamment à la recherche de souches présentant des caractéristiques et des propriétés supérieures afin d'améliorer la qualité sensorielle et la qualité des produits. De plus, ces bactéries possèdent des propriétés thérapeutiques qui sont essentielles pour promouvoir la santé humaine (**Ayivi et al., 2020**).

Les bactéries lactiques (LAB), particulièrement les microbes bénéfiques, sont appelées probiotiques (**Zommiti et al., 2020**). Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités suffisantes, peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé (**Darmastuti et al., 2021**).

Les probiotiques, qu'ils se présentent sous forme de compléments ou de produits alimentaires, sont devenus l'ingrédient le plus important à l'ère des produits fonctionnels, étant depuis toujours un élément crucial et une cible commerciale pour fournir des bénéfices potentiels pour la santé. Une variété d'aliments fermentés contient des microorganismes actifs génétiquement similaires aux souches utilisées comme probiotiques (**Latif et al., 2023**). Ces aliments ont été observés pour améliorer les aspects fonctionnels et nutritionnels en transformant les substrats et en produisant des produits finaux bios actifs et biodisponibles. Une consommation d'environ 10^9 (UFC) par jour a été établie comme une dose efficace. Ainsi, les probiotiques sont incorporés dans divers aliments tels que les boissons, les crèmes glacées, les yaourts, le pain et d'autres encore, par l'industrie alimentaire, dans le but d'améliorer les produits tout en préservant leur qualité (**Latif et al., 2023**).

La capacité d'adhésion à l'hôte est un critère de sélection classique pour les bactéries probiotiques. qui contribuerait à promouvoir les effets immunomodulateurs, ainsi qu'à stimuler la barrière intestinale et les fonctions métaboliques (**Monteagudo-Mera et al., 2019**).

L'objectif de notre travail est d'étudier in vitro certaines propriétés probiotiques de 12 souches, notamment l'auto-agrégation, l'hydrophobicité....

Le manuscrit comporte deux parties :

- Une première partie relative à l'étude bibliographique comprenant deux chapitres dont le premier ; Généralité sur les bactéries lactiques, la deuxième présente généralité sur les probiotiques.

- Une deuxième partie expérimentale présentant le matériel utilisé et les méthodes. En outre, dans cette partie, nous présentons les résultats obtenus et discussions. Enfin une conclusion générale résume les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Les bactéries lactiques

1. Introduction

Les bactéries lactiques (LAB) représentent un groupe diversifié de microorganismes jouant un rôle crucial dans la fermentation alimentaire (**Marco et al., 2017**). Ce sont des bactéries gram-positives non sporulées qui produisent de l'acide lactique comme principal produit métabolique lors de la fermentation des glucides (**Ayivi et al., 2020**). Leur présence dans divers aliments fermentés, tels que le yaourt, le fromage, la choucroute et le kimchi, contribue à la préservation, à la texture et à la qualité nutritionnelle de ces produits, tout en apportant des bienfaits probiotiques (**Tamang et al., 2016**). Les souches de LAB peuvent également avoir un impact positif sur la santé intestinale en ajustant le microbiote intestinal, renforçant la fonction immunitaire et améliorant la digestion (**Marco et al., 2017**). De plus, les propriétés antimicrobiennes des LAB contribuent à prévenir la propagation de pathogènes nocifs dans l'intestin, favorisant ainsi la santé gastro-intestinale globale (**Linares et al., 2017**). En résumé, les LAB sont des acteurs essentiels dans la production alimentaire et dans le maintien d'un équilibre microbiotique sain dans le tractus gastro-intestinal, offrant ainsi des avantages significatifs pour la santé humaine (**Maftei et al., 2024**).

2. Définition des bactéries lactiques:

Les bactéries lactiques (LAB) parmi les groupes de procaryotes les plus représentatifs (**Mora-Villalobos et al., 2020**) possèdent la capacité à produire de l'acide lactique lors de la fermentation des glucides. Outre cette production essentielle, elles génèrent également des composés organiques qui enrichissent la saveur, la texture et l'arôme des produits finis, leur conférant ainsi des caractéristiques organoleptiques uniques (**Ayivi et al., 2020**). Leur utilisation est répandue dans la transformation de divers produits alimentaires fermentés, tels que le kéfir, le fromage, le beurre, le yaourt, la choucroute, la viande fermentée et les boissons. En outre, leurs capacités à prolonger la durée de conservation des aliments et à améliorer leur digestibilité en les rendant plus facilement assimilables par l'organisme en font des microorganismes extrêmement précieux dans l'industrie alimentaire (**Gupta et al., 2018**).

3. Caractères généraux des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques représentent un groupe de bacilles, de *cocci* et de *coccobacilles* Gram-positifs, non sporulants, non respiratoires, aérotolérants, tolérants à l'acide et négatifs pour la catalase (Gupta et al., 2018), représentent des groupes hétérogènes capables de produire de l'acide lactique par fermentation des glucides (Sharma et al., 2020). La fermentation est dite :

- **Homofermentaires** : telles que *Lactococcus* et *Streptococcus* produisent deux molécules de lactates à partir d'une molécule de glucose (Gupta et al., 2018).
- **Hétérofermentaires** : telles que *Leuconostoc*, *Wiessella* et certains lactobacilles génèrent du lactate, de l'éthanol et du dioxyde de carbone à partir d'une molécule de glucose (Gupta et al., 2018).

4. Habitats des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques représentent un groupe bactérien ubiquitaire, largement réparti dans divers habitats naturels. On les retrouve notamment dans les niches d'origine laitière (fermentée), carnée et végétale, où elles jouent un rôle crucial dans les processus de fermentation et de préservation alimentaire. De plus, ces bactéries sont également présentes dans le tractus gastro-intestinal et urogénital des êtres humains et des animaux, où elles contribuent à l'équilibre microbologique et à la santé digestive. Enfin, les bactéries lactiques sont omniprésentes dans l'environnement, colonisant le sol et l'eau, où elles participent à divers cycles biogéochimiques. Ainsi, leur présence variée et leur adaptabilité leur confèrent un rôle essentiel dans de nombreux écosystèmes et processus biologiques (Ayivi et al., 2020).

5. Classification des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques (LAB) sont un groupe de bactéries largement étudié et classifié en fonction de leur morphologie cellulaire, de leur mode métabolique, et de leur adaptabilité à diverses conditions environnementales, y compris la température. Parmi les genres les plus significatifs des LAB, on trouve *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, (Figure 01) et plusieurs autres. *Lactobacillus* est le genre prédominant, englobant une grande diversité d'espèces, souvent présentes dans des milieux riches en hydrates de carbone. Cette classification précise des LAB est essentielle pour comprendre leur écologie, leur physiologie,

ainsi que leur utilisation dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire, la fermentation, et la santé humaine (Mokoena, 2017).

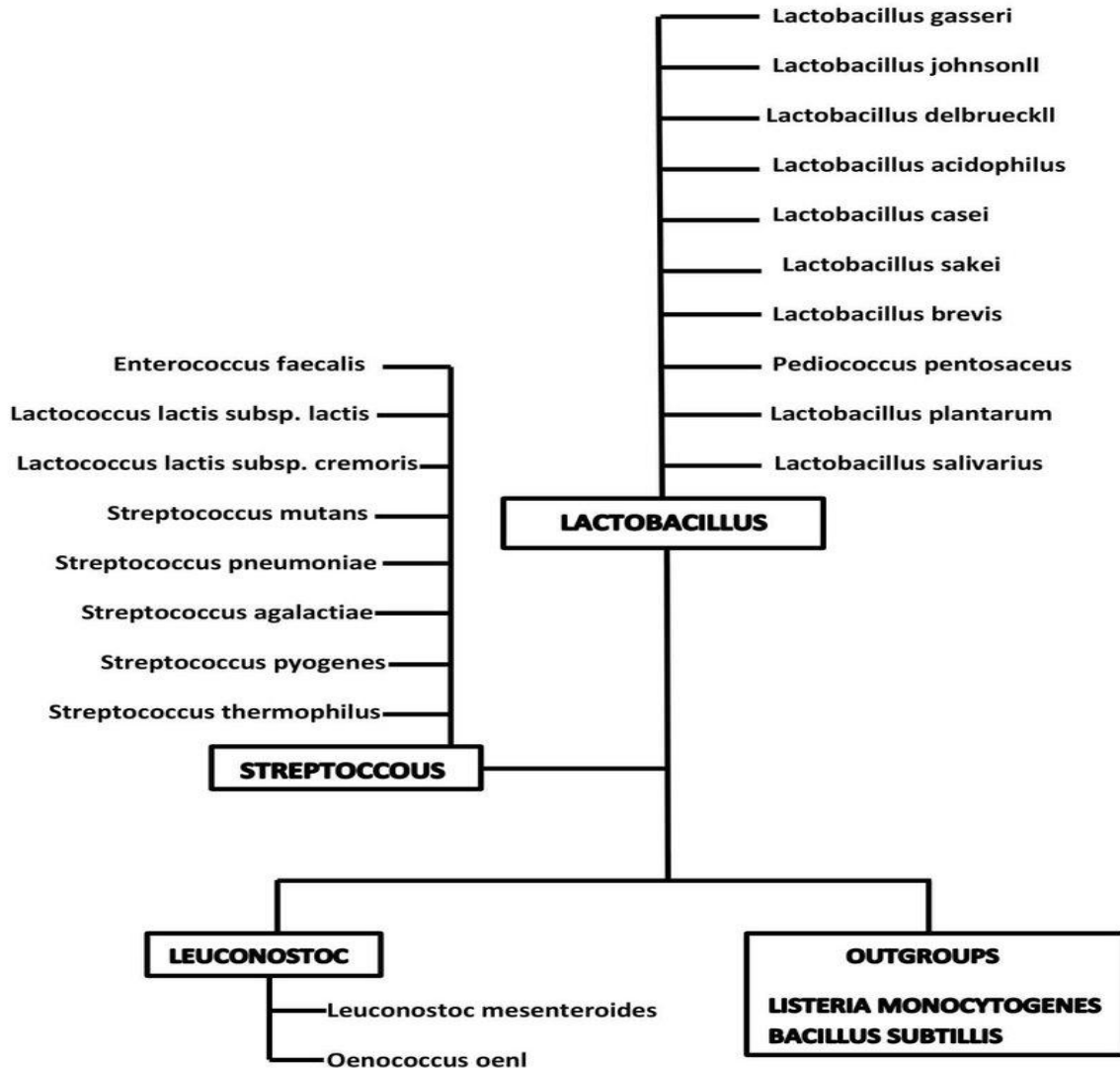


Figure 1. Différenciation des espèces selon la classification récente (Gupta et al., 2018)

6. Les principaux genres des bactéries lactiques

6.1. Genre *Lactobacillus*

Sont des bacilles Gram positifs, anaérobies, aéro-tolérantes, acidophiles, leur température optimale de croissance est de 30 °C à 40 °C, le pH optimal est de 5.5-6.2, utilisant le glucose par le processus de fermentation appelé glycolyse (Taye et al., 2021). Il existe plus de 200 espèces de *Lactobacillus*, le genre le plus important et le plus diversifié parmi les bactéries lactiques (LAB). Les *Lactobacillus spp* font partie du microbiote des humains et des

animaux où ils colonisent le tractus gastro-intestinal (GIT). On les trouve également dans une variété de produits alimentaires, des fruits et légumes à une gamme de produits naturellement fermentés (Hill et al., 2018).

6.1.1. Caractères morphologiques

Les *Lactobacillus* sont caractérisés par des bactéries Gram - positif, généralement non mobiles, non sporulés (Ahirwar et al., 2017) sont des anaérobies facultatifs, catalase négative, non sporulés (Goldstein et al., 2015), le plus adapté à leur culture est celui de Man Rogosa et Sharpe (MRS), il favorise la croissance des bactéries lactiques y compris le genre *Lactobacillus* (Hayek et al., 2019), elles sont généralement de petite taille, lisses, brillants et présentent une forme arrondie. Généralement non pigmentées, la plupart des *Lactobacillus* prospèrent à des températures optimales comprises entre 30 et 40 °C et restent viables jusqu'à 55 °C. Leur croissance est favorisée dans des environnements acides, avec un pH optimal pour la croissance situé entre 3 et 8 (Pot et al., 2014). La figure 02 montre l'aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observée par microscopie électronique



Figure 2.Aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observé par microscope électronique (Tirée de dominaturossacea.com)

6.1.2. Caractères biochimiques

Les lactobacilles sont divisés en 3 groupes (Tableau 01)

Groupe I : Lactobacilles homofermentaires : ces lactobacilles produisent principalement de l'acide lactique à partir d'hexoses via la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ou la glycolyse. Ils fermentent les sucres tels que le glucose en acide lactique, sans produire de gaz (Pot et al., 2014).

Groupe II : Les lactobacilles facultativement hétérofermentaires ont la capacité de fermenter à la fois les hexoses (comme le glucose) et les pentoses (comme la xylose). En conséquence, ils peuvent produire non seulement de l'acide lactique, mais aussi d'autres sous-produits de

fermentation tels que l'acide acétique, l'éthanol et l'acide formique. Leur métabolisme facultativement hétérofermentaire leur confère une souplesse pour fermenter différents types de sucres et produire une gamme de produits de fermentation selon les conditions environnementales (Salveti et al., 2018).

Groupe III : Lactobacilles obligatoirement hétérofermentaires : ces lactobacilles métabolisent principalement les pentoses et les hexoses par une voie hétérofermentaire, conduisant à la production d'acide lactique et d'autres sous-produits de fermentation tels que l'acide acétique, l'éthanol et le CO₂(Pot et al., 2014).

Tableau 1. Les principaux groupes du genre *Lactobacillus*, selon le type fermentaire (Buron-Moles et al., 2019) ; (Campedelli et al., 2019)

Groupe 1 Homofermentaires strictes	Groupe 2 hétérofermentaires facultatifs	Groupe 3 hétérofermentaires strictes
<i>Lb. Acidophilus</i>	<i>Lb. acetotolerans</i>	<i>Lb. brevis</i>
<i>Lb. amylophilus</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Lb. buchneri</i>
<i>Lb. Amylovorus</i>	<i>Lb. bifementans</i>	<i>Lb. collinoides</i>
<i>Lb. crispatus</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. fermentum</i>
<i>Lb. delbrueckii subsp.</i>	<i>Lb. coryniformis</i>	<i>Lb. fructivorans</i>
<i>Lb. farciminis</i>	<i>subsp. torquens</i>	<i>Lb. fructosus</i>
<i>Lb. gallinarum</i>	<i>Lb. coryniformis</i>	<i>Lb. hilgardii</i>
<i>Lb. gasserii</i>	<i>Lb. cuvatus</i>	<i>Lb. kefir</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. graminis</i>	<i>Lb. malefermentans</i>
<i>Lb. jensenii</i>	<i>Lb. hamsteti</i>	<i>Lb. oris</i>
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Lb. homohiochii</i>	<i>Lb. panis</i>
<i>Lb. kefiranofaciens</i>	<i>Lb. intestinalis</i>	<i>Lb. parabuchneri</i>
<i>Lb. kefirgranum</i>	<i>Lb. murinus</i>	<i>Lb. parakefir</i>
<i>Lb. mali</i>	<i>Lb. paracasei subsp. Paracasei</i>	<i>Lb. pontis</i>
<i>Lb. ruminis</i>	<i>Lb. paracasei subsp. tolerans</i>	<i>Lb. Reuteri</i>
<i>Lb. salivarius subsp. salicinus</i>	<i>Lb. paraplantarum</i>	<i>Lb. sanfrancisco</i>
<i>Lb. salivarius subsp.</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. suebicus</i>
<i>Lb. Sharpeae</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Lb. vaccinostercus</i>
	<i>Lb. Rhamnosus</i>	<i>Lb. Vaginalis</i>

6.1.3. Intérêt technologique des *Lactobacillus*

Les lactobacilles jouent un rôle essentiel tant dans l'industrie alimentaire que dans la promotion de la santé humaine et animale. En tant qu'éléments clés de la fermentation alimentaire, ils contribuent à la production d'une gamme variée de produits laitiers et végétaux, tout en apportant des saveurs distinctes et en préservant la fraîcheur des aliments grâce à leur capacité à produire des composés antimicrobiens. Parallèlement, en tant que probiotiques, les lactobacilles sont largement utilisés pour soutenir la santé intestinale et renforcer le système immunitaire, bénéficiant ainsi à la fois aux humains et aux animaux. Leur présence naturelle dans la flore intestinale en fait des alliés précieux pour maintenir l'équilibre microbiologique de l'intestin, favorisant ainsi une meilleure digestion et une santé globale améliorée (Bintsis, 2018).

6.2. Autres genres des bactéries lactique

D'autres genres sont inclus dans le groupe des bactéries lactiques, comme le genre *Streptococcus* qui fermente les carbohydrates par le type fermentaire homofermentaire pour produire l'acide lactique, Le genre *Leuconostoc*, hétérofermentaire, produit en plus de l'acide lactique, l'acide acétique (Ayivi et al., 2020), Le genre *Bifidobacterium*, en raison de ses effets bénéfiques, c'est le principal genre utilisé comme microorganisme probiotique, les espèces les plus utilisées comme probiotiques sont : *Bf. bifidum*, *Bf. Longum* (Issa & Tahergorabi, 2019). Le genre *Enterococcus*, regroupant des bactéries homofermentaires et thermorésistantes, est souvent associé à une contamination fécale. Les espèces fréquemment rencontrées dans l'alimentation, telles que les fromages, le lait cru ou le lait pasteurisé, comprennent principalement en. *Faecalis*, en. *Faecium* et en. *Durant* (Bintsis, 2018), Le genre *Pediococcus* est composé de bactéries homofermentaires qui sont des aérobies facultatives.

Elles produisent de l'acide lactique comme principal produit final de la fermentation du glucose (Franz et al., 2014), Le genre *Lactococcus* sont homofermentaires et sont utilisés pour la production d'acide lactique à partir du glucose (Salveti et al., 2018).

7. Applications industrielles des bactéries lactiques

7.1. Les aliments fermentés

Les bactéries lactiques (LAB) jouent un rôle clé dans le processus de fermentation d'une grande variété d'aliments, contribuant non seulement à leur goût et à leur arôme uniques, mais aussi à leur valeur nutritionnelle et à leur conservation (Mozzi, 2016). Par leurs

activités métaboliques, les LAB transforment les sucres en acide lactique, réduisent les substances nocives (Wang et al., 2021). Au-delà de leur rôle dans la fermentation, certaines souches de LAB sont reconnues pour leur potentiel probiotique, offrant des avantages supplémentaires pour la santé lorsqu'elles sont consommées, les bactéries lactiques (LAB) jouent un rôle clé dans le processus de fermentation d'une grande variété d'aliments (tableau 02), contribuant non seulement à leur goût et à leur arôme uniques, mais aussi à leur valeur nutritionnelle et à leur conservation. Par leurs activités métaboliques, les LAB transforment les sucres en acide lactique, réduisant ainsi les substances nocives. Au-delà de leur rôle dans la fermentation, certaines souches de LAB sont reconnues pour leur potentiel probiotique, offrant des avantages supplémentaires pour la santé lorsqu'elles sont consommées (Srinivash et al., 2023).

Tableau 2. Bactéries lactiques dans la production de certains produits alimentaires fermentés (Bintsis, 2018)

Aliments fermentés	Genres de LAB
Kéfir	<i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> , and <i>Lactobacillus kefirgranum</i>
Yogourt	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>
Fromage	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
Korean kimchi	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Tofu	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Olives	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i>
Levain de panification	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. hilgardii</i>
Ice cream	<i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Concombre	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> ,
Butter and butter milk	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>Cremoris</i>

7.2. Les bactéries lactiques dans la bio préservation

Certaines LAB produisent des bactériocines, à savoir des polypeptides synthétisés par les bactéries au niveau du ribosome qui peuvent avoir un effet bactériostatique sur d'autres bactéries (Linares et al., 2017). En général, les bactériocines entraînent la mort cellulaire en inhibant la biosynthèse de la paroi cellulaire. Les bactériocines sont donc importantes dans l'industrie alimentaire où elles peuvent prévenir la détérioration des aliments ou l'inhibition des pathogènes alimentaires. Des exemples de bactériocines utiles produites par les bactéries lactiques sont la lacticine des *lactocoques*, la plantaricine de *Lactobacillus plantarum* et la macedovicine de *Streptococcus macedonicus*. Les bactériocines susmentionnées se sont révélées efficaces dans de nombreux systèmes alimentaires pour lutter contre les bactéries pathogènes ou d'altération des aliments (Bintsis, 2018).

7.3. Ingrédients alimentaires/additifs

La production de produits tels que le diacétyl, l'alanine et l'acétaldéhyde est essentielle pour le développement des saveurs caractéristiques dans divers produits alimentaires. L'alanine contribue à l'arôme des aliments en tant qu'édulcorant naturel. Le diacétyl est responsable d'une saveur beurrée distinctive. Il contribue à donner cette saveur particulière aux produits tels que le beurre, les fromages, et divers produits de boulangerie. L'acétaldéhyde est un autre composé aromatique crucial, surtout dans les produits laitiers comme le yaourt (Mozzi, 2016).

7.4. LAB en tant que probiotiques

Les bactéries lactiques (LAB) font partie intégrante de la modulation du microbiote intestinal, un écosystème crucial reconnu pour son impact profond sur la santé humaine (Mozzi, 2016).

Ces bactéries, généralement isolées à partir de produits fermentés traditionnels et de diverses sources humaines, sont des souches probiotiques appartenant principalement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Ont attiré l'attention pour leurs diverses propriétés thérapeutiques (Bintsis, 2018).

Parmi leurs nombreux avantages, les LAB ont été associés à l'amélioration des fonctions gastro-intestinales, au renforcement de l'immunité et à la prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques. Dans le domaine de la nutrition des animaux d'élevage, les aliments enrichis en LAB se sont révélés prometteurs pour réduire les troubles intestinaux, renforcer l'immunité et favoriser une croissance optimale (Mozzi, 2016).

Chapitre II : Les probiotiques

1. Définition :

Le terme « probiotique » vient du grec « pro bios », qui signifie « pour la vie ». Selon la définition de 2002 de la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) et de l'OMS (Organisation mondiale de la Santé), les probiotiques sont « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte ». Ces microorganismes contribuent activement à l'équilibre microbien intestinal, crucial pour maintenir la santé globale. Les probiotiques sont couramment présents dans les produits laitiers et non laitiers, souvent recommandés après une antibiothérapie pour reconstituer le microbiote intestinal. La consommation régulière d'aliments riches en probiotiques aide à établir un équilibre favorable des microbes bénéfiques dans la flore intestinale (FAO, 2002).

2. Définition des prébiotiques :

Le concept de prébiotique a été introduit il y a vingt ans, et malgré plusieurs révisions de la définition initiale, la communauté scientifique continue de débattre de ce que signifie être un prébiotique (Hutkins et al., 2016).

Le prébiotique a été décrit comme « un ingrédient alimentaire non digestible qui affecte favorablement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries dans le côlon, et améliore ainsi la santé de l'hôte » (Davani-Davari et al., 2019).

Les prébiotiques sont des glucides à chaîne courte non digestibles qui agissent comme substrats pour les bactéries probiotiques dans l'intestin telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Les prébiotiques les plus connus comprennent les galacto-oligosaccharides, les fructo-oligosaccharides et l'inuline et se trouvent naturellement dans divers aliments (Hyland & Stanton, 2023). Les prébiotiques exercent de nombreux effets positifs sur la santé humaine en stimulant les microbes bénéfiques, notamment en améliorant l'immunité de l'hôte et la fonction barrière intestinale, tout en réduisant les bactéries potentiellement pathogènes. Les prébiotiques peuvent également être utilisés en combinaison avec des probiotiques (synbiotiques) pour améliorer les effets d'un probiotique. Cela s'est avéré plus efficace pour modifier la composition de la microbiote intestinale que l'utilisation d'un probiotique seul (Hyland & Stanton, 2023).

3. Les synbiotiques :

Une autre définition est celle de « synbiotique » : il s'agit de produit qui combine à la fois un prébiotique et un probiotique (Nectoux, 2022). Plus récemment, ont été défini ce que sont les « postbiotiques » (Figure 03) (Nectoux, 2022).

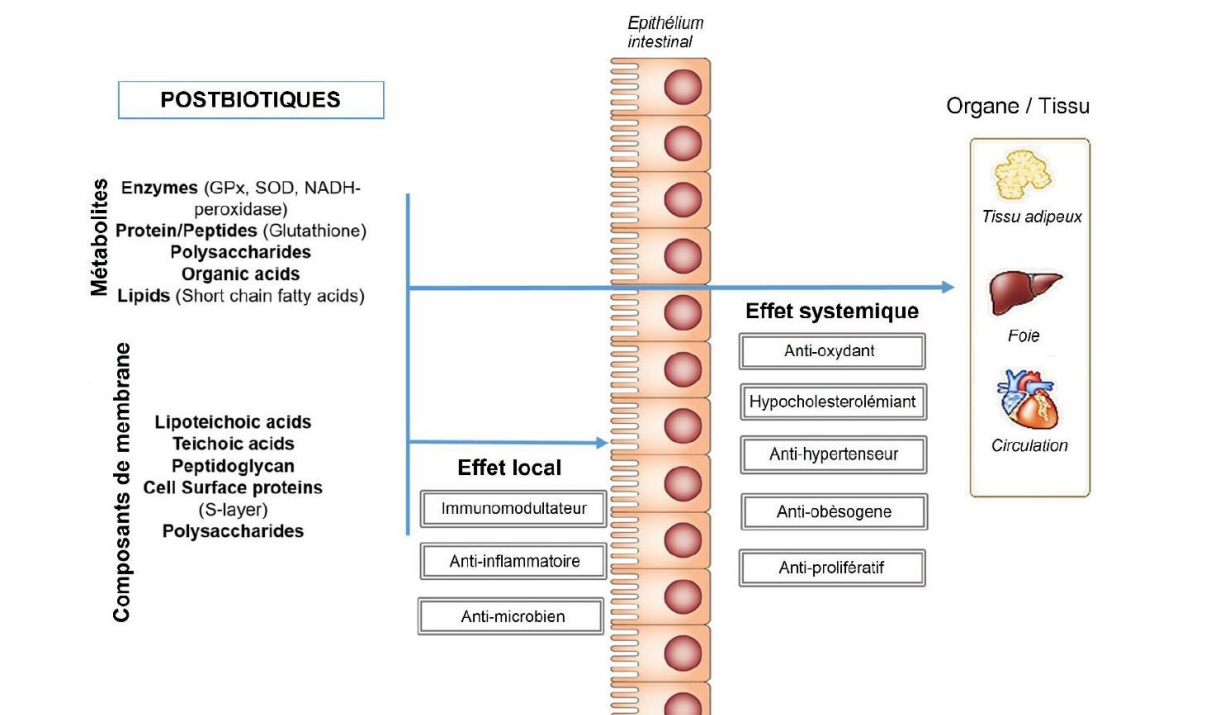


Figure 3. schéma résumant l'action des postbiotiques (Nectoux, 2022)

4. Historique des probiotiques :

L'histoire des probiotiques a commencé avec la consommation d'aliments fermentés, observés pour la première fois dans les anciens Grecs et les Romains. En 1907, Ellie Metchnikoff, lauréate du prix Nobel, a d'abord proposé les effets bénéfiques des microorganismes probiotiques sur la santé humaine. Metchnikoff a émis l'hypothèse que les Bulgares étaient en bonne santé et vivaient longtemps en raison de la consommation de produits laitiers fermentés constitués de bactéries en forme de bâtonnets (*Lactobacillus spp.*). Ces bactéries affectent positivement la microflore intestinale et diminuent l'activité toxique microbienne. Le terme « probiotique » a été utilisé pour la première fois en 1965 par Lilly et Stillwell pour décrire des substances qui stimulent la croissance d'autres micro-organismes. Depuis lors, le mot « probiotique » a été utilisé dans différents contextes en fonction de son mécanisme et des effets sur la santé humaine (Hyland & Stanton, 2023).

5. Les microorganismes probiotiques classification :

Pour qu'un micro-organisme soit considéré comme un probiotique, la validation des bénéfices pour la santé, l'identification de la souche et d'autres caractéristiques sont nécessaires). Pendant longtemps, seul un nombre très limité de souches microbiennes actuellement utilisées dans les produits alimentaires ou en tant que compléments ont été considérées comme des probiotiques sur la base de leurs propriétés pertinentes (Chang et al., 2016).

les souches les plus populaires sont représentées par les genres suivants : *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium*, mais d'autres organismes, notamment des entérocoques et des levures, ont également été utilisés comme probiotiques. Certaines de ces souches ont été choisies sur la base de critères de sélection considérés comme importants pour leur efficacité, tels que l'origine de la souche, l'adhérence in vitro aux cellules intestinales et la survie lors du passage dans le tractus gastro-intestinal (Khalighi et al., 2016).

Tableau 3. Les microorganismes probiotiques (Chang et al., 2016; Fijan, 2014 ; Khalighi et al., 2016 ; Rajkumar et al., 2015 ; Zarate & Perez Chaia, 2015)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Cocci Gram positif</i>	<i>d'autres bactéries</i>	<i>levures</i>
<i>Lb.acidophilus</i>	<i>Bf.infantis</i>	<i>Lactococcus lactissubspcremoris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb.casei</i>	<i>Bf.adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>B.coagulans</i>	
<i>Lb.rhamnosus</i>	<i>Bf.animalisSubsplactis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Pr.freudenreichii</i>	
<i>Lb.brevis</i>	<i>Bf.longum</i>	<i>St.diaacetylactis</i>	<i>Pr.pentosaceus</i>	
<i>Johnsonii</i>	<i>Bf.breve</i>	<i>Pediococcuspentosaceus</i>	<i>Pr.parvulus</i>	
<i>Lb.plantarum</i>	<i>Bf.thermophilum</i>	<i>P.parvulus</i>	<i>Pr.acidilactici</i>	
<i>Lb.fermentum</i>		<i>P.acidilactici</i>		
<i>Lb.reuteri</i>				
<i>Lb.cellobiosis</i>				
<i>Lb.curvatus</i>				

6. Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques :

« Le choix des probiotiques dépend à la fois de leurs propriétés spécifiques et du type d'utilisation envisagé. Ces propriétés sont intrinsèques à chaque souche et ne peuvent pas être généralisées d'une souche à une autre, même au sein d'une seule espèce. » (F. W. Kagambèga et al., 2019).

Pour que les micro-organismes soient considérés comme des probiotiques, les critères suivants doivent être remplis : selon (**Binda et al., 2020 ; FAO, 2002**)

Tableau 4.les critères de sélection des souches

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • Nom correct selon les règles de nomenclature bactérienne. • Identifié génétiquement au niveau du genre, de l'espèce et de la souche. • Non nocif ni infectieux. • Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques.
Critères Fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Résistance à l'acidité gastrique, à la bile et aux enzymes digestives. • Production de substances antimicrobiennes telles que des bactériocines, des acides organiques, ou d'autres composés inhibiteurs, avec un antagonisme envers les pathogènes.. • Survie dans les sites pertinents de l'organisme. • Adhésion au mucus ou aux cellules épithéliales intestinales. • Stimulation de système immunitaire. • Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé.
Critères Technologiques.	<ul style="list-style-type: none"> • stables et viables pendant une longue période au cours du processus de stockage et de fermentation des aliments • Préservation des bienfaits probiotiques post-production. • Conservation des qualités sensorielles du produit final

7. L'adhérence des probiotiques

L'adhérence des probiotiques est définie comme une liaison initiale ou une adhérence des bactéries probiotiques et est basée sur des interactions physiques non spécifiques à une certaine surface. Les facteurs d'adhésion sont les structures moléculaires à la surface des bactéries probiotiques qui facilitent cette liaison. Cette adhésion initiale déclenche alors des interactions distinctes entre les structures d'adhérence sur les bactéries et par ex. les récepteurs correspondants sur l'hôte. Certains chercheurs ont défini certains de ces facteurs d'adhésion comme des «composants dérivés de cellules». L'adhésion des bactéries probiotiques est considérée comme un aspect clé en relation avec la modulation du système immunitaire de l'hôte ainsi que pour l'exclusion des pathogènes entériques (**Gorreja & Walker, 2022**).

8. Mécanisme d'action :

Pour qu'un probiotique exerce des effets bénéfiques, il doit rester viable et atteindre le tractus gastro-intestinal en nombre suffisant. Ainsi, il existe de nombreux défis dans la

livraison réussie des probiotiques car le sort des probiotiques ingérés doit être pris en compte. Les souches probiotiques ingérées par voie orale passent à travers le tractus gastro-intestinal, où elles sont soumises à des niveaux de pH bas dans l'estomac et à des niveaux élevés d'enzymes dans le duodénum. Après cela, les cellules sont exposées à la bile, à la pancréatine et à la lipase dans l'intestin grêle (**Derrien & van Hylckama Vlieg, 2015**).

Les microorganismes probiotiques sont reconnus pour leur capacité à promouvoir la santé de l'hôte, bien que les mécanismes exacts de cette action restent à expliquer. Des recherches ont été menées pour comprendre le fonctionnement des probiotiques (**Mazziotta et al., 2023**).

a. La digestion :

Les probiotiques favorisent la synthèse et, par conséquent, l'augmentation de nombreuses enzymes digestives, ce qui entraîne une amélioration de la digestion et de l'absorption au niveau intestinal. Ceci peut être particulièrement bénéfique pour les individus présentant naturellement un déficit de production enzymatique (**Khushboo et al., 2023**).

b. Transit intestinal

Le temps que la nourriture passe à travers le système digestif dépend de la façon dont les intestins bougent, surtout le côlon. Les mouvements des intestins sont importants pour éviter que les mauvaises bactéries ne se développent trop. Par exemple, lorsque les intestins bougent rapidement, cela limite la croissance des bactéries nocives (**Dasriya et al., 2024**).

c. Modification du pH intestinal

Les bactéries lactiques agissent en fermentant, ce qui produit des composés comme le lactate, l'acétate. Ces substances sont acides et abaissent le pH intestinal. Cette acidification limite la croissance de certaines bactéries, telles qu'*Escherichia coli*, qui sont Gram-négatives, et réduit ainsi leur pathogénicité (**Cela et al., 2023**).

d. Renforcement de la barrière épithéliale :

Les dysfonctionnements de la barrière épithéliale intestinale (BEI) jouent un rôle central dans de nombreuses pathologies pédiatriques, notamment dans le développement des allergies alimentaires chez l'enfant. La maturation post-natale de la BEI est influencée par divers facteurs, notamment le microbiote. Dans ce contexte, certaines souches probiotiques pourraient se révéler utiles pour atténuer les dysfonctionnements de la BEI chez les nourrissons associés aux allergies (**Vanhaecke et al., 2017**).

e. Production de substances inhibitrices

Les probiotiques, en produisant divers composés antibactériens tels que les bactériocines, les acides organiques, les acides gras libres, l'ammoniac et le peroxyde d'hydrogène, ont la capacité de restreindre la croissance des agents pathogènes dans le tractus intestinal (Nectoux, 2022).

f. Compétition pour l'adhésion

Les souches probiotiques rivalisent avec les bactéries pathogènes pour s'attacher aux sites de la surface épithéliale de l'intestin. En faisant cela, ces probiotiques empêchent certaines espèces pathogènes de coloniser et de s'attacher (Halloran & Underwood, 2019).

Certaines souches de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus* ont la capacité de se fixer à la surface de la muqueuse intestinale, renforçant ainsi la fonction barrière et limitant l'invasion des pathogènes. Il est démontré que, dans des conditions *in vitro*, des souches probiotiques ont le pouvoir d'empêcher l'adhésion de pathogènes voire même de les déplacer de leurs sites de fixation au niveau de l'intestin (Malbos, 2021).

g. Compétition pour les nutriments

L'ajout de microorganismes supplémentaires au niveau du microbiote du fait de l'ingestion de probiotiques va induire une augmentation de la demande en substrats. Cela va donc provoquer un phénomène de compétition entre pathogènes et probiotique pouvant aboutir à une diminution de la croissance des pathogènes (Nectoux, 2022).

9. Rapport FAO/OMS évaluant la sécurité des probiotiques dans les aliments

Le consortium conjoint FAO/OMS, qui s'est réuni à Córdoba (Argentine) du 1er au 4 octobre 2001, a reconnu la demande croissante du marché pour les aliments à base des probiotiques qui doit être rationalisé par des directives appropriées, une approche systématique et une évaluation de la sécurité des probiotiques avant qu'ils n'atteignent les consommateurs (FAO, 2002).

Le groupe de consultation a également déterminé les méthodes pour évaluer les probiotiques dans les aliments qui auront un impact positif sur la santé (Figure 6).

L'objectif du groupe de travail spécialisé était de déterminer et d'énoncer les normes minimales pour les probiotiques dans les aliments qui doivent être présentes pour qu'un article puisse porter la désignation « aliment probiotique »

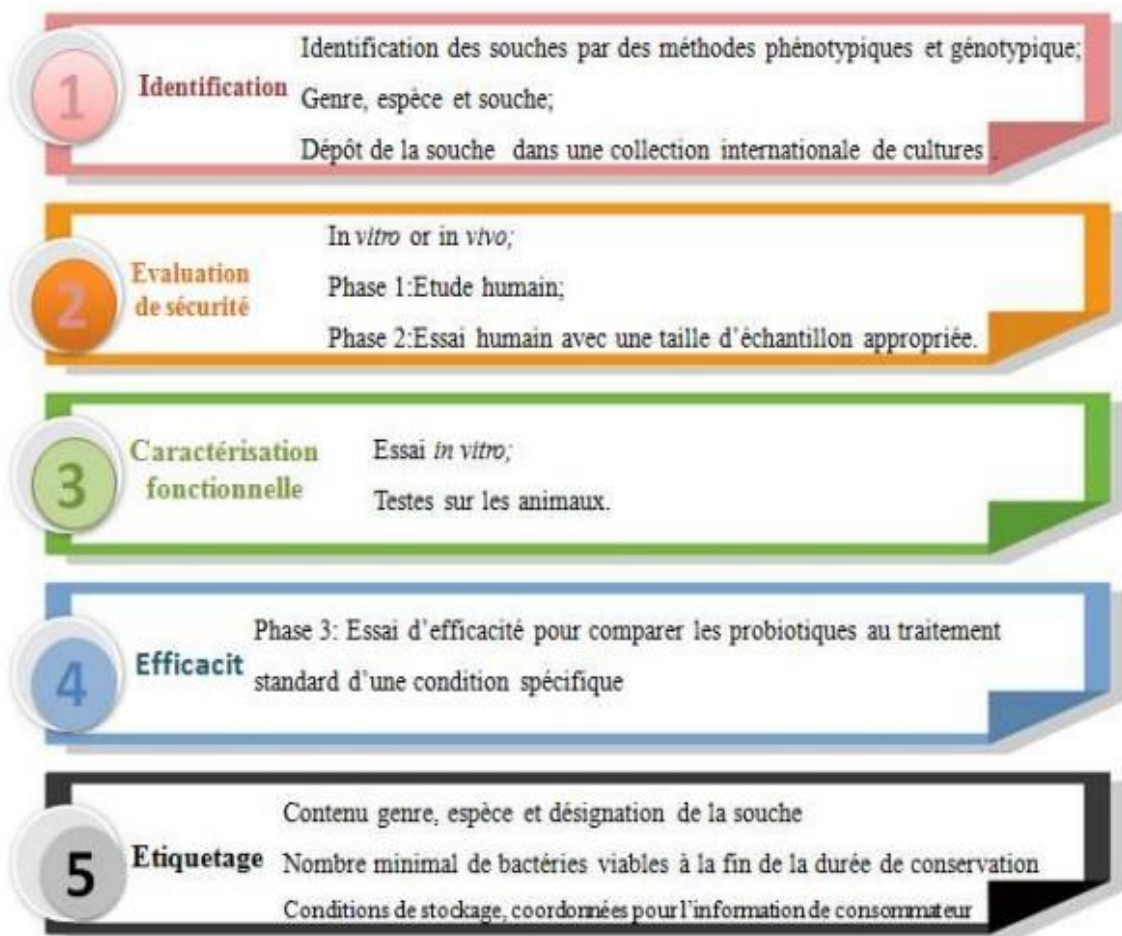


Figure 4. Évaluation globale de la sécurité et de la fonctionnalité du probiotique pour une utilisation dans des applications alimentaires (Koirala & Anal, 2021)

10. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine

Les probiotiques ont fait l'objet d'une exploration étendue à la fois dans la recherche et sur le marché commercial, avec une grande variété de produits disponibles mondialement (Mazzantini et al., 2021). Cependant, il est admis que l'efficacité des probiotiques peut varier considérablement et que les résultats peuvent différer selon les souches utilisées (Chen et al., 2016).

Des études indiquent que la consommation de probiotiques peut être préconisée en tant qu'approche préventive pour maintenir l'équilibre de la microflore intestinale, ainsi que pour intervenir dans le traitement de diverses maladies et troubles spécifiques (Prabhurajeshwar & Chandrakanth, 2017). Cela souligne l'importance potentielle des probiotiques dans la promotion d'une santé intestinale optimale et dans la gestion des problèmes de santé, bien que leur efficacité puisse varier d'une personne à l'autre et selon les types de probiotiques utilisés.

Plusieurs effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine sont résumés dans le tableau 05

Tableau 5. les principaux effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine (Aureli et al., 2011 ; Debeyer, 2020 ; B. Kagambèga et al., 2019)

Effets intestinaux	Sur le système immunitaire	Autre effets
Améliore l'intolérance au lactose	Modulation du système immunitaire	Réduction du risque des maladies comme les cancers
Réduction de diarrhées liée aux antibiotiques	Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes	Maladies des reins
Diarrhée aigue infectieuse	Régulation de la réponse immune allergique et inflammatoire	Des voies respiratoires
Diarrhées du voyageur TURISTA		Du cœur
Contrôle des troubles :		Alzheimer
- Infection par <i>Helicobacter pylori</i>		L'obésité et diabète
- Syndrome du colin irritable		Réduit la concentration sérique de cholestérol, la tension
- Maladie inflammatoire chronique de l'intestin		Améliore la santé génito-urinaire
- Constipation		Optimise effets des vaccins
- Infections liées à <i>Clostridium difficile</i>		

Partie Expérimentale

Chapitre III :
Matériel et Méthodes

1. Matériels

1.1. Objectif du travail

L'objectif de cette étude était d'évaluer les caractéristiques probiotiques telles que l'adhésion, l'auto-agrégation, l'hydrophobicité, l'autolyse et la tolérance au jus gastrique de nombreuses souches de *Lactobacillus* provenant de produits laitiers (beurre de lait de chèvre) et de thé fermenté.

Méthodologie : Dans cette étude, l'auto-agrégation, la Co-agrégation, l'hydrophobicité, l'autolyse, tolérance au jus gastrique et les capacités d'adhérence de douze souches de *Lactobacillus* appartenant à différentes espèces ont été évaluées.

1.2. Présentation du lieu et durée de travail :

La démarche expérimentale pour cette étude a été menée dans le laboratoire de biologie moléculaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Abdelhamid Ben Badis de Mostaganem. Cette institution est renommée pour ses installations modernes et ses équipements spécialisés qui ont permis la réalisation des expériences nécessaires (laboratoire P2).

La période de travail s'est étendue du 13 mars 2024 au 31 mai 2024, durant laquelle des tests rigoureux ont été effectués pour évaluer les attributs probiotiques des 12 souches de *Lactobacillus* isolées à partir de produits alimentaires (beurre de lait de chèvre, thé fermenté).

1.3. Isolats des bactéries lactiques

Pour étudier les critères d'adhérence des bactéries lactiques, nous avons travaillé sur douze bactéries lactiques isolées à partir de thé fermenté et de beurre de lait de chèvre, provenant de la collection personnelle de M BENTAHAR Mohamed chérif laboratoire de physiologie animale appliquée de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Abdelhamid Ben Badis de Mostaganem. Ces isolats sont :

- DC01 :PP709510 *Levilactobacillus brevis*
- DC02 : PQ303223 *Levilactobacillus brevis*
- DC04 : OP 003879 *Lactiplantibacillus pentosus*
- DC06 : PP709364 *Levilactobacillus brevis*
- DC08 : PQ303224 *Levilactobacillus brevis*
- DC09 : PQ303225 *Levilactobacillus brevis*
- DC10 : PQ303227 *Levilactobacillus brevis*
- TF03 : OR856558 *Levilactobacillus brevis*
- TF04 : OR856532 *Levilactobacillus brevis*

- TF13:OR857375 *Levilactobacillus brevis*
- TF17 : OR888890 *Levilactobacillus brevis*
- *Lactobacillus rhamnosus GG* (contrôle)

La conservation des souches bactériennes pendant le travail a été réalisée à une température de +4 °C dans un milieu MRS (gélose solide ou liquide), ce qui est considéré comme idéal pour assurer leur stabilité à court terme. Cette température a été choisie pour préserver l'intégrité génétique et les caractéristiques physiologiques des souches, créant ainsi des conditions optimales pour les expérimentations ultérieures dans le cadre de cette étude.

1.4. Matériel expérimental

1.4.1. Les souches bactériennes

1.4.1.1. Les souches lactiques

- DC-1A : *Levilactobacillus brevis*
- DC 2: *Levilactobacillus brevis*
- DC 04 : *Lactiplantibacillus pentosus*
- DC-6 : *Levilactobacillus brevis*
- DC8 : *Levilactobacillus brevis*
- DC9 : *Levilactobacillus brevis*
- DC10 *Levilactobacillus brevis*
- TF03: *Levilactobacillus brevis*
- TF04 : *Levilactobacillus brevis*
- TF13 : *Levilactobacillus brevis*
- TF17 : *Levilactobacillus brevis*
- *Lactobacillus rhamnosus GG* (contrôle)

1.4.1.2. La souche pathogène

- *Escherichia coli*.

1.4.2. Le milieu de culture

Tableau 6. Milieux utilisés et conditions d'incubation des souches

Micro-organismes	Milieux d'isolement	Température °C	Durée
<i>Lactobacilles</i>	Man-Rogosa-Sharpe (annexe 1)	37 °C	24 h
<i>Escherichia coli</i>	bouillon nutritif	37 °C	24 h

1.4.3. Produits chimiques

- Solvants : xylène, chloroforme, acétate d'éthyle
- Alcool : Éthanol
- Colorant : Violet de gentiane, Fuchsine, Lugol
- Autre : Na Cl

1.4.4. Tampon

La réalisation de la présente étude a nécessité le tampon : PBS « Tampon Phosphate Salin » à pH=7.2-7.4 (composition chimique en annexe 2)

1.4.5. Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Anse de platine
- Autoclave
- Bain-marie
- Balance de précision
- Bec Bunsen
- Centrifugeuse
- Étuve
- Hotte
- Micropipettes
- pH-mètre
- Plaque chauffante
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre
- Vortex

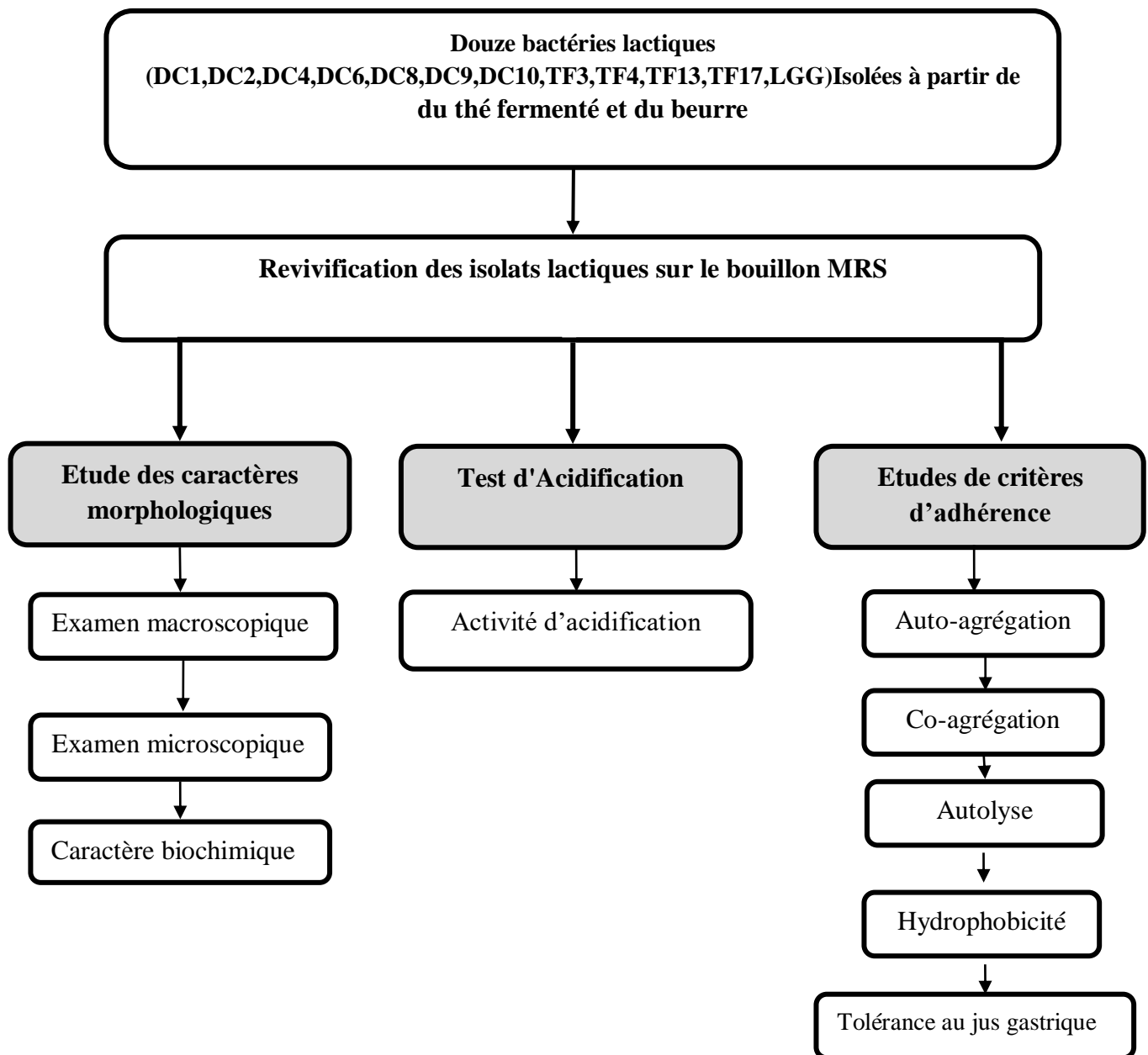
1.4.6. Verrerie et petit matériel

- Bêchers de 200, 500 et 1000 ml
- Boîtes de Pétri en plastique
- Erlenmeyers
- Flacons en verre (de 250 ml)
- Les embouts jaunes et bleu
- Pipettes graduées (1 ml, 5 ml, 10 ml...)
- Pipettes Pasteur
- Tubes à essai
- Tubes Eppendorf

2. Méthode :**2.1. Procédure expérimentale :**

La démarche expérimentale globale concernant cette étude est illustrée par l'organigramme suivant :

Figure 5. Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale



1.1.1 Revivification des souches :

Des cultures microbiennes préalablement conservées à 4 °C ont été revivifiées par des repiquages successifs sur des milieux MRS (Man, Rogosa, Sharpe). Les échantillons ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 24 heures pour favoriser la croissance des microorganismes.

1.1.2 Étude des caractères morphologiques

1.1.2.1 Examen macroscopique

Cet examen est réalisé par une observation visuelle qui consiste à décrire les colonies obtenues sur la gélose après incubation (couleur, taille, contour, aspect...)

1.1.2.2 Examen microscopique

Il a été effectué sur un frottis bactérien préparé à partir des colonies en culture pure puis fixé et coloré par la méthode de coloration Gram (annexe 04). Cet examen permet de déterminer la morphologie des cellules bactériennes (taille, forme et mode d'association).

1.1.2.3 Test de la catalase

La catalase est une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement de l'oxygène. Son action directe est mise en évidence dans la masse bactérienne



Pour réaliser ce test, une colonie d'une culture bactérienne à tester a été émulsionnée dans l'eau oxygénée sur lame. La présence de la catalase se manifeste par l'apparition d'une mousse renseignant sur la présence de bulles d'oxygène (Vitolo, 2021).

1.1.3 Études de critères d'adhérence des souches probiotique :

Pour l'évaluation des critères d'adhésion des souches probiotiques, des tests tels que l'auto-agrégation, la Co-agrégation, l'autolyse, l'hydrophobie, la tolérance au jus gastrique et l'acidification ont été réalisés. Des tests d'auto-agrégation et de co-agrégation ont été réalisés pour évaluer les capacités d'agrégation des souches, tandis que le test d'autolyse mesurait la dégradation des cellules bactériennes (Collado et al., 2007).

L'hydrophobie a été évaluée pour déterminer les propriétés de surface des souches, et la tolérance au suc gastrique a été testée pour évaluer la capacité de survie dans des conditions gastriques. Les propriétés d'adhésion des souches probiotiques sont cruciales pour leur colonisation dans le tractus gastro-intestinal et leur capacité à inhiber les pathogènes (Collado et al., 2007).

Des études ont montré que l'adhésion à la muqueuse intestinale est un critère clé pour sélectionner des souches probiotiques potentiellement bénéfiques pour la santé. De plus, la capacité des probiotiques à adhérer à la muqueuse gastro-intestinale et à exclure de manière compétitive les agents pathogènes est essentielle à leur efficacité (Collado et al., 2007).

En conclusion, l'évaluation des critères d'adhésion des souches probiotiques à travers divers tests fournit des informations précieuses sur leur potentiel en tant que probiotiques, soulignant l'importance des propriétés d'adhésion dans leur fonctionnalité et leurs bienfaits pour la santé.

1.1.3.1 Test d'auto-agrégation

En auto agrégation, des bactéries du même type, par exemple en culture pure, forment des agrégats. Cela contraste avec la Co-agrégation, où des bactéries de différentes souches, voire de différentes espèces s'associent. Ainsi, l'auto agrégation peut être considérée comme un processus d'auto reconnaissance. Ce phénomène est largement observé chez les espèces bactériennes, tant environnementales que pathogènes (Trunk et al., 2018).

Le test d'auto agrégation est réalisé selon la méthode décrite par (Chaudhary & Saharan, 2019)

- Cultures bactériennes pendant 18 heures (over night) à 37 °C dans du bouillon MRS
- Récolte des cellules par centrifugation à 10 000 tpm pendant 10 minutes à 4 °C.
- Lavage du culot obtenu deux fois avec du PBS (pH 7.4).
- Remise en suspension du culot dans le même tampon, concentration finale de 10^8 cellules/ml (DO600nm = 0,5).
- Vortex de quatre millilitres (4 ml) de la suspension cellulaire pendant 10 secondes.
- Incubation de la suspension à température ambiante pendant 24 heures.
- Transfert de 100 μ L de la surface de la suspension dans une cuvette contenant 900 μ L de PBS.
- Mesure de la densité optique à 600 nm (A0) avec un spectrophotomètre.
- Répétition de la procédure de mesure de densité optique après 1 heure (A1), 24 heures (A24)
- Le pourcentage d'auto-agrégation a été exprimé comme suit :

$$\% \text{ d'auto-agrégation} = [1 - (A_t - A_0 / A_0) \times 100]$$

A0 : représente l'absorbance initiale

At: représente les absorbances à 1, 24 h

1.1.3.2 Test de Co-agrégation

La Co-agrégation est un processus par lequel des bactéries de types génétiquement différents se reconnaissent spécifiquement, ce qui aide à maintenir et enrichir différentes espèces au sein des biofilms bactériens (Yang et al., 2022).

La co-agrégation des isolats contre pathogènes est déterminée selon (Chaudhary & Saharan, 2019)

- Chaque souche bactérienne est cultivée individuellement : les bactéries lactiques (LAB) dans du bouillon MRS pendant 18 heures et Escherichia coli dans un bouillon nutritif pendant 24 heures, toutes deux à 37 °C, afin de permettre aux cultures d'atteindre leur phase exponentielle de croissance
- Les cultures bactériennes sont centrifugées à 10 000 rpm pendant 10 minutes à 4 °C pour séparer les cellules du milieu de culture.
- Les culots obtenus sont lavés deux fois avec une solution de PBS (pH 7.4) pour éliminer les résidus de milieu de culture.
- Les culots lavés sont ensuite remis en suspension dans la solution de PBS jusqu'à atteindre une concentration finale de 10^8 cellules/ml. Cette concentration est vérifiée par une lecture de l'absorbance à 600 nm, qui devrait être d'environ 0,5.
- 1 ml de suspension de chaque souche isolée est mélangé avec 1 ml de chaque suspension de souche pathogène. Cela crée des cultures mixtes contenant deux souches bactériennes différentes.
- Des tubes de contrôle sont préparés en ajoutant 4 ml de chaque suspension bactérienne individuelle. Ces tubes serviront à évaluer l'absorbance des cultures bactériennes sans interaction.
- 100 μ L de chaque suspension, à la fois des cultures mixtes et des cultures individuelles, sont transférés dans des cuves spectre contenant 900 μ L de solution PBS.
- L'absorbance est mesurée à 600 nm (A) pour chaque échantillon à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette mesure est effectuée immédiatement après le mélange pour établir une valeur de référence (A0).
- Le pourcentage de Co-agrégation est calculé à l'aide de la formule suivante

$$\% \text{ de Co-agrégation } \left[\frac{(A_x + A_y)/2 - (A_{x+y})}{(A_x + A_y)/2} \right] \times 100$$

- x et y représentent chacune des deux souches dans les tubes de contrôle et (x + y) représentent la Co-culture.

1.1.3.3 Test d'autolyse

La viabilité cellulaire est limitée par les processus d'autolyse, de mort cellulaire et d'affaiblissement cellulaire. L'autolyse est un processus par lequel les cellules déclenchent leur propre lyse en réponse à une agression chimique ou à une blessure physique. Ce processus est médié par des enzymes appelées auto lysines. Le processus d'autolyse chez les bactéries lactiques (LAB) est influencé par de nombreux facteurs tels que le pH, la température et la force ionique. De même, l'activité des auto lysines dans les LAB est influencée par le pH (**Zimmerman & Ibrahim, 2021**).

L'autolyse des isolats a été mesurée selon la méthode donnée par (**JAIN et al., 2017**)

- Culture fraîche de 18 heures préparée dans du bouillon MRS
- Culot bactérien récupéré par centrifugation à froid à 10 000 rpm/min pendant 10 minutes, suivi de deux lavages successifs.
- Culot bactérien resuspendu dans 1,5 ml de PBS.
- Densité optique initiale de la suspension ajustée approximativement à 0,5 à 600 nm (DO initiale)
- Incubation de la suspension à température ambiante pendant 24 heures.
- Transfert de 100 µL de la surface de la suspension dans une cuvette contenant 900 µL de PBS.
- Mesure de la densité optique à 600 nm (A0) avec un spectrophotomètre.
- Répétition de la procédure de mesure de densité optique après 24 heures (A24)
- Le pourcentage d'autolyse a été exprimé comme suit :

$$\% \text{ d'autolyse} = 1 - [(A_t/A_0) \times 100]$$

1.1.3.4 Hydrophobicité

La hydrophobicité de la surface cellulaire d'une souche probiotique est un indicateur de sa capacité de colonisation intestinale, c'est-à-dire de son adhésion et de sa persistance une fois qu'elle a pénétré dans la cavité intestinale. Une plus grande hydrophobicité est associée à une meilleure colonisation observée (**Farid et al., 2021**).

Cette propriété est étudiée par la méthode décrite par (Barzegar et al., 2021) avec modification

- Culture fraîche de 18 heures préparée dans du bouillon MRS.
- Culot bactérien récupéré par centrifugation à froid à 10 000 rpm pendant 10 minutes, suivi de deux lavages successifs.
- Culot bactérien re suspendu dans 1,5 ml de PBS.
- Densité optique initiale de la suspension ajustée approximativement à 0,5 à 600 nm (DO initiale).
- Ajout de 1 ml de chaque solvant (xylène, chloroforme et acétate d'éthyle) doucement à 3 ml de la suspension bactérienne.
- Mélange agité en utilisant un vortex pendant 2 minutes.
- Incubation pendant 3 heures.
- Phase aqueuse récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Mesure de la densité optique finale (DO finale).
- La différence de la densité optique est considérée comme une mesure de l'hydrophobicité (H%) calculée par l'équation suivante :

$$\%d'hydrophobicité = [1 - ((A_t - A_0) / A_0) \times 100]$$

1.1.3.5 Tolérance au jus gastrique

La tolérance à l'acide gastrique est une caractéristique clé des probiotiques qui fait référence à leur capacité à survivre et à rester viables lorsqu'ils sont exposés à des conditions acides de l'estomac dans le tractus gastro-intestinal. Les probiotiques doivent traverser ces environnements hostiles pour atteindre l'intestin où ils peuvent exercer leurs effets bénéfiques sur la santé (Abbas et al., 2021).

En d'autres termes, un probiotique ayant une bonne tolérance à l'acide gastrique et aux sels biliaires est capable de maintenir sa viabilité et son activité fonctionnelle malgré les conditions difficiles rencontrées dans le tractus digestif supérieur. Cette caractéristique est cruciale pour assurer l'efficacité des probiotiques une fois ingérés (Abbas et al., 2021).

Tolérance au jus gastrique ont été analysées en utilisant les méthodes de (Kazancigil et al., 2019)

- Un jus gastrique a été préparé dans une solution à pH 2,0 (annexe 03)

- Les cultures microbiennes de 18 heures ont été centrifugées (10,000 rpm, 10 min) et lavées deux fois avec un tampon PBS
- Culot bactérien resuspendu dans 1,5 ml de PBS
- Les cultures microbiennes ont été réintroduites dans le jus gastrique simulé et incubées à 37 °C pendant 3 heures
- Des dilutions en série des jus gastriques incubés ont été effectuées etensemencées sur gélose MRS les colonies ont été dénombrées après incubation pendant 2 jours à 37 °C
- Taux de survie a été exprimé comme suit :

$$\text{Taux de survie \%} = ((\text{Log CFUN1} / \text{Log CFU N0}) \times 100)$$

- N1 = nombre total de bactéries dans le suc gastrique simulé ; N0 = nombre total de bactéries dans dès qu'un ajout au suc gastrique simulé

1.1.3.6 Activité d'acidification (mesure du changement dans le pH)

Ce test consiste à suivre l'évolution du pH des différentes souches en fonction du temps

- Culture fraîche de 18 heures préparée dans du bouillon MRS
- Culot bactérien récupéré par centrifugation à froid à 10 000 tpm pendant 10 minutes, suivi de deux lavages successifs.
- Culot bactérien resuspendu dans 1,5 ml de PBS.
- 50 ML de lait + 2 % de culture bactérienne
- Incubation a 37 °C
- mesure de pH à (0, 6,48 h)

$$\Delta\text{pH} = \text{pH (aux temps 6 et 48 h)} - \text{pH (temps zéro)}.$$

Chapitre IV :
Résultats et Discussion

1. Étude des caractères morphologiques

1.1. Examen macroscopique

Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies

Quant au bouillon MRS, l'appréciation doit se manifester par l'apparition d'un trouble après 24 h d'incubation à 37 °C

1.2. Examen microscopique

La procédure de coloration de Gram appliquée aux différentes souches a mis en évidence une caractéristique commune : toutes les souches ont été classées comme Gram positif. Cette observation s'est accompagnée d'une constatation supplémentaire intéressante : une forme prédominante, celle du bacille, a été largement observée parmi ces souches

1.3. Test de la catalase.


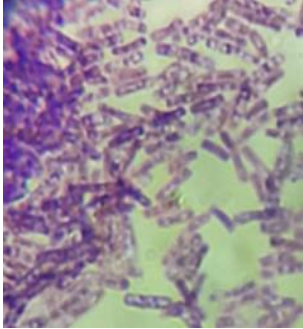

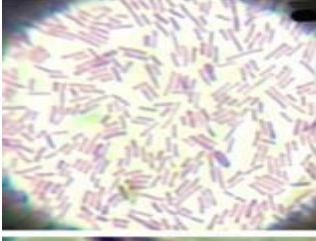

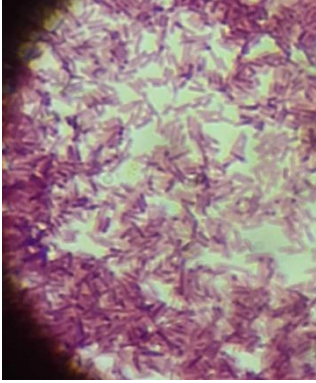
Les résultats du test de la catalase ont révélé que l'ensemble des souches étaient catalase (-).

Au terme de ces résultats, tous les isolats Gram (+) et catalase (-) sont considérés préalablement comme des BL.

Le test de la catalase a révélé que toutes les souches testées ont donné un résultat négatif à la réaction de la catalase.

Chapitre IV : Résultat et Discussion

Tableau 7. Caractère des souches de *Lactiplantibacillus pentosus*, *Levilactobacillus brevis* et *Lactobacillus rhamnosus* LGG

Caractères Souches	Aspect des colonies sur gélose	Observation microscopique (Forme, Mode d'association)	Gra m	Catala se
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	 DC4 25/03/24		(+)	(-)
<i>Levilactobacillus brevis</i>	 TF04 25/03/24		(+)	(-)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG	 LGG 25/03/24		(+)	(-)

2. Études de critères d'adhérence des souches probiotique :

2.1. Auto-agrégation

Auto-agrégation signifie l'agrégation bactérienne entre les cellules de la même souche. La souche bactérienne peut interagir avec elle-même d'une manière non spécifique. Pour fournir un effet bénéfique, une souche probiotique doit adhérer à la cavité buccale et au tractus gastro-intestinal. Ainsi, l'auto-agrégation est le facteur vital à considérer pour adhérer à la muqueuse de la cavité buccale et du tractus gastro-intestinal. Sa capacité à adhérer à la surface muqueuse intestinale en fait une considération importante lors du choix d'une culture probiotique. Les souches probiotiques colonisant l'intestin peuvent produire des réponses biologiques bénéfiques, comme influencer le système immunitaire et une concurrence accrue avec les agents pathogènes dans l'intestin(Srinivash et al., 2023).

Le pourcentage d'auto-agrégation des souches sélectionnées de LAB variaient de $11,80 \pm 2,23$ à $69,42 \pm 0,62$ %. Parmi tous les isolats comme indiqué dans le tableau 08. Nous avons utilisé LGG comme le contrôle positif, qui a montré une capacité d'auto agrégation de $17,13 \pm 2,32$ %. Les souches DC-2 *Levilactobacillusbrevis* et DC-6 *Levilactobacillusbrevis* montrés les plus fortes capacités d'auto-agrégation avec ($69,42 \% \pm 0.62$) et ($51,96 \% \pm 2.33$). En revanche, DC-8 *Levilactobacillusbrevis* a montré la plus faible capacité auto-agrégation avec ($11,80 \pm 2,23$ %). Une étude similaire menée par (Fadare et al., 2023) sur une souche de *Levilactobacillusbrevis* a rapporté un pourcentage d'auto-agrégation élevé de de ($60,0 \% \pm 2.99$). *Lactiplantibacilluspentosus*DC-4 a montré ($31,03 \% \pm 1.26$),une autre étude menée par (Montoro et al., 2016) sur une 31 souches de *Lactiplantibacilluspentosusa* montrés des capacités d'auto-agrégation variant entre 16 % et 35 %.

La capacité de l'auto agrégation a permis aux bactéries lactiques de former des agrégats et des colonies qui seraient nécessaires aux fonctions probiotiques. Cela pourrait permettre d'attacher et de concurrencer les bactéries pathogènes qui existent à la surface de la muqueuse intestinale (Darmastuti et al., 2021).

Tableau 8.Le pourcentage d’auto-agrégation des souches de Lactobacillus

souches	%Auto-agregation
<i>Levilactobacillusbrevis DC-1</i>	22,76±1,58
<i>Levilactobacillusbrevis DC -2</i>	69,42±0,62
<i>Lactiplantibacilluspentosus DC-4</i>	31,03±1,26
<i>Levilactobacillusbrevis DC-6</i>	51,96±2,33
<i>Levilactobacillusbrevis DC- 8</i>	11,80±2,23
<i>Levilactobacillusbrevis DC- 9</i>	48,90±2,96
<i>Levilactobacillusbrevis DC-10</i>	37,05±2.57
<i>Levilactobacillus brevis TF-3</i>	17,74±1,4
<i>Levilactobacillus brevis TF-4</i>	27,74±1,78
<i>Levilactobacillus brevis TF-13</i>	23,69±2,52
<i>Levilactobacillusbrevis TF-17</i>	45,41±2,67
<i>Lactobacillus rhamnosus LGG</i>	17,13±2,32

2.2. Co-agrégation

La Co agrégation est définie comme le processus d’agrégation conjointe de bactéries probiotiques et pathogènes. Les probiotiques peuvent coagréger avec des micro-organismes pathogènes, supprimer leur croissance, et enfin les tuer en produisant des composés antimicrobiens qui attaquent directement les cellules bactériennes pathogènes (**Srinivash et al., 2023**) ,les phénotypes coaggregatifs de lactobacilles ont été étudiés avec *E. coli*. Nous avons utilisé la souche *LGG* comme témoin positif, et sa capacité de Co-agrégation était de $26,73 \pm 0,0 \%$;une étude similaire menée par (**Tuo et al., 2013**) sur une souche de *L. rhamnosus GG* montré une capacité de Co agrégation de $21,81 \pm 1,26 \%$

Les rapports de co-agrégation sont présentés dans le tableau 09. Toutes les souches testées présentaient certaines propriétés de Co-agrégation avec *E. coli*. La souche *DC-6 Levilactobacillusbrevis* a montré la plus grande capacité de Co-agrégation $27,06 \pm 0,05 \%$,

Chapitre IV : Résultat et Discussion

tandis que les souches DC2 et *Levilactobacillus brevis* TF-4 ont montré la plus faible capacité de Co-agrégation $26,45 \pm 0,0$ %. dans une étude similaire menée sur deux souches de *Lactobacillus brevis* (MN749954.1 et MG646884.1) (Barzegar et al., 2021) ont montré un pourcentage d'auto-agrégation de 19 % et 31 % respectivement.

Lactiplantibacillus pentosus DC-4 montre un pourcentage de 26,88 % $\pm 0,0$. Nos résultats sont similaires à ceux de (Coimbra-Gomes et al., 2023) ; ayant obtenu un pourcentage de Co-agrégation compris entre $22,56 \pm 6,07$ % et $32,34 \pm 5,20$ % sur une souche de *L. pentosus* isolée à partir des olives de table Cobrançosa with *E. coli* .

La Co agrégation joue un rôle crucial dans l'élimination des agents pathogènes du tractus gastro-intestinal. Les souches de Lactobacilles peuvent former une barrière empêchant la colonisation par des bactéries pathogènes grâce à la Co agrégation. En coagrégeant avec des pathogènes potentiels, les souches probiotiques peuvent produire des substances antimicrobiennes à proximité immédiate des pathogènes, inhibant ainsi leur croissance dans le tractus gastro-intestinal (Tuo et al., 2013).

Tableau 9. Le pourcentage de Co-agrégation des souches de *Lactobacillus*

souches	%Co-agrégation
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC-1	$26.59 \pm 0,0$
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC- 2	$26.45 \pm 0,0$
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> DC-4	$26.88 \pm 0,0$
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC-6	$27.06 \pm 0,05$
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC- 8	$27.02 \pm 0,0$
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC- 9	$26.49 \pm 0,08$
<i>Levilactobacillus brevis</i> DC-10	26.86 ± 0.08
<i>Levilactobacillus brevis</i> TF-3	$26.54 \pm 0,08$
<i>Levilactobacillus brevis</i> TF-4	$26.45 \pm 0,0$
<i>Levilactobacillus brevis</i> TF-13	$26.73 \pm 0,0$
<i>Levilactobacillus brevis</i> TF-17	$26.31 \pm 0,0$
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG	$26.73 \pm 0,0$

2.3. Autolyse

L'activité autolytique est une des propriétés intéressantes des bactéries lactiques (LAB) qui mène à la libération d'enzymes intracellulaires de lipase et de protéase, efficaces pour améliorer les caractéristiques sensorielles et texturales des produits laitiers (**Barzegar et al., 2021**)

Le pourcentage d'autolyse des souches sélectionnées de LAB variait de $10,80 \% \pm 2,23$ à $67,27 \% \pm 1,57 \%$, comme le montre le tableau 10. La souche témoin positif, *L. rhamnosus* LGG, montrait une fonction autolytique modérée $16,13 \pm 2,32 \%$. La majorité des souches testées ont révélé une performance d'autolyse élevée, notamment DC-2 *Levilactobacillusbrevis* et *Levilactobacillusbrevis* DC-6 avec des taux respectifs de $67,27 \% \pm 1,57$ et $49,61 \% \pm 4,57$, tandis que *Lactiplantibacilluspentosus*DC-4 montrait un pourcentage de $28,57 \% \pm 0,0$. Selon une étude de (**Ayad et al., 2004**), les lactobacilles isolés de produits laitiers traditionnels égyptiens ont présenté un taux d'autolyse variant de 0 à 96 %. Les résultats les plus bas étaient montrés par la souche DC-8 *Levilactobacillusbrevis* $10,8 \% \pm 2,23$. Ces résultats sont en accord avec ceux de (**Barzegar et al., 2021**), qui ont obtenu 10,2 % pour *L. brevis* B3 isolé à partir de fromages au lait cru iranien.

L'autolyse est une dégénérescence spontanée des cellules bactériennes due à l'âge ou à des conditions défavorables. Lors de l'autolyse, des enzymes intracellulaires sont libérées hors de la cellule, ce qui est utile pour les produits laitiers, par exemple le fromage, car ces enzymes aident à améliorer la texture et la saveur (**JAIN et al., 2017**).

Tableau 10.Le pourcentage d'autolyse des souches de Lactobacillus

souches	%Autolyse
<i>Levilactobacillusbrevis DC-1</i>	21.76±1,58
<i>Levilactobacillusbrevis DC -2</i>	67.27±1,57
<i>Lactiplantibacilluspentosus DC-4</i>	28.57±0,0
<i>Levilactobacillusbrevis DC-6</i>	49.61±4,57
<i>Levilactobacillusbrevis DC- 8</i>	10.80±2,23
<i>Levilactobacillusbrevis DC- 9</i>	47.9±2,96
<i>Levilactobacillusbrevis DC-10</i>	36.05±2.57
<i>Levilactobacillus brevis TF-3</i>	16.74±1,40
<i>Levilactobacillus brevis TF-4</i>	26.74±1,78
<i>Levilactobacillus brevis TF-13</i>	22.69±2,52
<i>Levilactobacillusbrevis TF-17</i>	44.41±2,67
<i>Lactobacillus rhamnosusLGG</i>	16.13±2,32

2.4. Hydrophobicité

L'hydrophobie de surface cellulaire est l'interaction non spécifique entre l'hôte et la bactérie Cellules (**Chaudhary & Saharan, 2019**).

Trois solvants différents ont été testés dans le cadre de cette étude : le xylène, qui est un solvant polaire ; le chloroforme, un solvant monopolaire et acide ; et l'acétate d'éthyle, un solvant monopolaire et basique. Seule l'adhésion bactérienne au xylène a démontré l'hydrophobie ou l'hydrophile de surface cellulaire. L'adhésion bactérienne en présence de chloroformes et d'acétate d'éthyle a été considérée comme un indicateur de la capacité du donneur d'électrons (basique) et de la capacité d'acceptation de l'électron (acide), respectivement (**Mladenović et al., 2020**).

Douze souches de lactobacilles présentaient une hydrophobicité allant de 44,83 % ± 2,55 % à 99,08 % ± 0,85 %, comme le montre la figure 06. Nous avons utilisé la souche *LGG* comme témoin positif. La plupart des souches ont montré une hydrophobicité plus faible que

Chapitre IV : Résultat et Discussion

LGG $89,97 \% \pm 1,37 \%$, une étude similaire menée par (Zhao et al., 2023) sur une souche de *L. rhamnosus* GG avec du xylène montre une hydrophobicité de 76 %.

En revanche, *Levilactobacillusbrevis* DC-2 et DC-9 ont montré les hydrophobicités les plus élevées ($98,16 \% \pm 0,45 \%$ et $99,08 \% \pm 0,85 \%$). Une étude similaire menée par (Mushtaq et al., 2023) sur *Levilactobacillusbrevis* MZ384011 et *Levilactobacillusbrevis* MW362779 isolée d'échantillons d'excréments carnivores et de lait maternel humain montre des hydrophobicités de $72,61 \% \pm 0,6 \%$ et $62,52 \% \pm 1,3 \%$ respectivement. Tandis que *Lactiplantibacilluspentosus* DC-4 montre une hydrophobicité de $69,9 \% \pm 2,33 \%$. Une étude similaire menée par (Vasudha et al., 2023) sur *Lactiplantibacilluspentosus* isolé de lait fermenté montre une hydrophobicité de 63 %.

La plupart des souches montrent une affinité modérée à élever pour le chloroforme, avec *Levilactobacillusbrevis* TF-17 et DC-2 affichant les valeurs les plus élevées ($97,83 \% \pm 0,42 \%$ et $93 \% \pm 0,85 \%$), tandis que *Lactiplantibacilluspentosus* DC-4 montre une hydrophobicité de $80,01 \% \pm 1,37 \%$. Le résultat de l'étude menée par (Lakhlifi et al., 2023) est proche des nôtres. Ces auteurs ont également trouvé que l'hydrophobie de la souche *Lactiplantibacilluspentosus* 22B isolée du blé et du lait de chameau était de 81 % pour le chloroforme. La souche contrôle LGG présente une hydrophobicité de $78,76 \% \pm 1,12 \%$. Une étude similaire menée par (Jang et al., 2019) sur *Lactiplantibacilluspentosus* montre une hydrophobicité de 71,9 %.

L'affinité des souches de *Levilactobacillus* et *Lactiplantibacillus* pour l'acétate d'éthyle montre que *Levilactobacillusbrevis* DC-2 et DC-9 ont une hydrophobicité élevée avec des valeurs de $89,65 \% \pm 1,23 \%$ et $91,85 \% \pm 0,63 \%$. Tandis que *Levilactobacillusbrevis* TF-4 montre la valeur la plus faible avec $33,06 \% \pm 1,79 \%$. Une étude similaire menée par (Xu et al., 2024) sur des souches de *Levilactobacillusbrevis* isolées de légumes salés chinoise montre une hydrophobicité variant de 33,6 % à 60 %, et la souche *Lactiplantibacilluspentosus* DC-4 montre une hydrophobicité de $93,1 \% \pm 1,61 \%$, tandis que LGG montre une hydrophobicité de $40,76 \% \pm 2,44 \%$.

Selon plusieurs études, les niveaux d'hydrophobie variaient selon les souches. La diversité de l'hydrophobicité basée sur la méthode MATH a été causée par l'influence de la variété de souches, la durée du temps de culture, le milieu de culture, la présence d'acides et le type de solvant utilisé. L'hydrophobicité peut différer entre les souches d'espèces et les

changements avec un changement de la souche, le milieu de suspension composition, âge des bactéries et structure de la surface cellulaire (Darmastuti et al., 2021).

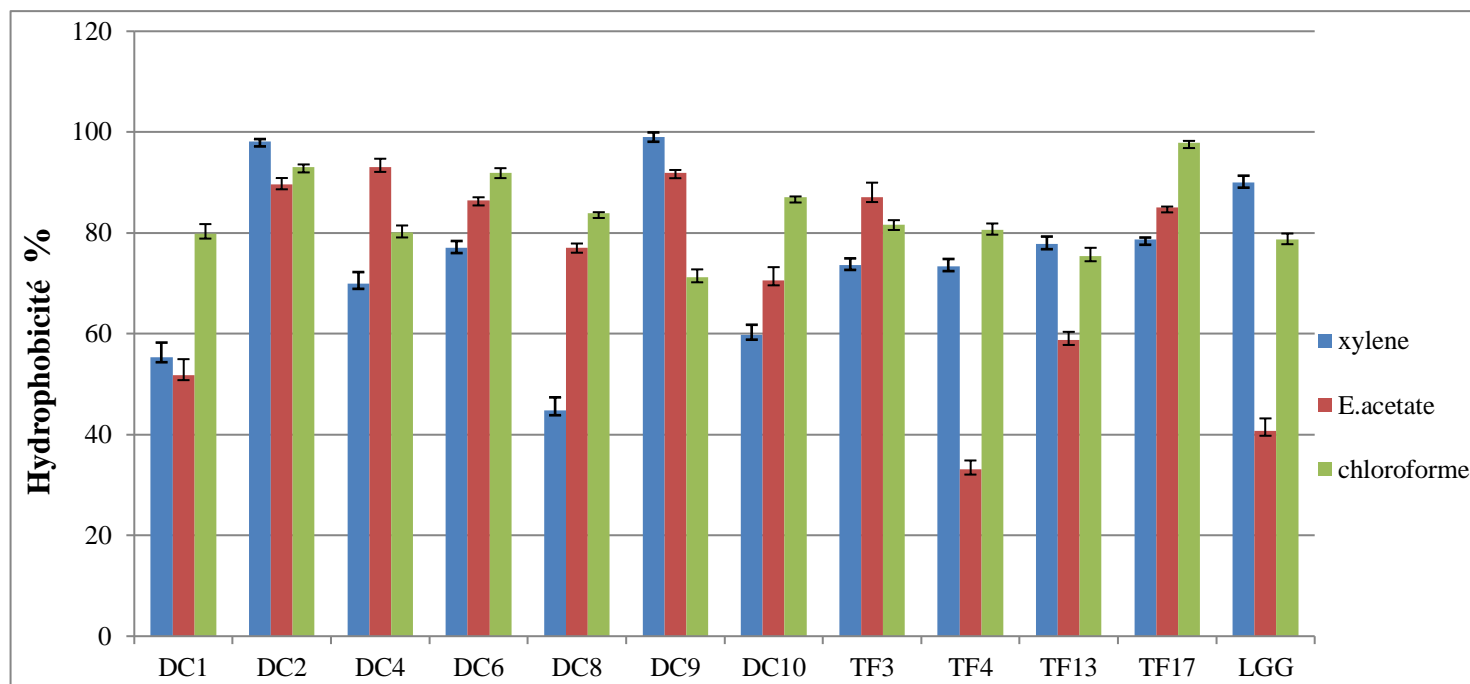


Figure 6. Pourcentage d'hydrophobicité des souches de lactobacilles

2.5. Résistance au pH gastrique

Les souches probiotiques doivent être résistantes à de faibles valeurs de pH, puisqu'elles doivent passer à travers les conditions de l'estomac (Grujović et al., 2019). Les résultats de la mesure de la survie des lactobacilles après une exposition à des conditions gastro-intestinales simulées sont résumés dans la figure 07. Selon les résultats obtenus, après 3 heures d'incubation à un pH de 2, le taux de survie varie entre 72,22 % et 92,30 %. La souche *Lactiplantibacillus pentosus* DC-4 a montré le plus fort taux de survie avec 92,30 %. Une étude similaire menée par (Montoro et al., 2016b) montre que toutes les souches de *L. pentosus* ont pu survivre (>85 à 100 %) à faible pH (2-3); les souches *Levilactobacillus brevis* varient entre 72,22 % à 77,77 %. Les résultats de notre étude sont en accord avec ceux de (Kocabay, 2023), qui a rapporté un taux de survie de 72,22 % pour une souche de *Levilactobacillus brevis*.

La souche LGG montre un taux de survie de 90 %, Selon (Zhao et al., 2023), Les taux de survie de *L. rhamnosus* GG est restés supérieurs à 90 % lorsqu'ils ont été incubés dans des sucs gastriques artificiels (pH 2,0) pendant 3 heures, *L. rhamnosus* GG est une souche typique avec une tolérance élevée aux conditions dans le tractus gastro-intestinal (Shehata & Newmaster, 2020).

La tolérance au pH bas est cruciale pour déterminer la capacité des souches à conserver leur viabilité en atteignant le site d'action afin de stimuler tout bénéfice physiologique pour le consommateur (Motey et al., 2021). Divers facteurs peuvent augmenter la résistance des bactéries probiotiques aux conditions acides dans l'estomac, y compris la matrice alimentaire qui agit comme vecteur de bactéries probiotiques, ce qui peut augmenter le pH et permettre aux bactéries de survivre plus longtemps (Barzegar et al., 2021).

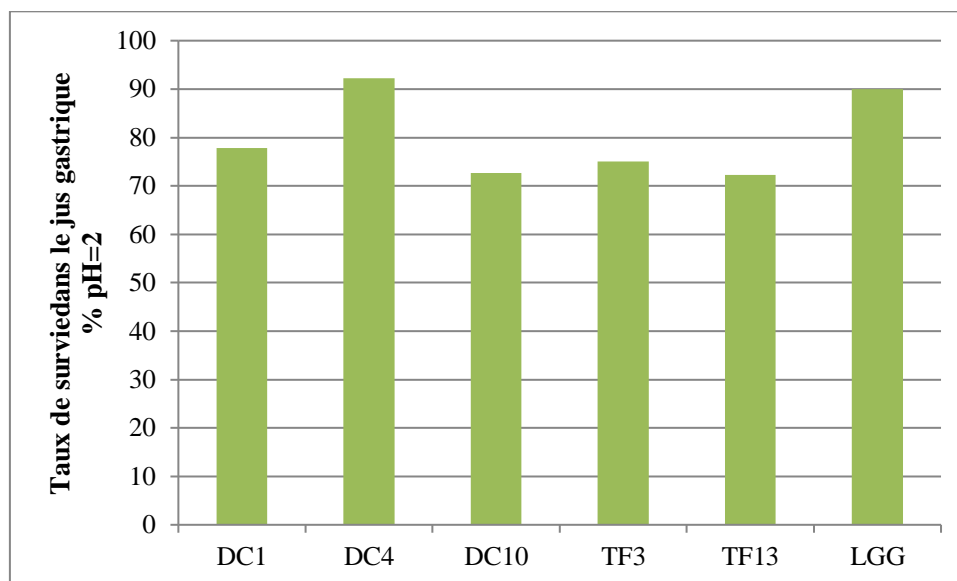


Figure 7. Taux de survie des souches de Lactobacilles aux pH gastrique

2.6. Activité acidifiante

Après 6 et 48 heures d'incubation, les changements de pH ont été enregistrés entre 0,24–0,83 et 0,9–3,92, respectivement (figure 08). La souche *LGG* a diminué le pH de 0,46 unités après 6 heures et de 1,8 unités après 48 heures. Une étude sur une souche de *L. rhamnosus* GG par (Barzegar et al., 2021) a montré une diminution du pH de 0,5 unités après 6 heures et de 1,8 unités après 48 heures.

La souche *Lactiplantibacillus pentosus DC-4*, qui a montré la plus forte acidification, a diminué le pH de 0,68 unités après 6 heures et de 3,92 unités après 48 heures. Une recherche sur une souche de *L. plantarum* par (Nezhad et al., 2020) a montré une diminution du pH de $2,06 \pm 0,06$ unités après 24 heures.

En revanche, la souche *Levilactobacillus brevis DC-9* a affiché la plus faible acidification, avec une diminution du pH de seulement 0,24 unités après 6 heures et de 0,9 unités après 48 heures. Une étude sur une souche de *L. brevis* par (Nezhad et al., 2020) a

montré une diminution du pH de $0,83 \pm 0,03$ unités après 48 heures. Une autre étude sur deux souches de *L. brevis* (B2) et *L. brevis* (B3) a montré une variation de pH après 6 et 48 heures d'incubation de 0,7-2,3 et 0,4-1,6 respectivement, ce qui est en accord avec nos propres résultats (Barzegar et al., 2021).

Dans les produits laitiers fermentés, la chute rapide du pH, qui est causée par l'activité des cultures de départ et d'adjuvants, conduit à une augmentation de l'acidité et de la consommation de lactose. (Nezhad et al., 2020). Ce phénomène a un impact sur les caractéristiques microbiologiques des produits laitiers fermentés et la durée de conservation du produit. C'est pourquoi, dans les produits laitiers fermentés, la baisse rapide du pH est cruciale. L'acidification rapide aide au drainage du lactosérum, inhibe la croissance de la plupart des agents pathogènes, et crée l'environnement biochimique nécessaire à l'activité des enzymes protéolytiques et lipolytiques pendant la maturation, qui assure le développement du profil aromatique typique du fromage (Nezhad et al., 2020).

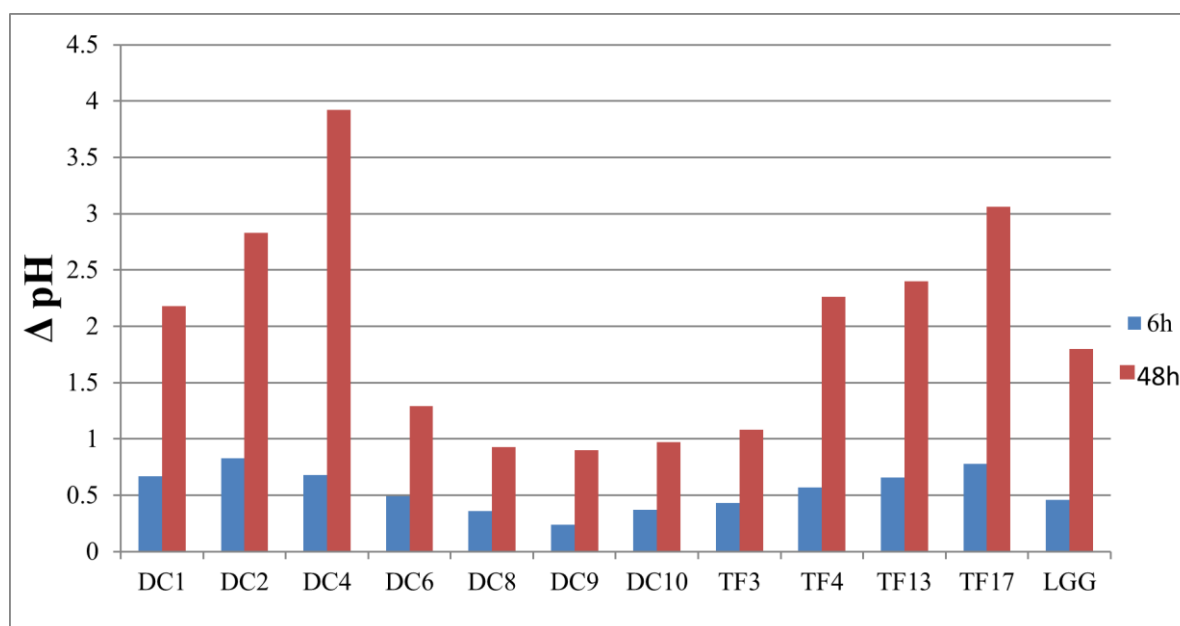


Figure 8. Variations du pH dans Lait écrémé reconstitué (RSM) moyen après 6 et 48 heures

Conclusion

Conclusion

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Cette étude a fourni une analyse exhaustive des caractéristiques probiotiques de diverses souches de *Lactobacillus*, en mettant particulièrement l'accent sur leur capacité d'auto-agrégation, de co-agrégation, d'autolyse, leur niveau d'hydrophobicité, ainsi que leur tolérance aux conditions gastro-intestinales, notamment les jus gastriques.

Les résultats indiquent que les souches sélectionnées présentent des propriétés probiotiques prometteuses, essentielles pour leur survie et leur fonctionnalité dans le tractus gastro-intestinal humain. La capacité de ces souches à s'auto-agréger et à Co-agréger avec des pathogènes potentiels suggère leur potentiel à former une barrière protectrice dans l'intestin, empêchant ainsi la colonisation par des bactéries nuisibles. Les niveaux élevés d'hydrophobicité observés chez certaines souches renforcent leurs capacités d'adhérence à la muqueuse intestinale, cruciales pour une colonisation efficace et des effets bénéfiques prolongés.

De plus, l'activité autolytique de ces souches de *Lactobacillus*, menant à la libération d'enzymes intracellulaires telles que des lipases et des protéases, souligne leur potentiel à améliorer les qualités sensorielles et texturales des produits alimentaires fermentés. Cette caractéristique peut être particulièrement précieuse dans l'industrie laitière, où de telles enzymes peuvent améliorer la qualité et la saveur du fromage et d'autres produits fermentés.

Les taux de survie de ces souches dans des conditions gastriques simulées démontrent leur résilience et leur capacité à supporter l'environnement acide sévère de l'estomac. Cette tolérance est essentielle pour garantir qu'un nombre significatif de cellules viables atteignent les intestins, où elles peuvent exercer leurs bienfaits probiotiques.

En somme, les souches de *Lactobacillus* étudiées présentent un ensemble solide de traits probiotiques, les rendant candidates idéales pour une incorporation dans les aliments fonctionnels et les compléments alimentaires visant à promouvoir la santé intestinale. Les recherches futures devraient se concentrer sur des études in vivo pour confirmer ces résultats in vitro et explorer davantage les bénéfices potentiels de ces souches chez l'homme.

Perspectives

Les recherches futures devraient se concentrer sur des études in vivo pour confirmer ces résultats in vitro et explorer davantage les bénéfices potentiels de ces souches chez l'homme. Il serait également intéressant de :

Évaluation des matrices alimentaires : Explorer comment différentes matrices alimentaires influencent la survie et la fonctionnalité des souches probiotiques dans le tractus gastro-intestinal.

Étude des mécanismes d'action : Comprendre les mécanismes par lesquels les souches exercent leurs effets bénéfiques au niveau moléculaire et cellulaire.

Formulations optimisées : Développer des formulations probiotiques en combinant différentes souches pour maximiser les effets bénéfiques.

Effets sur différentes populations : Mener des essais cliniques sur diverses populations (enfants, adultes, personnes âgées) pour déterminer les effets spécifiques et les doses optimales.

Applications non alimentaires : Examiner le potentiel des souches de *Lactobacillus* dans des applications pharmaceutiques ou cosmétiques, exploitant leurs propriétés probiotiques pour des avantages supplémentaires.

Références bibliographique

Références bibliographiques

-A-

- Abbas, A., Kanwar, K., Aslam, B., Bilal, M., Yaseen, K., Ali, A., Qayyum, F., & Zafar, N. (2021). Determination of antimicrobial, pH, bile salt, and gastric juice tolerance properties of Lactobacilli isolated from human milk. *International Food Research Journal*, 28(2), 302-308.
- Ahirwar, S. S., Gupta, M., Gupta, G., & Singh, V. (2017). Screening, isolation and identification of lactobacillus species from dental caries of children. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 6(1), 497-503.
- Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A. M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Poli, A., Pregliasco, F., Salvini, F., & Zuccotti, G. V. (2011). Probiotics and health: an evidence-based review. *Pharmacological research*, 63(5), 366-376.
- Ayad, E., Nashat, S., El-Sadek, N., Metwaly, H., & El-Soda, M. (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food microbiology*, 21(6), 715-725.
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. d., & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232.

-B-

- Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Falah, F. (2021). Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of Lactobacillus strains isolated from Iranian raw milk cheeses. *Food Science & Nutrition*, 9(8), 4094-4107.
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in microbiology*, 11, 1662.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.
- Buron-Moles, G., Chailyan, A., Dolejs, I., Forster, J., & Mikš, M. H. (2019). Uncovering carbohydrate metabolism through a genotype-phenotype association study of 56 lactic acid bacteria genomes. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(7), 3135-3152.

-C-

- Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, R. P., Hill, C., & O'Toole, P. W. (2019).** Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and environmental microbiology*, 85(1), e01738-01718.
- Cela, L., Brindisi, G., Gravina, A., Pastore, F., Semeraro, A., Bringheli, I., Marchetti, L., Morelli, R., Cinicola, B., & Capponi, M. (2023).** Molecular Mechanism and Clinical Effects of Probiotics in the Management of Cow's Milk Protein Allergy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 9781.
- Chang, C., Varankovich, N., & Nickerson, M. (2016).** Microencapsulation of canola oil by lentil protein isolate-based wall materials. *Food Chemistry*, 212, 264-273.
- Chaudhary, A., & Saharan, B. S. (2019).** Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 13(2).
- Chen, Y. P., Hsu, C. A., Hung, W. T., & Chen, M. J. (2016).** Effects of *Lactobacillus paracasei* 01 fermented milk beverage on protection of intestinal epithelial cell in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2154-2160.
- Coimbra-Gomes, J., Reis, P. J., Tavares, T. G., Faria, M. A., Malcata, F. X., & Macedo, A. C. (2023).** Evaluating the probiotic potential of lactic acid bacteria implicated in natural fermentation of table olives, cv. Cobrançosa. *Molecules*, 28(8), 3285.
- Collado, M., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2007).** Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in applied microbiology*, 45(4), 454-460.
- D-**
- Darmastuti, A., Hasan, P. N., Wikandari, R., Utami, T., Rahayu, E. S., & Suroto, D. A. (2021).** Adhesion properties of *Lactobacillus plantarum* Dad-13 and *Lactobacillus plantarum* Mut-7 on Sprague Dawley rat intestine. *Microorganisms*, 9(11), 2336.
- Dasriya, V. L., Samtiya, M., Ranveer, S., Dhillon, H. S., Devi, N., Sharma, V., Nikam, P., Puniya, M., Chaudhary, P., & Chaudhary, V. (2024).** Modulation of gut-microbiota through probiotics and dietary interventions to improve host health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019).** Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, 8(3), 92.
- Debeyer, C. (2020).** *Les probiotiques dans la prise en charge d'affections gastro-intestinales et vaginales*

Derrien, M., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2015). Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends in microbiology*, 23(6), 354-366.

-F-

Fadare, O., Anyadike, C., Momoh, A., & Bello, T. (2023). Antimicrobial properties, safety, and probiotic attributes of lactic acid bacteria isolated from Sauerkraut. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 24(1), 61-72.

FAO, W. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food, report of a joint FAO/WHO working group on drafting guideline for the evaluation of probiotic in food. *World Health Organization, Geneva*.

Farid, W., Masud, T., Sohail, A., Ahmad, N., Naqvi, S. S., Khan, S., Ali, A., Khalifa, S. A., Hussain, A., & Ali, S. (2021). Gastrointestinal transit tolerance, cell surface hydrophobicity, and functional attributes of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from Indigenous Dahi. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 5092-5102.

Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745-4767.

Franz, C. M., Endo, A., Abriouel, H., Reenen, C. A. V., Gálvez, A., & Dicks, L. M. (2014). The genus *Pediococcus*. *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*, 359-376.

-G-

Goldstein, E. J., Tyrrell, K. L., & Citron, D. M. (2015). *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(suppl_2), S98-S107.

Gorreja, F., & Walker, W. A. (2022). The potential role of adherence factors in probiotic function in the gastrointestinal tract of adults and pediatrics: a narrative review of experimental and human studies. *Gut Microbes*, 14(1), 2,149,214.

Grujović, M. Ž., Mladenović, K. G., Nikodijević, D. D., & Čomić, L. R. (2019). Autochthonous lactic acid bacteria — presentation of potential probiotics application. *Biotechnology letters*, 41, 1319-1331.

Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). «Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)». *Rahul Gupta, Kadirvelu Jeevaratnam, Amrin Fatima. Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review), International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (www.jetir.org)*, 5(10).

-H-

- Halloran, K., & Underwood, M. A. (2019). Probiotic mechanisms of action. *Early human development*, 135, 58-65.
- Hayek, S. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., & Ibrahim, S. A. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *Journal of Dairy Research*, 86(4), 490-502.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: history and health related applications. *Frontiers in microbiology*, 9, 405,810.
- Hutkins, R. W., Krumbeck, J. A., Bindels, L. B., Cani, P. D., Fahey Jr, G., Goh, Y. J., Hamaker, B., Martens, E. C., Mills, D. A., & Rastal, R. A. (2016). Prebiotics: why definitions matter. *Current opinion in biotechnology*, 37, 1-7.
- Hyland, N., & Stanton, C. (2023). *The gut-brain axis: dietary, probiotic, and prebiotic interventions on the microbiota*. Elsevier.

-I-

- Issa, A. T., & Tahergorabi, R. (2019). Milk bacteria and gastrointestinal tract: Microbial composition of milk. *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*, 265-275.

-J-

- JAIN, N., MEHTA, A., & BHARTI, V. (2017). Screening, characterization, and in vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *SCREENING*, 10(8).
- Jang, H. J., Lee, N.-K., & Paik, H.-D. (2019). Probiotic characterization of *Lactobacillus brevis* KU15153 showing antimicrobial and antioxidant effect isolated from kimchi. *Food Science and Biotechnology*, 28, 1521-1528.

-K-

- Kagambèga, B., Cissé, H., Tapsoba, F., Sawadoga, A., Zongo, C., Traoré, Y., & Savadogo, A. (2019). Bouillies fermentées traditionnelles à base de céréales au Burkina Faso : diversité, technologies de production et microorganismes à potentiel probiotique associés. *Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie*, 25(2), 12-24.
- Kagambèga, F. W., Nana, R., Bayen, P., Thiombiano, A., & Boussim, J. I. (2019). Tolérance au déficit hydrique de cinq espèces prioritaires pour le reboisement au Burkina Faso. *BASE*.

Kazancıgil, E., Demirci, T., Öztürk-Negiş, H. İ., & Akin, N. (2019). Isolation, technological characterization and in vitro probiotic evaluation of *Lactococcus* strains from traditional Turkish skin bag Tulum cheeses. *Annals of microbiology*, 69, 1275-1287.

Khalighi, A., Behdani, R., & Kouhestani, S. (2016). Probiotics: a comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition. *Probiotics and prebiotics in human nutrition and health*, 10, 63,646.

Khushboo, Karnwal, A., & Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Frontiers in microbiology*, 14, 1,170,725.

Kocabay, S. (2023). Evaluation of probiotic properties of *Levilactobacillus brevis* isolated from hawthorn vinegar. *Archives of Microbiology*, 205(7), 258.

Koirala, S., & Anal, A. K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100,013.

-L-

Lakhlifi, T., El Oirdi, S., Maroui, I., Zouhair, R., & Belhaj, A. (2023). Probiotic properties and safety aspect of three antifungal lactic acid bacteria strains isolated from wheat and camel milk. *Biologia*, 78(4), 1129-1139.

Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., & Khan, I. M. (2023). Probiotics: Mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in microbiology*, 14, 1,216,674.

Linares, D. M., Gómez, C., Ross, R., & Stanton, C. (2017). Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. *Frontiers in microbiology*, 8, 248,410.

-M-

Maftai, N.-M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., & Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, 12(2), 234.

Malbos, D. (2021). Place des pré-et probiotiques dans la stratégie thérapeutique. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(607), S12-S14.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., & Pihlanto, A. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102.

- Mazzantini, D., Calvigioni, M., Celandroni, F., Lupetti, A., & Ghelardi, E. (2021).** Spotlight on the compositional quality of probiotic formulations marketed worldwide. *Frontiers in microbiology*, 12, 693,973.
- Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E., & Rotondo, J. C. (2023).** Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*, 12(1), 184.
- Mladenović, K. G., Grujović, M. Ž., D NIKODIJEVIĆ, D., & Čomić, L. R. (2020).** The hydrophobicity of enterobacteria and their co-aggregation with *Enterococcus faecalis* isolated from Serbian cheese. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(4), 227-233.
- Mokoena, M. P. (2017).** Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255.
- Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2019).** Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 6463-6472.
- Montoro, B. P., Benomar, N., Lavilla Lerma, L., Castillo Gutiérrez, S., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2016a).** Fermented Aloreña table olives as a source of potential probiotic *Lactobacillus pentosus* strains. *Frontiers in microbiology*, 7, 219,927.
- Montoro, B. P., Benomar, N., Lavilla Lerma, L., Castillo Gutiérrez, S., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2016b). Fermented Aloreña table olives as a source of potential probiotic *Lactobacillus pentosus* strains. *Frontiers in microbiology*, 7, 1583.
- Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A., & López-Gómez, J. P. (2020).** Multi-product lactic acid bacteria fermentations: a review. *Fermentation*, 6(1), 23.
- Motey, G. A., Owusu-Kwarteng, J., Obiri-Danso, K., Ofori, L. A., Ellis, W. O., & Jespersen, L. (2021).** In vitro properties of potential probiotic lactic acid bacteria originating from Ghanaian indigenous fermented milk products. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37, 1-13.
- Mozzi, F. (2016).** Lactic Acid Bacteria. *Encyclopedia of Food and Health*, 501-508. <https://doi.org/10.1016/6978-0-12-384947-2.00414-1>
- Mushtaq, M., Arshad, N., Hameed, M., Munir, A., Javed, G. A., & Rehman, A. (2023).** Lead biosorption efficiency of *Levilactobacillus brevis* MZ384011 and *Levilactobacillus brevis* MW362779: A response surface based approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(2), 103,547.

Nectoux, H. (2022). *Probiotiques : état des lieux des connaissances, rôles thérapeutiques actuels et à venir*

Nezhad, S. J. E., Dovom, M. R. E., Najafi, M. B. H., Yavarmanesh, M., & Mayo, B. (2020). Technological characteristics of *Lactobacillus* spp. isolated from Iranian raw milk Motal cheese. *LWT*, 133, 110,070.

-P-

Pot, B., Felis, G. E., Bruyne, K. D., Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., Leisner, J., & Vandamme, P. (2014). The genus *Lactobacillus*. *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*, 249-353.

Prabhurajeshwar, C., & Chandrakanth, R. K. (2017). Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biomedical journal*, 40(5), 270-283.

-R-

Rajkumar, H., Kumar, M., Das, N., Kumar, S. N., Challa, H. R., & Nagpal, R. (2015). Effect of probiotic *Lactobacillus salivarius* UBL S22 and prebiotic fructo-oligosaccharide on serum lipids, inflammatory markers, insulin sensitivity, and gut bacteria in healthy young volunteers: a randomized controlled single-blind pilot study. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 20(3), 289-298.

-S-

Salvetti, E., Harris, H. M., Felis, G. E., & O'Toole, P. W. (2018). Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification. *Applied and environmental microbiology*, 84(17), e00993-00918.

Sharma, N., Angural, S., Rana, M., Puri, N., Kondepudi, K. K., & Gupta, N. (2020). Phytase producing lactic acid bacteria: Cell factories for enhancing micronutrient bioavailability of phytate rich foods. *Trends in food science & technology*, 96, 1-12.

Shehata, H. R., & Newmaster, S. G. (2020). A validated real-time PCR method for the specific identification of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53,103). *Journal of AOAC International*, 103(6), 1604-1609.

Srinivash, M., Krishnamoorthi, R., Mahalingam, P. U., Malaikozhundan, B., & Keerthivasan, M. (2023). Probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from homemade fermented food products. *Journal of Agriculture and Food Research*, 11, 100,517.

-T-

Tamang, J. P., Watanabe, K., & Holzapfel, W. H. (2016). Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*, 7, 181,961.

Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., & Mathewos, M. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. *The Scientific World Journal*, 2021.

Trunk, T., Khalil, H. S., & Leo, J. C. (2018). Bacterial autoaggregation. *AIMS microbiology*, 4(1), 140.

Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B., & Chen, W. (2013). Aggregation and adhesion properties of 22 Lactobacillus strains. *Journal of dairy science*, 96(7), 4252-4257.

-V-

Vanhaecke, T., Grohard, P.-A., Aubert, P., Jaulin, J., Chevalier, J., Durand, T., Boudin, H., Naveilhan, P., Ligneul, A., & Fressange-Mazda, C. (2017). Renforcement de la barrière épithéliale intestinale par la souche probiotique Lactobacillus fermentum CECT 5716 chez le raton nouveau-né. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 31(1), 48.

Vasudha, M., Prashantkumar, C. S., Bellurkar, M., Kaveeshwar, V., & Gayathri, D. (2023). Probiotic potential of β -galactosidase-producing lactic acid bacteria from fermented milk and their molecular characterization. *Biomedical Reports*, 18(3), 1-12.

Vitolo, M. (2021). Decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 10(8 p. 47-56).

-W-

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612,285.

-X-

Xu, J., Tu, M., Fan, X., Guo, Y., Zhang, T., Zeng, X., Cai, Z., Wu, Z., & Pan, D. (2024). A novel strain of Levilactobacillus brevis PDD-5 isolated from salty vegetables has beneficial effects on hyperuricemia through anti-inflammation and improvement of kidney damage. *Food Science and Human Wellness*, 13(2), 898-908.

Yang, R., Liu, T., Pang, C., Cai, Y., Lin, Z., Guo, L., & Wei, X. (2022). The regulatory effect of coaggregation between Fusobacterium nucleatum and Streptococcus gordonii on the

synergistic virulence to human gingival epithelial cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 879,423.

-Z-

Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, 11(9), 1283.

Zarate, G. d. V., & Perez Chaia, A. B. (2015). Propionibacteria also have probiotic potential.

Zhao, L., Zhang, Y., Liu, Y., Zhong, J., & Zhang, D. (2023). Assessing the safety and probiotic characteristics of *Lactocaseibacillus rhamnosus* X253 via complete genome and phenotype analysis. *Microorganisms*, 11(1), 140.

Zimmerman, T., & Ibrahim, S. A. (2021). Autolysis and Cell Death Is Affected by pH in *L. reuteri* DSM 20,016 Cells. *Foods*, 10(5), 1026.

Zommiti, M., Feuilloley, M. G., & Connil, N. (2020). Update of probiotics in human world: a nonstop source of benefactions till the end of time. *Microorganisms*, 8(12), 1907.

<https://dominaturosacea.com/probioticos-rosacea/>

Annexes

Annexe

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés

➤ Milieu gélose MRS (Man Rogosa et Sharpe)

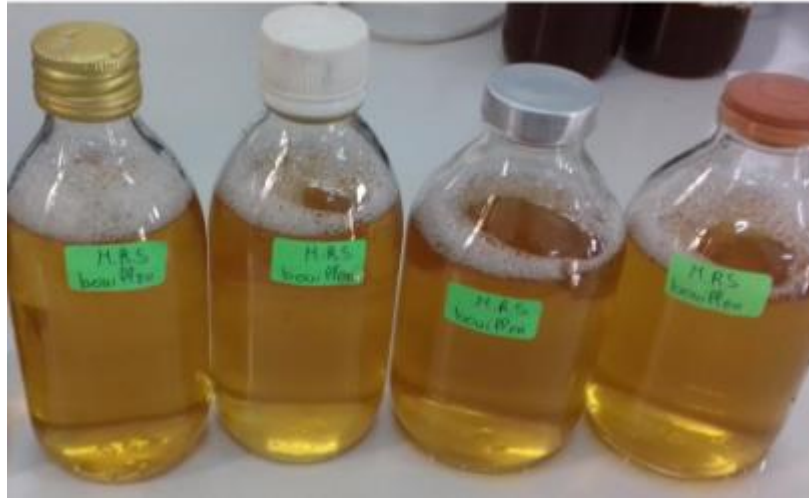


Pour 1 litre de milieu :

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Glucose	20g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate d'amonium.....	2g
K ₂ H PO ₄	2 g
Mg SO ₄	0.25 g.
Mn So ₄	0,058 g
Tween 80.....	1,0 ml.
PH.....	6,5 ±0,4

Stérilisation par autoclavage à 120 C° Pendant 15 min.

➤ Milieu MRS bouillon :



Les mêmes constituants de gélose MRS mais sans Agar-agar.

Autoclavage : 120 °C pendant 15 minutes.

Annexe 2 : Tampon phosphate salin (PBS)

NaCl.....	8 g
Kcl.....	0,20 g
NaH ₂ PO ₄	1,44 g
K ₂ HPO ₄	0.24g
Eau distillée.....	1000 ml

Autoclavage : 120 °C pendant 15 minutes.

Annexe 3 : jus gastrique

KH ₂ PO ₄	0,60 g/L
KCl.....	0,37 g/L
NaCl.....	2.05 g/L
CaCl ₂ :.....	0,11 g/L
Pepsin.	13,3 mg/L

Autoclavage : 120 °C pendant 15 minutes. (Pepsine rajoutée par filtration après autoclavage)

Annexe 4 : Coloration de Gram

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

- Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame bien propre
- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par Passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool, 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.

ANNEXE 05 : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de lactobacilles

Tableau 01 : Pourcentage d'hydrophobicité des souches de lactobacilles

Souches	pourcentage d'hydrophobicité %		
	xylène	E. acétate	chloroforme
DC 1	55,35±2,89	51,79±3,16	79,87±1,88
DC 2	98,16±0,45	89,65±1,23	93±0,58
DC 4	69,9±2,33	93,1±1,61	80,1±1,37
DC 6	77±1,39	86,45±0,61	91,87±0,97
DC 8	44,83±2,55	77,07±0,82	83,96±0,15
DC 9	99,08±0,85	91,85±0,63	71,2±1,5
DC 10	59,82±1,95	70,6±2,6	87,03±0,1
TF3	73,66±1,28	87,12±2,84	81,58±0,19
TF4	73,42±1,4	33,06±1,79	80,65±0,94
TF13	77,77±1,5	58,77±1,60	75,38±1,66
TF17	78,65±0,43	85,07±0,15	97,83±0,42
LGG	89,97±1,37	40,76±2,44	78,76±1,12

Annexe 06 : Taux de survie des souches de Lactobacillus aux pH gastrique

Tableau 02 : Taux de survie des souches de Lactobacillus aux pH gastrique

souches	Taux de survie (%) dans jus gastrique
	pH (2)
DC 1	77,77
DC 4	92,3
DC 10	72,72
TF3	75
TF13	72,22
LGG	90


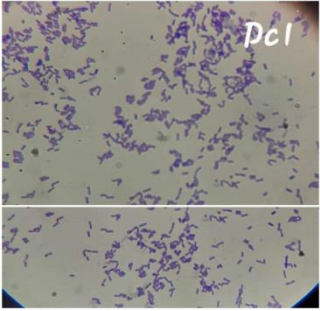

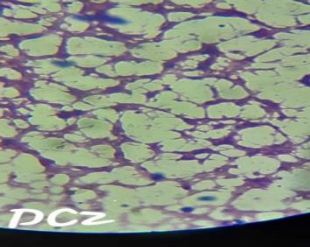

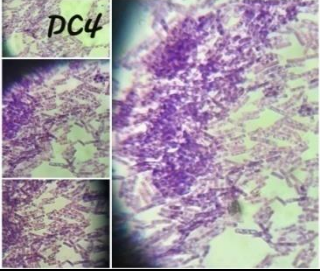

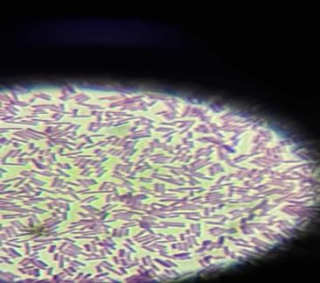
Annexe 07 : Variations du pH dans Lait écrémé reconstitué (RSM) moyen après 6 et 24 heures


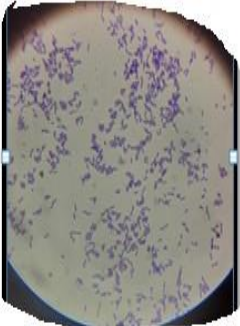

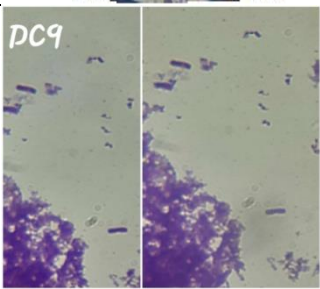

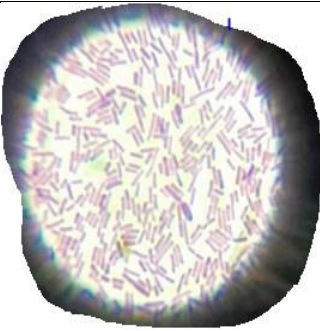

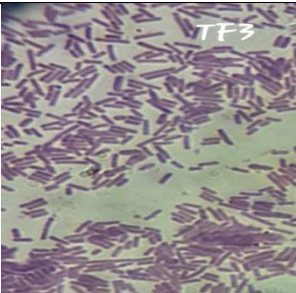
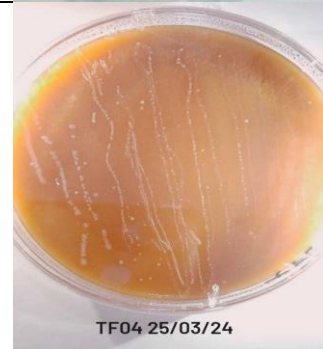
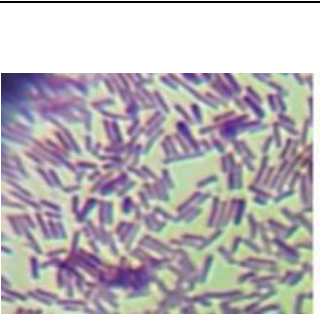
Tableau 03 : Variations du pH dans Lait écrémé reconstitué (RSM) moyen après 6 et 48 heures


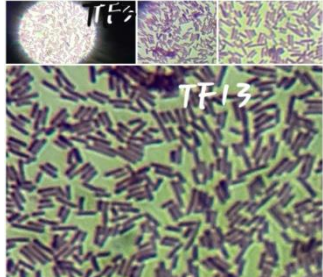

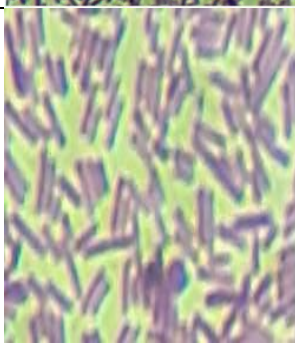

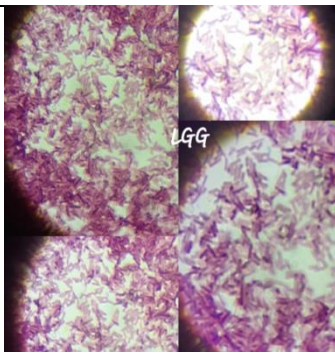
	Variation de PH	
	t : 6 h	t : 48 h
DC 1	0,67	2,18
DC 2	0,83	2,83
DC 4	0,68	3,92
DC 6	0,49	1,29
DC 8	0,36	0,93
DC 9	0,24	0,9
DC 10	0,37	0,97
TF3	0,43	1,08
TF4	0,57	2,26
TF13	0,66	2,4
TF17	0,78	3,06
LGG	0,46	1,8

Annexe 08 : Caractère des souches Lactobacillus

Tableau 04 : Caractère des souches Lactobacillus

Caractères Souches	Aspect des colonies sur gélose	Observation microscopique	Gram	Catalase
DC 1			(+)	(-)
DC 2			(+)	(-)
DC 4			(+)	(-)
DC 6			(+)	(-)

DC 8	 <p>Dc 08 25/03/24</p>		(+)	(-)
DC 9	 <p>DC09 25/03/24</p>		(+)	(-)
DC 10			(+)	(-)
TF3	 <p>TF3 25/03/24</p>		(+)	(-)
TF4	 <p>TF04 25/03/24</p>		(+)	(-)

TF13	 <p>TF13 25/03/24</p>	 <p>TF13</p>	(+)	(-)
TF17	 <p>TF17 25/03/24</p>		(+)	(-)
LGG	 <p>LGG 25/03/24</p>	 <p>LGG</p>	(+)	(-)

