

Université Belhadj Bouchaib
Ain Temouchent
Département des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة بلحاج بوشعيب
عين تموشنت
قسم علوم الطبيعة والحياة

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN BIOLOGIE SPÉCIALITÉ : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

Thème :

**Etude de l'effet hypocholestérolémiant de la souche
Lactobacillus Plantarum LB23 isolée du miel collecté de la
région d'Aghlal, Ain Temouchent**

Réalisé par :

M^{elle} GUELAI WISSAM

Encadré par :

Mr MOUEDDEN NASR-EDDINE RIAD

DEVANT LE JURY :

M ^{me} TAHARI F.Z.	Présidente	MCB	U.Ain Temouchent
M ^{me} MADANI K.	Examinatrice	MAA	U.Ain Temouchent
Mr MOUEDDEN N.R.	Promoteur	MAA	U.Ain Temouchent

REMERCIEMENT

C'est avec une certaine émotion et beaucoup de sincérité que je voudrais remercier toutes les personnes ayant soutenu et apprécié mon travail.

En premier lieu, je tiens à remercier les membres du jury, M^{me} **FATIMA ZAHRA TAHARI** Vous me faites l'honneur de présider ce jury ,je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail et vous prie de recevoir l'expression de ma plus profonde reconnaissance,

M^{me} **KHADIDJA MADANI**, je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire. Soyez assurée de mon plus profond respect et de ma sincère gratitude.

Je vous remercie pour votre lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques que vous m'adresserez afin d'améliorer mon travail

Je tiens à remercier vivement mon encadrant de mémoire, Monsieur **MOUEDDEN Nasreddine Riad**, pour son soutien, ses conseils, son écoute active, sa disponibilité, son aide précieuse et pour le temps qu'il a bien voulu me consacrer. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse toute ma reconnaissance.

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents .Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir.

Mes remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

À mes chers parents : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond et grand respect.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos Innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Une spéciale dédicace à ma chère sœur «**Wafaa** » et mon frère «**Walid** » qui n'ont pas cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité dans la vie.

À mon encadreur Monsieur **N.R Mouedden** pour sa compréhension et sa sagesse.

À tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

À tout le monde ...

WISSAM.

RESUME

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de décès dans le monde. le cholestérol est l'un des principaux facteurs de risque de ces maladies, d'où la nécessité pour les sources naturelles qui peuvent abaisser le cholestérol a été d'intérêt depuis que les médicaments utilisés provoquent des effets indésirables. Une souche de bactérie lactique probiotique ayant un effet potentiel de réduction des lipides a été isolée à partir du miel. La souche a été identifiée Lactobacillus Plantarum (LB23), les effets hypocholestérolémiant de cette souche ont été étudiés chez des souris Balb/C mâles souffrant d'une hypercholestérolémie induite par un régime riche en graisses. Les souris ont été nourries avec un régime riche en cholestérol et ont été divisées dans les trois groupes expérimentaux suivants : Groupe témoin (Régime normal), souris nourries avec un régime gras, et des souris nourries avec un régime gras + L.plantarum (LB23). A la fin de l'expérience le sang a été prélevé et analysé. Les résultats ont indiqué que l'intervention de L. Plantarum LB23 inhibait significativement la croissance du poids corporel, a amélioré les paramètres biochimiques du sérum sanguin (TC , TG , LDL-c et HDL-c) liés au métabolisme des lipides .Ces découvertes présentent de nouvelles preuves soutenant que L .plantarum LB23 a le potentiel d'améliorer le métabolisme des lipides et pourrait être utilisée comme aliment fonctionnel potentiel pour la prévention contre l'hyperlipidémie.

Mots clés : Bactéries lactiques, Lactobacillus Plantarum , Probiotique , l'hyperlipidémie ,maladies cardiovasculaires , cholestérol.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide. Cholesterol is one of the major risk factors for these diseases, hence the need for natural sources that can lower cholesterol has been of interest since the drugs used cause adverse effects. A strain of probiotic lactic acid bacteria with a potential lipid-lowering effect has been isolated from honey. The strain was identified Lactobacillus Plantarum (LB23), the cholesterol-lowering effects of this strain were studied in male Balb/C mice suffering from high-fat diet-induced hypercholesterolemia. The mice were fed a diet high in cholesterol and were divided into the following three experimental groups: Control group (Normal diet), mice fed a fatty diet, and mice fed a fatty diet + L. plantarum (LB23). At the end of the experiment, blood was collected and analyzed. The results indicated that L. plantarum LB23 intervention

significantly inhibited body weight growth, improved blood serum biochemical parameters (TC, TG, LDL-c, and HDL-c) related to lipid metabolism in mice. These findings present new evidence supporting that *L. plantarum* LB23 has the potential to enhance lipid metabolism and could be used as a potential functional food for the prevention of hyperlipidemia.

Keywords: Lactic acid bacteria, *Lactobacillus Plantarum*, Probiotic, hyperlipidemia, cardiovascular disease, cholesterol.

ملخص

أمراض القلب والأوعية الدموية هي السبب الرئيسي للوفاة في جميع أنحاء العالم. يعتبر الكوليسترول أحد عوامل الخطر الرئيسية لهذه الأمراض ، ومن ثم فإن الحاجة إلى المصادر الطبيعية التي يمكن أن تخفض الكوليسترول كانت موضع اهتمام لأن الأدوية المستخدمة تسبب آثارًا ضارة ، وقد تم عزل سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك بروبيوتيك من العسل ذات التأثير المحتمل لخفض الدهون وقد تم عزل سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك بروبيوتيك ذات التأثير المحتمل لخفض الدهون. من العسل. تم التعرف على السلالة ل*لاكتوباسيليس* *بلانتاروم* ، تمت دراسة تأثيرات خفض الكوليسترول لهذه السلالة في ذكور فئران التي تعاني من فرط كوليسترول الدم الناجم عن النظام الغذائي عالي الدهون. تم تغذية الفئران بنظام غذائي غني بالكوليسترول وتم تقسيمها إلى المجموعات التجريبية الثلاث التالية: المجموعة الأولى (نظام غذائي عادي) ، المجموعة الثانية (نظام غذائي دهني) (المجموعة الثالثة (نظام غذائي دهني + *لاكتوباسيلوس* *بلونتاروم*) . في نهاية التجربة تم جمع الدم وتحليله ، وأظهرت النتائج أن تدخل *لاكتوباسيلوس* *بلونتاروم* أدى إلى تثبيط نمو وزن الجسم بشكل كبير ، وتحسين المعلمات البيوكيميائية لمصل الدم المرتبطة بعملية التمثيل الغذائي للدهون في الفئران. تقدم هذه النتائج أدلة جديدة تدعم أن *لاكتوباسيلوس* *بلونتاروم* لديها القدرة على تعزيز التمثيل الغذائي للدهون ويمكن استخدامها كغذاء وظيفي محتمل للوقاية من فرط شحميات الدم.

كلمات البحث: بكتيريا حمض اللاكتيك ، ، البروبيوتيك ، فرط شحميات الدم ، أمراض القلب والأوعية الدموية ،
..الكوليسترول

LISTE DES ABREVIATION

- TC : Cholestérol total
- TG : Triglycérides
- LDL : Lipoprotéines de faible densité
- HDL : Lipoprotéines de haute densité
- VLDL : Lipoprotéines de très faible densité
- MCV : Maladies cardiovasculaires
- LB : Lactobacillus
- LBP : Lactobacillus Plantarum
- MRS : Milieu de Man, Rogosa et Sharpe (1960)
- pH : Potentiel d'hydrogène
- UFC : Unité formant colonie

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : Principaux espèces microbiennes utilisées comme probiotiques
- Tableau 2 : Effet de la souche *L. Plantarum* LB23 sur le poids corporel des souris

Tableaux présents dans l'annexe :

- Tableau A1 : Poids des souris du groupe témoin (Régime normal)
- Tableau A2 : Poids des souris du groupe 2 (Régime gras sans LB23)
- Tableau A3 : Poids des souris du groupe 3 (Régime gras +LB23)
- Tableau A4 : Dosage des paramètres biochimiques sanguins du groupe 1
- Tableau A5 : Dosage des paramètres biochimiques sanguins du groupe 2
- Tableau A6 : Dosage des paramètres biochimiques sanguins du groupe 3

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Formule développée du cholestérol
- Figure 2 : Souris en phase d'adaptation logées dans des cages en plastique
- Figure 3 : Régime alimentaire du groupe témoin
- Figure 4 : Régime alimentaire du groupe (RG sans LB23) et (RG+LB23)
- Figure 5 : Gavage intra gastrique de la suspension LB23
- Figure 6 : Schéma représentatif de la phase expérimentale du groupe (RG+LB23)
- Figure 7 : Anesthésie des souris
- Figure 8 : Prélèvement sanguin des souris au 20^{ème} jour
- Figure 9 : Observation microscopique de la souche LB23 après coloration de Gram X100

- Figure 10 : Etat des souris durant les 25 jours
- Figure 11 : Poids des souris au J0
- Figure 12 : Poids des souris du groupe 2 (RG sans LB23) au 20^{ème} jour
- Figure 13 : Poids des souris du groupe 3 (RG+LB23) au 20^{ème} jour
- Figure 14 : Variation du poids des souris
- Figure 15 : Gain de poids chez les souris au 20^{ème} jour
- Figure 16 : Taux du cholestérol total TC après 20 jours
- Figure 17 : Taux des glycérides TG après 20 jours
- Figure 18 : Taux du HDL-c après 20 jours
- Figure 19 : Taux du LDL-c après 20 jours

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Listes des tableaux et figures	
Introduction.....	11

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LE MIEL.....	14
1.1 Définition.....	14
1.2 Les différents types de miel.....	14
1.3 Propriétés physiques.....	14
1.4 Composition chimique.....	15
1.5 L'utilisation thérapeutique du miel.....	15
1.5.1 Propriétés anti-infectieuses et antibiotiques	16
1.5.2 Propriétés cicatrisantes.....	16
1.5.3 Propriétés anti oxydantes.....	16
1.5.4 Propriétés sédatives et calmantes	16
1.5.5 Propriétés respiratoires	16
1.5.6 Propriétés digestives.....	17
1.5.7 Propriétés protectrices cardiovasculaires.....	17
1.6.8 Propriétés cosmétiques	17
2. LES BACTERIES LACTIQUES.....	18
2.1 Définition	18
2.2 Caractères généraux des bactéries lactiques	18
2. 3 Habitat.....	18

2.4 Classification.....	19
2.5 Quelques genres principaux des bactéries lactiques.....	19
▪ Streptococcus.....	19
▪ Lactococcus.....	19
▪ Pediococcus.....	19
▪ Streptobacterium.....	19
▪ Lactobacillus.....	19
2.6 Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques.....	20
3. LES PROBIOTIQUES.....	21
3.1 Définition.....	21
3.2 Le rôle des probiotiques.....	21
3.3 Actions probiotiques des bactéries lactiques.....	21
3.4 Principaux mécanismes d'action des probiotiques.....	22
3.5 Classification des probiotiques.....	22
3.6 Les bactéries lactiques et leur effet probiotique sur l'hypercholestérolémie.....	23
4. LE CHOLESTEROL SANGUIN.....	25
4.1 Définition.....	25
4.2 Les différentes formes du cholestérol.....	26
4.2.1 Le HDL-Cholestérol (Le bon cholestérol).....	26
4.2.2 Le LDL-Cholestérol (Le mauvais cholestérol).....	27
4.3 Dégradation du cholestérol.....	27
4.4 Rôle biologique du cholestérol.....	28
4.5 Pathologies provoquées par le cholestérol	28
4.5.1 L'hypercholestérolémie.....	30
4.5.1.1 Complications liées à l'hypercholestérolémie	30
4.5.1.2 Examens à faire pour dépister l'hypercholestérolémie.....	30
Matériel et méthodes	31
Résultats.....	39
Discussion.....	48
Conclusion.....	54
Bibliographies.....	56
Annexe	61

INTRODUCTION

Parmi les causes les plus fréquentes de la mort dans la société moderne sont les maladies cardiovasculaires (MCV) qui résultent de l'hypercholestérolémie qui est définie par la présence des niveaux élevés de cholestérol dans le sang, qui sont causés en raison d'un métabolisme du cholestérol héréditairement altéré ou par une augmentation de l'apport alimentaire en cholestérol. Les niveaux élevés du cholestérol dans le plasma du sang entraînent une augmentation du cholestérol total et de lipoprotéine de faible densité (LDL), formant des macrophages chargés de lipides ces derniers forment des plaques sur le vaisseau sanguin empêchant ainsi la circulation sanguine.

L'intérêt des bactéries lactiques pour la santé des consommateurs est reconnu depuis longtemps et les effets bénéfiques probiotiques potentiels cités sont nombreux et variés. Parmi ces effets, leur activité hypocholestérolémiante qui a été étudié précédemment par plusieurs chercheurs, (**Urbanska M, et all 2016**) ont démontré que les bactéries lactiques pouvaient améliorer les syndromes métaboliques comme l'obésité, le diabète, l'hypertension, la diarrhée, et l'hyperlipidémie.

L'administration orale de ces probiotiques a déjà été étudiée comme une approche thérapeutique potentielle des maladies de l'hypercholestérolémie qui agit par la réduction des niveaux de TC, TG et LDL-C dans le sérum sanguin et l'augmentation des taux de HDL-C peut réduire efficacement l'incidence et la mortalité des maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires (**Kong et all. 2018**)

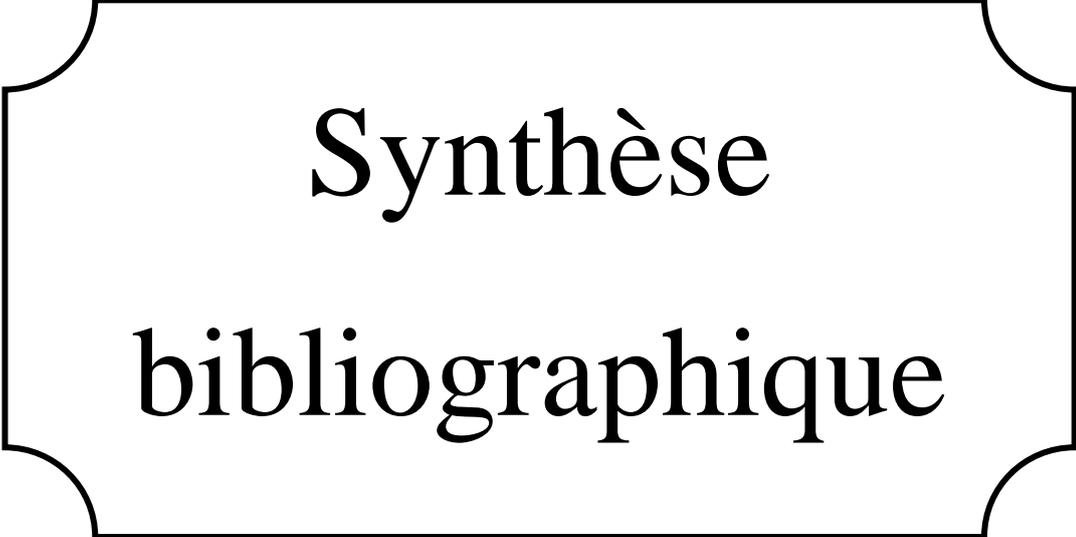
Le but de ce travail consiste à expliquer la capacité à éliminer le cholestérol selon une étude in vivo chez des bactéries lactiques isolées du miel afin de prouver le potentiel probiotique ayant un effet bénéfique concernant la maladie de l'hypercholestérolémie.

A cet effet le mémoire est structuré en 4 parties :

1. Des généralités sur le miel (définition, Types de miels, historique de l'emploi du miel en thérapeutique ... etc)

2. La deuxième partie est consacré à des rappels bibliographiques sur les bactéries lactiques, le cholestérol et l'effet probiotique anti cholestérolémie de ces bactéries.
3. Une partie matériel et méthodes qui décrivent toutes les techniques qui se rapportent aux objectifs de ce thème.
4. Les résultats et une discussion qui traite les différents résultats obtenus en comparaison avec d'autres travaux de recherche.

Le manuscrit s'achève par une conclusion générale.



Synthèse
bibliographique

1. LE MIEL

1.1 Définition

Le miel est une substance sucrée produite par les abeilles à partir du nectar, du miellat, et d'autres matières sucrées qu'elles récoltent sur les végétaux, enrichissent de substances provenant de leurs corps, transforment dans leur corps, entreposent dans les rayons et font mûrir...

C'est une substance visqueuse d'une coloration très variable pouvant aller du jaune le plus clair au brun très foncé, de saveur très sucrée, acide et plus ou moins aromatique.

1.2 Les différents types de miel :

Il existe deux types de miels :

1.2.1 Les miels « monofloraux » ou « uni floraux »

Autrement appelés 'miels de cru' qui proviennent de façon prédominante d'une plante déterminée. Ex : Miel de lavande, Miel de thym, Miel de cerisier, Miel d'amandier.....etc

1.2.2 Les miels « polyfloraux »

Communément appelés 'miels toutes fleurs' qui proviennent de multiples récoltes par les abeilles et sans dominance nette d'une plante particulière.

1.3 Propriétés physiques :

Selon l'origine florale, la couleur du miel peut aller du blanc crème au marron foncé.

Il contient des particules en suspension d'où une certaine turbidité.

La viscosité du miel dépend de la température, de la teneur en eau et de sa composition chimique.

Sa densité est de 1,42 à 20°C

Le pH du miel varie entre 3 à 6.

L'indice de réfraction du miel se mesure avec un réfractomètre il permet de déterminer la teneur en eau du miel qui varie entre 17 à 20%

1.4 Composition chimique :

Eau : La teneur en eau est variable selon les types de miels, Elle est en moyenne de 17%.

Glucides : Monosaccharides (31% de glucose et 38% de fructose) , Disaccharides (7,5% de maltose et 1,5% de saccharose) et 1,5% de divers sucres différents selon l'origine florale .

Acides aminés : Proviennent du nectar, des abeilles et du pollen.

Acides organiques : Acides gluconiques, maliques , oxaliques Etc , Cette acide organique est formée a partir du glucose dans le miel en présence d'oxygène par action d'une enzyme salivaire de l'abeille , la glucose-oxydase.

Enzymes : Amylase, phosphatase, catalase, glucose-oxydase, invertase, Ces enzymes proviennent des sécrétions salivaires des abeilles.

Sels minéraux : Le potassium, le calcium, le magnésium, le sodium, le fer

Les miels de couleur foncé sont les plus riches en sels minéraux.

Vitamines : Vitamine B provenant du pollen, et vitamine C provenant du nectar.

Arômes : Aldéhydes, alcools, cétones

Le miel contient également du pollen, de la cire , des levures et des spores de champignons.

1.5 L'utilisation thérapeutique du miel :

Le miel a toujours été utilisé comme remède à de nombreux maux. Quelques usages empiriques ont traversé le temps comme le fait de prendre une cuillère de miel lorsque la gorge se fait douloureuse, mais les autres sont tombés dans l'oubli. Partant de constatations cliniques impressionnantes, des chercheurs de toutes les parties du globe travaillent afin de démontrer scientifiquement les atouts du miel.

1.5.1 Propriétés anti-infectieuses et antibiotiques :

Le miel est connu depuis l'Antiquité pour ses propriétés anti-infectieuses : le miel empêche la prolifération bactérienne, virale ou fongique grâce à une enzyme, la glucose oxydase, produisant du peroxyde d'hydrogène (comme dans l'eau oxygénée) qui est un antiseptique naturel. De plus, il a une faible concentration en protéines ce qui empêche les bactéries de se développer. Enfin, son acidité entrave la multiplication des bactéries, complétant son action antibactérienne. Il peut être utilisé dans cet objectif aussi bien au niveau cutané qu'en ingestion pour la sphère respiratoire ou digestive, Cette propriété thérapeutique est confirmée dans une étude précédente par **AI-Waili 2003**

1.5.2 Propriétés cicatrisantes

Souvent employé comme antiseptique pour soigner les plaies, le miel possède également des propriétés cicatrisantes qui justifient à nouveau son utilisation cutanée (**Simon A. et all, 1997**). Il empêche alors le développement des bactéries et régénère le tissu cutané afin d'avoir une bonne cicatrisation. Cette action est due à sa forte osmolarité, qui fait que le miel attire l'eau, draine la lymphe et le plasma vers l'extérieur, ce qui élimine les débris et nettoie la plaie. Le miel est donc un antiseptique et antibactérien très reconnu, qui aide à la cicatrisation des plaies

1.5.3 Propriétés anti oxydantes :

Grâce à la présence de nombreux flavonoïdes, le miel a un important pouvoir antioxydant, car ces derniers neutralisent les radicaux libres, ayant ainsi un effet bénéfique dans la prévention de certains cancers ou certaines maladies cardiovasculaires. (**Taormina et all 2001**) On peut également noter ici que le miel « foncé », plus riche en flavonoïdes et en fructose, serait plus efficace pour ces propriétés thérapeutiques.

1.5.4 Propriétés sédatives et calmantes :

Le miel permet la libération de sérotonine, un neurotransmetteur qui va favoriser le sommeil. Donc, plutôt que d'ajouter un morceau de sucre dans votre tisane du soir, diluez une cuillère de miel afin de passer une bonne nuit calme et apaisée !

1.5.5 Propriétés respiratoires :

Contre la toux ou les maux de gorge, le miel va apporter un effet immédiat et durable d'apaisement. Grâce à ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, il est efficace pour calmer les symptômes du rhume et apaiser votre appareil respiratoire. Il calmera les irritations

« On peut différencier les émotions selon trois niveaux de classification :

1.5.6 Propriétés digestives :

Le miel agit directement sur la sphère digestive, et est efficace pour traiter les infections de l'estomac et de l'intestin, diminuer les inflammations ou ulcères gastriques, ainsi que les constipations passagères. Grâce à ses enzymes "diastases", il aide à la digestion et stimule l'estomac. Enfin, il possède un léger pouvoir laxatif (variable selon le miel) et limite la fermentation intestinale.

1.5.7 Propriétés protectrices cardiovasculaire

Grâce aux vitamines B, qui sont antioxydants, le miel va limiter l'athérosclérose, ayant une action bénéfique sur le cœur et les vaisseaux sanguins .

1.5.8 Propriétés cosmétiques :

Utilisé depuis l'Antiquité dans les soins de beauté, le miel dispose d'un pH proche de celui de la peau (4 à 6), et sa riche composition lui confère en fait un très bon agent hydratant, émollient, adoucissant et tonifiant ! Il nourrit les cellules, favorise leur renouvellement et participe au maintien de la jeunesse de la peau . (**Lusby et all. 2002**).

Pour conclure, Fruit de la rencontre entre les végétaux et les abeilles, le miel est un cadeau de la nature. Utilisé depuis toujours par les hommes, les thérapeutiques mellifères ont empiriquement traversé les siècles. Des études internationales viennent aujourd'hui confirmer ce que les anciens savaient déjà : le miel possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. Même si tous les mystères du miel n'ont pas encore été élucidés, ces données scientifiques sont nécessaires pour faire accepter l'idée que c'est un remède efficace et qu'il offre de formidables perspectives.

Dans les pays développés il serait une alternative envisageable pour des traitements coûteux (escarres, plaies post opératoires, ...) ou devenus inefficaces (résistance bactériennes aux antibiotiques). Pour les pays en voie de développement, le miel pourrait être une solution thérapeutique intéressante d'autant qu'il peut être produit de façon indépendante. Force est de constater que malgré toutes ses qualités ce produit n'est que très peu intégré dans les protocoles de soins actuels.

2. LES BACTERIES LACTIQUES

2.1 Définition :

Les bactéries lactiques regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes (**Labioui et al 2005**) dont le trait commun est la production d'acide lactique.

Ce sont des cellules vivantes, autonomes et procaryotes . Elles appartiennent à divers genres comme *Bifidobacterium*, *Enterococcus* ,*Lactobacillus* ,*Lactococcus* ,*Leuconostoc* ,*Pediococcus* ,*Streptococcus* ,*Aerococcus* et *Carnobacterium* .

Ce sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments.Elles sont surtout connues pour leurs rôles dans la préparation des laitages fermentés , utilisées également dans le saumurage des légumes , la boulangerie , la fabrication du vin ,le saurissage du poisson , des viandes et des salaisons (**EUFIC ,1999**)

2.2 Caractères généraux des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, généralement immobiles anaérobies partiellement tolérantes à l'oxygène, ne produisant pas en général de spores, se présentant sous formes de coques ou de bacilles , Elles ne possèdent ni catalase ni nitrate réductase. Elles sont en générale aérotolérante. Cependant certaines espèces habitant le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes. (**Frey et Hubert, 1993**).

2.3 Habitat :

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, le miel , les végétaux , la viande , le poisson , les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif.(**Givry, 2006**)

Les lactobacilles constituent, entre autres, une part importante du microbiote humain et animal. Chez l'Homme sain, elles se retrouvent tout au long du système digestif : de la bouche au côlon. Les espèces les plus rencontrées sont : *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. brevis*, le groupe *L. casei*, *L. gasseri*, *L. reuteri*, *L. fermentum*, *L. vaginalis* et *L. ruminis* (**Reuter, 2001; Eckburg et al., 2005 ; Walter, 2008; Ozgun et Vural, 2011**).

2.4 Classification des bactéries lactiques :

Les critères utilisés (morphologie cellulaire , type fermentaire, températures de croissance ...) sont toujours très important pour la classification des bactéries lactiques, bien que l'avènement des outils taxonomiques plus modernes, les méthodes biologiques en particulier moléculaires , ont considérablement augmenté le nombre de genres de bactéries lactiques , à partir des quatre initialement reconnue par Orla-Jensen (*Lactobacillus* ,*Leuconostoc* , *Pediococcus* et *Streptococcus*) (**Mahtinem et al , 2012**)

Les bactéries lactiques peuvent être divisées du point de vue morphologique en *bacilles* (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et *coques* (tous les autres genres). Le genre *Weissella* est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (**Ho et al, 2007**)

Le groupes des bactéries lactiques lié aux aliments renfermes les 12 genres suivants : *Carnobacterium* , *Enterococcus*, *Lactobacillus* *Lactococcus* ,*Leuconostoc*,*Pediococcus* ,*Streptococcus* ,*Tetragenococcus* ,*Vagococcus* ,*Oenococcus* , *Weissella* et *Bifidobacterium*

2.5 Quelques genres principaux des bactéries lactiques :

2.5.1 Streptococcus : des cellules ovoïdes , sphériques ou quelques fois allongés en paire ou en chaînettes , Les streptocoques lactiques se distinguent par leur capacité de croitre a 45°C.

2.5.2 Lactococcus : Le groupe de lactocoques correspond aux streptocoques mésophiles de la flore lactique. Elles sont généralement micro aérophiles et se développent à 30°C . (**Björkroth et Holzapfel, 2006**).

2.5.3 Pediococcus : Sont des bactéries microaérophiles a besoin nutritifs complexes. Leurs développement nécessite plusieurs facteurs de croissances, plusieurs espèces sont acidophiles elles sont saprophytes et contaminent les produits végétaux, ce sont des agents de dégradation en brasserie

2.5.4 Streptobacterium : Ce genre regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles qui se développent à 15°C . (**Delorme et al., 2010**).

2.5.5 Lactobacillus : Les bactéries appartenant a ce genre sont des bacilles souvent allongées, a gram positives, parfois groupés n paires ou en chaînes. Elles sont catalase négatives, micro aérophiles, il s'agit du plus important groupe des bactéries lactiques. Les bactéries de ce genre se montre généralement plus résistant aux stress acide que les lactocoques (**Sieguemfeldt , et al 2000**)

2.6 Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnelle, car elles requièrent des substrats complexes carbonés , azotés , phosphatés ,et soufrés , et aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments .

- Les glucides : Les bactéries lactiques ont besoin d'un apport en nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie.
- Azote : Les bactéries lactiques exigent l'apport exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables d'effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple. Elles ne peuvent utiliser que des acides aminés libres, ou des peptides courts.
- Vitamines : Jouent dans les métabolismes cellulaires le rôle irremplaçable de coenzymes.
- Minéraux : Le fer est un élément important dans la croissance et la production d'acide lactique pour les lactocoques.

3. LES PROBIOTIQUES :

3.1 Définition :

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui peuvent être intégrés dans différents types de produits, y compris les aliments, les médicaments et les suppléments alimentaires. Les espèces de *Lactobacillus* sp et *Bifidobacterium* sp sont les plus communément utilisées comme probiotiques, mais la levure *Saccharomyces cerevisiae* et quelques espèces de *E. coli* et de *Bacillus* sp sont également utilisées comme probiotiques. Les bactéries lactiques, y compris des espèces de *Lactobacillus*, utilisées pour la conservation de la nourriture par fermentation depuis des milliers d'années, peuvent jouer un double rôle comme agents de la fermentation alimentaire et comme agents bénéfiques pour la santé (Hill *et al.*, 2014).

3.2 Le rôle des probiotiques :

Les probiotiques ont pour but d'aider la flore microbienne naturelle intestinale et par conséquent, leur plus grande évidence, sur la santé humaine, concerne leur rôle sur l'intestin par l'inhibition des germes pathogènes et la prévention et/ou le traitement des diarrhées infectieuses.(Bahri,2014)

3.3 Actions probiotiques des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont de plus en plus utilisées en alimentation humaine et animale pour leurs effets probiotiques. Parmi ces effets on peut citer, les bactéries lactiques ayant des propriétés anti tumorales qui pourraient être dû à l'inhibition des composés carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal et/ou la réduction des activités enzymatiques des bactéries intestinales, La prévention et le traitement des diarrhées due aux infections gastro-intestinales, la diminution de la cholestérolémie par réduction de l'absorption intestinale du cholestérol endogène et exogène et la diminution de sa synthèse dans le foie

Certaines souches probiotiques, notamment les lactobacilles capables de stimuler l'activité enzymatique des microorganismes endogènes, permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.

— **D'autres principaux effets bénéfiques des probiotiques sont :**

- prévention et traitement des diarrhées
- atténuation de l'intolérance au lactose.

- · prévention des allergies atopiques.
- · diminution du risque de réapparition des infections urinaires.
- · prévention et retardement de l'apparition de certains cancers.
- · Réduction du taux de cholestérol et prévention de certaines maladies cardiovasculaires.
- · modulation et stimulation de la fonction immunitaire.
- · Prophylaxie et thérapie des maladies intestinales inflammatoire : maladie de Crohn, et le syndrome du côlon irritable.
- · Prévention et traitement de l'infection par *Helicobacter pylori* (**Reid et al., 2003, Hsieh et Versalovic, 2008 ; Vasiljevic et Shah, 2008**).

3.4 Principaux mécanismes d'action des probiotiques : (Cités par (Villeger,2014))

- ✓ Activité antimicrobienne
- ✓ Diminution du pH liminal par la production de métabolites acides
- ✓ Sécrétion de peptides antimicrobiens
- ✓ Inhibition de l'invasion bactérienne par compétition pour les nutriments
- ✓ Inhibition de l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales par compétition pour les récepteurs
- ✓ Augmentation des fonctions de barrières
- ✓ Stimulation de la production de mucus
- ✓ Augmentation de l'intégrité de la barrière intestinal

3.5 La classification des probiotiques :

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez L'homme, notamment au niveau de la flore digestive. Nous regroupons les souches utilisées comme probiotiques dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Principaux espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (Bernier, 2010).

<i>Genre</i>	<i>Espèces</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. reuterii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. sporogenes</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. bifi dum</i> <i>B. adolescentis</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. cremoris</i> <i>L. lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. licheniformis</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. clausii</i> <i>B. laterosporus</i> <i>B. pumilus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Saccharomyce</i>	<i>S. cerevisiae</i> <i>S. cerevisiae var boulandi</i>

3.6 Les bactéries lactiques et leur effet probiotique sur l'hypercholestérolémie :

Certains probiotiques peuvent prévenir de l'hypercholestérolémie en favorisant l'utilisation du cholestérol par le foie, (Klaver et van der Meer, 1993). Il existe de nombreuses études reliant la réduction du cholestérol et la capacité des probiotiques déconjuguer les sels biliaires (Klaver et van der Meer, 1993) et leur capacité à précipiter le cholestérol in vitro pourrait avoir la même conséquence physiologique (Mathara et al., 2008).

En effet, chez des souris hypercholestérolémiques, l'ingestion de *Lb. acidophilus* ATCC 43121 permet de réduire le cholestérol du sérum (Park et al., 2007). D'autres auteurs ont montré que l'ingestion de *Lb. plantarum* KCTC3928 chez la souris a des effets

hypocholestérolémiants en modulant les gènes et enzymes clés impliqués dans le métabolisme hépatique du cholestérol (**Jeun et al.,2009**).

Plusieurs recherches, ont démontré les différents mécanismes régulant le taux du cholestérol par les bactéries lactiques. En effet, (**Tahri et al., 1995**) ont étudié l'action réductrice du cholestérol chez les bifidobactéries et ont observé qu'il existe une forte affinité de liaison entre la paroi cellulaire des souches bifides et la molécule de cholestérol. Cette liaison a été considérée comme étant une assimilation qui dépendrait, selon les auteurs, de la croissance des souches. Par ailleurs, la présence de sels biliaires dans le milieu de culture est indispensable pour l'expression de toute activité significative réductrice de cholestérol de la part des bifidobactéries. De ce fait, ces auteurs ont suggéré que le mécanisme bactérien réducteur de cholestérol est l'union des deux effets: assimilation bactérienne directe de cholestérol et/ou co-précipitation avec les sels biliaires déconjugués. (**Ziar, 2013**).

Aussi l'utilisation des prébiotiques en association des probiotiques lactiques permet, d'améliorer l'action hypocholestérolémiante des bactéries lactiques. EffectivementLa fermentation des fructo-oligo saccharides par *Lactobacillus acidophilus* a provoqué une suppression de la synthèse des triglycérides et du cholestérol-VLDL au niveau du foie, aboutissant à une diminution marquée de la triglycéridémie, et dans une moindre mesure, de la cholestérolémie (**Bengmark, 2000 ; Ziar, 2013**). Chez le rat, l'administration du raffinose et de *Lactobacillus acidophilus* réduit significativement la triglycéridémie et résulte en une augmentation de la synthèse hépatique du cholestérol-HDL et du butyrate, l'acide gras à courte chaîne qui représente la source privilégiée (absorbé par le côlon) d'énergie nécessaire au renouvellement des cellules coliques (**Tortuero et al., 1997**)

4. LE CHOLESTEROL SANGUIN :

4.1 Définition :

Le cholestérol est une substance molle et cireuse de couleur laiteuse, fabriquée par l'organisme humain et animal. Il fait partie des graisses ou lipides (de la famille des stérols) des organismes vivants et est indispensable à leur bon fonctionnement, que l'on retrouve normalement dans le sang dont il joue un rôle central dans de nombreux processus biochimiques (Genest, 2000). C'est une molécule biologique. Il porte un groupe hydroxyle OH sur le carbone-3 (figure1) (Hames *et al.*, 2000; Borg et Reeber, 2004).

○ Autre définition :

Le cholestérol est un corps gras indispensable au fonctionnement de l'organisme. Il entre notamment dans la composition des membranes des cellules et sert, entre autres, de « matière première » à la synthèse de nombreuses hormones (stéroïdes).

Cela étant, le cholestérol en excès peut être nuisible, car il a tendance à s'accumuler dans les vaisseaux sanguins et à former des plaques dites d'*athérosclérose* qui peuvent, à terme, augmenter le risque cardiovasculaire.

Le cholestérol n'est pas soluble dans le sang : il doit donc y être transporté par des protéines, avec qui il forme des complexes que l'on appelle lipoprotéines.

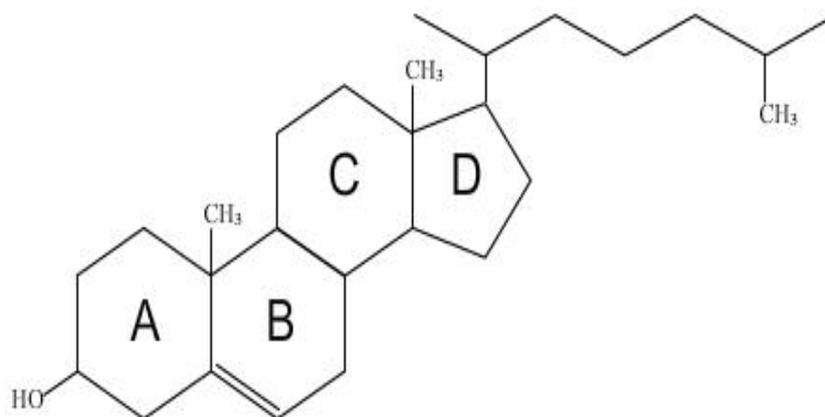


Figure 01 : Formule développée du cholestérol (Camus, 2018)

4.2 Les différentes formes de cholestérols :

Le cholestérol est un lipide (acide gras) indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Il circule dans le sang et est nécessaire à la structure des membranes de nos cellules ainsi qu'à la fabrication d'hormones.

Il joue également un rôle primordial dans la synthèse de la vitamine D et des sels biliaires, qui participent principalement à la digestion des graisses

Le cholestérol total provient de deux sources principales :

- Une source endogène (provenant de notre corps) : le cholestérol est fabriqué par les cellules du corps, principalement dans le foie (700 à 1250 mg/jour).
- Une source exogène (d'origine extérieure) : l'alimentation, principalement les graisses animales (300 à 700 mg/jour).

Comme tous les acides gras, le cholestérol n'est pas soluble dans l'eau. Il a donc besoin de transporteurs pour circuler dans le sang. Ce sont les lipoprotéines qui jouent ce rôle.

Deux lipoprotéines interviennent dans le transport du cholestérol, le sous-divisant ainsi en deux grands types :

4.2.1 Le HDL-cholestérol ou "bon cholestérol" :

Il s'agit d'une lipoprotéine de haute densité (HDL ou "high density protein"), qui a pour fonction de transporter l'excédent de cholestérol dans le sang vers le foie et qui participe ainsi à l'élimination de cette graisse par l'organisme. Cette variable représente le "bon" cholestérol, Celui pour lequel il est préférable d'obtenir des valeurs fortes. Plus le taux sanguin de HDL cholestérol est élevé, plus le risque d'athérosclérose (lorsqu'il y a des plaques d'athéromes) est faible. On considère habituellement que sa concentration doit dépasser au minimum 35 mg/dl ou 0,9 mmol/l. Les valeurs observées sont, en règle générale, plus importantes chez les femmes. À partir du HDL-cholestérol, on peut également mesurer le rapport Cholestérol total/HDL-cholestérol, dont la valeur standard est de 4,0. Au-dessus de ce chiffre, on estime que le risque artériel est important. (**Tutin., 2018**).

4.2.2 Le LDL-cholestérol ou "mauvais cholestérol»:

Il s'agit d'une lipoprotéine de basse densité (LDL ou "low density protein"), qui transporte le cholestérol provenant des aliments vers les tissus. Il représente le "mauvais" cholestérol et il est bon d'avoir de faibles taux de LDL-cholestérol. La probabilité d'athérosclérose est, en effet, d'autant plus forte que la valeur du LDL-cholestérol est élevée. Le taux du LDL-cholestérol est, en général, calculé à partir des triglycérides (TG), une autre variable lipidique, du HDL-cholestérol et du cholestérol total selon la formule de **Fridewald***. On peut aussi mesurer le taux de LDL-cholestérol par technique d'ultracentrifugation, mais ce dosage n'est pas effectué en routine. Le taux de LDL-cholestérol à atteindre dépend du risque cardiovasculaire de chaque patient. Le niveau de risque est calculé pour chaque patient, en fonction de facteurs de risque cardiovasculaire connu, en se basant sur **le Systematic CoronaryRisk Estimation (SCORE)** qui évalue ce risque à 10 ans. Le SCORE permet ainsi de définir : Un risque faible ($SCORE < 1\%$) ; Un risque modéré ($1\% \leq SCORE < 5\%$) ; Un risque élevé ($5\% \leq SCORE < 10\%$) ; Un risque très élevé ($SCORE \geq 10\%$). (**Tutin., 2018**).

4.3 Dégradation du cholestérol :

Le Cholestérol est majoritairement converti en Acides Biliaires dans le Foie, sécrété dans la bile puis excrété dans le Tube Digestif. Les Acides Biliaires peuvent y être métabolisés par des bactéries et sont soit éliminés dans les fèces, soit récupérés dans le cycle entéro-hépatique et recyclés. (**Raymond, 2012**).

Dans le Tube Digestif, les Acides Biliaires ont pour rôles principaux : l'émulsification des grosses gouttelettes lipidiques en gouttelettes plus petites et la formation de micelles avec les lipides alimentaires (AG, TAG, Vitamines, Phospholipides) pour faciliter leur absorption. (**Raymond, 2012**). Ces acides biliaires, appelés AB primaires (ABI) sont de deux types chez l'Homme : l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Ils sont ensuite conjugués avec de la glycine ou de la taurine formant ainsi les acides glyco- et tauro-choliques et les acides glyco- et tauro-chénodésoxycholiques. Sécrétés dans la bile grâce au système vésiculaire des hépatocytes, leurs propriétés amphiphiles leur permettent de s'associer avec des phospholipides et du cholestérol pour former des micelles. Cet ensemble appelé sels biliaires est ensuite sécrété dans le duodénum et avant d'atteindre l'anus, ils passent par le côlon où ils rencontrent les bactéries du microbiote intestinal qui vont modifier les ABs : déconjugaison, oxydation, épimérisation, désulfatation, etc. Les molécules ainsi générées sont alors appelées acides biliaires secondaires (ABII) (**Li et Chiang, 2009**).

Cependant, la spécificité des acides biliaires et leur mécanisme d'action restent un vaste sujet d'étude à approfondir pour mieux les comprendre. (**Vítek et Haluzík, 2016**).

4.4 Rôle biologique du cholestérol:

Le cholestérol est indispensable à nos cellules puisqu'il possède deux rôles essentiels. Comme élément structural; il entre dans la composition des membranes cellulaires pour contribuer à leur fluidité et leur bon fonctionnement mais aussi dans la couche externe des lipoprotéines plasmatiques (qui permettent le transport des lipides dans le plasma) et comme précurseur de composés biologiques : c'est un précurseur de la vitamine D3 appelée cholécalciférol. Sa synthèse se fait au niveau de la peau grâce à l'action des UV donc le cholestérol contribue au maintien de l'intégrité du squelette. C'est également un précurseur indispensable pour la biosynthèse des hormones stéroïdes (œstradiol et testostérone) ainsi que des corticostéroïdes (cortisone, cortisol et aldostérone) et des composants de la bile que sont les acides biliaires.

4.5 Pathologie provoqué par le cholestérol:

Des complications liées à l'hypercholestérolémie peuvent apparaître. L'hypercholestérolémie est soit dite primaire d'origine endogène génétique, soit secondaire, liée à des facteurs socio-économique et au mode de vie tel que les habitudes alimentaires (un régime riche en cholestérol et acides gras trans), le manque d'exercice physique, la sédentarité, le tabagisme, l'alcool et l'obésité, sont tous à l'origine de l'excès du mauvais cholestérol. L'insuffisance rénale chronique, le syndrome néphrotique, l'hypothyroïdie et la prise de certains médicaments tel que la progestérone, peuvent entraîner une hypercholestérolémie secondaire. En effet, L'hypercholestérolémie se définit par un excès de cholestérol dans le sang, dont la teneur est supérieure ou égal à 2,5 g.L⁻¹, ce n'est pas une maladie en soi mais un trouble métabolique dont le caractère pathogène est lié à la répartition du cholestérol dans les lipoprotéines, qui peuvent se révéler athérogène, car un excès de LDL et de VLDL par rapport aux HDL est considéré comme un facteur de risque de maladies cardiovasculaire(**Holewijn et al.,2010**) L'hypercholestérolémie provoque un dysfonctionnement cardiovasculaire, en raison de son action directe sur la fluidité membranaire, les activités enzymatiques et les transporteurs cationiques dans les cellules endothéliales, les cellules du muscle lisse vasculaire et les cardiomyocytes, ainsi que l'apparition de la plaque d'athérome, en raison des produits oxydatifs du cholestérol (**Stapleton et al.,2010**).

Par ailleurs, un taux élevé de cholestérol augmente le risque de maladies cardiovasculaires, d'AVC et de dépôt de corps gras dans les artères ou sur les tissus. Ce dépôt graisseux forme une plaque sur les vaisseaux sanguins, et peut également boucher les artères, dont l'artère coronarienne qui irrigue le cœur. Ce phénomène est appelé athérosclérose, il s'agit d'un durcissement des artères qui accroît le risque de douleurs thoraciques et de crises cardiaques. En général, lorsque l'on se rend compte de ce trouble, les artères ont déjà perdu 75% à 90% de leur fonctionnalité. C'est pour cela qu'il est important de vérifier régulièrement ses taux de cholestérol total et de triglycérides sanguins afin de prendre le plus rapidement possible les mesures nécessaires (**Pierre,2016**).

4.5.1 L'hypercholestérolémie :

L'hypercholestérolémie est un trouble du métabolisme lipidique, qui correspond à une augmentation du taux de cholestérol dans le sang. Ce trouble est plus précisément dû à une élévation du taux de cholestérol-LDL, qui se retrouve en grande quantité dans le sang. Le foie ne peut alors plus éliminer tout le cholestérol-LDL qui s'accumule et se dépose sur les parois vasculaires ce qui augmente le risque d'athérosclérose et par conséquent celui des maladies cardiovasculaires. (**Holewijn et al.,2010**)

L'hypercholestérolémie est souvent accompagnée d'une élévation du taux de triglycérides dans le sang.

- **Les triglycérides :** sont des lipides qui constituent la majeure partie du tissu adipeux du corps humain, et qui représentent la plus grande réserve d'énergie de l'organisme. Ils sont apportés par une alimentation peu équilibrée et une consommation excessive d'alcool. Un taux élevé de triglycérides dans le sang favorise la survenue de maladies cardiovasculaires et contribue au développement de l'athérosclérose.

4.5.1.1 Complications liées à l'hypercholestérolémie :

Un taux élevé de cholestérol augmente le risque de maladies cardiovasculaires, d'AVC et de dépôt de corps gras dans les artères ou sur les tissus.

Ce dépôt graisseux forme une plaque sur les vaisseaux sanguins, et peut également boucher les artères, dont l'artère coronarienne qui irrigue le cœur. Ce phénomène est appelé

athérosclérose, il s'agit d'un durcissement des artères qui accroît le risque de douleurs thoraciques et de crises cardiaques.

4.5.1.2 Examens à faire pour dépister l'hypercholestérolémie :

Le laboratoire de biologie médicale va pouvoir déterminer les taux sanguins de :

- Cholestérol total (CT),
- LDL-Cholestérol (LDL-c) ou « mauvais » cholestérol,
- HDL-Cholestérol (HDL-c) ou « bon » cholestérol,
- Triglycérides (TG).

Partie expérimentale

MATERIEL ET METHODE

Cette étude a été réalisée au niveau d'une chambre aménagée et adaptée pour l'étude in vivo

La durée s'étendait entre le 13 mars 2022 jusqu'au 7 Avril 2022

1. LA SOUCHE BACTERIENNE :

1.1 Origine :

L'étude a été réalisée sur une souche *Lactobacillus Plantarum* (LB23) isolée du miel collecté de la région de Aghlal Ain Temouchent, elle a été fournie par laboratoire de microbiologie alimentaire Ahmed Ben Bella 1(Essenia,Oran) identifiée précédemment par Api50 CHL (Bio Mérieux France)

1.2 Milieux de culture:

Les cultures lactiques ont été maintenues et repiquées dans le bouillon de (MRS) dont la composition est donnée en **ANNEXE 01**

1.3 Conservation de la souche :

La souche a été ensemencé sur milieu gélosé inclinés dans des tubes à essai et incubés à 30°C. Après croissance les tubes ont été placés à +4°C et la souche a été ainsi conservée pendant plusieurs semaines. Des repiquages sont effectués périodiquement, Tandis que pour la conservation de longue durée, la souche a été placée à -20°C pendant plusieurs mois dans du milieu de culture additionnée de glycérol (80%)

1.4 Vérification de la pureté des souches :

La vérification de la pureté de la souche LB23 a été réalisée après incubation à 30° pendant 72h sur milieu solide (MRS pH 6,2)

1.5 Identification phénotypique de la souche

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie basée sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques biologiques et biochimiques. Les techniques d'identification ont été décrites par plusieurs auteurs dont **Larpent (1997)** , **Axelsson (2004)** , **Hammes et Artel (2006)** , **Hassaine et al. (2007)** et **Idoui et Karam (2008)**

1.5.1 Caractérisation macroscopique

Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu solide (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité, couleur).

1.5.2 Caractérisation microscopique

L'observation microscopique avec l'objectif à immersion (G x 100) permet de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire et leur mode d'association après la coloration de Gram (**Joffin et Leyral, 1996**)

La coloration de Gram : L'étude microscopique a été effectuée par l'intermédiaire de la coloration de Gram qui est une coloration différentielle. Elle permet non seulement d'observer la forme des cellules et leurs mode d'association mais aussi de diviser les bactéries en deux grands groupes taxonomiquement différents :

- Bactéries Gram positif : **Gram +**
- Bactéries Gram négatif : **Gram –**

La technique de cette coloration est démontrée dans **ANNEXE 02**

1.6 Etude des caractères biochimiques :

La catalase a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. Son action directe est mise en évidence dans la masse bactérienne (**Guiraud 1998**).

Test de catalase : Ce test sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène, l'activité de cette enzyme est mise en évidence en émulsionnant une colonie de la culture bactérienne à tester dans une solution d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de cette enzyme.

2. ETUDE IN VIVO :

Animaux : L'étude a été conduite sur 25 souris males BALB/C âgés de 6 à 8 semaines, ont été obtenues à partir du laboratoire de microbiologie alimentaire Ahmed Ben Bella 1 (Oran) pesant 25g +1,54.

2.1 PHASE D'ADAPTATION :

Toutes les souris ont été logées dans des cages en plastique par groupes, à température (22 à 24 °C), avec humidité convenable et un cycle lumière-obscurité de 12 h (éclairage naturel + éclairage lampe), et ont eu accès libre à la nourriture et à l'eau.

Les souris ont été nourries à un régime régulier pendant 5 jours pour s'acclimater avant la présente expérience.

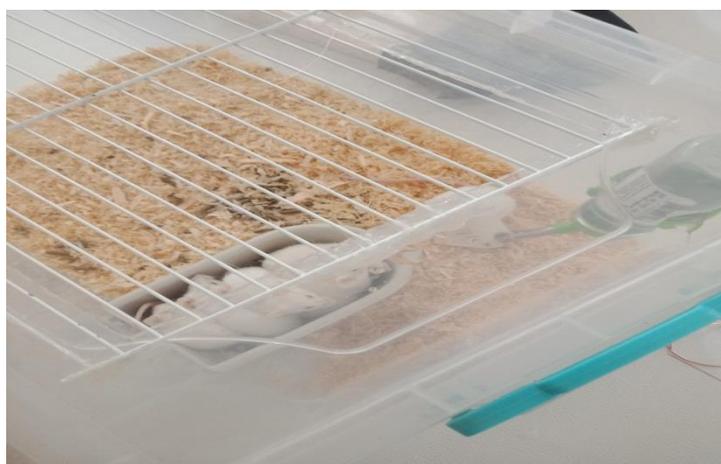


Figure 02 : Souris en phase d'adaptation logées dans des cages en plastiques.

2.2 PHASE EXPERIMENTALE :

A la fin de la période d'adaptation, les souris ont été réparties au hasard en 3 groupes selon leur régime alimentaire, et l'administration de la souche *LB23*. Les animaux ont eu accès libre à la nourriture et à l'eau pendant l'expérience qui a duré 5 jours.

Groupe 1 (RN) : 5 souris ont reçu un régime alimentaire normal (80% aliments de bétail et 20% graines de blé) (Groupe témoin)

Groupe 2 (RG) : 10 souris ont reçu un régime riche en matière grasse (6 % de lait en poudre, 5 % poudre de jaune d'œuf, 5 % de farine d'arachides et 84% d'aliments de bétails.) Sans gavage de *LB23*

Groupe 3 (RG+LB23) : 10 souris ont reçu un régime riche en cholestérol (6 % de lait en poudre, 5 % poudre de jaune d'œuf, 5 % de farine d'arachides et 84% d'aliments de bétails) + Administration de souche *LB23* par gavage orale une fois par jour.



Figure 03 : Régime alimentaire du groupe témoin



Figure 04 : Régime alimentaire du groupe 2 (Régimé gras sans LB23) et groupe 3 (Régime gras+LB23)

2.3 Préparation de l'inoculum :

Une culture d'une nuit de Lb23 est fraîchement préparées chaque jour, remis en suspension à environ 1×10^9 UFC/ml dans une suspension de lait Candia UHT (**6130433099019** (**EAN /EAN -13**)) , Chaque souris reçoit 2% (V/P) (MI/MG volume suspension/poids corporel de la souris) de suspensions par gavage intra gastrique pendant 20 jours (Seulement pour le groupe RG+LB23



Figure 05 : Gavage intra gastrique de la suspension LB23

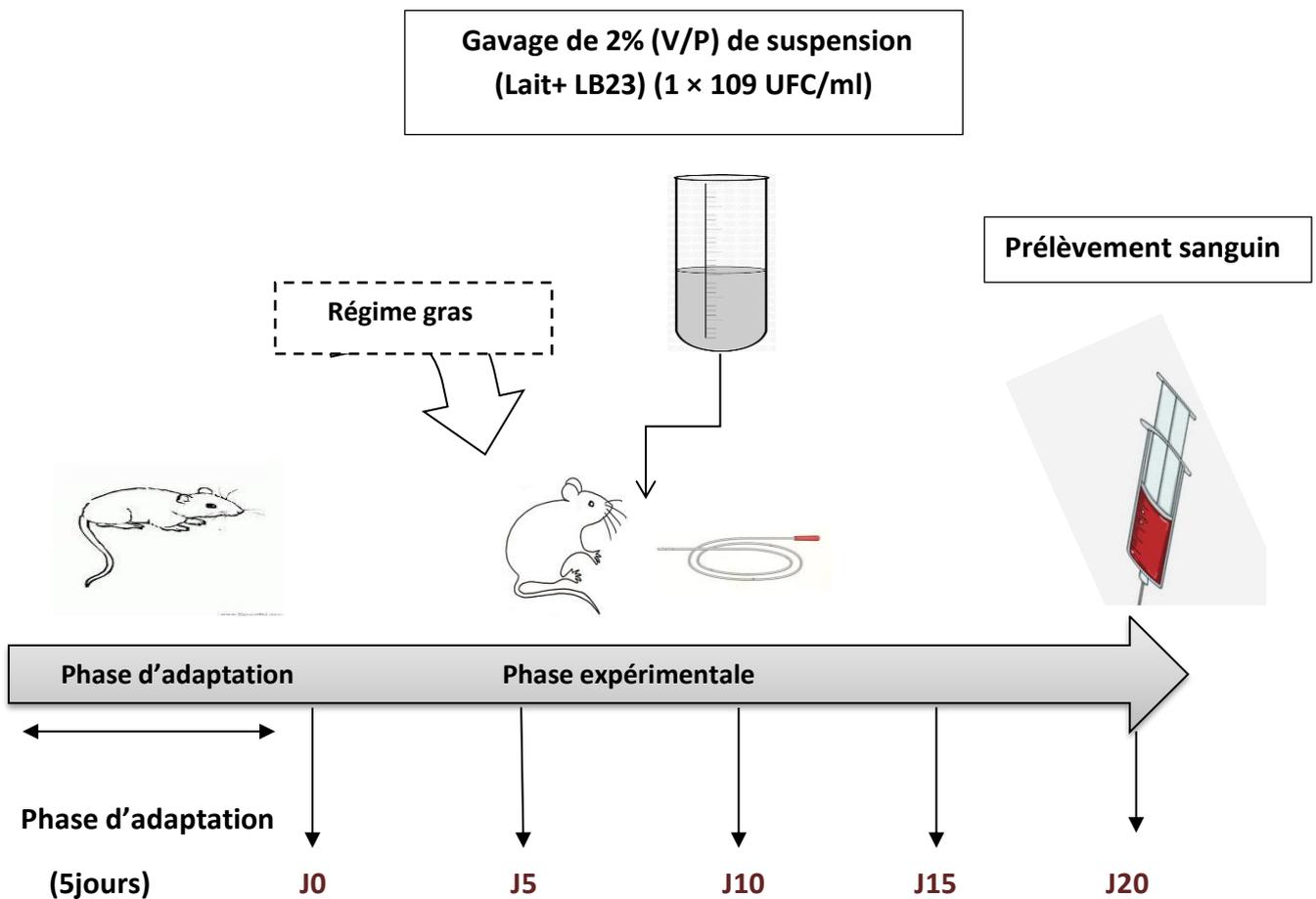


Figure 06 : Schéma représentatif de la phase d'adaptation et la phase expérimentales du groupe 03 (RG+LB23)

Les souris durant la phase d'adaptation étaient sous observation pour détecter l'état de leurs santé (des signes de maladies ou d'inflammation, perte de poids , texture des selles , démarches)

2.4 Variation du poids :

La pesée des souris a été réalisée 4 fois à l'aide d'une balance (SCA-301), avec une incertitude de mesure ± 1 gr pendant 20 jours avec un intervalle de 5 jours, les souris sont mises à jeun 2h avant chaque pesée.

2.5 Analyse des lipides sériques

Après la période expérimentale, 3 souris de chaque groupes ont été mises à jeun pendant 12 heures , puis anesthésiés à l'éther ,le sang a été immédiatement prélevé, les sérums ont été obtenus à partir d'échantillons de sang centrifugés à 2000g pendant 10 min à 4 °C, et analysé pour le cholestérol total (TC), les triglycérides (TG), cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-C) et lipoprotéines de haute densité cholestérol (HDL-C) grâce à un analyseur de biochimie automatique **SPIN200E Spinreact**. Les valeurs obtenues sont exprimées en mmol/L

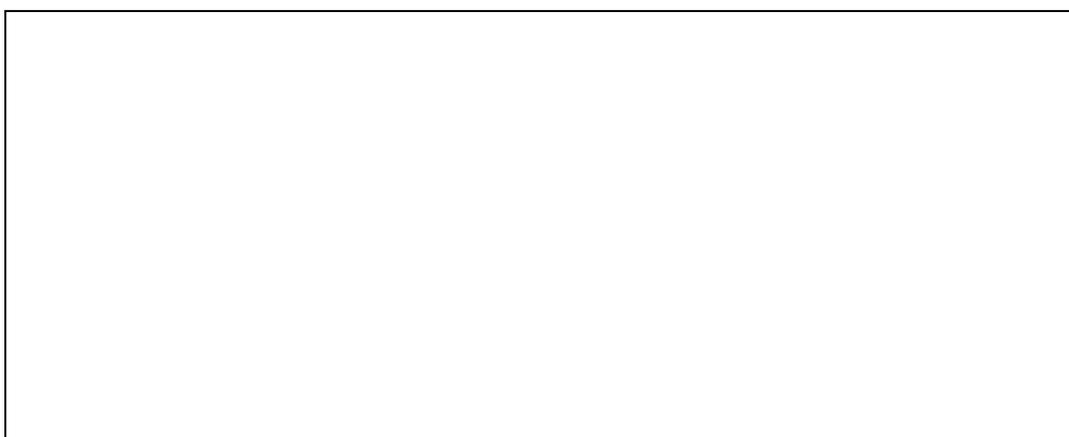


Figure 07 : Anesthésie des souris

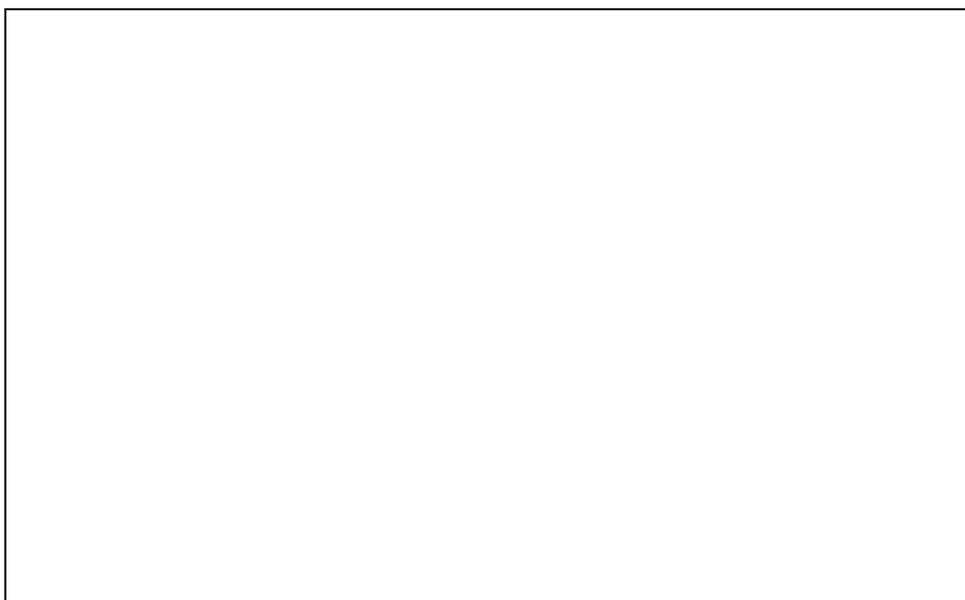


Figure 08 : Prélèvement sanguin des souris au 20^{ème} jour.

RESULTATS

1. Vérification de la pureté des souches :

En se basant sur l'aspect macro et microscopique et test biochimique, les résultats suggèrent que la souche *LB23* est pure.

1.1 Aspect macroscopique :

L'observation macroscopique nous a permis de décrire les colonies bactériennes obtenues (la tailles, la couleur, la forme et le contour) les colonies présentent un aspect uniforme avec les caractéristiques suivantes : petites, blanchâtres, lisses, de surface convexe et un pourtour régulier.

1.2 Aspect microscopique :

La coloration de Gram montre que toutes la bactérie est de Gram positif et de forme bacilles non sporulées. Sous le microscope les bacilles sont uniformes isolées, ou regroupées en paire (**Figure 02**)



Figure 09 : Observation sous microscope de la souche *LB23*, après coloration de Gram X100

2. Test biochimiques :

Test de catalase : La recherche de la catalase se fait par la mise en contact des colonies avec quelques gouttes d'eau oxygénée à 10V. Le dégagement gazeux traduit l'activité positive de cette enzyme .Les résultats du test de catalase était négatif pour toutes les souches (Pas de dégagement de gaz)

Etude in vivo :

1. Etat général des souris:

Durant les 25 jours (la phase d'adaptation et la phase expérimentale), nous avons constaté que les souris ne présentaient aucun signe d'inflammation ou de maladie, pas de perte de poils, aucun signe de troubles digestifs (ex : diarrhée). Voir la figure



Figure 10 : Etat des souris durant les 25 jours.

2. Variation du poids :

Afin de déceler l'effet de la souche LB23 sur des souris sous régime enrichi en cholestérol nous avons procédé à la prise du poids pendant 20 jours avec un intervalle de 5 jours

L'évolution du poids corporel des souris est représentée dans **le tableau 1 et les figures**

Tableau 02 : Effets de *L. plantarum* 23 sur le poids corporel des souris

Groupes	(1) : Témoin	(2) : Régime gras	(3) : Régime gras + <i>L.plantarum</i> 23
J-0	25,8 gr ± 0,45	26,5 gr ± 0,68	26,2 gr± 0,52
J-5	26,4 gr ± 1,14	27,8 gr ± 1,11	26,6 gr ± 1,13
J-10	27 gr ± 1	30,1 gr± 1,12	28,1 gr± 1,23
J-15	27,6 ± 0,54	34,2 gr ± 1,32	30,3 gr ± 1,14
J-20	28 gr ± 1,12	40,9 gr± 1,42	34,3 gr ± 1,15



Figure 11 : Poids des souris au J0



Figure 12 : Souris nourries à un régime gras sans LB23 (Groupe 2) au 20^{ème} jour



Figure 13 : Souris nourrie a un régime gras + LB23 (Groupe 3) au 20^{ème} jour.

Le poids des souris de chaque groupe était significativement différents a la fin de l'expérience, un gain du poids a été enregistré dans tous les groupes durant chaque pesée.(5, 10,15 et 20^{ème} jour)

Les variations du poids durant la période expérimentales étaient comme suit :

Dans le groupe témoin (régime normal) le poids entre J0 et J20 a évolué de $2,2 \text{ gr} \pm 1,02$

Dans le groupe RG (régime gras sans LB23), le poids corporel des souris a augmenté de $13,8 \text{ gr} \pm 1,68$ grammes ce qui était significativement plus élevé que celui du groupe témoin.

Les souris du groupe 3 nourri a un régime gras et traité avec la souche LB23, le poids corporel a évolué de $8,1 \pm 0,93$. Cela signifie que les poids corporels des souris de ce groupe étaient significativement plus faibles que ceux du groupe avec régime gras.

L'évolution du poids de chaque souris sont représentés dans **ANNEXE 03**

Les moyennes du gain du poids chez les différents groupes de souris et leurs variations du poids sont représentées ci-dessous dans les figures.

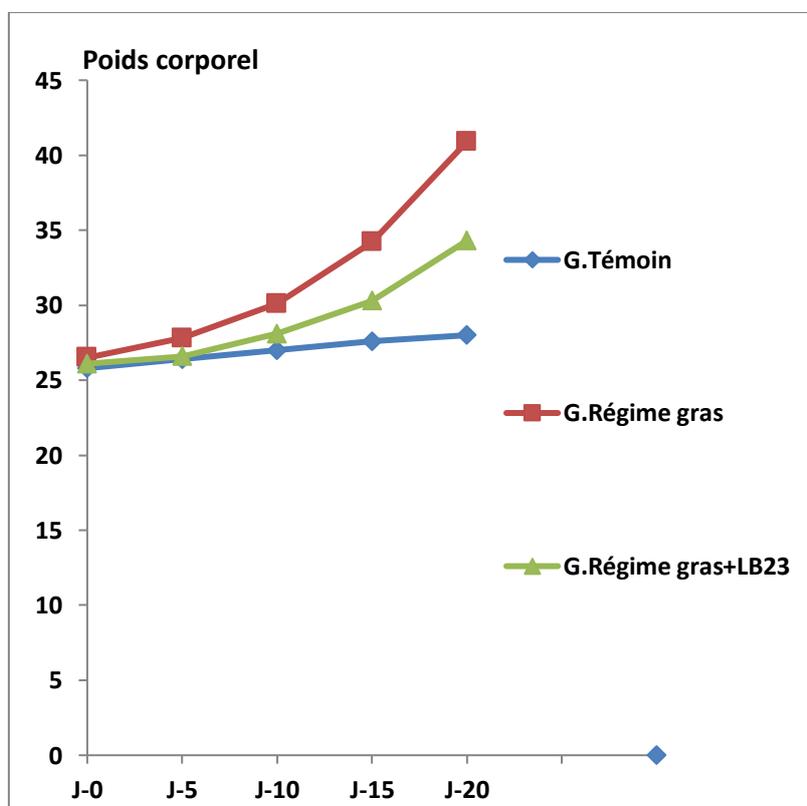


Figure 14 : Variations de poids des souris

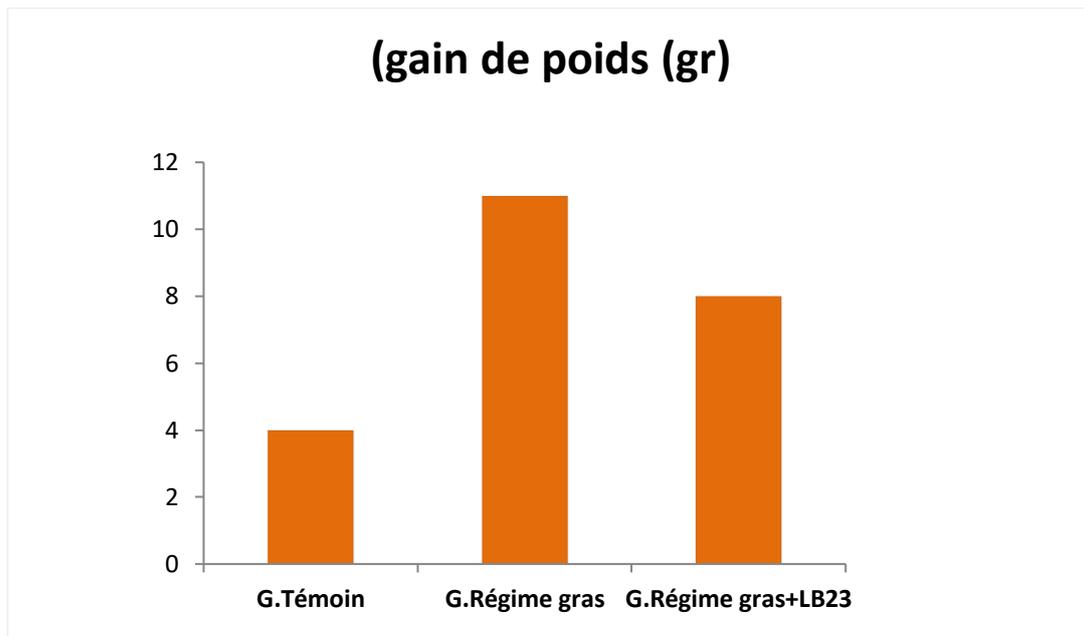


Figure 15 : Gain de poids chez les souris après 20 jours.

3. Dosage des paramètres biochimiques :

3.1 Le Cholestérol total TC :

Le taux du cholestérol TOTAL du groupe Témoin varie entre 1,49 et 1,51 (mmol/L), chez les souris du groupe RG (régime gras) est entre 3,29 et 3,31 (mmol/L) et enfin chez les souris du groupe traité avec LB23 les données du résultat de cholestérol sont entre 2,67 et 2,68 (mmol/L)

La comparaison des données montre que les taux de cholestérol dans le groupe RG (régime gras) ont des valeurs élevées par rapport au groupe témoin et groupe RG+LB23 .

Le taux du cholestérol total chez les souris du groupe témoin est bas par rapport au groupe de souris gavées avec *LB23*. **Voir la figure 16**

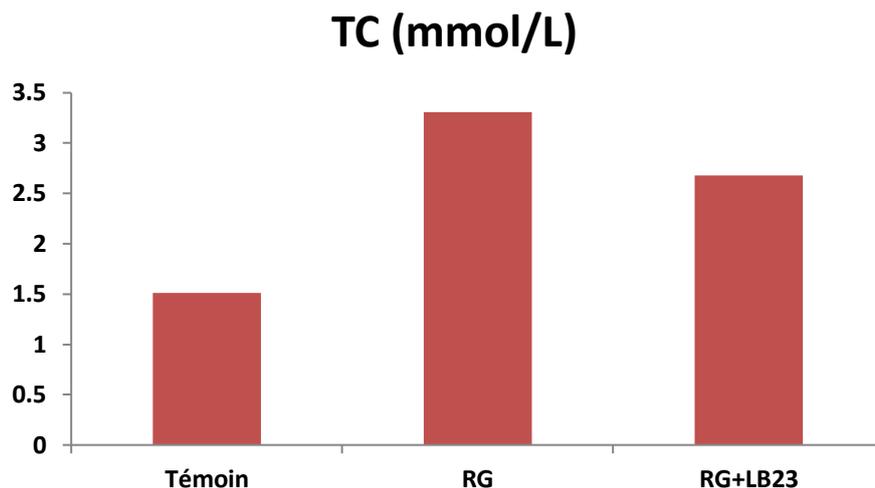


Figure 16: taux du cholestérol total chez les souris après 20 jours.

3.2 Les triglycérides TG :

Le taux des triglycérides du groupe Témoin est de 1,36 à 1,38 mmol/L, Tandis que chez les souris du groupe RG (régime gras) est de 1,96 à 2,08 mmol/L

Chez les souris traitées avec *LB23*, le taux des glycérides est entre 1,60 à 1,61 mmol/L

La comparaison des données montre que le taux des triglycérides du groupe RG a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin, RG+LB23).

Ceci est illustré dans la **Figure 05**

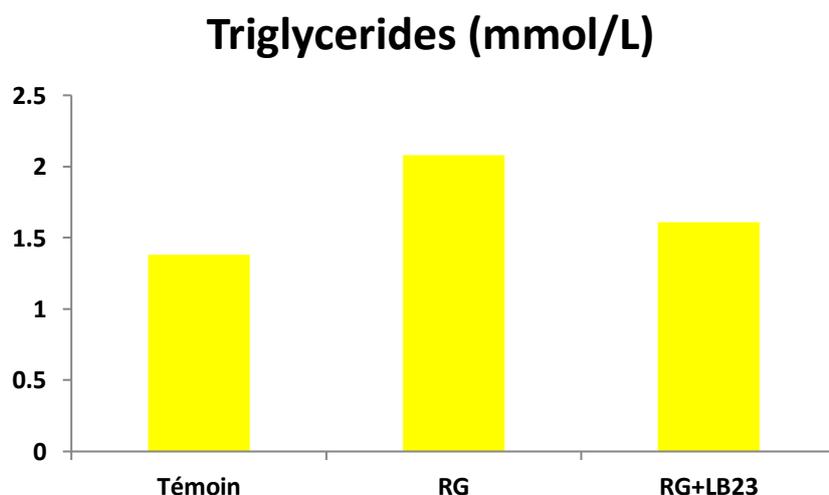


Figure 17 : taux des triglycérides chez les souris.

3.3 L'HDL-c (Lipoprotéines de haute densité) :

Le taux de l'HDL-c (Bon cholestérol) du groupe Témoin est de 1,97 à 1,98 mmol/L , et pour le groupe RG sont de 1 à 1,02 mmol/L , pour le groupe de souris traités avec LB23 le taux de HDL-c est de 1,40 à 1,42 mmol/L

La comparaison des données montre que le taux de l'HDL du groupe RG+LB23 a une valeur élevée par rapport aux groupe nourri avec un régime gras sans probiotique (LB23) , Ces résultats sont représentés dans **la figure 18** ci-dessous.

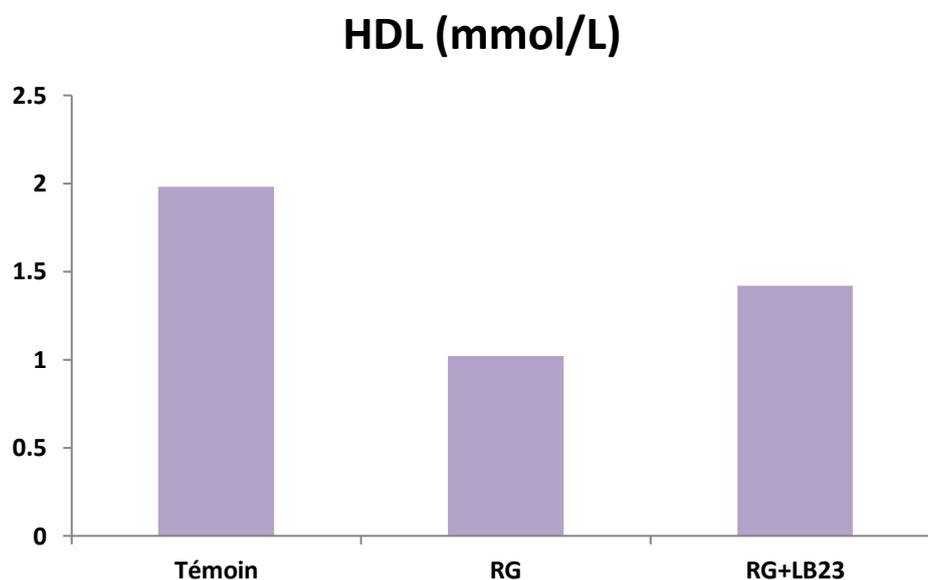


Figure 18 : Résultats du le taux de l'HDL-c chez les souris

3.4 L'LDL-c (Lipoprotéines de faible densité) :

Le taux de l'LDL-c du groupe Témoin est entre 0,19 à 0,20 mmol/L, pour le groupe RG, il est de 0,50 à 0,51 mmol/L, et le groupe RG+LB23 de 0,36 à 0,38 mmol/L

La comparaison des données montre que le taux de l'LDL-c (Mauvais cholestérol) du groupe RG a une valeur élevée par rapport aux autres groupes (Témoin et RG+LB23) (**Figure 19**)

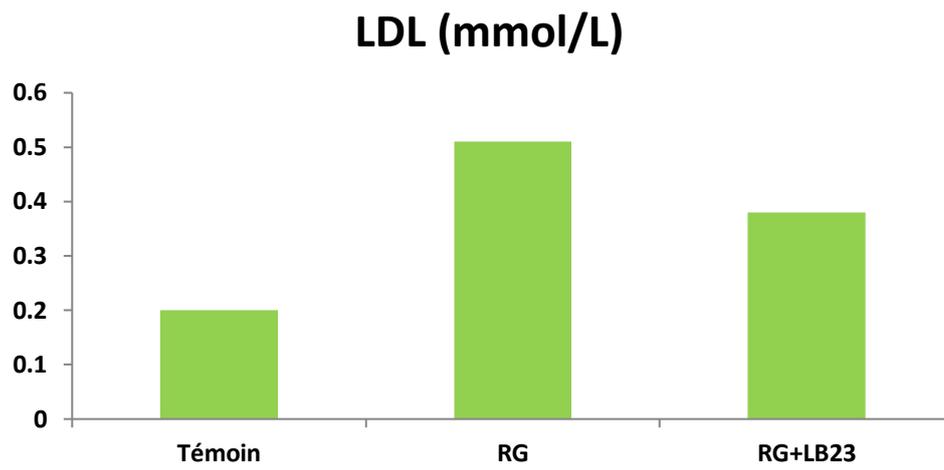


Figure 19 : Taux de l'LDL-c chez les souris après 20 jours

DISCUSSION

Les bactéries lactiques se trouvent dans plusieurs niches écologiques, aliments comme le lait et ses dérivés (beurre, fromage, yaourts), les viandes (saucisses, saucissons), les boissons (vin, cidre, bière), le pain ou les produits végétaux (chou, soja, manioc) (*Axelsson, 2004*). Et également dans le miel. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'existence d'une flore lactique dans le miel. (*Nor Hazwani et all, 2018*)

La souche testée dans la présente étude est identifiée précédemment par la galerie API CHL 50, les résultats obtenus ont montré une identité de (99,9 %) *Lactobacillus plantarum*.

La galerie d'identification API 50 CHL a été signalé comme un outil important pour l'identification des lactobacilles (*Herbel et all, 2013*). Elle peut être utilisée pour l'identification taxonomique qui est basée sur des caractéristiques phénotypiques pour identifier les différentes espèces de *Lactobacillus*.

L'incertitude des résultats de l'identification biochimique par la galerie API50 CHL nous pousse à faire appel à une identification génétique pour s'assurer de l'identité de la souche.

Les abeilles sont des insectes sociaux qui possèdent une communauté de microbiote intestinal constituée d'une grande variété d'espèces. Les bactéries lactiques (LAB) sont parmi les espèces constituant le tube digestif des abeilles. (*Nurdjannah Jane Niode et all 2020*)

Le tractus gastro-intestinal de l'abeille a été décrit comme étant principalement composé de levures, de bactéries Gram-positives (telles que *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Streptococcus* et *Clostridium*), (*Endo et all, 2013*).

Dans une étude précédente, des bactéries ont été isolés à partir d'échantillons de miel de Malaisie, Libye, Arabie Saoudite, et le Yémen, quatre isolats ont été confirmés LAB par test de catalase et coloration de Gram, elles ont été identifiées comme *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*. (*Bulgasem 2016*).

Très récemment (*Christina Tsadila et all 2021*) a prouvé à travers sa recherche sur la caractérisation des bactéries isolées de divers types de miel la présence des bactéries lactiques, Au total de 2014 isolats bactériens 62 % appartenait au genre *Lactobacillus*

(*Syariffah Nuratiqah et all, 2018*) ont confirmé la présence des bactéries lactiques dans le miel à partir de leur étude qui visait à isoler et à identifier *Lactobacillus* dans le miel de

l'abeille ,Les résultats de leur étude ont indiqué que *L. plantarum*, *L. pentosus* et *L. fermentum* étaient les lactobacilles dominants dans le miel produit par les abeilles

Durant la phase expérimentale, aucun signe d'inflammation ni de maladie est apparu chez l'ensemble des groupes.

D'après les résultats obtenus, toutes les souris du groupe nourries à un régime gras et traités avec LB23 ont eu un gain de poids par rapport à leurs poids initial ceci signifie que la souche LB23 ne représente aucune toxicité.

De J-0 jusqu'à la fin de l'expérience,Le groupe nourri a un régime gras a montré une augmentation pondérale de poids, les souris de ce groupe pesaient au 20^{ème} jour 40,9 gr±1,42 , soit un gain de poids de 12,9 % de plus que celui du groupe témoin. Tandis que dans le groupe traité avec la souche LB23, le poids des souris a eu une diminution de 8,6% par rapport au groupe alimenté avec un régime riche en cholestérol. Cette réduction peut être expliquée par l'introduction de *LB23*, vu que les deux groupes étaient sous le même régime alimentaire riche en gras.

L'importance prise du poids chez les souris du groupe 2 et 3 par rapport au groupe témoin est justifiée par la nature de leur régime alimentaire riche en matière grasse.

Cette obésité est liée à des changements des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques similaires à celles observées au cours de l'obésité humaine (*Wei Wang et all, 2019*)

L'élévation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité par accumulation du tissu adipeux. Il peut expliquer l'augmentation du poids corporel chez les souris consommant le régime, ce qui confirme nos résultats qui sont en accord avec des études précédentes (*Masao Yamasaki1 et all 2020*)

Le poids corporel des souris sous régime hypercholestérolémies, devient significativement plus élevé que celui des souris sous régime témoin. L'augmentation du poids chez les souris nourris au régime hypercholestérolémies est associé à l'augmentation du poids du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, confirmant les propriétés obésogènes du régime hypercholestérolémies.

Une alimentation trop riche en glucides et en lipides peut entraîner, à long terme, un diabète de type 2.Rééquilibrer ou modifier la composition de la flore intestinale par l'utilisation de

probiotiques pourrait constituer un complément thérapeutique susceptible de limiter le développement de la pathologie (*Jinchi Jiang et all 2019*)

Les probiotique est une nouvelle approche, sûre et pratique pour inverser les anomalies métaboliques observées dans l'hyperlipidémie et deviennent un traitement spécifique (*Salinas-Rubio, et all 2018*).

L'introduction des probiotiques dans l'alimentation animale a prouvé une efficacité commune chez de nombreux animaux, dans le maintien et le rééquilibrage de la flore intestinale (*Mermouri, et all 2018*).

Au cours des dernières décennies, l'hyperlipidémie a été mise en évidence comme un problème de santé mondial. La pathogenèse de l'hyperlipidémie est complexe, y compris l'accumulation de lipides hépatiques, l'inflammation, les microbes intestinaux dysbiose et dysfonctionnement mitochondrial (*Liu, et all, 2015*).

L'hyperlipidémie, caractérisée par des augmentations anormales des concentrations sériques et lipides hépatiques, est considérée comme un facteur de risque important pour le développement des maladies cardiovasculaires (*Mahamuni, et all., 2016*).

Les Lactobacillus dans les produits alimentaires ont été classées comme probiotiques et ont montré plusieurs effets bénéfiques sur la santé humaine (*Sanders ME et all 2014*) L'administration de ces probiotiques a été utilisée comme une stratégie nutritionnelle viable pour la prévention de l'hyperlipidémie (*Niculescu et all., 2019*).

De nombreux chercheurs ont démontré que les LAB pouvaient améliorer les syndromes métaboliques comme l'obésité, le diabète, l'hypertension, la diarrhée, et hyperlipidémie (*Urbanska M, et all 2016*)

Pour confirmer l'effet hypocholestérolémiant de la souche lactobacillus plantarum LB23 , nous avons étudié les profils lipidiques du sang (TC , TG , LDL ET HDL), En comparant les groupes 2 et 3 nos résultats ont démontré L. plantarum a abaissé les niveaux de TC et TG dans le sérum sanguin des souris avec une diminution significative du taux sérique de LDL chez les souris traitées avec LB23 par rapport au groupe 2 qui a été nourri avec le même régime sans LB23

Une réduction de 13% de taux du cholestérol total chez les souris traitées avec la souche LB23 par rapport aux souris du groupe RG (Régime gras sans LB) Cela pourrait être dû à la fixation et à la colonisation de la souche probiotique au niveau de la muqueuse intestinale,

processus nécessaire pour exercer des effets bénéfiques, notamment l'assimilation du cholestérol et/ou la fixation du cholestérol à la surface de la souche (**Min Young Park ,2018**)

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Siyong Yang & Young-Jun Kim (2018)** ,Leur étude a été conçue pour étudier l'effet de la souche, *Lactobacillus plantarum* LRCC 5273 et LRCC 5279 chez des souris nourries avec du gras , les résultats ont montré une réduction significative cholestérol total et LDL par rapport au groupe sans traitement.

Les bactéries lactiques peuvent diminuer les taux de cholestérol sérique total chez la souris, ce qui est en accord avec les résultats de (**Nguyen et al., 2007**). Leur étude a montré que *L. plantarum PH04* a abaissé le cholestérol sérique isolé des selles de nourrissons. En outre, il a été démontré que l'alimentation des rats et des hamsters avec des lactobacilles ou du lait fermenté est efficace pour réduire le cholestérol sérique, le cholestérol des lipoprotéines de basse densité et les taux de triglycérides (**Xie et al., 2011; Tsai et al., 2009 dans Hanlu et al., 2013**)

D'après les résultats du test biochimique des triglycérides, les souris nourri avec un régime riche en matière grasse a montré une augmentation de 21% par rapport aux souris du groupe 3 qui ont reçu la souche LB23, cette hypertriglycéridémie est expliquée, d'une part, par l'augmentation de la production hépatique des VLDL et, d'autre part, par la réduction du catabolisme des VLDL par diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase. (**Arjan Narbad et all , 2021**)

Une réduction de 28% du taux de LDL-c (mauvais cholestérol) est enregistrée chez le groupe 3 par rapport aux groupe 2 , Cette capacité par *L. plantarum* pourrait être lié à la présence de gènes liés à l'assimilation du cholestérol, codant protéines associées à la membrane qui peuvent adhérer à la molécule de cholestérol et l'incorporer davantage à l'intérieur du cellulaire (**Lee et al. 2010**)

Le HDL-C est bénéfique pour l'efflux de cholestérol, connu sous le nom de « bon cholestérol ». Parmi les Symptômes de l'hyperlipidémie, une augmentation d'un ou plusieurs indicateurs de TC, TG et LDL-C, ainsi que la diminution des concentrations de HDL-C.

Les résultats ont montré que le HDL a augmenté d'une façon significative chez les souris du groupe 3 par rapport au groupe 2, cela peut être justifié par l'introduction de la souche LB23.

L'augmentation de la teneur en lipoprotéines de haute densité, est cohérente avec des résultats rapportés par certains chercheurs (**Honda K, Moto M, Uchida N, et all , 2012**) .

Ces résultats ont suggéré que la supplémentation en LB23 conduit à une augmentation du rapport sérique HDL-C, en réduisant ainsi le risque d'athérosclérose ainsi que de maladies cardiovasculaires maladie causée par l'alimentation HFD. (*Nan et al., 2018*)

la réduction des niveaux de TC, TG et LDL-C dans le sérum et l'augmentation des taux de HDL-C exercée par la souche LB23 peut être justifiée par la présence d'une activité enzymatique, certaines études ont montré que l'hydrolase des sels biliaires produite par la souche peut co-précipiter avec le cholestérol, l'éliminant ainsi de l'organisme (*Nguyen et al., 2017*)

Jusqu'à présent, de nombreuses preuves suggèrent que les souches de *L. plantarum* ont exercé une activité hypocholestérolémiant dans des modèles animaux et essais cliniques (**Costabile et al., 2017 ; Fuentes, Lajo, Carrión, & Cuñé, 2013 ; Hu, Wang, Li, Jin et Wang, 2013 ; Huang et al., 2013 ; Kim et coll., 2014**)

Alternativement, les probiotiques peuvent assimiler le cholestérol directement, l'éliminant ainsi de l'intestin humain (**Pereira et Gibson 2002 ; Pan et al. 2011 ; oner et al. 2014**).

De plus, les probiotiques peuvent réduire le taux de cholestérol en assimilant et en piégeant cette molécule dans les membranes bactériennes (**Castorena- Alba et al. 2018 ; Bhat et Bajaj 2020**)

CONCLUSION

Conclusion

Cette étude s'est intéressée principalement à l'étude de la capacité de la souche de *Lactobacillus plantarum* LB23 isolée du miel collecté de la région d'Aghlal Ain Temouchent dans la réduction du cholestérol et son effet bénéfique contre les pathologies liées à l'hyperlipidémie, ainsi la prévention et le contrôle de l'hypercholestérolémie qui restent toujours l'une des premières causes des maladies cardiovasculaires

Les résultats obtenus dans le cadre de l'effet probiotiques sur l'hypercholestérolémie dans un modèle de souris Balb/C induite par un régime gras ont démontré :

- Les souris traitées avec LB23 ont montré une diminution du poids corporel
- Une réduction du taux de cholestérol total, de triglycérides et du LDL-c
- Evolution du taux du HDL-c connu sous le nom du ' Bon cholestérol'

Ces résultats suggèrent que l'administration orale de la souche probiotique a un effet bénéfique contre l'hyperlipidémie induite par un régime riche en matières grasses.

En perspective, il est serait intéressant de réaliser les points suivants :

- ✓ Identification génétique de la souche *Lactobacillus Plantarum*
- ✓ Détermination des mécanismes de réduction de cholestérol chez la bactérie LB23
- ✓ Etude des caractères biotechnologiques de la souches LB23 pour une application alimentaire
- ✓ Etude approfondie sur les caractéristiques probiotiques de la souche .

Bibliographies

Axelsson . L (2004) Lactic acid bacteria : Classification and physiology .Microbiological and functional aspect. Third Edition Marcell Dekker

Akihito Endo , Seppo Salminen (2013) Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acidbacteria Functional Foods Forum, University of Turku, Turku, Finland

A. Tarrah1 , B.C. dos Santos. Sousa Dias3, V. da Silva Duarte1 , (2021) Lactobacillus paracasei DTA81, a cholesterol-lowering strain having immunomodulatory activity, reveals gut microbiotaregulation capability in BALB/c mice receiving high-fat diet

Bulgasem Y. Bulgasem, M.N Lani, Zaiton Hassan, .M Wan Yusoff & Sumaya G. Fnaish (2016) Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic CandidaSpecies, Mycobiology, 44:4, 302-309

Bernier, L. (2010). Les probiotiques en 2010 : une revue de la littérature scientifique. Angers : Thèse de Pharmacie.

Chen, X., Song, Y. Q., Xu, H. Y., Menghe, B. L., Zhang, H. P., & Sun, Z. H. (2015). Geneticrelationship of Enterococcus faecalis from different sources revealed bymultilocus sequenceTyping. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5183–5193.

Herbel, S. R., Vahjen, W., Wieler, L. H., & Guenther, S. (2013). Timely approaches to identify probiotic species of the genus *Lactobacillus*. *Gut Pathogens*, 5(1), 1-1

Holewijn S., Den Heijer M., SwinkelsDW.,Stalenhoef AF., De Graaf J. (2010). Apolipoprotein B, non-HDL cholesterol and LDL cholesterol for identifying individuals at increased cardiovascular risk. *J Intern Med.*,268(6):567-77.

Hennesy, A. A., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Caplice, N., & Stanton, C. (2014). Role of thegut in modulating lipoprotein metabolism. *Current Cardiology Reports*, 16(8), 1–12.

Jeun J, Kim S, Cho SY, Jun HJ, Park HJ, Seo JG, Chung MJ & Lee SJ (2009) . Hypocholesterolemic effects of Lactobacillus plantarum KCTC3928 by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice. *Nutrition* 26, 321-330.

Jinchi Jianga, Caie Wub, Chengcheng Zhanga,c, Jianxin Zhaoa,c, Leilei Yua,c, Hao Zhanga,c,e,f,g, A.Narbadd,h, 2020) Effects of probiotic supplementation on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemia: Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China

Jia, D., Li, Z., Gao, Y., Feng, Y., & Li, W. (2018). A novel triazine ring compound (MD568) exerts in vivo and in vitro effects on lipid metabolism. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103,

Lye, H.-S., GulamRusul, R.-A., and Liang, M.-T. (2010). Mechanisms of cholesterol removal by lactobacilli under conditions that mimic the human gastrointestinal tract. *Int. Dairy J.* 20(3): 169–175.

Kacem M, Karam NE (2006). In vitro preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin. *Int. J. Probiotics. Prebiotics.* 1(1): 27-32.

K.Ogawa K.Nishiyama | Chuluunbat Tsend-Ayush Tsendesuren Oyunsuren , Y. Li Tomoki Nakano M. Takeshita 2020) *Lactobacillus plantarum* 06CC2 reduces hepatic cholesterol levels and modulates bile acid deconjugation in Balb/c mice fed a high-cholesterol diet ,Food and Biotechnology School, Mongolia

Lye, H.-S., GulamRusul, R.-A., and Liang, M.-T. (2010). Mechanisms of cholesterol removal by lactobacilli under conditions that mimic the human gastrointestinal tract.

Lin,W.-H., Yu,B., Jang,S.-H., et Tsen,H.-Y. (2007). Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe.*,

Liang MT, Shah NP (2005;). Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity and cholesterol co-precipitation ability of lactobacilli strains.

Mermouri, L. (2018). Étude de l'Effet de Souches Probiotiques de Bactéries Lactiques (*Lactobacillus* spp.), Isolées e Produits Fermentés, sur la Valeur Nutritive de Fourrages Conservés par Ensilage, thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed-Boudiaf, 177p

Masao Yamasaki¹ , M. Minesaki¹ , A . Iwakiri¹ , Y. Miyamoto¹ Yin Liu, S.Zheng, Jiale Cui, & Jingtao Zhang (2021) Effect of bile salt hydrolase-active *Lactobacillus plantarum* Y15 on high cholesterol diet induced hypercholesterolemic mice, *CyTA - Journal of Food.*

Matamoros S. (2008). Caractérisation De Bactéries Lactiques Psychrotrophes En Vue De Leur Utilisation Dans La Biopréservation Des Aliments: Étude Physiologique Et Moléculaire Des Mécanismes D'adaptation Au Froid. Thèse de doctorat. Nantes.

MOLAN r.c., ALLEN K.L.The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey. J. Pharm.Pharmacol., **1996, 48, 1206-9**

Magdalena Pajor and all , (2018) The Antimicrobial Potential of Bacteria Isolated from honey Samples Produced in the Apiaries Located in Pomeranian Voivodeship in Northern Poland, University of Technology, ul. G. Narutowicza

N .Z HASALI, A. IZZWAN ZAMRI, and A . MUBARAK, (2018) ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY, ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PROBIOTIC CHARACTERISATION OF ISOLATED *Lactobacillus brevis* STRAINS FROM Heterotrigna itama HONEY School of Food Science and Technology, Universiti Malaysia Terengganu (UMT) ,Malaysia

N.J Niode, C.L Salaki1, Laurentius J M Rumokoy1, T. Ekawati Tallei (2020) Lactic Acid Bacteria from Honey Bees Digestive Tract and Their Potential as Probiotics Department of Dermatology and Venereology, Faculty of Medicine, Sam Ratulangi University/RD Kandou Hospital, Manado, North Sulawesi 95115, Indonesia

Nguyen, T.D.T., Kang, J.H., and Lee, M.S. (2007). Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol lowering effects

Ooi, L.G., and Liong, M.T. (2010). Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. Int. J. Mol.

Pereira, D.I.A., McCartney, A.L., and Gibson, G.R. 2003. An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. Appl. Environ. Microbiol.

Peining Liu1, Shuaishuai Yu2, Jinrong Liu1, Yan Zhou2, Ruixue Cao1, Yonghai Zhou1, Linwei Shi1, Jimei Du2 2019 Effects of *Lactobacillus* on hyperlipidemia in high-fat diet-induced mouse model Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang, China.

Raymond Mengual , (2012). Métabolisme du Cholestérol. Alistair Baber, Alistair , UE Nutrition, 26/01/2012.

SAVADOGO A. et A. TRAORE, (2011) / Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(5): 2057-2075.

SHAMALAT.R. SHRI JYOTHI Y.P. SAIBADA P. Antibacterial effect of honey on the in vitro and in vivo growth of *Scherichia coli*. World Journal of microbiology & biotechnology, **2002**,

Simons LA, Amansec SG, Conway P (2006) . Effect of *Lactobacillus fermentum* on serum lipids in subjects with elevated serum cholesterol. Nutr Metab Cardiovasc Dis.

Syariffah Nuratiqah Syed Yaacob, Fahrul Huyop, Raja Kamarulzaman Raja Ibrahim & Roswanira Abdul Wahab (2018): Identification of *Lactobacillus* spp. and *Fructobacillus* spp. isolated from fresh *Heterotrigona itama* honey and their antagonistic activities against clinical pathogenic bacteria, Journal of Apicultural Research,

Raymond Mengual , (2012). Métabolisme du Cholestérol. Alistair Baber®, Alistair , UE Nutrition, 26/01/2012

Robin J. M. et Rouchy A. (2001). Les Probiotiques. Nutrithérapie Info, Centre d'Etude et de Développement de la Nutrithérapie. 6: 1-4.

Tsadila, C.; Nikolaidis, M.; Dimitriou, T.G.; Kafantaris, I.; Amoutzias, G.D.; Pournaras, S.; Mossialos, D (2021). Antibacterial Activity and Characterization of Bacteria Isolated from Diverse Types of Greek Honey against Nosocomial and Foodborne Pathogens.

Urbańska M, Gieruszczak-Białek D, Szajewska H. (2016) Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for diarrhoeal diseases in children. Aliment Pharmacol Ther 43(10):1025–3

Vítek, L. & Haluzík, M., (2016). The role of bile acids in metabolic regulation. The Journal of endocrinology, 228(3), pp.85–96.

Wan Heo, Eui Seop Lee, Hyung Taek Cho, Jun Ho Kim, Jin Hyup Lee, Seok Min Yoon, Hoon Tae Kwon, Siyoung Yang & Young-Jun Kim (2018): *Lactobacillus plantarum* LRCC 5273 isolated from Kimchi ameliorates diet-induced hypercholesterolemia in C57BL/6 mice, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,

Wen, X., He, D. F., Ni, X. Q., Zhang, D., Ding, Y. D., Xin, J. G., . . . Zeng, D. (2014). Effects of *Lactobacillus casei* and Ginkgo biloba extract on blood lipids and anti-oxidation of obese mice. *Journal of Northwest A&F University*, 42(1), 8–12.

Wang LX, Liu K, Gao DW (2013), Protective effects of two *Lactobacillus plantarum* strains in hyperlipidemic mice. *World J Gastroenterol*.

Xie, N., Cui, Y., Yin, Y.-N., Zhao, X., Yang, J.-W., Wang, Z.-G., Fu, N., Tang, Y., Wang, X.-H., Liu, X.-W., Wang, C.-L., and Lu, F.-G. (2011). Effects of two *Lactobacillus* sur le métabolisme des lipides et la microflore intestinale chez des rats nourris avec un régime riche en cholestérol. *Complément BMC. Alternatif. Méd.*

Yu Qian, Mingyue Li, Wei Wang, Hongwei Wang, Yu Zhang, Qiang Hu, Xin Zhao (2019) Effects of *Lactobacillus Casei* YBJ02 on Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Mice
Institute of Food Technologists

ZiarH.(2013). Les bactéries lactiques: Survie et Assimilation de cholestérol. Thèse de doctorat, Univ .Mostaganem, pp.43-44

Annexes

ANNEXE 1 :

COMPOSITION DU MILEU DE CULTURE MRS(pH 6,2) :

Peptone.....	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	10g
Glucose	20g
Tween 80.....	1ml
Phosphate bippotassique	2g
Acéate de sodium.....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g
Sulfate demagnésium.....	0,2g
Sulfate de manganése.....	0,5g
Agar.....	15g
Eau distillée qsp.....	1000mL

Autoclavable à 120°C pendant 20 minutes

ANNEXE 2 :

ETAPES DE LA COLORATION DE GRAM

Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à :

- 1- Fixer de frottis.
- 2- Recouvrir le frottis de la solution de violet de Gentiane . Laisser agir 1 minute.
- 3- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- 4- Recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir 1 minute.
- 5- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- 6- Décolorer à l'alcool 95°.
- 7- Rincer à l'eau courante.
- 8- Recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir quelques secondes et rejeter la Fuchsine.
- 9- Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres.

ANNEXE 3 :

Tableaux de résultats du poids corporels des souris à chaque pesée

Tableau A1 Poids des souris du groupe RN (Régime normal) :

Souris Jours	S1	S2	S3	S4	S5
J-5	26gr	26gr	25gr	28gr	27gr
J-10	26gr	27gr	26gr	28gr	28gr
J-15	27gr	28gr	27gr	28gr	28gr
J-20	27gr	29gr	27gr	29gr	28gr

Tableau A2 Poids des souris du groupe RG (Régime gras) :

Souris Jours	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
J-5	26gr	26gr	28gr	29gr	27gr	28gr	29gr	28gr	28gr	29gr
J-10	28gr	29gr	30gr	31gr	30gr	29gr	31gr	30gr	31gr	32gr
J-15	33gr	32gr	33gr	34gr	32gr	34gr	35gr	36gr	36gr	37gr
J-20	37gr	38gr	39gr	42gr	42gr	41gr	43gr	43gr	42gr	42gr

Tableau A3 : Poids de souris du groupe RG+LB23 :

Souris Jours	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
J-5	26gr	25gr	27gr	27gr	25gr	26gr	28gr	27gr	26gr	27gr
J-10	27gr	28gr	29gr	28gr	27gr	29gr	28gr	28gr	29gr	28gr
J-15	29gr	30gr	30gr	31gr	31gr	32gr	29gr	29gr	31gr	31gr
J-20	32gr	32gr	31gr	33gr	32gr	34gr	31gr	30gr	34gr	34gr

ANNEXE 4 :

Tableaux des résultats du dosage biochimiques du sang

Tableau A4 : Dosage des paramètres biochimiques sanguin du groupe 1 (Témoin)

Souris Paramètres	S1	S2	S3
TC(mmol/L)	1,49	1,51	1,49
TG(mmol/L)	1,38	1,36	1,36
LDL-c(mmol/L)	0,19	0,19	0,20
HDL-c(mmol/L)	1,98	1,97	1,97

Tableau A5 : Dosage des paramètres biochimiques sanguin du groupe 2 (Régime gras sans LB23)

Souris Paramètres	S1	S2	S3
TC(mmol/L)	3,30	3,31	3,29
TG(mmol/L)	1,97	1,98	2,08
LDL-c(mmol/L)	0,50	0,51	0,50
HDL-c(mmol/L)	1,01	1	1,02

Tableau A6 : Dosage des paramètres biochimiques sanguin du groupe 3 (Régime gras +LB23)

Souris Paramètres	S1	S2	S3
TC(mmol/L)	2,67	2,68	2,68
TG(mmol/L)	1,60	1,61	1,60
LDL-c(mmol/L)	0,37	0,36	0,38
HDL-c(mmol/L)	1,40	1,42	1,42