

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

N° d'Ordre

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Etude de quelques propriétés technologiques de la souche *Lactobacillus plantarum* NSC10C isolée de lait de chamelle région Naâma

Présenté par :

- Mr : Naciri Oussama Zakaria
- Mr : Hafnaoui Mounir

Soutenu le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Président	Mme Fares Soria	MCA Université Dr Moulay Tahar saïda
Examineur	Mr Bellil Yahia	MAA Université Dr Moulay Tahar saïda
Rapporteur	Mme Amara Sabrina	MCB Université Dr Moulay Tahar saïda

Année universitaire 2023/2024

Dédicaces

*Je dédie ce travail de fin d'étude,
A nos chers parents qui nous a toujours
Soutenu pendant mes études.
A nos frères
A nos sœurs
A nos familles
A nos amis
A tous ceux qui ont toujours cru en nous
Et qui nous a soutenu*

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier « Allah »
De nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour
mener à terme notre formation de Master et pouvoir réaliser ce
travail de recherche.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre
encadreur **Dr : Sabrina Amara** qui nous a proposé le sujet de ce
mémoire et nous a guidée de ses précieux conseils et suggestions
ainsi que la confiance qu'elle nous a témoignée tous le long de ce
travail.*

*Pour Melle **Tazi Abir Lamia** Je tenais à vous exprimer toute ma
gratitude pour votre précieuse collaboration en tant que co-
encadrante, à votre engagement et à votre encouragement constant,*

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres de 'avoir
accepté de juger ce travail.*

Liste des abréviations

GIT : gastro-intestinal tract

LB: lactobacillus

GRAS: Generally regarded as safe

EFSA : l'autorité européenne de sécurité des aliments

QPS: Qualified Presumption of Safety

Ufc: unites formant colonies

Aw : water activity

Cinac : surveiller et analyser l'activité d'acidification des ferments lactiques.

DDA : diarrhée d'origine antibiotique

EHEC : Escherichia *coli* entéro-hémorragique

Ig : immunoglobulines

Th : les interleukines

EPS : Exopolysaccharides

Liste des tableaux

Tableau 1: Liste des microorganismes considérés comme des probiotique (Holzapfel et <i>al.</i> ,2001).....	5
Tableau 2 : Répartition du genre Lactobacillus (Axelsson, 2004).	21
Tableau 3: résultat de résistance d'acidité de L.plantarum	38
Tableau 4: Résultats de résistance de <i>L.plantarum</i> aux sels biliaires par la méthode de dénombrement	39
Tableau 5: résultat d'antagonisme de <i>L. plantarum</i> et 8 souches pathogènes	41
Tableau 6: composant de gélose MRS.....	52
Tableau 7: composant de Muler Hinton agar (MH)	52

Liste des figures

Figure 1 : Recommandation pour l'évaluation d'un probiotique dans le cadre d'une utilisation (FAO/OMS 2002),	8
Figure 2 Guide pour l'évaluation des probiotiques en utilisation alimentaire Tiré et traduit de FAO/WHO (2002).....	13
Figure 3: l'aspect macroscopique des colonies cultivées sur milieu MRS solide.	36
Figure 4: observation microscopique (x100) de la souche <i>L.plantarum</i> NCs10 après coloration de Gram	36
Figure 5 :Observation des résultats obtenus de l'activité protéolytique de <i>L . Plantarum</i>	37
Figure 6: Observation des résultats obtenus de l'activité lipolytique chez <i>L.plantarum</i>	37
Figure 7: détermination de croissance a pré t=24 h a spectrophotometre	38
Figure 8: résultat de teste de Sels biliaire après 24h	39
Figure 9: résultat de démembrement de teste résistance au sels biliaries (0.5%,1%,5%,10%).	39
Figure 10 : Résultat de test d'hémolyse	40
Figure 11: résultat de teste d'antagonisme	40
Figure 12: LE SÉRUM PROBIOTIQUE ESSE SKINCARE RESTAURE LA RÉSILIENCE ET L'ÉCLAT DE LA PEAU VIEILLISSANTE.	50
Figure 13: Mother Dirt - Spray aux probiotiques pour la peau sans conservateurs.	51
Figure 14: composent de Columbia agar	53

Résumé

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la fermentation, la conservation des aliments, l'amélioration de caractères gustatifs et organoleptiques, en effet de leur richesse en composants biodégradables tel que (lactose, protéines et lipides). D'autre part elle réduit le nombre ou inhibe la croissance des pathogènes par la production des bactériocines (OSULLIVAN et *al*, 2002)

L'objectif principal de cette étude était la caractérisation de la nouvelle pertinence technologique de *Lactobacillus plantarum* NSC10 isolé à partir de lait de chamelle de la région de Naama.

Les tests *in vitro* ont révélé un bon potentiel probiotique de la souche une résistance à l'incubation en contact avec des sels biliaires et différent PH ; un taux de survie considérable. La souche a montré une activité protéolytique et lipolytique en présence de substrat naturel huile d'olive et une activité d'antagoniste contre des souches pathogènes. D'autre part, la sécurité des cellules a été vérifiée en testant leur capacité hémolytique.

En conclusion, on peut dire que l'isolat de *Lactobacillus* testés révèle des bonnes propriétés technologiques et pourraient donc être exploités dans l'industrie agroalimentaire. De plus, leur utilisation dans un traitement probiotique.

Mots clés : Lactobacillus plantarum, probiotique, bactérie lactique, propriété technologique.

Abstract

Lactic acid bacteria play an important role in fermentation, food preservation and the improvement of taste and organoleptic characteristics, thanks to their richness in biodegradable components such as lactose, proteins and lipids. It also reduces the number or inhibits the growth of pathogens through the production of bacteriocins (OSULLIVAN et al, 2002).

The main objective of this study was to characterize the new technological relevance of *Lactobacillus plantarum* NSC10 isolated from camel milk from the Naama region the safety of the cells was verified by testing their hemolytic capacity.

In vitro tests revealed the strain's good probiotic potential, resistance to incubation in contact with bile salts and different PH, and a considerable survival rate. The strain showed proteolytic and lipolytic activity in the presence of natural substrate olive oil and butter, and antagonistic activity against pathogenic strains. the safety of the cells was verified by testing their hemolytic capacity.

In conclusion, we can say that the *Lactobacillus* isolate tested reveals good technological properties and could therefore be exploited in the food industry. Moreover, their use in probiotic treatment.

Key words: *Lactobacillus plantarum*, probiotic, lactic acid bacteria, technological properties.

ملخص

وتلعب بكتيريا حمض اللاكتيك دوراً مهماً في تخمير وحفظ الأغذية وتحسين طعمها وخصائصها الحسية نظراً لغناها بالمكونات القابلة للتحلل الحيوي مثل اللاكتوز والبروتينات والدهون. كما أنها تقلل من عدد أو تثبط نمو مسببات الأمراض من خلال إنتاج البكتريوسينات (اوسيليفان وآخرون، 2002).

كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو وصف الأهمية التكنولوجية الجديدة لبكتيريا العصيات اللبنية "بلانتليوم" NCS10 المعزولة من حليب الإبل من منطقة النعام،

كشفت الاختبارات المخبرية عن قدرة السلالة على التحليل الحيوية الجيدة، على معدل بقاء كبير في مقاومة درجة الحموضة المختلفة والأملاح الصفراوية. أظهرت السلالة نشاطاً محللاً للبروتين والدهون في وجود ركيزة زيت الزيتون الطبيعي ونشاطاً مضاداً ضد السلالات المسببة للأمراض. وبالإضافة إلى ذلك، تم التحقق من سلامة الخلايا من خلال اختبار قدرتها على تحلل الدم.

في الختام، يمكن القول إن العصيات اللبنية التي تم اختبارها أظهرت خصائص تكنولوجية جيدة، وبالتالي يمكن استغلالها في صناعة الأغذية الزراعية. كما يمكن استخدامها في العلاج البروبيوتيك.

الكلمات المفتاحية: العصيات اللبنية النباتية، البروبيوتيك، بكتيريا حمض اللاكتيك، الخصائص

التكنولوجية.

Table des matières

I.1. Le concept de probiotiques : Histoire et évolution	3
I.2. Principales espèces à potentiel probiotique	4
I.2.1. Classification des probiotiques	5
I.2.1.1. Les bactéries lactiques	6
I.2.1.2. Les bifidobactéries.....	6
I.2.1.3. Le genre <i>Bacillus</i>	6
I.2.1.4. Les levures.....	7
I.3. Critères de sélection des souches probiotiques.....	7
I.3.1. Bénéfice santé.....	8
I.3.2. Innocuité.....	8
I.3.3. Résistance aux stress du tractus gastro-intestinal	8
I.3.4. Résistance au procédé de fabrication	9
I.4. Applications des probiotiques	10
I.4.1. Domaine de l'agriculture.....	10
I.4.2. Domaine médical	11
I.4.2.1. Maladies inflammatoires intestinales.....	11
I.4.2.1. Traitement de l'asthme	12
I.4.2.2. Prévention et traitement des diarrhées dues aux antibiotiques	12
I.4.3. Domaine alimentaire	13
.....	13
I.4.4. Domaine cosmétique	14
I.5. Aptitudes technologiques.....	14
I.5.1. Aptitude acidifiante.....	14
I.5.2. Aptitude protéolytique.....	15
I.5.3. Aptitude lipolytique	15
I.5.4. Aptitude aromatisante	15
I.5.5. Aptitude texturant.....	16
I.5.6. Activité antimicrobienne	16
II.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	19

II.1.1. Caractéristiques culturelles et besoins nutritionnels	19
II.1.2. Habitat des lactobacilles	19
II.1.3. Taxonomie et classification des lactobacilles	20
II.2. Propriétés probiotiques de <i>Lactobacillus plantarum</i>	21
II.2.1. Santé cardiovasculaire	23
II.2.2. Immunité et allergie.....	24
II.2.3. Activité anti-inflammatoire.....	25
II.2.4. Propriétés antidiarrhéiques, antimicrobiennes.....	25
II.2.5. Trouble du spectre de l'autisme	26
II.2.6. Santé et qualité de la peau	27
III.1. Lieu du travail	30
III.2. Objectifs de l'étude	30
III.3. Matériels utiliser.....	30
III.3.1. Outillage.....	30
III.3.2. Produits utiliser.....	30
III.3.3. Les Milieux de culture.....	30
III.4. Revivification et purification :	31
III.5. Caractérisation morphologique	31
III.5.1. Caractérisation macroscopique	31
III.5.2. Caractérisation microscopique.....	32
III.6. Etude des aptitudes technologiques des <i>Lactobacillus</i>	32
III.6.1. Pouvoir protéolytique.....	32
III.6.2. Pouvoir lipolytique	32
III.7. Croissances dans les conditions hostiles.....	32
III.7.1. Test de croissance à différents pH.....	32
III.7.1. Teste de résistance au Sels biliaire.....	33
III.8. Teste d'hémolyse	33
III.9. Teste antagoniste	33
IV.1. Caractérisation macroscopique.....	36
IV.2. Caractérisation microscopique.....	36
IV.3. Pouvoir protéolytique	37
IV.4. Pouvoir lipolytique	37

IV.5. Croissance à différents pH	38
IV.6. Croissance au différente concentration de sels biliaire	38
IV.7. Résultat d hémolyse	40
IV.8. Résultat d'antagonisme	40
VII.1. LE SÉRUM PROBIOTIQUE ESSE SKINCARE.....	50
VII.2. MOTHER DIRT aux probiotique vivent.....	51
VII.3. Etapes coloration de Gram.....	51
VII.4. MRS composant.....	52
VII.1. Composant de milieu MH	52
VII.2. Composant de Columbia Blood agar.....	53



.

PARTIE I. *PROBIOTIQUES*

Introduction

Les produits laitiers sont des produits sains largement acceptés et des composants appréciés dans les régimes alimentaires. L'incorporation de bactéries probiotiques comme adjuvants dans différents produits laitiers est actuellement un sujet important qui a des conséquences industrielles et commerciales.

L'application alimentaire des probiotiques a renforcé leurs propriétés saines et a donné lieu à une augmentation de la demande de produits laitiers. La consommation accrue de ces produits en Europe et aux États-Unis (Kristin et *al.*, 2007).

Un certain nombre de produits laitiers ce sont commercialisés comme contenant des bactéries probiotiques, le lait fermenté et les fromages Les ont été décrits comme les supports les plus appropriés pour l'administration de ces bactéries (Lourens-Hattingh et *al.*, 2001 ; Saarela, Mogensen et *al.* 2000), Divers micro-organismes, généralement des bactéries lactiques *Lactobacillus* (LAB), ont été évalués de qualité alimentaire, et pour leur potentiel probiotique et utilisés comme cultures d'appoint dans divers types de produits alimentaires ou dans des préparations thérapeutiques (Rodgers, 2008).

Pour exercer des effets bénéfiques sur la santé, ces bactéries doivent survivre pendant la durée de conservation de l'aliment utilisé comme vecteur et de la préparation de l'aliment utilisé comme véhicule et pendant le passage dans le gastro-intestinal (GIT) (Kailasapathy & Rybka, 1997).

Cependant, les bactéries probiotiques présentent souvent une faible viabilité dans les préparations du marché au moment de la consommation (Al-Otaibi, 2008 ; Gueimonde et *al.*, 2004).

Plusieurs facteurs peuvent affecter la viabilité des bactéries dans les produits laitiers, tels que les conditions de fermentation, la température de stockage, la méthode de conservation, etc.

La présente étude a pour objectifs d'évaluer les aptitudes technologiques et probiotiques de *Lactobacillus plantarum* d'origine lait de chamelle en Algérie.

1.1. Le concept de probiotiques : Histoire et évolution

Le mot probiotique est dérivé du mot grec probios qui signifie « la vie ». Le concept a évolué à partir d'une théorie de Metchnikoff, qui pensait que la longévité et la santé des paysans bulgares étaient dues à leur consommation quotidienne et régulière de laits fermentés. C'est pour quoi il a écrit en 1907: *“A reader who has little knowledge about such matters may be surprised by my recommendation to absorb large quantities of microbes, as a general belief is that microbes are harmful. This belief is erroneous. There are many useful microbes, amongst which the lactic bacilli have honorable place”*.

Depuis Metchnikoff jusqu'à aujourd'hui, le concept de probiotique a considérablement évolué et différentes définitions. Par exemple, en 1953, le mot « probiotika » a été utilisé par Werner Kollath pour désigner les compléments organiques et inorganiques nécessaires pour rétablir la santé des patients souffrant d'une forme de malnutrition causée par la consommation d'aliments hautement raffinés (Kollath, 1953).

Un an plus tard, Ferdinand Vergin a proposé que les probiotiques soient le contraire des antibiotiques, car ces derniers affectent les micro-organismes qui vivent avec nous en communauté biotique ou même en symbiose, (Vergin, 1954).

En 1965, les travaux de Lilly et Stillwell ont donné une nouvelle dimension à la définition des probiotiques. Probiotique a été défini par ces auteurs comme « les sécrétions d'un micro-organisme qui stimulent la croissance d'un autre micro-organisme ». De même, en 1971, Sperti a utilisé le terme probiotique pour désigner des extraits de tissus capables de stimuler la croissance microbienne (Sperti, 1971).

En 1974, le mot probiotique a été utilisé pour la première fois pour décrire un complément alimentaire microbien et défini comme « des organismes et des

substances contribuant à l'équilibre microbien intestinal » (Parker, 1974). En 1992, Fuller a supprimé le mot « substances » de la définition des probiotiques, car il pouvait très bien inclure les antibiotiques, a mis l'accent sur la viabilité des préparations probiotiques et a défini les probiotiques comme un complément alimentaire microbien vivant qui a un effet bénéfique sur leur hôte en améliorant l'équilibre microbien (Fuller, 1989). Considérant que cette définition n'était pas assez large pour couvrir l'ensemble de la microflore indigène, une autre définition a été proposée par Havenaar et Huis in't Veld (Havenaar et Huis in't Veld, 1992). Selon eux, « les probiotiques sont les cultures microbiennes viables, mono ou mixtes, qui, lorsqu'elles sont appliquées à l'animal ou à l'homme, ont des effets bénéfiques sur leur hôte en améliorant les propriétés de la microflore indigène ».

En 1996, les produits laitiers cultivés ont également été ajoutés à la définition des probiotiques et Schaafsma a défini les probiotiques comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en certaines quantités, exercent des effets bénéfiques sur la santé au-delà de la nutrition de base inhérente. Cette définition a été confirmée en 2002 par un groupe de travail FAO/OMS (FAO/OMS, 2002) qui a déclaré que « les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte », et reconfirmée par la FAO en 2006.

I.2. Principales espèces à potentiel probiotique

La plupart des microbes probiotiques étudiés à ce jour appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, à certaines espèces de champignons (par exemple *Saccharomyces cerevisiae*) et aux entérocoques (par exemple *Enterococcus faecalis*) et nombre d'entre eux ont été commercialisés dans le monde entier. Les genres les plus couramment utilisés dans les préparations probiotiques sont les lactobacilles et les bifidobactéries. Le premier appartient au groupe des bactéries lactiques, et le second est souvent utilisé avec le LAB dans l'alimentation. Ces deux bactéries sont présentes dans le tractus gastro-

intestinal humain, Bifidobactéries spp., étant les premiers colonisateurs des nouveau-nés. Cela explique pourquoi ces deux genres sont particulièrement utilisés dans les produits probiotiques. Parmi les souches probiotiques non commerciales, les plus importantes sont *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp lactis*, *Lactococcus lactis subsp cremoris*, *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc mesenteroides subsp dextranum*, *Propionibacterium freudenreichii* et *Pediococcus acidilactici* (Collins et al., 1998). *S. thermophilus* ou *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sont traditionnellement utilisés dans la production de yaourt et n'ont pas été considérés comme des probiotiques pendant longtemps par la plupart des scientifiques, car on ne s'attendait pas à ce qu'ils survivent dans l'intestin grêle (Senok et al., 2005).

1.2.1. Classification des probiotiques

A quelques exceptions près (levures), la majorité des microorganismes considérés comme GRAS sont des bactéries et les espèces les plus abordées dans la littérature en tant que probiotiques appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* suivie des genres *Enterococcus* et *streptococcus*. Aux bactéries de ces genres s'ajoutent certaines bactéries du genre *Bacillus* ainsi que certaines levures (Tableau 1) (Rokka, S et al., 2010). Cependant, seulement une partir de ces microorganismes peuvent être considérés comme probiotiques.

Tableau 1: Liste des microorganismes considérés comme des probiotique (Holzapfel et al.,2001).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries lactiques	Non productrices d'acide lactique
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Bacillus cereus var. toyoi</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

<i>L. plantarum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia nissle</i>	<i>coli</i>
---------------------	-------------------	-----------------------------	---------------------------	-------------

I.2.1.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et sont omniprésentes dans différentes niches écologiques incluant le lait, les produits laitiers, les végétaux, la viande, les muqueuses humaines et animales et même dans le sol, les engrais, et les eaux d'égout (Harzallah et *al.*,2013). Leur rôle dans la préparation, la conservation et la transformation de nombreux aliments fermentés, permet de les identifier sous le terme de QPS « Présomption de Sécurité Qualifiée » (Jagadeesh et *al.*, 2015). Ces bactéries produisent de nombreuses substances antimicrobiennes comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et des bactériocines qui exercent une activité antagoniste vis-à-vis des microorganismes pathogènes et d'altérations (Samot et *al.*,2013)

I.2.1.2. Les bifidobactéries

Les bifidobactéries sont des souches importantes dans le maintien de l'équilibre intestinal de l'hôte. Un nombre élevé de bifidobactéries dans le tube digestif réduirait le risque d'infection par des germes pathogènes. Elles sont fréquemment utilisées dans les préparations alimentaires et pharmaceutiques et leur application dans l'alimentation animale est en augmentation (Khan et *al.*, 2013)

I.2.1.3. Le genre *Bacillus*

La génétique et la physiologie du genre *Bacillus* sont telles que ce genre bactérien offre d'énormes possibilités en tant que probiotiques utilisables aussi bien chez les humains que chez les animaux (Peng et *al.*, 2019) Plusieurs études ont révélé la présence de spores de *Bacillus* dans le tractus intestinal des animaux, ce qui signifie qu'elles sont capables de survivre dans un tel environnement (Piewngam et *al.*, 2019). Les caractéristiques essentielles des *Bacillus* spp. Comprennent leur capacité à survivre et à croître dans l'intestin, à former des biofilms et à sécréter des substances antimicrobiennes (Ramlucken

et *al.*,2020). Ces bactéries peuvent être incorporées dans les aliments au cours du processus de granulation (Shinde et *al.*,2019).

1.2.1.4. Les levures

Saccharomyces est un genre de levure bourgeonnante. Les levures font également partie du système microbien résiduel du microbiote intestinal. L'espèce *Saccharomyces cerevisiae* est très répandue dans la nature et peut être trouvée dans les plantes, les fruits et le sol (Gaggia, F et *al.*,2010). C'est une espèce qui a un rôle clé dans les processus de fermentation des aliments. Une souche de *S. boulardii* considérée comme un biotype de *Saccharomyces cerevisiae*, est couramment utilisée comme probiotique dans l'alimentation humaine et animale (Pothoulakis et *al.*, 2010).

1.3. Critères de sélection des souches probiotiques

Les probiotiques présentent des propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Le choix des probiotiques dépend de ces propriétés et du type d'utilisation. Selon le rapport de la FAO/OMS (2002), pour qu'un produit soit reconnu comme étant probiotique, une évaluation du produit basée sur plusieurs critères doit être effectuée suivant les recommandations suivantes

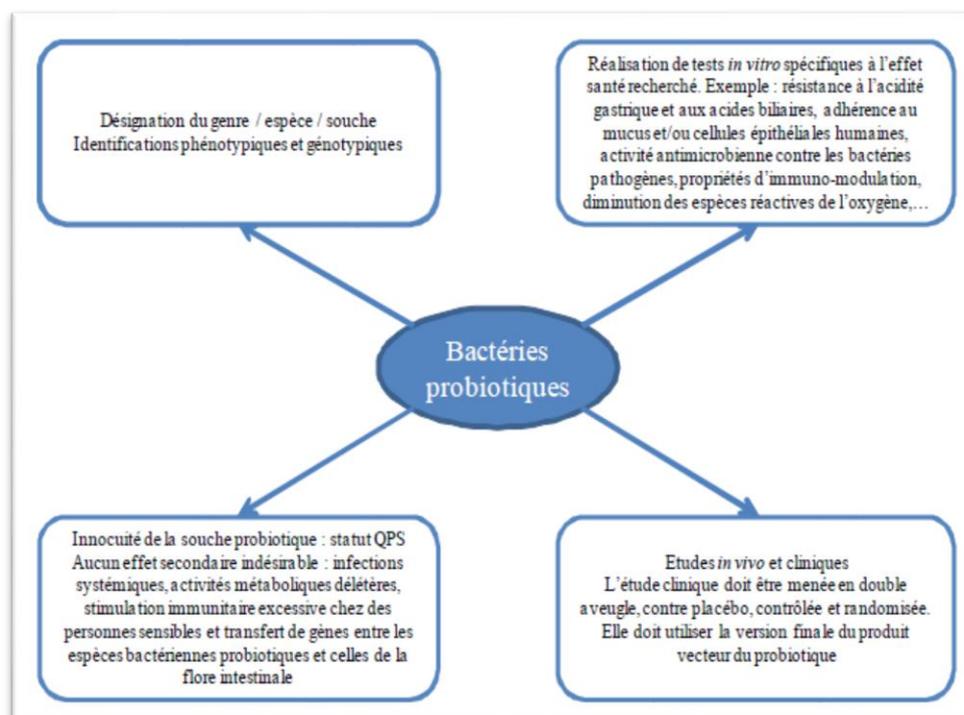


Figure 1 : Recommandation pour l'évaluation d'un probiotique dans le cadre d'une utilisation (FAO/OMS 2002),

I.3.1. Bénéfice santé

La première caractéristique d'une souche probiotique est d'avoir un effet bénéfique sur la santé de l'hôte. Pour bénéficier d'une allégation santé Depuis 2007, l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a adopté l'approche « Qualified Presumption of Safety » (QPS) pour l'évaluation des risques potentiels à l'utilisation de micro-organismes (EFSA 2007 ; Sanders et *al.* 2010) et a durci les conditions d'acceptation des demandes d'allégations santé. Dans un rapport de 2009, l'EFSA a estimé que les allégations utilisées pour les produits probiotiques déjà sur le marché manquaient de preuves scientifiques (étude clinique) et/ou que les souches n'étaient pas assez caractérisées.

I.3.2. Innocuité

La caractérisation concerne l'innocuité (résistance aux antibiotiques, production de toxines), la fonctionnalité (activité métabolique, adhésion) et la capacité de résistance aux perturbations du tractus. Ainsi, pour être probiotique, la bactérie doit être sensible aux antibiotiques et résistante aux stress gastro-intestinaux. La souche doit enfin faire l'objet d'études in vivo chez l'animal puis chez l'homme.

En plus de l'évaluation de l'innocuité de la souche et de la détermination des propriétés fonctionnelles, les caractéristiques technologiques comme la résistance aux phages, la survie lors du procédé de fabrication ou encore la stabilité pendant le stockage peuvent être prises en compte (Jankovic et *al.* 2010; Saarela et *al.* 2000).

I.3.3. Résistance aux stress du tractus gastro-intestinal

Tout d'abord, l'estomac broie les aliments (action mécanique) et libère des sécrétions gastriques (action chimique). Les cultures microbiennes doivent résister à la présence de pepsine et au faible pH de l'estomac. Si la résistance à l'acidité stomacale est presque toujours étudiée, les paramètres opératoires varient énormément (Dunne et *al.*, 2001). En effet, la durée du séjour des

aliments dans l'estomac est fonction de leur consistance mais également de la force de la tonicité gastrique. L'acidité stomacale varie de pH=1,5 à pH=6 après la prise alimentaire. Pour l'heure, il n'y a pas de véritable consensus sur le niveau de pH et la composition exacte du milieu. Le comportement des bactéries dans un milieu acide se révèle généralement dépendant de la souche. Ainsi, certaines souches peuvent rester totalement cultivables après 1h30 à pH=2, alors qu'il ne reste qu'une bactérie sur un milliard en moins de 30 minutes, pour d'autres (Corcoran et *al.* 2005) Il semble également que les souches possédant la cyclopropane acid synthase résistent mieux à l'acidité (Shabala & Ross ,2008). Cette faculté serait notamment due à la capacité de l'enzyme à stabiliser la membrane en diminuant la perméabilité aux protons H⁺.

Les acides biliaires sont synthétisés par le foie à partir de cholestérol et sont sécrétés au niveau du duodénum sous forme conjuguée (500-700 mL/jour). Les activités microbiennes du colon peuvent modifier ces acides (Dunne et *al.* 2001). Des tests de cultivabilité en milieu solide utilisant de la bile d'origine bovine, porcine ou humaine à des concentrations comprises entre 0,3% et 7,5% ont été développés (Pennacchia et *al.* 2004).

Une étude sur la souche *L. reuteri* ATCC 55730 montre que le contact avec la bile induit un stress membranaire, une dénaturation des protéines et des dommages à l'ADN (Whitehead et *al.* 2008).

1.3.4. Résistance au procédé de fabrication

Très peu d'études sont actuellement disponibles sur la sélection de micro-organismes bénéfiques pour leur aptitude à résister aux stress du procédé de fabrication. Pourtant, il semble que les micro-organismes actuellement sur le marché soient particulièrement tolérants aux perturbations du procédé. Dans le cadre de la résistance à la déshydratation, de nombreuses études utilisent le milieu liquide pour mimer les perturbations rencontrées lors du séchage. Ainsi, certains auteurs ont montré des résultats similaires en terme de cinétique optimale de déshydratation (Mille et *al.* 2004) L'utilisation de glycérol, de sels ou de sucres permet d'observer des différences de survie et de contraction

volumique entre les souches (Poirier et *al.*, 1998). Pour prédire l'aptitude de bactéries à tolérer le procédé d'atomisation, Simpson et al., ont mesuré la tolérance à la chaleur (42, 52, 55, 57 et 60 °C, 5 min) et à la présence d'oxygène (croissance, agitation, 24h) de 30 souches de bifidobactéries (Simpson et *al.*, 2005)

D'autres auteurs ont utilisé le système **CINAC** pour comparer le temps nécessaire pour atteindre la vitesse d'acidification maximale. Cette méthode a été reliée à la survie des souches à la congélation (Fonseca et *al.* 2000)

Une étude récente a testé, entre autres, la Synthèse bibliographique 38 résistance de 63 souches de *L. plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* et *Lactobacillus pentosus* à des stress osmotiques, thermiques et oxydants (Parente et *al.* 2010). Les cellules ont été centrifugées et resuspendues en présence d'une solution de NaCl (3M, 1 h, 30 °C), soit une **aw** de 0.89, pour le stress osmotique, d'une solution d'H₂O₂ (0,1% (v/v), 30 min, 30 °C) pour le stress oxydant ou dans du tampon phosphate (PBS) (15 min., 55 °C) pour le stress thermique.

1.4. Applications des probiotiques

Les probiotiques font l'objet de nombreuses recherches démontrant la diversité de leurs effets bénéfiques associés à leur utilisation (Nagpal et *al.*, 2012). Ces effets peuvent être classés en deux groupes : des effets pour assurer l'équilibre de la microflore intestinale et des effets thérapeutiques.

1.4.1. Domaine de l'agriculture

Une étude de Huber en 1997, démontre que la distribution d'aliments probiotiques ou de produits contenant des probiotiques induisait un gain de poids considérable chez le veau avec, par ailleurs, une réduction des diarrhées due à une réduction des populations d'*Escherichia coli*. Ce résultat est aussi obtenu avec des préparations contenant des probiotiques tels que *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus gallinarum*, *Saccharomyces cerevisiae*.

En 2001 Simon et *al.*, ont également enregistré une augmentation de poids vif chez le veau même si elle n'est pas significative accompagnée d'une baisse de

fréquence des diarrhées, et ce en additionnant deux bactéries à la préparation (*Enterococcus faecium* et *Bacillus cereus*).

Toutefois, Newbold en 2003, conclut que la supplémentation alimentaire en probiotiques chez les ruminants ne donne pas de résultats concluants : les réponses ne sont pas toujours significatives d'une étude à une autre.

Concernant les monogastriques notamment le poulet, en 1973 des travaux ont mis en évidence que certaines espèces de probiotiques comme les lactobacilles, les bifidobactéries et les entérocoques augmenteraient le ratio entre la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes jéjunales, ce qui permet d'augmenter la surface d'absorption du tube digestif, d'améliorer ainsi l'indice de consommation et les performances de croissance du poulet (Nurmi et Rantala, 1973).

Les travaux de Torres-Rodriguez et *al.* (2007) et Garcia (2007) confirment cette tendance puisque l'utilisation de *Bacillus subtilis* chez le poulet de chair pendant toute la période d'élevage a eu une influence positive sur différents paramètres zootechniques. L'étude menée par Simon en 2001, n'a par contre rapporté aucune signification des gains de poids moyens quotidiens chez le poulet.

De par ses rôles multiples dans la régulation de la physiologie de son hôte, une meilleure compréhension des fonctions du microbiote intestinal et une maîtrise de sa composition contribueraient à une meilleure gestion de la santé des animaux et, par conséquent, permettrait d'atteindre l'objectif de productivité visant le maintien voire l'amélioration des performances zootechniques (croissance, qualité du produit, ...) (Roger Gaillard, 2013)

I.4.2. Domaine médical

I.4.2.1. Maladies inflammatoires intestinales

La physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques intestinales implique justement un défaut de perméabilité intestinale et une mauvaise tolérance du système immunitaire contre le microbiote intestinal. Les preuves

qui suggèrent l'utilisation de probiotiques comme thérapie des différentes maladies gastro-intestinales (Girardin M et *al.*, 2011)

I.4.2.1. Traitement de l'asthme

Au niveau mécanistique, l'asthme est lié à une dysfonction de la régulation immunitaire et à l'activation des cellules lymphocytaires de type Th2 ainsi que des lymphocytes B qui libèrent des immunoglobulines de type E (IgE). Cette polarisation immunitaire s'accompagne du recrutement des éosinophiles et des mastocytes au niveau de la muqueuse bronchique (Djukanovic R, 1990). L'autre composante essentielle de la maladie asthmatique met en scène le muscle lisse bronchique qui est souvent hypercontractile et hypertrophié dans les cas les plus sévères (Benayoun L. 2002).

Une étude *in vitro* basée sur l'utilisation de différentes souches de probiotiques mises en présence de cellules mononuclées du sang de patients sains a montré leur habilité à stimuler la production de facteurs anti-inflammatoires tels que l'IL-10 après stimulation antigénique. De plus, la libération de médiateurs Th2 a été diminuée et la balance Th2/Th1 ainsi rééquilibrée (Niers Lem et *al.* 2005).

I.4.2.2. Prévention et traitement des diarrhées dues aux antibiotiques

Une revue Cochrane de 2011 (16 études, 3400 enfants de 0 à 17 ans, hospitalisés ou en ambulatoire) a évalué l'efficacité et la sécurité des PB pour prévenir la DDA. A un dosage 5×10^9 ufc (unités formant colonie) /jour, le NNT était de 7 (IC 95% : 6-10). Les auteurs remarquent que la qualité des preuves concernant le critère d'évaluation primaire (incidence de la diarrhée) est faible en raison du risque de biais et d'imprécisions. Le bénéfice concernant les PB administrés à haute dose (*L. rhamnosus* et *S. boulardii*) nécessite confirmation. Aucune conclusion concernant l'efficacité et la sécurité d'autres PB pour la DDA en pédiatrie ne peut être avancée (Johnston BC et *al.*,2011).

I.4.3. Domaine alimentaire

L'intérêt pour les bactéries probiotiques et leur application dans des produits alimentaires a augmenté tout au long des deux dernières décennies, les produits probiotiques sont plus populaires que jamais, Les produits contenant des bactéries probiotiques se trouvent généralement sous deux formes: les compléments alimentaires sous forme de comprimés ou de gélules et les produits alimentaires comme le yogourt et le lait fermenté, la gamme des produits disponibles continue à s'élargir, des progrès importants ont été réalisés au cours des dernières décennies dans le développement de produits laitiers contenant des probiotiques, telles que les laits fermentés, crème glacée, divers types de fromages, formules pour bébés, lait en poudre, les desserts laitiers glacés, boissons à base de lactosérum, la crème sure, le babeurre, le lait liquide normal et aromatisé. (Belhamra, 2017).

L'évaluation des probiotiques à usage alimentaire est décrite dans le rapport de la Consultation Mixte d'experts FAO/OMS (l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'Organisation mondiale de la Santé. (Ezzariga, 2015)

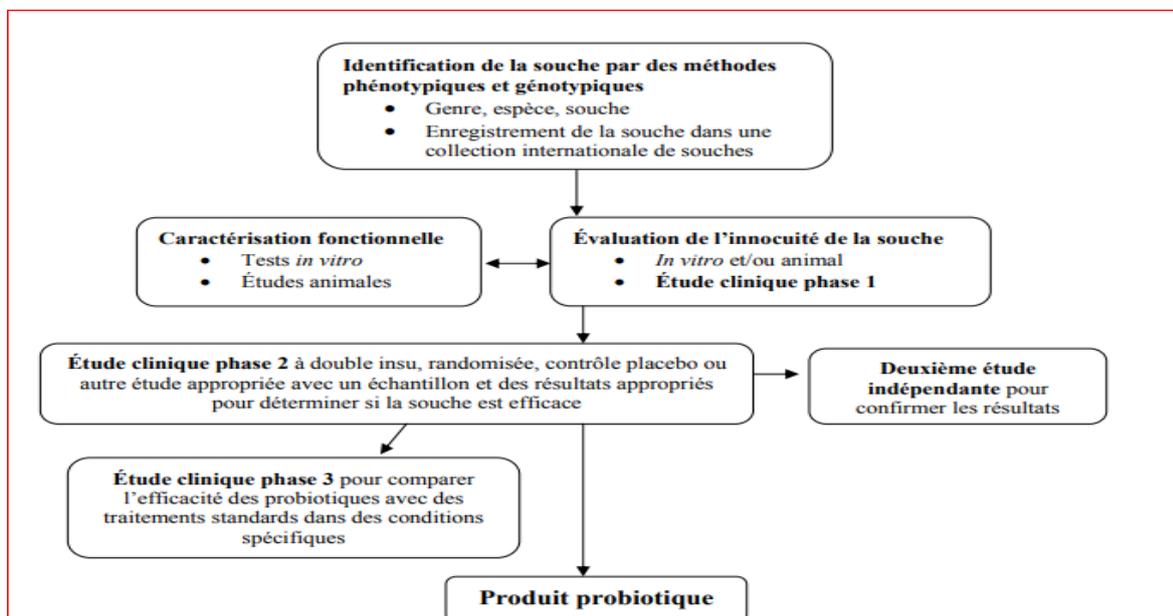


Figure 2 Guide pour l'évaluation des probiotiques en utilisation alimentaire Tiré et traduit de FAO/WHO (2002).

I.4.4. Domaine cosmétique

Le déséquilibre du microbiote cutané appelé dysbiose se traduit un certain nombre pathologies cutanées telles que le psoriasis (Benhadou et *al.*, 2018), la rosacea (Zaidi et *al.*, 2018), l'eczéma (Baviera et *al.*, 2014) ou encore l'acné (Fitz-Gibbon et *al.*, 2013).

Autrefois décriées, les bactéries sont les nouvelles cibles des développements cosmétiques compte tenu du rôle crucial du microbiote cutané dans la protection et la défense de la peau. De nouvelles gammes de produits contenant des probiotiques qui sont mises sur le marché.

Des marques cosmétiques comme **ESSE (annexe 01)** en Afrique et **GALLINEE** en France commercialisent des produits cosmétiques qui contiennent des probiotiques vivants inactivés par lyophilisation et stabilisés par micro encapsulation. La marque **Mother Dirt** en Amérique commercialise des cosmétiques avec des bactéries vivantes et qui se conservent au réfrigérateur.

I.5. Aptitudes technologiques

I.5.1. Aptitude acidifiante

L'acidification est la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans l'industrie alimentaire. Il se manifeste dans la fermentation des glucides pour produire de l'acide lactique lors de la croissance bactérienne (MäyräMäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et *al.*, 2008). Les résultats de la séquence physico-chimique et microbiologique peuvent être résumés comme suit (Béal et *al.*, 2008) :

- Accumulation d'acide lactique impliqué dans la saveur des aliments fermentés.
 - Abaissement progressif du pH du milieu de culture et de la matrice alimentaire
 - Limitation du risque de développement de flore pathogène et d'altération du produit final.
-

- Instabilité du faisceau de colle de caséine, coagulation du lait et participation à la synérèse.

Pour une fermentation donnée, le but est de permettre des taux d'acidification élevés et/ou d'atteindre un niveau d'acidité final prédéterminé. Les niveaux d'acidité dépendent de la spécification du produit, qui conditionner le choix de la souche (Monnet et al., 2008).

I.5.2. Aptitude protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'exercer des fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de réagir à tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques présentent différents potentiels, liés à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de groupements azotés. Les *lactobacilles* présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les *lactocoques* (Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009).

I.5.3. Aptitude lipolytique

La capacité lipolytique des bactéries lactiques est généralement faible, et *Lactococcus* est considéré comme meilleur pour décomposer les graisses que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus*. Cependant, ils peuvent présenter un intérêt pour certaines applications fromagères. De manière générale, les estérases se différencient en ce qu'elles hydrolysent préférentiellement les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal et al., 2008 ; Serhan et al., 2009).

I.5.4. Aptitude aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement dérivés du

lactose, du citrate, des acides aminés et des graisses. Cette propriété est particulièrement importante lors de la fabrication de laits fermentés, de fromages frais, de crèmes et de beurres, car la saveur principale de ces produits est associée à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et *al.*, 2005 ; Cholet, 2006).

I.5.5. Aptitude texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important dans la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *sb. Delbrueckii sp. Bacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* producteurs d'EPS sont utilisés dans la fabrication du yaourt pour améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité du produit fini.

L'EPS produit par la souche Lc a été utilisé. La bactérie lactique cremoris est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et *al.*, 2007).

I.5.6. Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la conservation biologique des aliments (Labioui et *al.*, 2005). Les acides organiques comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés pendant la fermentation des glucides inhibent les levures, les moisissures et les bactéries. Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains micro-organismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur produit des effets anaérobies toxiques pour certains microorganismes aérobies présents dans les aliments. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries Gram-négatives, des levures et des moisissures (Alakomi et *al.*, 2000 ; Ammor et *al.*, 2006), et les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antibactériennes de différents poids moléculaires. Ils ont une activité inhibitrice contre les bactéries proches de la souche de productrice et leur spectre d'action est généralement

étroit. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (Ogunbanwo et *al.*, 2003 ; Dortu et Thonart, 2009). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (De Vuyst et Leroy, 2007 ; Kumari et *al.*, 2009).

PARTIE II. *LACTOBACILLUS*
PLANTARUM

II.1. Le genre *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae, qui comprend de nombreuses espèces, impliquées dans les levains lactiques dans de nombreuses industries ou rencontrées comme polluants.

L'assemblage des espèces de *Lactobacillus*, comprenant actuellement au moins 145 espèces reconnues, présente une extrême diversité phylogénétique, phénotypique et écologique (Corrieu et Luquet, 2008 ; Barinov et *al.*, 2011). Ce sont des bactéries Gram positif, de forme allant de bacilles longs et minces aux coccoïdes qui sont des bâtonnets courts ou légèrement incurvés, généralement agrégés en chaînes, ne forment pas de spores et sont généralement immobiles (Siegumfeldt et *al.*, 2000 et Singh et *al.*, 2009). Les *lactobacilles* sont catalase négatif cependant certains ont une pseudo-catalase et sont généralement négatives à la nitrate réductase ainsi qu'à la gélatinas (Prescott et *al.*, 2003).

II.1.1. Caractéristiques culturelles et besoins nutritionnels

La plupart des lactobacilles se développent de manière optimale à des températures comprises entre 30 et 40°C. Certaines souches de *Lactobacillus* dites "thermophiles" survivent à 55°C (Adams et Moss, 2000 ; Tailliez, 2004). Ils poussent mieux dans des conditions acides, lorsque le pH est d'environ 4,5 à 6,4 mais leur croissance s'arrête lorsque le pH est d'environ 3,5 (De Vos et *al.*, 2009). Les lactobacilles sont microaérophiles ou anaérobies et ont des besoins nutritionnels très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et minéraux (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et *al.*, 1994).

II.1.2. Habitat des lactobacilles

Ces microorganismes sont présents dans de nombreux habitats : humains, animaux, plantes, eau, sol, lait et produits laitiers, produits carnés, bière, vin, fruits et jus, etc.) (Stiles et Holzapfel, 1997). Le lactobacille est l'un des composants importants du microbiote humain et animal. Chez une personne en bonne santé, on les retrouve dans tout le système digestif : de la bouche au côlon. Les espèces les plus courantes sont : *Lb. Salive*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*,

groupe *Lb. casei*, *Lb. gasseri*, *Lb. Røytree* (Reuter, 2001 ; Eckburg et *al.*, 2005 ; Walter, 2008 ; Ozgun et Vural, 2011).

II.1.3. Taxonomie et classification des lactobacilles

Les caractéristiques qui distinguent les trois groupes, ainsi que certaines des espèces les plus connues de chaque groupe.

D'après la classification d'Orla-Jensen 1919 le genre *Lactobacillus* est subdivisé en trois groupes selon leur type fermentaire :

- **Groupe I** « *Thermobacterium* » : Ce groupe rassemble des espèces homofermentaires obligatoires. Il est constitué d'espèces thermophiles impliquées dans la fermentation des produits laitiers, par exemple : *Lb. delbrukii* et *Lb. helveticus*, et ceux présents chez l'homme et les animaux qui contribuent à l'équilibre de la microflore de l'organisme, tels que : *Lb. acidophilus* et *Lb. Gasseri*. Ces bactéries ont été cultivées à 45°C.

- **Groupe II** « *Streptobacterium* » : Ce groupe comprend les espèces hétérofermentaires facultatives. Ces espèces métabolisent les sucres hexoses en acide lactique par la voie homofermentaire (EMP) et dégradent les sucres pentoses en acide lactique par la voie hétérofermentaires. Ils ne produisent pas de CO₂ lors de la fermentation du glucose, mais le font lors de la fermentation du gluconate.

Ce groupe est constitué d'espèces mésophiles impliquées dans la fermentation des produits carnés et céréaliers, par exemple : *Lb. Curvatus*, *Lb. Casei*, *Lb. Plantarum*, *Lb. Sakei*.

- **Groupe III** « *Betabacterium* » : Ce sont des Lactobacilles hétérofermentaires obligatoires. C'est un groupe qui englobe des espèces relativement hétérogènes, notamment des espèces mésophiles telles que : *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri* fait partie de la levure de panification et de la flore *Lb. kéfir* isolé des grains de kéfir. L'hétérogénéité se reflète dans le type de molécule d'ADN pourcentage GC% des espèces du genre.

Les séries varient de 32 à 55 % (Schleifer et Ludwig, 1995 ; Axelsson, 2004 ; Hammes et Hertel, 2006).

Tableau 2 : Répartition du genre *Lactobacillus* (Axelsson, 2004).

Caractéristique	Groupe I : Homofermentaires obligatoires	Groupe II : Hétérofermentaires facultatif	Groupe III : Hétérofermentaires obligatoire
Fermentation pentose	-	+	-
CO ₂ à partir de glucose	-	-	+
CO ₂ à partir de gluconate	-	+ ^a	+ ^a
FDP aldolase présence	+	+	-
Phosphokétolase présence	-	+ ^b	+
Exemple de souche	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>

Clé : (a) pendant la fermentation, (b) inductible par les pentoses

II.2. Propriétés probiotiques de *Lactobacillus plantarum*

Actuellement, *L. plantarum* est appliqué dans le domaine médicale pour le traitement des maladies chroniques et cardiovasculaires sans aucun effet secondaire (Arasu et al., 2016).

- *L. plantarum* est capable de résister à l'acide et aux sels biliaires. D'après **Yadave** et al., 2016 le pourcentage de survie des lactobacilles a été déterminé après exposition à 0,3% de sel biliaire et à l'acide pendant 3 heures, et les résultats montrent qu'il y a une bonne survie.

- *L.plantarum* peut diminuer l'absorption des métaux lourds intestinaux, réduire l'accumulation de métal dans les tissus et atténuer le stress oxydatif hépatique.
 - Capable de sécréter des composés antimicrobiens tels que les acides organiques provoquant la réduction du pH dans l'environnement et l'inhibition de plusieurs microorganismes.
 - Possède une activité antifongique entraînant un dysfonctionnement de la croissance et la germination des spores des champignons.
 - Capable de coloniser le tractus gastro-intestinal et joue un rôle essentiel dans la protection contre les radicaux libres, contribue à la préservation des divers troubles (diabète, maladies cardiovasculaires, ulcères du tractus gastro-intestinal) et inhibe la croissance de cellules cancéreuses du côlon humain (Sudhanshu et al., 2018).
 - Le lait fermenté de consommation contenant *Lactobacillus plantarum* apporte une activité probiotique à l'hôte car elle empêche la croissance de cinq pathogènes alimentaires : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* et *Shigella Flexneri* qui peuvent contaminer les produits alimentaires. (Al-Tawaha et Meng, 2018).
 - Les résultats montrent une activité antagoniste plus intermédiaire contre *Helicobacter pylori*, et un fort effet inhibiteur in vitro contre *Streptococcus mutans* et *Candida albicans*, qui sont tous deux associés à des caries (Dias et al., 2013).
 - Parmi aussi les propriétés les plus importantes des souches probiotiques, l'auto-agrégation et la coagrégation (Dias et al., 2013).
 - Les espèces *Lactobacillus plantarum* ont une capacité de coagrégation avec différentes espèces de *Candida*, dans lesquelles la proportion de coagrégation la plus élevée de *L. plantarum* a été observé avec *C. krusei* (72%), suivi de *C. albicans* (63%) et *C. glabrata* (60%) (Salari et al., 2020)
 - En plus en 2012 Jankovic et al., ont montrés que l'espèce *L. plantarum* donne un pourcentage d'autoagrégation ($\geq 80\%$) et regroupement microscopique de cellules qui peuvent augmenter l'adhésion aux cellules
-

épithéliales intestinales. Cette espèce montre des degrés similaires de coagrégation avec des agents pathogènes d'origine alimentaire : *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* entéro-hémorragique (EHEC), ce qui leur permet de libérer des substances antimicrobiennes à proximité très étroite des bactéries pathogènes.

II.2.1. Santé cardiovasculaire

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde. L'hypertension artérielle et l'hypercholestérolémie représentent deux facteurs majeurs de risque cardiovasculaire.

Les études démontrent que la prise de probiotiques peut impacter ces deux facteurs. Plus précisément, la supplémentation en *Lactobacillus plantarum* améliore le taux de cholestérol (Mari C. Fuentes.2012), et diminue le taux de triglycérides chez des personnes présentant une hypercholestérolémie ou souffrant d'obésité (Adele Costabile et *al.*, 2017). Une diminution de la tension artérielle systolique est également observée (Adele Costabile et *al.*, 2017).

Lors d'une étude clinique, sa prise a amélioré la fonction endothéliale et a réduit l'inflammation systémique, en diminuant les taux d'interleukines Il-8 et Il-12 chez des hommes souffrant de maladie coronarienne stabilisée

Les études suggèrent que le microbiote intestinal favorise l'absorption des nutriments et participe à la régulation du métabolisme énergétique. Par ailleurs, il est reconnu que l'obésité augmente le risque des maladies cardiovasculaires. *Lactobacillus plantarum* peut entraîner une perte de poids et une diminution de la graisse viscérale, tout en modulant le microbiote (Minji Sohn et *al.* 2023)(Diabètes Metab J. 2023).

Ses activités anti-inflammatoire et hypocholestérolémiantes peuvent être bénéfiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

II.2.2. Immunité et allergie

Lactobacillus plantarum possède des bienfaits immunomodulateurs (Min-Gyu Kang et al 2020) . Il est capable d'influencer les réponses immunitaires de l'organisme.

Selon une méta-analyse 2021, il serait capable de renforcer l'immunité en régulant les cytokines pro- et anti-inflammatoires (Wei Zhao et al 2021)

Une étude clinique randomisée, en double-aveugle et contrôlée par Placebo, a démontré que la consommation de *L. plantarum* CECT 7315/7316 pendant 3 mois, après le vaccin contre la grippe, a stimulé de manière significative la production des anticorps IgA et IgG spécifiques au virus de la grippe chez des personnes âgées. Ce probiotique serait donc capable de renforcer l'action du vaccin.

Cette espèce bactérienne augmenterait l'immunité des enfants âgés de moins de deux ans, en stimulant les cytokines TGF- β 1 qui à leur tour augmentent la production des immunoglobulines sIgA, les molécules responsables de la première ligne de défense de l'organisme contre les microorganismes²⁰. Les sIgA se trouvent par exemple dans la salive, les larmes, les sécrétions des muqueuses des appareils respiratoires ou des intestins.

Des scientifiques ont également rapporté son potentiel pour réduire les réactions allergiques, comme le pollenose ou la rhinite allergique. Elle serait capable de réduire les symptômes, en induisant l'expression d'IL-10 ou en augmentant le taux des cellules T régulatrices, qui sont impliquées dans la prévention des réactions auto-immunes (Shuichi Suzuki et al,2020).

Dans une étude clinique randomisée, en double-aveugle et contrôlée par placebo, il a été mis en évidence qu'une supplémentation de la souche *L.plantarum* DR7 a réduit la durée des symptômes nasaux et la fréquence des infections des voies respiratoires supérieures (Hui-Xian Chong et al,2019) .

Ainsi *Lactobacillus plantarum*, grâce à ses bienfaits immunomodulateurs et anti-inflammatoires, est capable de renforcer les défenses immunitaires en cas d'infection et de réduire les symptômes de l'allergie.

II.2.3. Activité anti-inflammatoire

Comme indiqué ci-dessus, les probiotiques et particulièrement le genre *Lactobacillus* peuvent être intéressants dans le traitement des maladies inflammatoires.

Les mécanismes d'action de *L. plantarum* ont été beaucoup étudiés *in vitro* et *in vivo*. Il s'avère que cette espèce serait capable de diminuer la production des molécules, impliquées dans le déclenchement de la réaction inflammatoire. Elle inhibe les médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF- α , IL-1, IL-17 ainsi que la voie de signalisation NF- κ B, qui joue un rôle-clé dans la cascade inflammatoire (Bao Le & Seung Hwan Yang, 2018). Son mode d'action passe également par la stimulation de la production des cytokines anti-inflammatoires telles que IL-10 (Wei Zhao et *al.*, 2021).

Son action anti-inflammatoire a été observée dans différentes études cliniques réalisées sur l'Homme pour les affections suivantes : diarrhée chronique (B Yang et *al.*, 2021; MinAh Jung et *al.*, 2022), infection des voies supérieures respiratoires, maladie coronarienne²⁹, dermatite atopique, allergie (Min-Gyu Kang et *al.*, 2020).

II.2.4. Propriétés antidiarrhéiques, antimicrobiennes

Les bactéries lactiques ont des capacités antimicrobiennes. Elles peuvent prévenir et réduire la croissance des bactéries pathogènes. Comme pour d'autres probiotiques de son genre, *L. plantarum* produit des bactériocines, autrement dit des peptides avec une action antibactérienne (Sabrina da Silva Sabo et *al.*, 2014).

La souche *L. plantarum* 299 serait aussi efficace que la Chlorhexidine pour réduire le risque d'infections pathogènes au niveau de l'oropharynx pour les personnes intubées (Bengt Klarin, et *al.* 2008). Elle préviendrait également les

infections à *Clostridium* difficile, une bactérie qui provoque de la diarrhée et qui touche particulièrement les personnes qui suivent un traitement antibiotique à des doses élevées ou à long terme (Agata Kujawa-Szewieczek et *al.*, 2015) . *L. plantarum*, conjointement avec d'autres souches probiotiques, peut également aider à combattre l'infection à *Helicobacter pylori* et réduire les symptômes associés (Nikos Viazis et *al.* 2022).

Cette espèce bactérienne a un potentiel pour prévenir et améliorer les symptômes de la vaginose bactérienne comme la candidose vulvovaginale (R Vladareanu et *al.* 2018). Le probiotique est capable de renforcer la colonisation vaginale par des bactéries lactiques, les lactobacilles. Il s'agit de la communauté microbienne la plus abondante et la plus représentative du microbiote vaginal sain et équilibré (Liisa Lehtoranta et *al.* 2022).

Une étude clinique a également démontré son activité anti-virale. Le probiotique a inhibé la prolifération de la gastro-entérite à rotavirus chez les enfants hospitalisés et a permis de diminuer ses symptômes (Do Young Shinet *al.* 2022).

Son activité anti-diarrhéique a été démontrée dans plusieurs essais cliniques. Sa prise diminue la diarrhée chez les patients souffrant de diarrhée chronique (MinAh Jung et *al.* 2022), de gastro-entérite à *rotavirus* (Do Young Shin et *al.* 2020) ou de syndrome de l'intestin irritable (Kyoungmi Jung et *al.* 2022)

Par ailleurs, ce lactobacille confère une meilleure perméabilité et intégrité à la paroi intestinale. De cette manière, il protège la barrière intestinale contre l'absorption des toxines (métaux lourds), (Qixiao Zhai et *al.* 2016)

II.2.5. Trouble du spectre de l'autisme

L'autisme est un trouble du développement, qui se caractérise par des troubles de la communication, du comportement et des interactions sociales. Les personnes atteintes de ce trouble présentent souvent des troubles gastro-intestinaux. Par ailleurs, la composition du microbiote est altérée chez les

personnes présentant ce trouble (Dae-Wook Kang et *al.* 2018). Les traitements, ciblant le microbiote intestinal, pourraient apporter des bénéfices chez les patients atteints d'autisme.

Deux études cliniques ont démontré les bienfaits du probiotique *Lactobacillus plantarum* PS128 sur les différents tests psychométriques ou échelles utilisés pour évaluer la sévérité des troubles comportementaux (Xue-Jun Kong .2021).

II.2.6. Santé et qualité de la peau

Le microbiote humain ne se restreint pas au tractus gastro-intestinal, il est également présent au niveau de la peau. Les scientifiques établissent un lien significatif entre l'équilibre du microbiote intestinal et la santé de la peau (Angel Yun-Kuan Thye et *al.*, 2022).

Par son effet immunomodulateurs *Lactobacillus plantarum*, pris par voie orale, a démontré des bienfaits pour l'amélioration des symptômes de la dermatite atopique (C R S Prakoeswa et *al.*,2022). La dermatite atopique est une maladie chronique inflammatoire de la peau, qui se manifeste par des rougeurs qui sont sources de démangeaisons. Ce probiotique permet de diminuer l'inflammation et ainsi de diminuer les symptômes de la dermatite. Ces effets ont été observés avec trois différentes souches.

L'acné est une autre affection inflammatoire de la peau, qui est associée au microbiote cutané et intestinal. Un essai clinique a démontré que la supplémentation en *Lactobacillus plantarum* CJLP55 réduit les lésions provoquées par l'acné, augmente l'hydratation et le taux de céramide nécessaire au maintien d'une barrière cutanée saine. Ces effets bénéfiques ont été accompagnés par une modulation du microbiote (Mi-Ju Kim et *al.*2021) .

En renforçant la santé générale de la peau, les probiotiques peuvent aider à combattre les signes du vieillissement cutané. *L. plantarum* HY7714 pris, par voie orale, réduit la profondeur des rides, augmente l'élasticité et l'hydratation de la peau (Dong Eun Lee et *al.* 2015). Appliqué en tant qu'ingrédient actif d'une

crème de visage, *L. plantarum*-GMNL6 a permis d'accroître la synthèse du collagène et améliorer l'hydratation, la mélanogenèse ou la texture de la peau (Wan-Hua Tsai et *al.* 2021) .

PARTIE III. *MATERIEL ET METHODES*

III.1. Lieu du travail

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau du Laboratoire de Recherche des Sciences et Techniques, situé à université Dr Moulay el Tahar Saida., Saida Algérie.

III.2. Objectifs de l'étude

Les objectifs assignés à se présent travail est de l'évaluation des aptitudes technologiques et probiotiques de la souche lactobacillus plantarum NCS10 isoler de lait de chamelle est identifier par Dr Amara Sabrina.

III.3. Matériels utiliser

III.3.1. Outillage

Agitateur magnétique	Béchers
Autoclave	Boite de Pétri
Balance analytique	Burette graduée
Bec Bunsen	Eprouvette
Bain marie	Pipettes graduée
Micropipette	Spatules
Etuve	 Tubes à essais
PH-mètre	Vortex
Erlenmeyer	Ance de platine
Microscope optique	La jarre d anaérobiose
Eppendorf tubes	Ecouvillon

III.3.2. Produits utiliser

Les colorants : Violet de Gentiane, Fuschine.

Autre produit : Lugol, Le chlorure de sodium (NaCl), hydrochlorique acide (HCL) Ethanol, Eau distillée, eau physiologique.

Produit biologiques : sang de mouton, sels biliaire.

III.3.3. Les Milieux de culture

Les Géloses : MRS (Man Rogosa et Scharpe, 1960) (annexe 04), Columbia au sang (Ellner , 1966) (annexe 06) ,MH (Muler Hinton 1941)(annexe 05) .

Le bouillon : MRS (Man Rogosa et Scharpe, 1960)

III.4. Revivification et purification :

La souche lyophiliser de *Lactobacillus* sélectionnés a été revivifiés par ensemencement les flacons bactériens dans des tubes contenant 5 ml de bouillon MRS, suivi d'une incubation dans une jarre d'anaérobiose à 30°C pendant 24 à 48 heures. Les résultats de revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu. Les cultures bactériennes sont ensuite ensemencées en strie sur le milieu MRS (pH= 6,2) et incubées à 30°C pendant 24 à 48 heures. Cette opération a été répétée par repiquage successif jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme de point de vue morphologique.

III.5. Caractérisation morphologique

III.5.1. Caractérisation macroscopique

L'examen macroscopique des bactéries consiste à observer visuellement les colonies bactériennes sur des milieux de culture solides pour caractériser plusieurs aspects :

1. Identification des colonies : Détermination du nombre, de la taille, de la forme, de la couleur et de la texture des colonies bactériennes à l'œil nu.

2. Caractères morphologiques : Étude de la forme, de la bordure, de la couleur et de la texture des colonies.

3.Évaluation de la croissance : Observation de la vitesse et de l'uniformité de croissance des colonies.

4. Identification préliminaire : Utilisation des caractéristiques macroscopiques pour proposer une première identification de l'espèce bactérienne.

5. Orientation pour des tests complémentaires : Les résultats du test macroscopique guident le choix de tests biochimiques, sérologiques ou moléculaires plus approfondis pour une identification précise.

III.5.2. Caractérisation microscopique

L'examen microscopique des bactéries vise à analyser en détail la morphologie et la structure des cellules bactériennes. À travers l'utilisation de techniques de coloration comme la coloration de Gram (annexe 03) contribue à l'identification préliminaire des espèces bactériennes. Il constitue une étape essentielle dans le diagnostic microbiologique, offrant des indices précieux sur les propriétés biologiques des bactéries étudiées.

III.6. Etude des aptitudes technologiques des Lactobacillus

III.6.1. Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des lactobacilles, la gélose MRS additionnée de lait écrémé à 4% a été coulée, solidifiée et séchée puis des spots de 5µl contenant le surnageant d'une culture jeune sont déposés sur les puits boîtes. Après une incubation à 37° C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des colonies. Les halos les plus larges indiquent que les souches ont une activité protéolytique plus importante.

III.6.2. Pouvoir lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur milieu MRS tamponné à pH 7 et additionné de 1% de beurre ou huile d'olive. Les bactéries à tester ont étéensemencée en touche à la surface de ce milieu de culture à l'aide d'une anse., et 5µl surnageant dans des puits Après une incubation à 30°C pendant 48 heures, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des touches ou bien en formant des précipités autour des colonies bactériennes (Guiraud, 2003).

III.7. Croissances dans les conditions hostiles

III.7.1. Test de croissance à différents pH

Ce test est réalisé en bouillon MRS ajusté à pH de 1 à 6 par HCL 1Mensemencé par 1% de souche régler a (DO600nm) La croissance a été évaluée après 24 h d'incubation à 30°C par spectrophotomètre.

III.7.1. Teste de résistance au Sels biliaire

La tolérance au sels biliaire a défèrent concentration (0.5%,1%,5%,10%) de la bile d'une brebie filtré par un filtre seringue millipore 22µm., puis additionnée stérilement au bouillon MRS ensemencer par 1% de pré culture la croissance observer a pré incubation 24h /37° .

III.8. Teste d'hémolyse

L'activité hémolytique des lactobacilles a été déterminée par la méthode de Maragkoudakis et al. (2006). L'hémolyticité a été examinée en enseménçant des souches de lactobacilles sur de la gélose au sang (milieu Columbia). Le type d'hémolyse a été examiné après une incubation de 24 h à 30°C. Le résultat peut être α-hémolytique (vert autour des colonies), β-hémolytique (éclaircissement autour des colonies) ou γ-hémolytique (le milieu n'est pas affecté).

III.9. Teste antagoniste

Dans ce teste en utilise la méthode de diffusion des agents antimicrobien en disque ; l'effet inhibiteur de cette souche a été évalué vis du-à-vis des 8 souches indicatrices suivant (*Pseudomonas aeroginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtili*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus*, *Klebseilla pneumoniae*, *Candida*).

Pour chaque souche pathogène, un inoculum a été préparé sur une gélose MH à partir d'une culture bactérienne de 24 heures.

La densité cellulaire de cet inoculum a été ajustée en le diluant dans de l'eau physiologique stérile et en le comparant visuellement à la solution de Mc Farland, dont la concentration finale est de 10⁶ufc/ml.

Les souches lactiques sont ensemencées sur le milieu MRS et incubées pendant 24h à 30°C. Des cylindres de 6 mm de diamètre sont placés sur un milieu de MH inoculés par des souches indicatrices.

Les plaques sont laissées à 4°C pendant 4 heures pour une bonne diffusion du métabolite lactiques (Doumandji et al., 2010), puis incubées à 37°C

pendant 48 h. Après incubation du microorganisme cible, les largeurs des zones inhibitrices sont déterminées (Boughachiche et al.,2012).

PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Caractérisation macroscopique

Pour les souches testées On a observé sur milieu solide des petites colonies d'environ 1mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtres ou laiteux, avec une surface lisse et un pourtour circulaire régulier

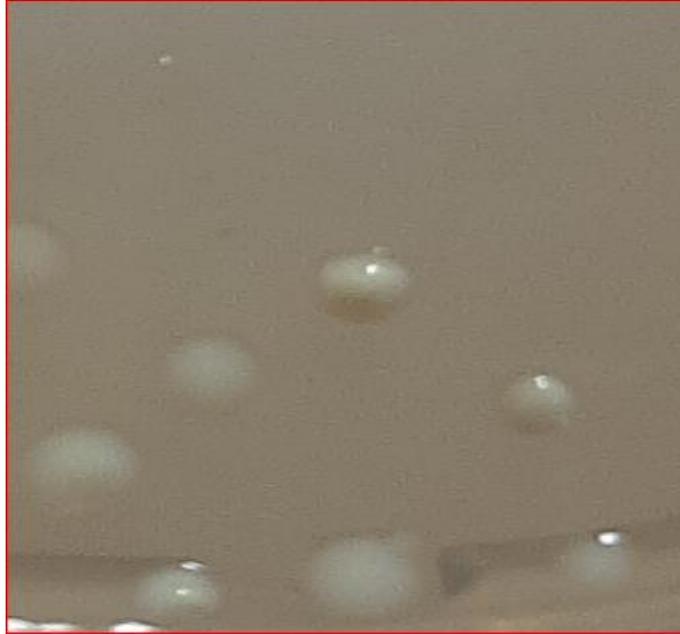


Figure 3: l'aspect macroscopique des colonies cultivées sur milieu MRS solide.

IV.2. Caractérisation microscopique

Les Bactéries lactiques sont Gram positif, Les lactobacilles se présentent sous forme de bacilles court, isolé, ou en deux



Figure 4: observation microscopique (x100) de la souche L.plantarum NCs10 après coloration de Gram

IV.3. Pouvoir protéolytique

La protéolyse se traduit par l'apparition d'un halo clair dû à la dégradation de la caséine autour des cultures bactériennes ensemencées sur le milieu MRS additionné du lait écrémé 4 % après 24h d'incubation. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont présentés dans la (figure 05). Il en ressort que la souche testée se révèle avoir un pouvoir protéolytique de diamètre 20 mm pour puits et 12 mm pour l'ensemencement en surface.



Figure 5 : Observation des résultats obtenus de l'activité protéolytique de *L. plantarum*

IV.4. Pouvoir lipolytique

Il apparaît que la bactérie testée présente une légère activité lipolytique en formant de faibles précipités autour des colonies bactériennes. Selon (De Roissard et Luquet, 1994).



Figure 6: Observation des résultats obtenus de l'activité lipolytique chez *L. plantarum*

IV.5. Croissance à différents pH

Les résultats sont illustrés dans le **tableau 03** , On remarque une croissance de tous l'isolat sur le bouillon MRS à pH 4,5

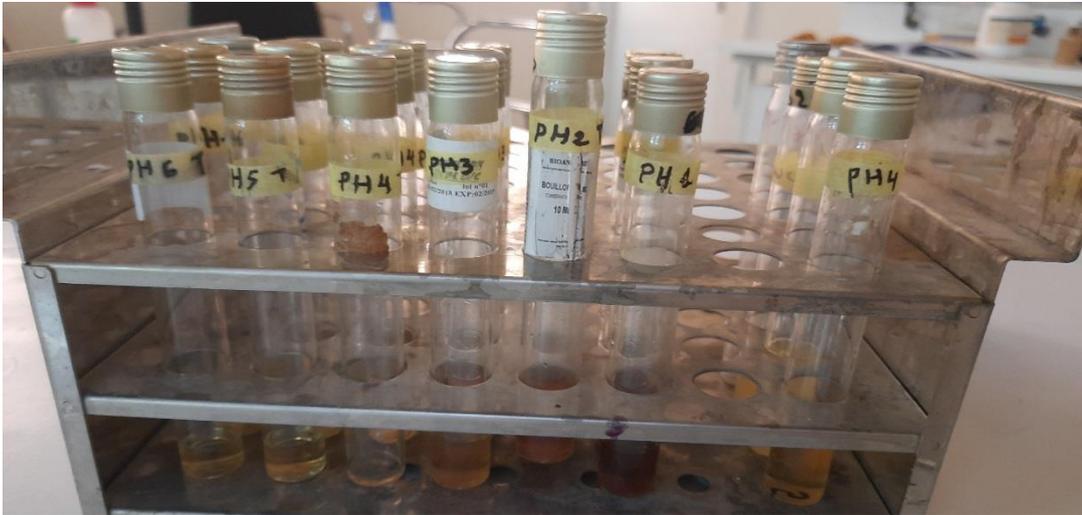


Figure 7: détermination de croissance a pré t=24 h a spectrophotometre

Tableau 3: résultat de résistance d'acidité de *L.plantarum* .

PH	1	2	3	4	5	6
T=0h	0.662	0.215	0.777	0.214	0.142	0.206
T=24h	0.670	0.283	0.840	0.384	1.442	2.251

D'une manière générale la souche a une bonne résistance contre l'acidité et un rendement remarquable au-dessus de PH =4.

IV.6. Croissance au différente concentration de sels biliaire

La souche présente une très bonne résistance., la vitalité des souches après traitement avec les sels biliaires est très élevée.

La lecture se fait âpre une série de démembrement décimale jusque 5ème série 10^{-5}

Le taux de croissance augmente par l'augmentation de pourcentage de sels biliaire dans le milieu MRS liquide.

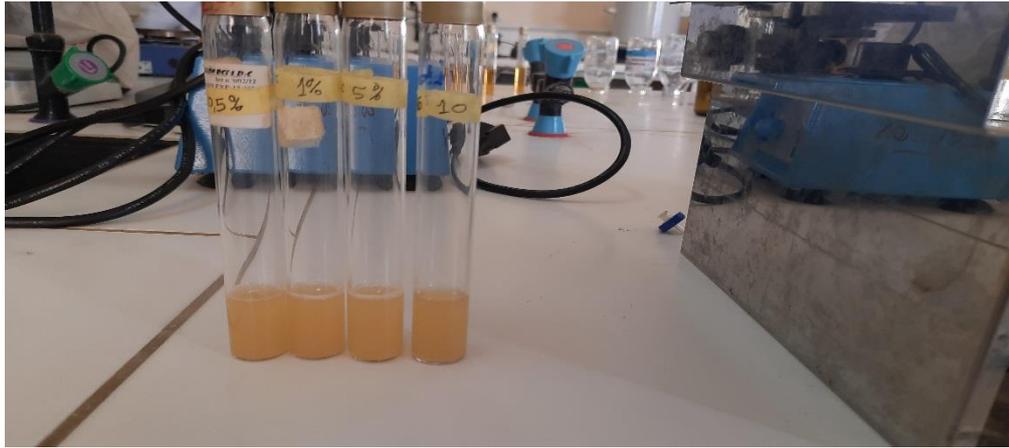


Figure 8: résultat de teste de Sels biliaire après 24h

Tableau 4: Résultats de résistance de *L.plantarum* aux sels biliaires par la méthode de dénombrement

% de sel	0.5	1	5	10
Nbr UFC	6×10^5	11×10^5	32×10^5	107×10^5



Figure 9: résultat de démembrement de teste résistance au sels biliaires (0.5%,1%,5%,10%).

Cette capacité des *lactobacilles* à croître dans des concentrations élevées en sels biliaires est due à une activité exo-hydrolasique, qui leur permet de résister à l'action détergente des sels biliaires en les transformant en dérivés inoffensifs (Roy, 2006). La « Bile Salt Hydrolase » (BSH, EC 3.5.1.24),

IV.7. Résultat d'hémolyse

L'isolât lactiques ne présentait aucune activité hémolytique, aucune zone d'hémolyse n'a été observée autour des colonies donc le type d'hémolyse pour la souche lactique est gamma (Boulahrouf et al., 2017). Cela signifie que les souches ne possèdent pas l'enzyme phosphatidyl-choline estérase qui permet la lyse des globules rouges. (Rychen et al., 2017 ; Olek et al., 2017 ; Chaves et al., 2017).

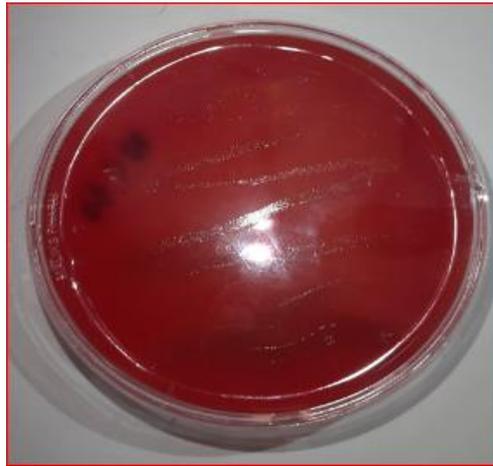


Figure 10 : Résultat de test d'hémolyse

IV.8. Résultat d'antagonisme

Les résultats se présentent comme ci-dessous

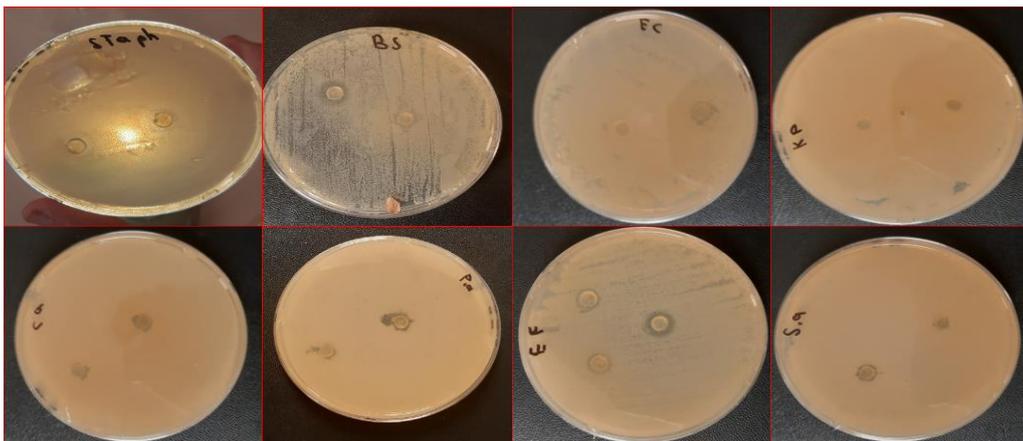


Figure 11: résultat de teste d'antagonisme

Tableau 5: résultat d'antagonisme de *L. plantarum* et 8 souches pathogènes

Souche pathogène	C.a	P.a	E.f	S.a	K.p	E.c	B.s	Staph
Diamètre de zone d'inhibition en mm	0	0	9	0	0	0	12	19

Après les résultats de tableau on observe une faible activité antibactérienne contre *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis* est une zone considérable contre *Staphylococcus aureus*

En conséquence, l'activité inhibitrice de *L. plantarum* sur les bactéries testées sous le test de superposition pourrait être due à tous les métabolites ; acide lactique, acide acétique, di-acétyle, bactériocine, etc. Par conséquent, la zone d'inhibition qui a été observée autour des disques dans la méthode de diffusion par disque de gélose pourrait être le résultat de la bactériocine ou bien des EPS.

Le rôle de l'inhibition de la croissance des lactobacilles probiotiques dans le surnageant acellulaire a été prouvé dans de nombreuses études antérieures qui concordent avec nos résultats. (Aminnezhad et al., 2015 ; Koohestani et al., 2018 ; Moradi et al., 2019 ; Yang et al., 2021).

L'inhibition des micro-organismes pathogènes, Certaines souches de *Lactobacillus plantarum*, y compris NSC10, sont capables de produire des composés bioactifs tels que des peptides antimicrobiens (Amara S et al., 2019).

**PARTIE V. CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

Conclusion

En conclusion, grâce la mise en place de ce travail, nous avons affecté après des tests *In vitro*

La souche de *Lactobacillus* présente de bonnes capacités protéolytique et lipolytique La souche NSC10 de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait de chamelle présente performances remarquable. En effet, cette souche est capable de survivre dans des conditions d'acidité et on présence de sels biliaire.

La souche ne présente aucune activité hémolytique c'est-à-dire qu'elle n'endommage pas les globules rouges et ne libère pas d'hémoglobine., offrent plusieurs avantages dans divers domaines, allant de la sécurité alimentaire à la santé humaine, en raison de leur capacité à remplir des fonctions bénéfiques sans les risques associés à l'hémolyse.

La capacité inhibiteur des souche pathogène tel que *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* représente un ensemble de mécanismes bénéfiques qui vont au-delà de la simple fermentation alimentaire, contribuant à la sécurité alimentaire, à la santé humaine et à la durabilité environnementale.

Lactobacillus plantarum NSC10, se distingue par ses propriétés technologiques avancées qui en font une souche précieuse dans :

Produit probiotique. Sa tolérance au pH étendue sa résistance au sels biliaire en font un choix idéal pour l'amélioration de microflore

Elle incarne une combinaison unique de robustesse technologique et de capacités fonctionnelles qui contribuent à améliorer la qualité, la sécurité et la valeur nutritionnelle des aliments.

Elles peuvent être également utilisée comme complément probiotique en raison de ses potentiels bienfaits pour la santé. Pourraient avoir des effets immunomodulateurs.

PARTIE VI. REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K. et Helander I.M.**, 2000. Lactic acid permeabilizes gram-négatif bacteria by disrupting the outer membrane. *App. Env. Microbiol.* 66(5) : 2001-2005.
- **Aminnezhad, S., Kermanshahi, R.K. and Ranjbar, R.** (2015) Evaluation of Synergistic Interactions between Cell-Free Supernatant of Lactobacillus Strains and Amikacin and Genetamicin against Pseudomonas aeruginosa. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8, e16592. [https://doi.org/10.5812/jjm.8\(4\)2015.16592](https://doi.org/10.5812/jjm.8(4)2015.16592).
- **Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P.**, 2008. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 661-765.
- **Benayoun L, Druilhe A, Dombret MC**, (2003). Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1360-8..
- **Boughachiche, F., Reghioia, S., Zerizer, H., Boulahrouf, A.** (2012): Antibacterial activity of rare Streptomyces species against multidrug-resistant clinical isolates. In *Annales de Biologie Clinique* 70 (2): 169
- **Bourgeois C.M. et Larpent J.P.**, (1996). *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires*. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 432-704.
- **Diabetes Metab J.** (2023) Jan;47(1):92-103. doi: 10.4093/dmj.2021.0370. Epub 2022 Apr 29.
- **Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM**,(1990). Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis*;142:863-71.
- **Gaggia, F.; Mattarelli, P.; Biavati, B.** (2010), Probiotics and Prebiotics in Animal Feeding for Safe Food Production. *Int. J. Food Microbiol.*, 141, S15–S28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>.
- **Girardin M, Seidman EG.** (2011) Indications for the use of probiotics in gastrointestinal diseases. *Dig Dis*; 29:574-87
- **Hamid Reza Koohetain, Seyed Kamran, Soltani Arabchahi, Ladan Fata, and Fazollah Aahmđi** (2018) The educational effects of mobile learning on students of medical sciences: A systematic review in experimental studies <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29607333/>
- **Harzallah, D.; Belhadj, H.**(2013) Lactic Acid Bacteria as Probiotics: Characteristics, Selection Criteria and Role in Immunomodulation of Human GI Mucosal Barrier. In

Lactic Acid Bacteria - R &D for Food, Health and Livestock Purposes; Kongo, J. M., Ed.; InTech, 2013.<https://doi.org/10.5772/50732>.

- **Holzapfel, W. H.; Haberer, P.; Geisen, R.; Björkroth, J.; Schillinger, U.** Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganisms in Food and Nu
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23017585/>
- <https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-cardiovasculaires/article/maladies-cardiovasculaires>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5724841/>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8019694/>
- **Hui-Xian Chong , Nur Asmaa' A Yusoff , Yan-Yan Hor , Lee-Ching Lew , Mohamad Hafis Jaafar , Sy-Bing Choi , Muhamad S B Yusoff , Normala Wahid , Mohammad Farris I L Abdullah , Norzila Zakaria , Kee-Leong Ong , Yong-Ha Park , Min-Tze Liong** art (2019) Lactobacillus plantarum DR7 improved upper respiratory tract infections via enhancing immune and inflammatory parameters: A randomized, double-blind, placebo-controlled study .
- **Im, E.; Pothoulakis, C.** (2010) Recent Advances in Saccharomyces Boulardii Research. Gastroentérologie Clin. Biol., 34, S62–S70. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(10\)70023-](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(10)70023-).
- **Jagadeesh, K. S.** (2015) Lactic Acid Bacteria as a Source of Functional Ingredients. South Indian J. Biol.Sci., 1 (2), 70. <https://doi.org/10.22205/sijbs/2015/v1/i2/100422>.
- **Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO,** (2011). Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea (review). Cochrane Database Syst Rev;11:CD004827.
- **Khan, S. H.** (2013) Probiotic Microorganisms- Identification, Metabolic and Physiological Impact on Poultry. Worlds Poult. Sci. J., 69 (3), 601–612. <https://doi.org/10.1017/S0043933913000603>.
- **Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M.,** 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 1
- **Leroy, F. and De Vuyst, L.** (2004) Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry. Food Science and Technology, 15, 67-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- **MAHBOUB N., TELLI A., SIBOUKEUR O., BOUDJENAH H.S., SLIMANI N. et MATI A.** (2010). Contribution à l'amélioration de l'aptitude fromagère du lait camelin : étude des conditions de conservation des enzymes gastriques camelines. Annales des Sciences et Technologie (2) N° 1, p. 71-79.

- **Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M.**, (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.
- **Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G.**, (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 512-592.
- **Nagpal, R.; Kumar, A.; Kumar, M.; Behare, P. V.; Jain, S.; Yadav, H.** 2012 Probiotics, Their Health Benefits and Applications for Developing Healthier Foods: A Review. FEMS Microbiol. Lett., 334, 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x>.
- **Niers LEM, Timmerman HM, Rijkers GT**, (2005). Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which downregulate T helper type 2 cytokines. Clin Exp Allergy; 35:1481-9
- **OSULLIVAN P., BEALES D., BEETHAM J., CRIPPS J., GRAL F., LIN I., TUCKER B., et AVERY A.**,(2002). Altered motor control in subjects with sacro-iliac joint pain during the active straight leg raise test, spine 27: 1238-1244.
- **Peng, M.; Liu, J.; Liang, Z.** (2019) Probiotic Bacillus Subtilis CW14 Reduces Disruption of the Epithelial Barrier and Toxicity of Ochratoxin A to Caco-2 cells. Food Chem. Toxicol., 126, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.02.009>.
- **Piewngam, P.; Zheng, Y.; Nguyen, T. H.; Dickey, S. W.; Joo, H.-S.; Villaruz, A. E.; Glose, K. A.; Fisher, E. L.; Hunt, R. L.; Li, B.; Chiou, J.; Pharkjaksu, S.; Khongthong, S.; Cheung, G. Y. C.; Kiratisin, P.; Otto, M.** (2018) Pathogen Elimination by Probiotic Bacillus via Signalling Interference. Nature, 562 (7728), 532–537. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0616-y>.
- **Ramlucken, U.; Roets, Y.; Ramchuran, S. O.; Moonsamy, G.; Rensburg, C. J. van; Thantsha, M. S.; Lalloo, R.** (2020) Isolation, Selection and Evaluation of Bacillus Spp. as Potential Multi-Mode Probiotics for Poultry. J. Gen. Appl. Microbiol, 66 (4), 228–238. <https://doi.org/10.2323/jgam.2019.11.002>.
- **Rokka, S.; Rantamäki, P.** (2010) Protecting Probiotic Bacteria by Microencapsulation: Challenges for Industrial Applications. Eur. Food Res. Technol., 231 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1246-2>.
- **RUTAGWENDA T., LECHNER DOLL M., KASKEM., ENGELHARDT W.V. SCHULTKAW., & SCHWARTZ H.J.**, 1989. Adaptation strategies of camels on a thorn bush

savannah pasture: Comparison with other domestic animals. CIHEAM, Options Méditerranéennes, 69-73.

- **Sabrina Amara; Nour Eddine Karam.,** (2019) Selection of Lactobacillus strains newly isolated from Algerian camel and mare fermented milk for their in vitro probiotic and lipolytic potentials Article in AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY DOI: 10.5897/AJB2019.16844.
- **Samot, J.; Badet, C.** (2013) Antibacterial Activity of Probiotic Candidates for Oral Health. Anaerobe, 19, 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.11.007>.
- **Shinde, T.; Vemuri, R.; Shastri, M. D.; Perera, A. P.; Tristram, S.; Stanley, R.; Eri, R.** (2019) Probiotic Bacillus Coagulans MTCC 5856 Spores Exhibit Excellent In-Vitro Functional Efficacy in Simulated Gastric Survival, Mucosal Adhesion and Immunomodulation. J. Funct. Foods, 52, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.031>.
- **World J Gastroenterol.** (2021) The educational effects of mobile learning on students of medical sciences: A systematic review in experimental studies Jan 7;27(1):107-128. doi: 10.3748/wjg.v27.i1.107.

PARTIE VII. ANNEXES

VII.1. LE SÉRUM PROBIOTIQUE ESSE SKINCARE



Figure 12: LE SÉRUM PROBIOTIQUE ESSE SKINCARE RESTAURE LA RÉSILIENCE ET L'ÉCLAT DE LA PEAU VIEILLISSANTE.

VII.2. MOTHER DIRT aux probiotique vivant



Figure 13: Mother Dirt - Spray aux probiotiques pour la peau sans conservateurs.

VII.3. Etapes coloration de Gram

1. À partir d'un prélèvement, un frottis est fait, séché à l'air et fixé à la chaleur. Une première application est réalisée avec du violet de gentiane.
2. La lame est ensuite rincée à l'eau pour une 2e application de lugol, le mordant, pendant 1 minute.
3. La lame est de nouveau rincée à l'eau pour une 2e application d'alcool (1 minute).
4. Une dernière étape de rinçage à l'eau et l'application d'un contre-colorant.

5. La lame est ensuite rincée et séchée pour une analyse des résultats de la procédure de coloration au microscope.

VII.4. MRS composant

Tableau 6: composant de gélose MRS

Composition	Concentration (g/L)
D (+) glucose	20.00
Meat extract	8.00
Peptone from casein	10.00
Yeast extract	4.00
Sodium acetate	5.00
Di-ammonium hydrogen citrate	2.00
Di-potassium hydrogen phosphate	2.00
Tween 80	1.00
Magnesium sulphate heptahydrate	0.20
Manganese sulphate tetrahydrate	0.04

VII.5. Composant de milieu MH

Tableau 7: composant de Muler Hinton agar (MH)

Composition gélose Mueller Hinton	
Ingrédients	gramme/litre
Peptone	17.5g
Extrait de viande	2g
Amidon	1.5g
Agar	17g
Final pH	7,3 +/- 0,1

VII.6. Composant de Columbia Blood agar

Composition**	
Ingredients	Gms / Litre
Peptone, special	23.000
Corn starch	1.000
Sodium chloride	5.000
Agar	15.000
Final pH (at 25°C)	7.3±0.2

**Formula adjusted, standardized to suit performance parameters

Figure 14: composant de Columbia agar