

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent



Département de la Science de la nature et la vie
Mémoire
Pour l'obtention du Diplôme de Master en biologie
Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :

Mlle. Tahar Berrabah Chahra
Mlle. Tahar Berrabah Fatima

Isolement et caractérisation des lactobacilles à partir du lait de chèvre

Encadrant:

Mr. Mouaden Riad

Soutenu le 29 Septembre 2020.

Devant le jury composé de :

President: Mr Benabi Farid	« MCB »	C.U.B.B.A.T.
Examinatrice : Mme. Chibani	« MAB »	C.U.B.B.A.T.
Encadrant: Mr Mouaden Riad	« MAA »	C.U.B.B.A.T.

Remerciement

Louanges à Allah, seigneur de L'univers ; que la salutation d'Allah soient sur son messager qu'il a envoyé en qualité de miséricorde universelle, ainsi que sur ses compagnons et ses frères jusqu'à la résurrection.

Nous rendons grâce, avant tout, à Dieu Tout-Puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'Il m'a données durant ces longues années d'études afin que je puisse arriver à cet aboutissement.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à notre promoteur, M. Mouedden pour nous avoir permis d'effectuer notre mémoire de fin d'étude sous sa direction et offert la possibilité de travailler sur un sujet passionnant. Merci pour ces conseils, pour son soutien.

Nous remercions également vivement les membres de ce jury, nous sommes très honorées que vous acceptiez la présidence de notre jury, trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements, et soyez assurée de notre profonde gratitude.

Tous nos remerciements vont également aux ingénieures de laboratoire de département Biologie de nous avoir mis à disposition les produits ce qui nous avons permis de réaliser cette étude.

Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion Master II option Microbiologie Appliqué pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble, et que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail trouve ici l'expression de nos vifs remerciements.

Dédicace :

On dédie ce modeste travail tout d'abord aux personnes les plus chers à mon cœur sur cette terre et particulièrement à :

Notre père, qui sera toujours présent dans mon cœur.

Notre mère, la lumière de nos jours, la source de nos efforts, la flamme de nos cœurs, notre vie et notre bonheur.

A mes chers frères : Kouider, Mohamed, Mourad, Ali

A nos chères amies : kheira, Zohra et Selma

A vous tous merci

Résumé

Le présent travail vise l'isolement et la caractérisation de souches lactiques du genre lactobacille et étudier leurs compétences suivant le plan de sélection des probiotiques. Un isolement des souches lactiques à partir des échantillons de lait cru de chèvre provenant de quatre régions situées dans la wilaya d'Ain Témouchent est effectué suivie d'une purification et un descriptive phénotypique, physiologique a été réalisée et une identification biochimique de l'une de ces souches à l'aide de la galerie API50 CHL. Ensuite les propriétés probiotiques de ces isolats ont été étudiée *in vitro*, les attribues effectuées ont concerné multitudes testes. Comme résultats d'isolement et de purification nous on permit de récupérer 13 souches à Gram positif et catalase négatif parmi lesquelles (06) isolats pures rattaché au genre *Lactobacillus* et la souche identifié biochimiquement a été définie comme *Lactobacillus plantarum*. La plupart des souches ont montré une hydrophobicité et une capacité d'auto-agrégation élevées, de Co-agrégation modéré et d'antagonisme et de sensibilité aux antibiotiques variables, par contre ont révélé une faible capacité d'adhésion. Aucun signe d'hémolyse n'a été observé pour la totalité. Les résultats fournis par la souche *Lactobacillus plantarum* sont intéressants, particulièrement la résistance remarquable vis-à-vis des conditions hostiles de tractus gastro-intestinal, ainsi la forte capacité d'adhésion aux cellules épithéliales du poulet. Cela nous a permis de définir la probabilité d'utilisation future de cette souche comme probiotique.

Mots clé : lait de chèvre, lactobacille, *Lactobacillus plantarum*, probiotique.

Abstract

The present work aims at isolating and characterizing lactic strains of the genus *Lactobacillus* and studying their competence according to the probiotic selection plan. An isolation of lactic strains from samples of raw goat's milk from four regions located in the wilaya of Ain Témouchent is carried out followed by a purification and a phenotypic, physiological description was carried out and a biochemical identification of one of these strains using the API50 CHL gallery. Then the probiotic properties of these isolates were studied in vitro, the attributes carried out concerned multitudes of tests. As results of isolation and purification we were able to recover 13 strains with Gram-positive and catalase-negative catalase among which (06) pure isolates related to the genus *Lactobacillus* and the biochemically identified strain was defined as *Lactobacillus plantarum*. Most of the strains showed high hydrophobicity and capacity for self-aggregation, moderate co-aggregation and variable antibiotic antagonism and sensitivity, but showed low adhesion capacity. No evidence of hemolysis was observed for all strains. The results provided by the *Lactobacillus plantarum* strain are interesting, particularly the remarkable resistance to hostile conditions in the gastrointestinal tract, as well as the high adhesion capacity to chicken epithelial cells. This allowed us to define the probability of future use of this strain as a probiotic.

Keywords: goat's milk, *Lactobacillus*, *Lactobacillus plantarum*, probiotic.

الملخص

يهدف العمل الحالي إلى عزل وتوصيف سلالات حمض اللاكتيك من جنس العصيات اللبنية ودراسة مهاراتهم وفقاً لخطة اختيار الكائنات الحية المجهرية. تم عزل سلالات اللاكتيك من عينات لبن الماعز الخام من أربع مناطق بولاية عين تموشنت ، متنوعة بالتصفية ، وتم إجراء وصف ظاهري وفسولوجي وتحديد كيميائي حيوي لواحدة من هذه السلالات باستخدام معرض API50 CHL ثم تمت دراسة الخصائص الحيوية لهذه العزلات في المختبر ، وتم اختبار الصفات الخاصة بالعديد من العزلات. كنتاج عزل وتنقية ، سُمح لنا باستعادة 13 سلالة موجبة وسالبة للكنتاز من بينها (06) عزلة نقية مرتبطة بالجنس *Lactobacillus* والسلالة المحددة كيميائياً تم تعريفها على أنه *Lactobacillus plantarum* أظهرت معظم السلالات قدرة عالية على مقاومة الماء وقدرة على التجميع الذاتي مشترك معتدل وتضاد متغير وحساسية للمضادات الحيوية ، في المقابل أظهرت قدرة التصاق منخفضة. لم يلاحظ أي علامات على انحلال الدم في جميع. النتائج التي قدمتها سلالة *Lactobacillus plantarum* مثيرة للاهتمام، لا سيما المقاومة الملحوظة للظروف المعادية للجهاز الهضمي ، فضلاً عن القدرة العالية على الالتصاق بالخلايا الظهارية في الدجاج. سمح لنا هذا بتحديد احتمالية الاستخدام المستقبلي لهذه السلالة باعتبارها بروبيوتيك

الكلمات المفتاحية : الحليب الماعز, اللاكتوباسيلوس, *Lactobacillus plantarum*, بروبيوتيك

Liste des abréviations :

%: pour cent

°C : Degré Celsius

°D: degré Dornic

ADH : Arginine deshydrolase

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

API 50 CH: Carbohydrate fermentation Strips

ATB : Antibiotique

ATCC : American type culture collection

ATPase: Enzyme hydrolysant l'Adénosine Triphosphate

BAL: Lactic Acid Bacteria

BHIB : Braint Heart Infusion Broth

BSH: Biles Salts Hydrolase

CO₂: dioxyde de carbone

D.O : Densité Optique

E.Coli: Escherichia coli

FAO: Food and Agriculture Organization

g: gramme

Gram- : Gramme négative

Gram+ : Gramme positive

GRAS: Generally Regarded As Safe

H : heure

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HCL : Acide chlorhydrique

IFN- γ : interféron- γ

IgA : Immunoglobuline classe A

Lb : *Lactobacillus*

Log: Logarithme décimal

ml : millilitre

MRS : milieu De Man Rogosa et Sharp

Na CL : Chlorure de Sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

NK : Natural killers

O₂ : dioxygène

PBS : « Phosphate Buffer Saline » (tampon phosphate salin)

PCR : Polymérase Chain réaction

pH : potentiel Hydrogène

Sp : Espèce

T : Température

TGF : Tumor growth factor / Facteur de Croissance tumorale

TLR : Toll-Like Receptors

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha / Facteur de nécrose tumorale alpha

tr : tour

μ l: Microlitre

Liste des figures :

Figure (01) : Structure d'un globule de matière grasse.

Figure (02) : Arbre phylogénétique des bactéries lactiques.

Figure (03) : Image de Lactobacille T5 obtenue par microscope électronique à balayage.

Figure (04):L'arbre phylogénétique montrant la relation entre les séquences d'ADN 16S des souches types de certaines espèces de lactobacilles.

Figure (05) : Critères de sélection des micro-organismes probiotiques.

Figure (06) : Exemple de nomenclature des microorganismes probiotiques.

Figure (07) : Représentation schématique de la structure de base de composés transmembranaires des jonctions serrées.

Figure (08) : Carte représentative de différentes régions de prélèvement des échantillons.

Figure (09) : Diagramme d'isolement et de purification des lactobacilles.

Figure (10) : représentation de protocole d'hydrophobicité.

Figure (11) : Préparation des cellules épithéliales d'intestin du poulet.

Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies des lactobacilles cultivées sur gélose (MRS).

Figure 13 : Aspect des souches sur milieu MRS liquide à 37 °C après 24h d'incubation par rapport au témoin.

Figure 14 : Aspect microscopiques des isolats de lactobacilles après coloration de gram (x100).

Figure 15 : résultat après la mise en évidence du test de catalase.

Figure 16:Taux de survie des isolats Lb testés après exposition à une concentration de (0,3%) pendant 4h.

Figure 17 : Hydrophobicité des isolats Lb testés.

Figure 18 : Taux d'hydrophobicité des isolats Lb testés après 1h d'incubation.

Figure 19 : Autoagrégation des isolats Lb testés.

Figure 20 : Taux d'auto-agrégation des isolats Lb testés après 2 et 24h d'incubation.

Figure 21 :Taux de Co- agrégation des isolats Lb testés après 4h d'incubation.

Figure 22: Test d'adhésion (x100).

Liste des tableaux :

Tableau (01) : Composition comparée des laits de vache et de chèvre.

Tableau (02) : Quelques exemples de l'utilisation des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire.

Tableau (03) : Mode de fermentation des sucres par les espèces lactobacilles.

Tableau (04) : Les différentes souches pathogènes utilisées

Tableau (05) : liste des antibiotiques utilisés.

Tableau (06) : caractéristiques physiologiques et biochimiques des 6 isolats.

Tableau (07) : Résultats API 50 CHL.

Tableau (08) : Taux de survie des isolats testés après exposition à un (pH2, 5) pendant 3h.

Tableau (09) : Taux de survie des isolats Lb testées après exposition à une concentration de (0,3%) pendant 4h.

Tableau (10) : Taux d'hydrophobicité des isolats Lb testées après 1h d'incubation.

Tableau (11) : Taux d'auto-agrégation des isolats Lb testées après 2 et 24h d'incubation.

Tableau (12) : Taux de Co-agrégation des isolats Lb testées après 4h d'incubation.

Tableau 13 : Adhésion de souches Lb testées aux cellules épithéliales du colon et de l'iléum du poulet.

Tableau 14: Résultats d'activité antibactérienne des isolats de lactobacilles vis-à-vis différentes bactéries indicatrices.

Tableau 15: Résultats de la résistance et la sensibilité aux antibiotiques.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction01

Revue bibliographique

Chapitre I : Le lait de chèvre

I. 1. Identité des caprins.....	03
I. 1. 1. Place des caprins dans le règne animal	03
I. 1. 2. Généralités sur l'élevage caprin.....	03
I. 1.3. Les principales races en l'Algérie.....	04
I. 2. Définition du lait.....	04
I. 2. 1. Définition du lait de chèvre.....	04
I. 2. 2. La composition du lait de chèvre.....	05
I. 2.3. Les caractères organoleptiques.....	06
I. 2.4. Les caractères physicochimiques.....	06
I. 2.5. Les éléments de composition de lait de chèvre.....	07
I. 3. Microbiologie du lait	09
I. 4. Rôle du lait de chèvre	11

Chapitre II: Les lactobacilles

II. 1. Les bactéries lactiques.....	12
II. 1. 1. Définition générale	12
II. 1. 2. Utilisation des bactéries lactiques.....	13
II. 2. Les lactobacilles: Un genre représentatif de la diversité des bactéries lactiques....	15
II. 2.1. Définition.....	15
II. 2.2. Caractères morphologiques et physiologiques.....	16
II. 2.3. Exigences nutritionnelles et caractères culturaux.....	17
II. 2.4. Habitats.....	17

II.2.5.Classification.....	18
II. 2.6. Identification.....	19
II.3.Les lactobacilles : Majeurs probiotiques.....	21

Chapitre III: Les probiotiques

III.1.Définition générale des probiotiques.....	22
III.2.Pré-requis des souches probiotiques	22
III.3.Critères de sécurité	24
III.3.1.Identification	24
III.3.2.Innocuité	25
III.3.3.Origine	25
III.4.Critères fonctionnelles	26
III.4.1. Tolérance à l'acidité	26
III.4.2. Tolérance aux sels biliaires.....	27
III.4.3.Pouvoir d'adhésion.....	27
III.4.4.Colonisation	30
III.4.5.Activité antimicrobienne.....	30
III.4.6.Avoir un rôle bénéfique sur l'hôte.....	31
III.5.Critères technologiques.....	31
III.5.1.Stabilité.....	31
III.5.2.Viabilité.....	32
III.5.3.Conservation.....	32
III.5.Mode d'action des probiotiques	33
III.6.Les immunobiotiques.....	33
III.6.1.Immunité innée.....	33
III.6.2.l'immunité adaptative	34

Partie Expérimentale

Chapitre IV: Matériel et méthodes

IV.1. Présentation du lieu de l'étude expérimental	37
IV.2. Echantillonnage et techniques de prélèvement.....	37
IV.3. Matériel.....	38
IV.3. Méthodes	38
IV.3.1.Isolement.....	38
IV.3.2.Purification.....	39

IV.3.3.	Conservation des souches pures.....	39
IV.3.4.	Identification morphologique.....	41
IV.3.4.1.	Aspect macroscopique.....	41
IV.3.4.2.	Aspect microscopique	41
IV.3.5.	Identification physiologique.....	41
	• Test de la catalase.....	41
	• Croissance en présence de Na Cl	42
	• Croissance à différentes températures.....	42
IV.3.6.	Identification biochimique.....	42
	• Désamination de l'arginine(ADH).....	42
	• Type fermentaire.....	42
	• Identification par la galerie API 50CHL.....	43
IV.4.	Mise en évidence in vitro de quelque caractère probiotique	43
IV.4.1.	Tolérance à l'acidité.....	43
IV.4.2.	Tolérance aux sels biliaires.....	44
IV.4.3.	Activité hémolytique.....	44
IV.4.4.	Autoagrégation.....	45
IV.4.5.	Coagrégation.....	45
IV.4.6.	Hydrophobicité.....	46
IV.4.7.	Adhésion aux cellules épithéliales.....	48
IV.4.8.	La résistance aux antibiotiques.....	49
IV.4.9.	L'activité antimicrobienne.....	50

Chapitre V : Résultats et discussion

V .1.	Caractérisation phénotypique des isolats.....	52
V .1.1.	L'observation macroscopique	52
	• Sur milieux MRS solides.....	52
	• Sur milieu liquide MRS	53

V .1.2. L'observation microscopique	53
• Coloration de Gram.....	53
• Test de catalase.....	54
V .2. Identification des souches.....	54
V.2.1.Tests physiologiques et biochimiques.....	54
• Croissance en présence de Na Cl	56
• Croissance à différentes températures.....	56
• Type fermentaire.....	56
• Désamination de l'arginine(ADH).....	56
• Identification par la galerie API 50CHL.....	57
V.3.Etude du potentiel probiotique des souches de lactobacille.....	57
V.3.1.Tolérance à l'acidité.....	57
V.3.2.Tolérance aux sels biliaires.....	60
V.3.3.L'activité hémolytique.....	63
V.3.4.Hydrophobicité	63
V.3.5.Autoaggregation.....	66
V.3.6.Co-agrégation	68
V.3.7.Adhésion aux cellules épithéliales.....	71
V.3.8.Activité antibactérienne	74
V.3.9.La résistance aux antibiotiques	77
Conclusion et perspective.....	81
Références bibliographiques.....	83
Annexe.....	84

Introduction

Introduction

Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens, connus comme un liquide complexe contenant des protéines, des graisses, des glucides, des vitamines, et des minéraux. La composition est fréquemment influencée par divers facteurs de production et de transformation. Il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale, et il est spécifié à chaque espèce productrice. Il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur de sa richesse en eau et en matières nutritives.

Le lait de chèvre est considéré comme étant l'un des aliments les plus complets et les mieux équilibrés, consommé à l'état cru ou fermenté. Ainsi, en raison de sa valeur nutritionnelle, de sa digestibilité, de ses caractéristiques thérapeutiques et diététiques, le lait de chèvre est de plus en plus pertinent pour l'alimentation humaine, en particulier pour certains secteurs de la population ayant des besoins particuliers (**Zervas et Tsiplakou. 2013**).

En Algérie, de nombreuses études ont été menées pour isoler les bactéries lactiques du lait de vache, de brebis et de chèvre (**Karam et Zadi, 1994; Karam, 1995; Kacem et al., 2003, Idoui, 2008**). Le champ d'application de ces bactéries est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes surtout sur la qualité finale des produits alimentaires tels que le lait, la viande, les légumes et les céréales. Dans de nombreux cas, les lactobacilles sont également utilisés comme cultures de démarrage dans la fermentation alimentaire industrielle et artisanale, car ils contribuent à la conservation, à la saveur et à la texture des aliments fermentés (**De Vrier et al. 2006**), Les applications industrielles liées à l'alimentation humaine et animale et à la santé humaine et animale font les microorganismes du genre *Lactobacillus* l'un des taxons bactériens les plus importants sur le plan économique (**Zheng et al. 2015**).

Au-delà de l'industrie alimentaire, l'intérêt matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff, ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines (**Metchnikoff, 1907**). Il a développé un régime alimentaire à base de lait fermenté par une bactérie qu'il appela le bacille bulgare.

Introduction

Les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* sont utilisées depuis longtemps pour la production d'une large gamme de produits laitiers et céréales fermentés et ont reçu le statut "Generally Recognized As Safe" (GRAS) (Gotcheva et al. 2002). Ainsi, ils sont naturellement présents dans l'intestin humain, et pour cette raison, ces souches sont aussi préférentiellement développées pour une utilisation commerciale en tant que probiotiques (Zielin'ska et al. 2015).

La FAO/OMS, (2002) définit le probiotique comme un complément alimentaire microbien viable qui influence positivement l'hôte par ses effets dans l'intestin. La plupart de ses définitions des probiotiques, soulignent que les microorganismes doivent être viables et atteindre leur site d'action vivants. Elles doivent donc résister au pH acide de l'estomac dû à la présence de forte concentration d'acide chlorhydrique, aux concentrations de bile (Palomares et al. 2007), et d'adhérer au mucus intestinal pour but de la colonisation de surface intestinale et l'exclusion compétitive des pathogènes (Zago et al. 2011), la résistance aux antibiotiques (Vamanu et al. 2011). Il a été conclu que tous les bactéries probiotiques ne partagent pas tous ces attributs, une souche spécifique décrit une fonction précise qui n'est pas observée chez d'autres souches de la même espèce (Ghosh et al. 2019).

Dans cette optique que s'inscrit notre modeste travail, nous nous sommes intéressées à isoler des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* à partir de lait de chèvre, à caractériser morphologiquement, physiologiquement et biochimiquement, et à estimer quelques aptitude probiotiques de ces isolats. A cet effet, notre présent travail s'est scindé en trois parties :

- ✓ La première partie sous forme d'une synthèse bibliographique qui regroupe les principales informations sur le lait de chèvre.
- ✓ La seconde partie, s'intéressera à l'isolement, la purification et à la détermination des caractéristiques des lactobacilles et savoir si ces isolats présente une activité probiotique.
- ✓ Les principaux résultats obtenus et leurs discussions et interprétations sont illustrés dans la troisième partie et nous achevons notre écrit par une conclusion sur l'ensemble des informations et résultats obtenus dans les trois parties.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Le lait de chèvre

I. 1. Identité des caprins:**I. 1. 1. Place des caprins dans le règne animal :**

Règne : *Animalia*.

Embranchement : *Chordata (Chordates)*.

Classe : *Mamalia*.

Sous-classe : *placentaires*.

Ordre : *artiodactyla (Cetartiodactyls)*.

Sous-ordre : *Ruminants*.

Infra-ordre : *Pecora*.

Famille : *Bovidae*.

Sous Famille : *Caprinae*.

Genre : *Capra*.

Species : *Capra hircus Linnaeus, 1758*

Comme indiqué ci-dessus, la chèvre est un mammifère herbivore et ruminant qui appartient à la famille des bovidés et à la sous famille des caprins ou des chèvres comme confirmé par (Lafleur *et al.*, 2018).

I.1. 2. Généralités sur l'élevage caprin :

Les caprins ont été domestiqués il y a environ 10 000 ans, ce qui en fait l'une des premières espèces à être introduites dans le cercle intérieur des animaux sélectionnés par l'homme pour subvenir à ses besoins (Phillips, 2012). Leur élevage en général et celui de la chèvre en particulier, est à la portée de toutes les couches sociales, particulièrement les femmes, les jeunes et les vieillards (Sahi *et al.*, 2018).

La chèvre a pendant très longtemps été considérée comme « la vache du pauvre », l'animal qu'on élève là où on ne peut rien élever d'autre, et elle l'est encore aujourd'hui dans de très nombreux esprits (Fragné, 2014). Il reste l'animal le plus compétitif dans les zones marginales où les conditions naturelles exigent un minimum de potentialités d'adaptation et de production chez les ressources animales (Aissaoui *et al.*, 2019).

Leur importance dans le monde entier a été largement documentée en tant que fournisseurs de lait et de viande. Les caprins sont aussi élevés pour leur toison recherchée ainsi que leur peau

qui sert notamment à la fabrication de guerbans qui sont légères, isolantes et faciles à transporter (**Guintard et al., 2018**).

I.1.3. Les principales races en Algérie :

La population des races caprines locales représente le rameau Nord-Africain proche du type Kurde et Nubiosyrien, ce groupe comprend la race **Arabia** : localisée principalement dans la région de Laghouat ; la race **Kabyle** : occupant les montagnes de Kabylie et des Aurès ; la race **Makatia** : localisée dans les hauts plateaux et dans certaines zones du Nord ; et enfin la race **M'Zabia** : localisée dans la partie septentrionale du Sahara (**Guintard et al., 2018**).

Ils jouent un rôle majeur dans l'utilisation des ressources disponibles dans les systèmes de production extensifs et les zones marginales et contribuent ainsi à la stabilité environnementale et socio-économique (**Tefiel et al., 2018**).

I. 2. Définition du lait :

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée (**Kassa et al., 2016**), il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH légèrement acide (6,6 à 6,8), proche de la neutralité (**Alais, 1984**).

Sur le plan physico-chimique, il se définit comme une émulsion de matières grasses sous forme de globules de gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines du lactosérum, etc.) et les autres sous forme colloïdale (caséines) (**Doyon et al., 2005**).

I. 2. 1. Définition du lait de chèvre :

Tout comme le lait de vache, le lait de chèvre est un liquide blanc composé de lipides en émulsion sous forme de globules, de caséines en suspension colloïdale, de protéines du sérum en solution colloïdale, de lactose et de minéraux en suspension (**Vignola, 2002**).

Sur le plan organoleptique, le lait de chèvre se présente comme un liquide blanc, opaque, d'une saveur particulière (**Kharrat, 2010**), leur transformation en Raïb, Lben et Jben (fromage traditionnel), le plus souvent de qualité sensorielle variée, se fait par fermentation spontanée (**Badis et al., 2005**).

Le lait de chèvre joue un rôle vital dans la consommation humaine, la plupart étant consommés par la communauté rurale, alors que peu de produits sont disponibles sur le marché (**Badis et al., 2004**).

I. 2.2. La composition du lait de chèvre :

De façon générale, les normes de qualité du lait de ruminants doivent être évaluées sur la base de la source individuelle de lait malgré qu'il existe une similitude peu probable entre les compositions de lait de chèvre et d'autres sources de lait (**Lai et al., 2016 ; Morgan et al., 2003 ; Zweifel et al., 2005**).

En comparaison avec du lait de vache, les caractéristiques particulières de la composition du lait de chèvre font que son utilisation nutritionnelle est nettement plus élevée que celle du lait de vache (**Gaddour et al., 2013**). Même dans le lait de chèvre, de nombreux éléments nutritifs peuvent varier considérablement en raison de la variation des systèmes de production, du stade de la lactation, de la saison, du climat, de la fréquence de la traite, de la race, de l'hygiène des chèvres et / ou de l'alimentation (**Goetsch, Zeng, et Gipson, 2011; Raynal-Ljutovac et al., 2008; Park et al., 2007**).

Tableau 01: Composition comparée des laits de vache et de chèvre d'après (**Zeller, 2005**).

Composition chimique	Lait de vache (g/l)	Lait de chèvre (g/l)
Eau	900	900
Matière protéique	32	30,8
Matière grasse	40,4	34,4
Lactose	48	48
Calcium	1,25	1,25
Phosphore	0,95	0,95

I. 2.3. Les caractères organoleptiques :**A. Saveur :**

Une caractéristique importante du lait de chèvre est la saveur unique de « chèvre » qui est attribuée aux différents acides gras et aux proportions relativement plus élevées d'acides gras à courte et moyenne chaîne dans le lait de chèvre (**Anam et al., 2012 ;Tziboula-Clarke, 2003**).

B. Couleur :

Parfaitement blanche caractéristique du lait de chèvre est due à l'absence d'un pigment naturel présent dans le lait d'autres femelles laitières d'élevage : le carotène (**Pensuet et Toussaint, 1995 ; Mathieu, 1998 ; Kharrat, 2010**).

C. Odeur :

L'odeur du lait de chèvre a été spécifiquement décrite comme étant celle « d'une chèvre » et a conduit les consommateurs à se débarrasser des produits à base de lait de chèvre dans le passé (**Haenlein, 2001 ;Jia et al., 2015**).

I. 2.4. Les caractères physicochimiques :**A. Acidité :**

Contrairement au lait de vache, qui est légèrement acide, le lait de chèvre est de nature alcaline, ce qui est très utile pour les personnes ayant des problèmes d'acidité. Cette alcalinité est due à la teneur plus élevée en protéines et à une disposition différente des phosphates (**Jandal et al., 1996 ; Saini et Gill., 1991**).

B. pH:

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Le lait des caprins a une réaction ionique légèrement acide voisine de la neutralité, il est compris entre 6,50 à 6.80 suite à la présence des anions phosphoriques et de la caséine (**Mohammed, 2014**).

I. 2.5. Les éléments de composition de lait de chèvre :**A. L'eau :**

L'eau est le constituant le plus important du lait (**Vignola, 2002**). Elle forme une solution variée avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses, le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (**Amiot et al., 2002**).

B. Glucides :

Le lactose est le principal glucide du lait et pour être absorbé, ce disaccharide doit être digéré par une enzyme, la lactase (bêta-galactosidase), qui libère du galactose et du glucose (**Marteau et al., 2017**). Toutefois, leur teneur dans le lait est indépendante du stade de lactation (**Guo et al., 2004 ; Judrez et Ramos, 1986**).

C. Caséine :

Les protéines de caséine constituent 80% de toutes les protéines du lait (**Mohanty et al., 2016**). Le lait contient une forte proportion de protéines, dont certaines, comme les caséines, ont une fonction nutritive, tandis que d'autres ont des fonctions physiologiques spécifiques dans la glande mammaire et chez le nouveau-né (**Conesa et al., 2008**).

Dans le lait de chèvre, la β -caséine est le principal composant de la fraction de caséine, tandis que la α 1-caseine est la principale caséine dans le lait de vache (**Park et Haenlein, 2007**).

D. Vitamines :

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires (**Vignola, 2002**). Leur teneur dans le lait de chèvre varie en fonction de la saison, de l'alimentation et d'autres facteurs (**Hayam et al., 2014**). Le lait de chèvre et le lait de vache sont tous deux déficients en pyridoxine (B6), vitamine C et D, ce manque de vitamines doit être complété par d'autres sources pour l'alimentation des bébés (**Park et al., 2007**).

E. Lipides :

La qualité nutritionnelle et technologique du lait de chèvre est influencée majoritairement par leur composition lipidique. La teneur moyenne en matière grasse totale du lait est similaire à celle des autres espèces de ruminants, malgré que les études indiquent que le pourcentage de matière grasse dans le lait de chèvre dépasse celui de la vache (**Getaneh et al., 2016**).

Le lait de chèvre est considéré comme un lait naturellement homogénéisé, dans lequel la taille des globules gras est plus petite que dans le lait de vache (**Park et Haenlein, 2007**). Le totale des triglycérides à moyenne chaîne (TMC), des acides gras mono insaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans le lait de chèvre est plus élevé que dans le lait de vache (**Nurliyani et al., 2012**).

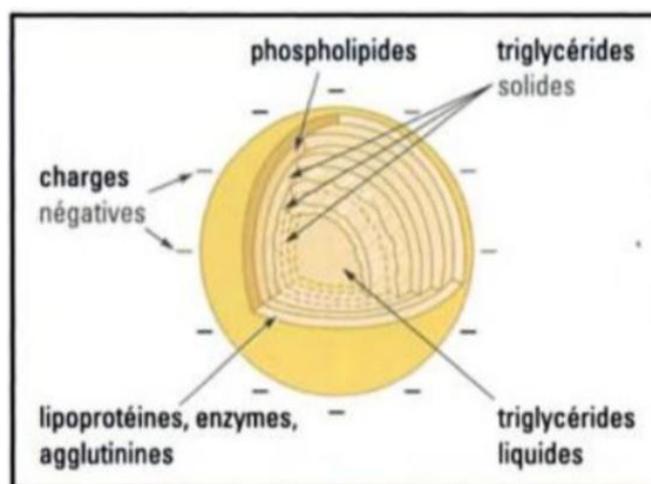


Figure 01: Structure d'un globule de matière grasse (**Vignola, 2002**).

F. Les enzymes :

Sont des biocatalyseurs, car ils accélèrent les réactions biochimiques (**Vignola, 2002**). Les enzymes du lait de la chèvre sont similaires à celles de la vache, bien que certaines différences spécifiques ont été décrites (**Getaneh, 2016**). Le lait de chèvre a une activité enzymatique plus faible que le lait de vache, par exemple la ribonucléase, la phosphatase alcaline, la lipase et la xanthine oxydase (**Hayam et al., 2014**).

G. Protéines :

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (**Vignola, 2002**).

Les protéines de lait de chèvre sont similaires aux principales protéines de lait de vache dans leur classification générale de α -, β -, κ -caséines, β - lactoglobuline, α -lactalbumine, mais elles diffèrent dans les polymorphismes génétiques et leurs fréquences dans les populations de chèvres (**Buergin-Wolff et al., 1980; Taylor, 1986; Haenlein, 2004**). La richesse en protéines coagulables améliore le rendement fromager et renforce sa capacité à donner un gel ferme et facile à travailler (**Kharrat, 2010**).

H. Minéraux :

De nombreux minéraux majeurs et oligo-éléments provenant du lait jouent un rôle important dans la physiologie et le métabolisme du corps humain. Le lait de chèvre aurait une teneur plus «élevée en potassium, calcium, chlorure, phosphore, sélénium, zinc et cuivre et une teneur en Na et S inférieure à celle du lait de vache (**Slačanac et al., 2010 ; Lopez-Aliaga et al., 2005 ; Zenebe et al., 2014**).

Le calcium est indispensable à la formation du caillé sous l'action de la présure, il est présent en très grande quantité dans le lait de chèvre par rapport à la concentration du calcium dans le lait de vache ou de brebis : la quantité moyenne de calcium dans le lait de chèvre est de 1,26 g/L (**Gudguen, 1997**).

I. 3. Microbiologie du lait de chèvre:

Les microorganismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes : la flore indigène ou originale et la flore de contamination, cette dernière est subdivisée en deux classes : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola, 2002**).

I.3.1. Flore originale :

Le lait obtenu par une traite aseptique n'est pas stérile. Après la traite, il contient 10^3 à 5.10^3 microorganismes par millilitre, essentiellement des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux du pis et des canaux galactophores (flore originelle) (**Baliarda., 2003**).

I.3. 2. Flore de contamination :

Le lait peut être contaminé par divers microorganismes de l'environnement : Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, Microcoques, Corynébactéries, *Bacillus* et ceci par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage, par le sol, l'herbe ou la litière. Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'Entérobactéries, coliformes et éventuellement d'Entérobactérie pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter* (**Baliarda., 2003**).

I.3. 3. Flore d'altération :

Les bactéries de la flore du lait (flore originelle et flore de contamination) sont susceptibles d'altérer cet aliment par trois processus principaux :(1) la fermentation homo- ou hétéro lactique du lactose avec acidification du lait (précipitation de la caséine et prise en masse du lait, (2) la protéolyse (perturbation d caillé et de la maturation du fromage ,(3) la lipolyse (oxydation des acides gras insaturés issus de la lipolyse altérant l'aspect et l'odeur par rancissement (**Baliarda., 2003**).

I.3.4. Flore pathogène :

Enfin, les laits des animaux malades peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme :*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Brucelle*, *Bacillus anthracis*, *Listeria* ainsi que différents virus (**Baliarda., 2003**).Les microorganismes pathogènes du lait et du fromage sont des microorganismes pour la plupart ubiquitaires qui peuvent être responsables de toxi-infections alimentaires ou d'intoxications (intoxication sans infection) (**Alomar, 2007**).

I.4. Rôle du lait de chèvre :

Le principal aspect de la demande de lait de chèvre découle de la maladie des personnes souffrant d'allergies au lait de vache et d'autres affections gastro-intestinales (**Kumar et al., 2016**).ce qui est expliqué par la teneur plus élevés des acides gras à moyenne chaine, mono-insaturés et polyinsaturés dans le lait de chèvre que dans le lait de vache, qui peuvent réduire les réactions allergiques au lait de vache (**Nurliyani et al. 2012**).

Sur les 5 classes d'immunoglobulines seules les Ig G, A et M se retrouvent dans le lait caprin (**Park, 2007**), le lait de chèvre contient un taux plus élevé de carotène (pro -vitamine A) ayant des propriétés de prévention du cancer, il constitue une excellente source de calcium, de phosphore et de potassium (**Kapadiya et al., 2016**).Donc la consommation régulière de lait de chèvre améliore sensiblement le poids corporel, la minéralisation du squelette, et conduit à l'augmentation des niveaux de vitamines et d'hémoglobine dans le sérum sanguin (**Bano et al., 2011**).

Le lait de chèvre a haut digestibilité en raison de la taille réduite de ses globules gras (environ 3,49 μ m) et de la quantité élevée d'acides gras à courte et moyenne chaine (acide caproïque, acide caprylique e acide caprique) qui peuvent être attribués à la réduction du cholestérol dans les tissus humains ,en limitant le stockage du cholestérol et en améliorant sa mobilisation (**Ahmed et al ., 2015 ; Fahmi et al., 1956 ;Haenlain, 1992**). De plus, les protéines du lait de chèvre sont plus facilement digestibles, et leurs acides aminés sont absorbés plus efficacement que ceux du lait de vache (**Park, 2009**).

Les avantages nutritionnels des produits laitiers de chèvre peuvent être améliorés en les enrichissant avec des souches de probiotiques (**Mukdsi et al., 2013**).

Chapitre II:
Les lactobacilles

II. 1. Les bactéries lactiques

II.1. 1. Définition générale :

La classification taxonomique actuelle inclut le groupe LAB dans le phylum *Firmicutes*, la classe *Bacilli*, et l'ordre *Lactobacillales* (Quinto *et al.*, 2014). Leur première classification a été établie en 1919 par Orla-Jensen, elle réunissait dans un même groupe, des bactéries à Gram+, non mobiles, non sporulantes, avec une morphologie bacille ou coque et produisant de l'acide lactique à partir de la fermentation anaérobie des sucres (Stiles *et al.*, 1997) ; elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome oxydase (Pageot et Primault; 2015).

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, certaines sont dites homofermentaires car elles produisent majoritairement de l'acide lactique en anaérobiose alors que d'autres sont dites hétérofermentaire et produisent de l'acide lactique ainsi que d'autres acides organiques et d'autres composés (CO₂, acétate, éthanol...) (David, 2012). Ils sont mésophiles mais elles sont capables de croître dans un intervalle de températures allant de 5°C à 45°C. Le pH optimal de croissance varie de 5,0 à 9,0 mais elles tolèrent les milieux acides (pH 3,2) et alcalins (pH 9,6) (Caplice et Fitzgerald.1999). LAB sont anaéro-tolérantes et ont généralement des besoins nutritionnels complexe, notamment en acides aminés et en vitamines (Françoisea *et al.*, 2020).

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (Drouault et Corthier. 2001).

Phylogénétiquement, la classification de bactéries lactiques se base sur des données de séquençage de 16S et 23S de l'ADNr, les bactéries Gram positives forment deux embranchements, un embranchement composé de bactéries Gram positives avec un pourcentage G + C inférieur à 50% (*Clostridium*) et un autre formé de bactéries ayant une teneur en G + C supérieure à 50% (*Actinomycètes*) (Holzapfel *et al.*, 2001). Les principaux genres qui constituent le groupe des bactéries lactiques sont : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Ahmed, 2003).

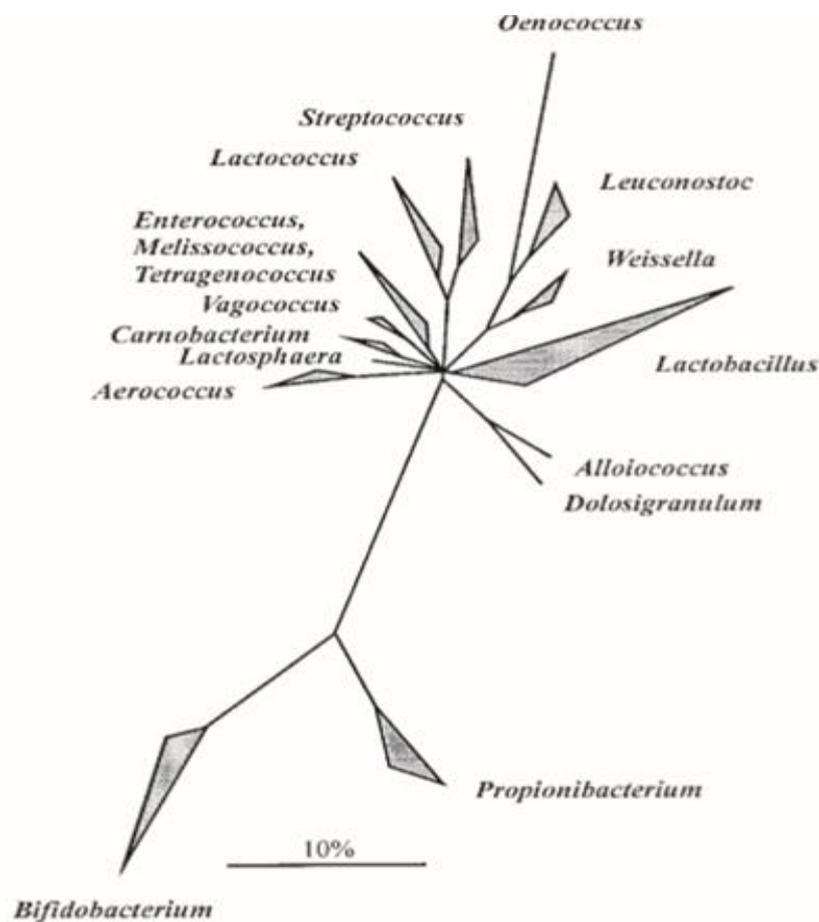


Figure 02 : Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Holzapfel *et al.*, 2001).

II. 1. 2. Utilisation des bactéries lactiques :

Depuis quelques années, les bactéries lactiques ont connu un regain d'intérêt non plus pour leurs applications dans l'industrie agroalimentaire mais pour leurs applications dans le domaine de la santé (Dressaire, 2009). Elles sont non pathogènes et comptées, pour la majorité, parmi les microorganismes « GRAS » (« Generally Recognized As Safe ») par la « Food and Drug Administration » (FDA) (Trias *et al.*, 2008).

II. 1. 2.1. Dans l'industrie alimentaire :

Les bactéries lactiques (LAB) sont utilisées depuis des millénaires pour la préparation et la préservation, amélioration des propriétés sanitaires, sensorielles et nutritionnelles des aliments, elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux

autres produits alimentaires : saumurage des légumes, boulangerie, fabrication du vin, saurissage des poissons, des viandes et des salaisons, etc. (Labioui *et al.*, 2005).

LAB sont des bons candidats pour cette technologie car elles produisent une large gamme d composés inhibiteurs (acides organiques, peroxyde d’hydrogène, diacétyl et bactériocines) (Françoisea *et al.*, 2020).

La classification fonctionnelle comprend une variété de genres importants sur le plan industriel, notamment *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, et l’espèce *Lactobacillus* (Aidani *et al.*, 2014).

Tableau 02 : Quelques exemples de l’utilisation des bactéries lactiques dans l’industrie alimentaire (Henry, 2011).

Genre	Substrat	Exemples de produits
<i>Bifidobacterium</i>	Lait	laits fermentés
<i>Lactobacillus</i>	Lait	Yaourts, laits fermentés, kéfir, fromages
	Viande	Saucissons secs, jambons secs
	Végétaux	Choucroute, olives, « yaourts » au lait de soja
	Céréales	Pain au levain, bières
<i>Lactococcus</i>	Lait	Fromages, kéfirs
<i>Leuconostoc</i>	Végétaux	Choucroute, olives, vin
	Lait	Fromages, kéfirs
<i>Pediococcus</i>	Végétaux	Choucroute
	Viande	Saucisses semi –séchées
<i>Oenococcus</i>	Végétaux	Vin
<i>Streptococcus</i>	Lait	Yogourts, lait fermentés, fromages

II. 1. 2.2. Dans le domaine médical :

Les effets bénéfiques des bactéries lactiques pour la santé des consommateurs sont reconnus depuis longtemps (**Savadoغو et al., 2011**) ; Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs. (**Drouault, et Corthier , 2001**).

Il a été largement démontré que les LAB peuvent produire ces effets bénéfiques par restauration d'une flore intestinale normale, l'élimination des agents pathogènes intestinaux, le renforcement de la capacité de la barrière intestinale aux substances étrangères, la stimulation d'une immunité non spécifique telle que la phagocytose, la stimulation de l'immunité humorale et la production de produit anti inflammatoires (**Masood et al., 2011**).

La production d'acide lactique, la lipolyse et la protéolyse effectuée par les bactéries lactiques stimuleraient la digestion des aliments (**Savadoغو et al ., 2011**).

Dans certains cas, les lactobacilles sont capables de synthétiser des vitamines B: La thiamine (B1), la riboflavine (B2), la niacine (B3), l'acide pantothénique (B5), la pyridoxine (B6), l'acide folique (B9) et la cyanocobalamine (B12)... nécessaires pour beaucoup de fonctions de notre organisme (**Abrada, 2017**).

Certaines souches LAB peuvent être considérées comme des bactéries probiotique (**Millette et al ., 2008**). Les effets probiotiques cités pour les bactéries lactiques en général sont variés, certains sont démontrés, tels que la prévention ou le traitement des diarrhées aiguës à rota virus et la stimulation de défenses immunitaires non-spécifiques, tandis que d'autres restent à établir plus formellement tels que la réduction de la formation de tumeurs cancéreuses (**Vasiljevic et al ., 2008**).

II. 2. Les lactobacilles: Un genre représentatif de la diversité des bactéries lactiques**II.2.1. Définition:**

Les lactobacilles sont largement utilisés dans les ferments alimentaires et sont bien connus pour leur capacité de conservation ainsi que pour leur contribution positive à la texture et à la formation flaveur dans de nombreux produits alimentaires. Le genre *Lactobacillus* appartient

au phylum *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *lactobacillales* (**Barrangou et al., 2012**). Leur teneur en G+C est généralement inférieure à 50%, bien que pour certaines espèces, elle peut atteindre 59% (**Holzappel et wood, 2014**).

II.2.2. Caractères morphologiques et physiologiques :

Le genre *Lactobacillus* appartient au groupe des bactéries lactiques et regroupe une diversité d'organismes en forme de bâtonnet, Gram-positifs, catalase-négatifs (bien que quelques souches décomposent faiblement H₂O₂ par une pseudo-catalase), et a sporogones (**Hammes et Vogel, 1995 ; Teanpaisan et al., 2006**). Le métabolisme énergétique des lactobacilles est exclusivement fermentaire.

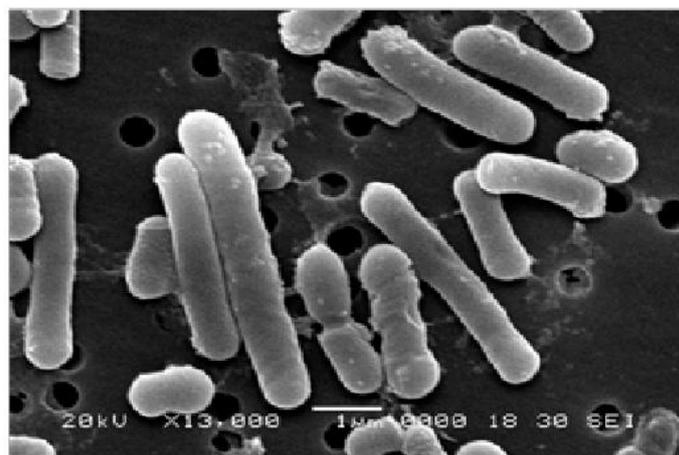


Figure 03 : Image de Lactobacille T5 obtenue par microscope électronique à balayage (**Rejiniemon et al., 2015**).

Les lactobacilles forment une grande partie des bactéries lactiques qui sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Etant incapables de synthétiser des acides aminés à partir de sources azotés, ceux-ci doivent leur être apportés par le milieu de culture, au même titre que certains minéraux et vitamines (**Biard, 2016**).

La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de températures comprise entre 15 °C et 42 °C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à

55 °C (Tailliez, 2004). Elles sont anaérobies facultatives, et capables de se développer dans un pH qui varie entre 3 et 8, leur pH optimal de croissance est généralement de 5,5-6,2 (Salvetti *et al.*, 2012).

II.2.3. Exigences nutritionnelles et caractères culturels :

Les lactobacilles sont micro-aérophiles et nécessitent un milieu contenant des sucres fermentescibles, des protéines, des vitamines, des dérivés d'acides nucléiques, des acides gras ou esters d'acides gras et des sels minéraux type magnésium, manganèse et de fer (Charalampopoulos, 2009).

Le milieu (MRS) qui ne laisse que les lactobacilles pousser, contient de la peptone, de l'extrait de levure et de l'ammonium comme source d'azote, du glucose comme source d'énergie, du polysorbate, du manganèse et du magnésium, il contient également du citrate d'ammonium, de l'acétate de sodium, de l'acide acétique et du sulfate ferreux qui abaissent le pH à 5,5 et agissent comme inhibiteurs de *Streptococcus* et d'autres microorganismes (Foerst et Santivarangkna, 2016), où ils apparaissent sous forme de colonies blanches, parfois pigmentées, leurs taille est souvent petites (2-5mm), convexes, brillantes, généralement opaques. Leurs cellules peuvent être longues et minces, courtes, courbées, coccobacilles ou coryneformes. Elles sont arrangées, généralement, en chaînes. Elles sont immobiles à l'exception de certaines souches qui sont motiles grâce aux flagelles péritriches (De Vos *et al.*, 2009).

II.2.4. Habitats :

Les lactobacilles se trouvent là où des substrats riches en glucides sont disponibles, et donc, dans une variété d'habitats, tels que les muqueuses de l'homme et de l'animal (cavité buccale, intestin et vagin), sur des plantes ou des matières d'origine végétale, dans le fumier et les habitats artificiels tels que les eaux usées et les aliments en fermentation ou avariés (hammes et Hertel, 1995). Leur distribution est affectée par plusieurs facteurs environnementaux, qui comprennent le pH, la disponibilité de l'oxygène, le niveau de substrats spécifiques, la présence de sécrétions et les interactions bactériennes (Socol *et al.*, 2010).

II.2.5. Classification :

Le genre *Lactobacillus* comprend plus de 200 espèces et sous-espèces officiellement reconnues qui ont été isolées à partir d'un large éventail de sources (Sun *et al.*, 2015).

Depuis sa description par Beijerinck en 1901, le genre *Lactobacillus* a subi des changements de taxonomie et le nombre total d'espèces a augmenté de façon spectaculaire (Holzapfel et wood, 2014). Selon leur type fermentaire sont subdivisés en trois groupes (Carr *et al.*, 2002) :

Les *Betabacteria* : sont hétérofermentaires et sont uniques par rapport aux autres lactobacilles car ils forment du dioxyde de carbone par fermentation du glucose et la plupart hydrolysent l'arginine. Les *Betabacteria* et les *Streptobacteria* fermentent toutes deux le pentose « ribose » ; cependant les *Thermobacteria* ne peuvent pas.

Les *Streptobacteria* : sont homofermentaires produisent le dioxyde de carbone à partir du gluconate et pas à partir du glucose. 15°C, la température optimale pour la croissance des *Streptobacteria* ainsi que les *Betabacteria*.

Les *Thermobacteria* : sont thermophiles est Homofermentaires, ne forment pas le dioxyde de carbone ni à partir du glucose ni du gluconate, et ne se développent pas à 15C° mais une température de 45C°.

Tableau 03 : Mode de fermentation des sucres par les espèces lactobacilles (Barrangou *et al.*, 2012).

Homofermentaires	Hétérofermentaire facultative	Hétérofermentaire strict
<i>L.acidophilus</i>	<i>L.casei</i>	<i>L.brevis</i>
<i>L.delbruckii</i>	<i>L.curvatus</i>	<i>L.buchneri</i>
<i>L.helveticas</i>	<i>L.plantarum</i>	<i>L.fermentum</i>
<i>L.salivarius</i>	<i>L.sakei</i>	<i>L.reuteri</i>
		<i>L.pontis</i>

Bien qu'elle ne reflète pas la phylogénie actuelle du genre, la division des lactobacilles en trois groupes (*Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium*) sur la base de leurs voies de fermentation -comme le suggère Orla-Jensen (1919)-est toujours utilisée pour des raisons pragmatiques (**Barrangou et al., 2012**).

II.2.6. Identification :

Le système API 50 CHL de BioMerieux a été utilisé avec succès comme méthode d'identification de première ligne en testant les capacités de fermentation des lactobacilles (**wadoum et al., 2019**). Le principe d'identification par galeries API consiste à identifier les microorganismes par leur capacité à fermenter des sucres, capacités différentes en fonction des espèces, ce qui permettra ensuite de les identifier par rapport à une base de données établie (**Hervé-Jiménez, 2009**).

L'identification au niveau de l'espèce par simples tests phénotypique peut parfois être difficile car la plupart des bactéries ont des besoins nutritionnels très similaires et se développent dans des conditions environnementales similaires (**Rodas, 2005 ; Vandamme 1996**).

La plupart des espèces de *Lactobacillus* sont définies par deux principaux critères génotypiques (**Taale, 2016**):

- ✚ Les souches présentant une similarité de 70% ou plus au niveau de leur ADN.
- ✚ La différence du gène 16S ARS_r au sein des espèces ne doit pas dépasser 3%.

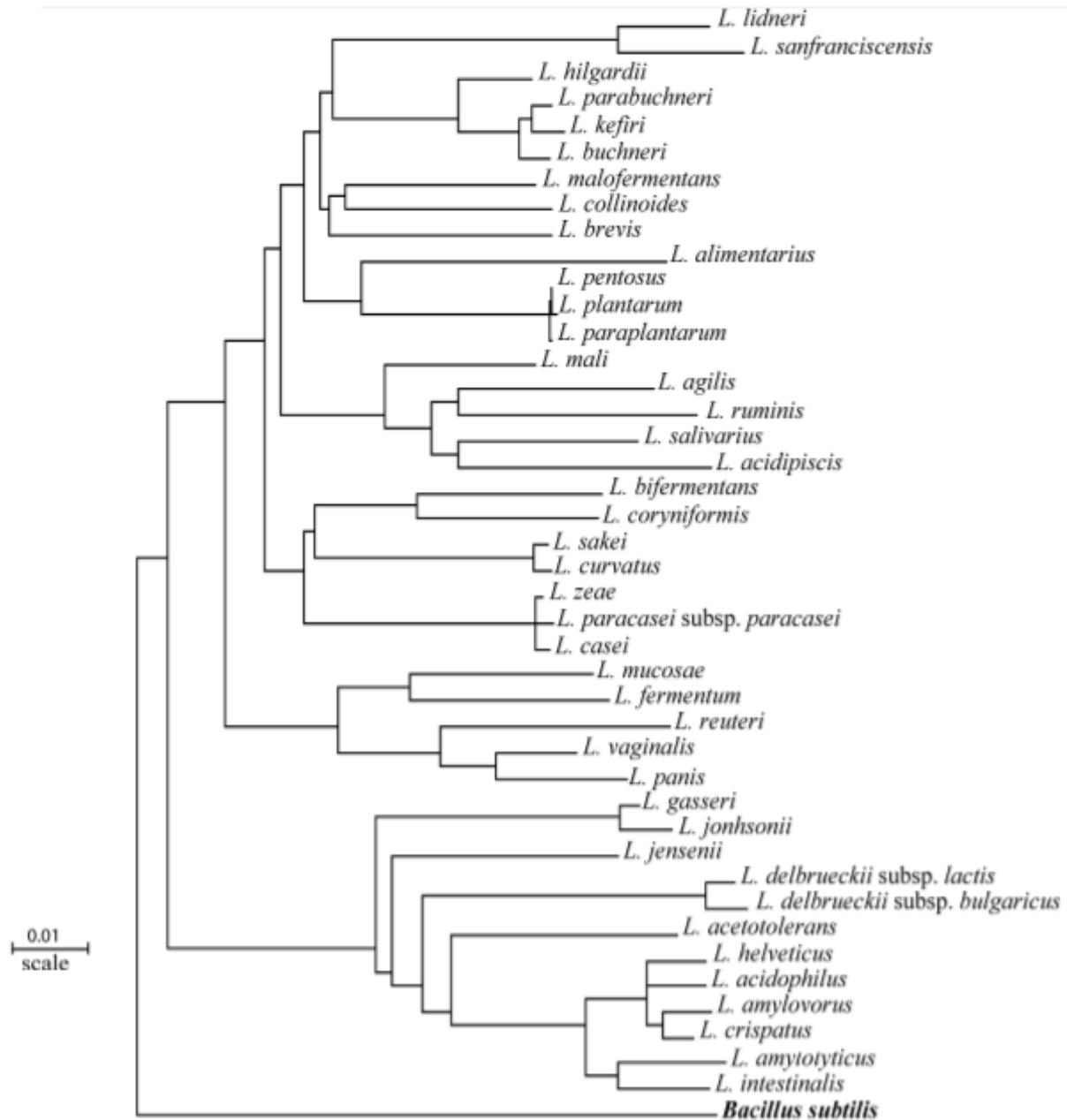


Figure 04: L'arbre phylogénétique montrant la relation entre les séquences d'ADN 16S rdes souches types de certaines espèces de lactobacilles (Lee et Salminen, 2009).

II.3. Les lactobacilles : Majeurs probiotiques

Les genres de *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* sont des bactéries appartenant à différentes bactéries lactiques (LAB) (Lee *et al.*, 2016). Sont le plus souvent considérés comme probiotiques sous forme de suppléments, et les lactobacilles sont les plus couramment utilisées (Kizerwetter-Świda *et al.*, 2016).

Sa popularité s'explique par plusieurs caractéristiques saillantes : les lactobacilles se trouvent naturellement dans l'intestin humain ; ils sont particulièrement fréquents dans l'intestin grêle ; ils se développent en l'absence d'oxygène ou en petites quantités , ils se nourrissent de sucres comme source de carbone qui sont abondants dans l'intestin , ils ont besoin d'une série de nutriments mineurs pour pouvoir vivre et se développer, car cette partie de l'intestin contient un large éventail d'aliments, de sorte qu'ils y sont prédominants (**Rahman et al., 2018**).

Les lactobacilles sont de plus en plus introduites comme probiotiques dans les aliments fonctionnels en raison des effets bénéfiques pour la santé attribués à ces micro-organismes (**Gueimonde et al., 2006**). Dont les souches telles que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, et *Lactobacillus gasseri* constituent une part intégrante (**Asnake et al., 2010**).

Les lactobacilles sont naturellement présents dans le lait cru, les produits laitiers tels que (fromages, yaourts et laits fermentés), ou ajoutés intentionnellement, pour des raisons technologiques ou pour apporter un bénéfice santé au consommateur (**Coeuret et al., 2003**). Ils sont utilisés dans différents domaines médicaux et sanitaires, notamment le contrôle des inflammations intestinales, le traitement des infections pendant la grossesse, la gestion des maladies allergiques, le contrôle des diarrhées liées aux antibiotiques et la prévention des infections urinaires (**Bernardeau et al., 2008**).

Chapitre III:
Les probiotiques

III.1.Définition générale des probiotiques:

Le nom probiotique vient du grec 'pro bios' qui signifie pour la vie (Soccol *et al.*, 2010).Le concept de probiotiques est né de l'hypothèse émise par **Elie Metchnikoff**, prix Nobel de physiologie et de médecine en **1908**, dans son livre «The Prolongation of Life: Optimistic Studies » publié en 1907, hypothèse selon laquelle l'ingestion de grandes quantités de bactéries lactiques par la consommation de laits fermentés augmenterait l'espérance de vie en protégeant l'organisme de différentes maladies (**Alexandre, 2014**).

En **1965**, le terme probiotique a été utilisé pour la première fois par Lilly et Stillwell dans un contexte différent pour représenter « une substance sécrétée par un organisme qui stimule la croissance d'un autre organisme » (**Lilly et Stillwell, 1965**).

Une évolution puissante de cette définition a été inventée par **Parker en 1974**. Il a proposé que les probiotiques sont des organismes et des substances qui contribuent à l'équilibre du microbiote intestinale (**Parker,1974**). Afin de souligner la nature microbienne des probiotiques, **Fuller (1989)** a redéfini le terme comme suit: "Un complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l'animal hôte en améliorant son équilibre intestinal (**Fuller, 1989**).

La définition actuelle des probiotiques est celle adoptée par le comité mixte d'experts **FAO et laWHO (World Health Organization) en 2002** qui les définit comme « des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte » (**Rapport FAO/OMS, 2002**).

III.2.Pré-requis des souches probiotiques :

La recherche de nouvelles souches probiotiques compatibles avec une utilisation industrielle implique que celles-ci possèdent certaines propriétés : la tolérance aux conditions du tractus gastro-intestinal (TGI), l'adhésion aux muqueuses humaines, l'inhibition des agents pathogènes, l'interaction avec l'épithélium intestinal et la capacité de moduler le microbiote intestinal et la capacité de modulation immunitaire (**Foerst et Santivarangkna, 2016**), la résistance aux antibiotiques (**Gueimonde et al., 2013**), et les performances technologiques, telles que taux de croissance et la stabilité , capacité d'acidification, et l'occurrence des propriétés organoleptiques favorables de produit (**Minelli et al., 2004**).

La sélection et la validation rationnelles des souches probiotiques doivent être fondées sur les preuves obtenues dans des modèles *in vitro* et *in vivo* ayant une valeur ou une fonction prédite fiable, et suivies d'études chez l'homme (Lee et Salminen, 2009), car les connaissances recueillis sur les mécanismes d'action des probiotiques ne sont que préliminaires, et il faut prendre en considération que ces mécanismes peuvent être multifactoriels et que chaque souche probiotique peut avoir des fonctions spécifiques affectant l'hôte (Shinde *et al.*, 2012).

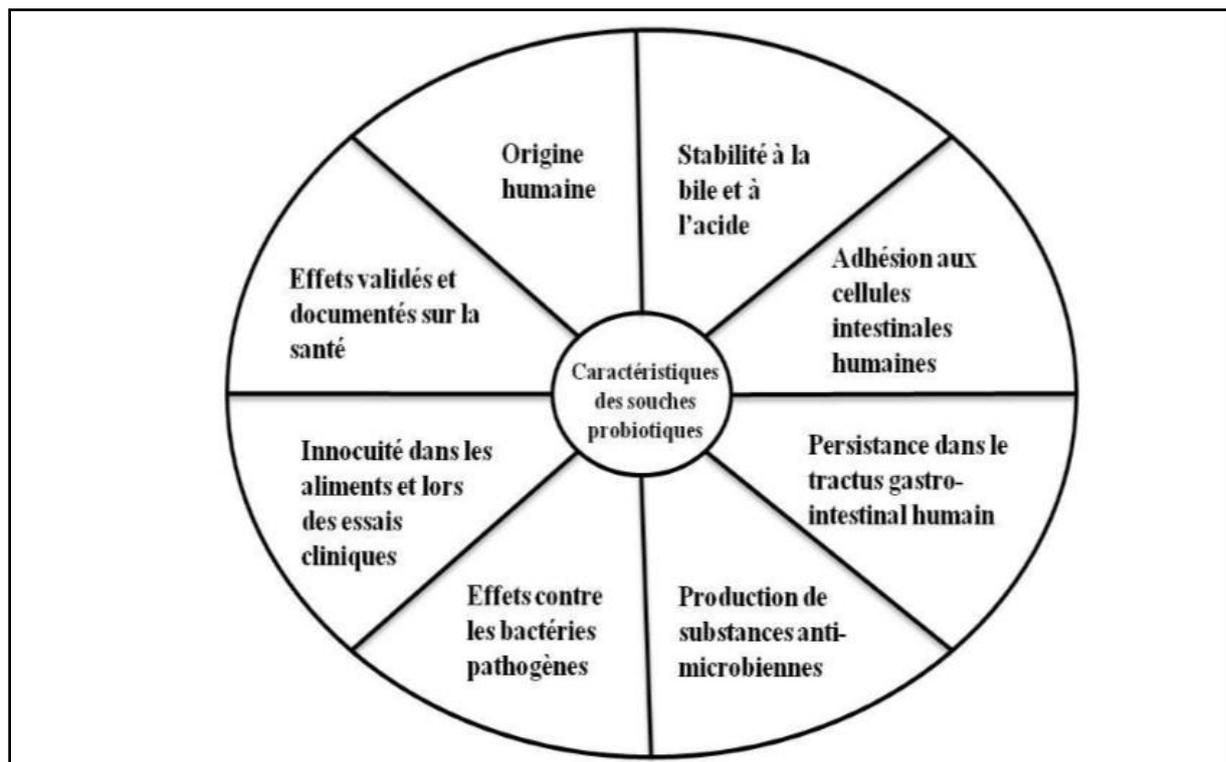


Figure 05 : critères de sélection des micro-organismes probiotiques. Ils incluent notamment l'innocuité de la souche, ses capacités fonctionnelles (survie, adhésion, colonisation, production de composés antimicrobiens, immuno-stimulation...) et les aspects technologiques liés à la production (croissance en lait, stabilité, résistance aux phages, maintien de la viabilité...) (Saarela *et al.*, 2000).

III.3. Critères de sécurité :

III.3.1. Identification :

Parmi les critères liés à la sécurité, les souches à potentielles probiotiques doivent être identifiées par des méthodes internationalement reconnues et nommées selon le code international de nomenclature et aussi doivent être déposées dans une collection de cultures reconnue au niveau international (FAO/WHO, 2002).

La souche doit être parfaitement identifiée (identifications phénotypique et génotypique) et caractérisé en effet l'effet probiotique étant dépendant de la souche (Butel, 2014). Donc, une souche probiotique est répertoriée par son genre, son espèce, sa sous-espèce (s'il y a lieu) et par des caractères alphanumériques pour une identification précise (Carmona, 2016 ; Huys *et al.*, 2013).

L'identification génotypique de nouvelles souches de lactobacilles a souvent été décrite dans la littérature au moyen de l'amplification de l'ADNr 16S, qui est une partie très conservée dans certaines régions (Kakelar *et al.*, 2018). Alors que les analyses phénotypiques devraient comporter l'étude de la fermentation de différents sucres, notamment par le biais de galeries adaptées (Biard, 2016).

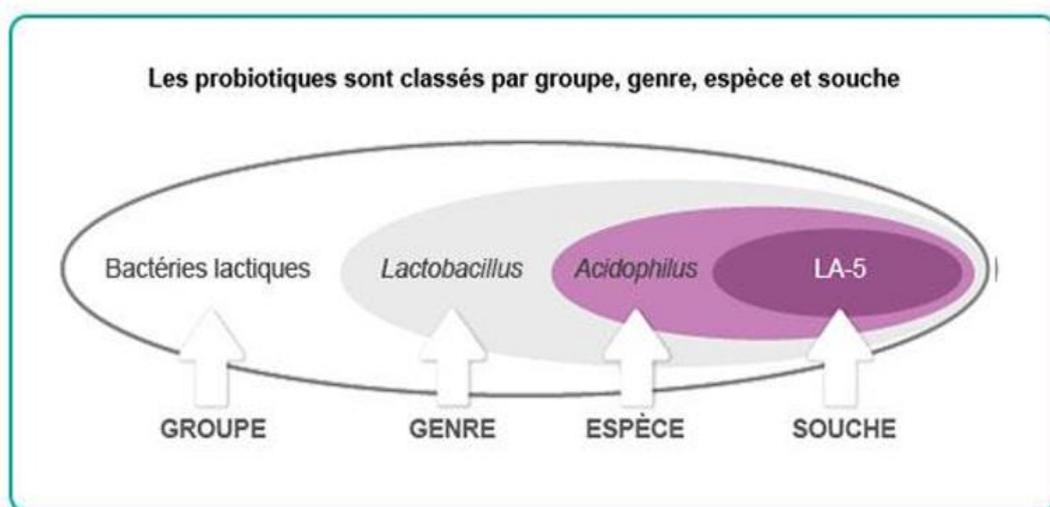


Figure 06 : Exemple de nomenclature des microorganismes probiotiques (Carmona, 2016).

III.3.2. Innocuité :**III.3.2. 1. Résistance aux antibiotiques :**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques est un critère de sécurité essentiel pour la sélection des bactéries lactiques probiotiques, car les souches porteuses de gènes de résistance acquis aux antibiotiques peuvent provoquer une transmission de cette résistance aux microorganismes pathogènes d'appareil gastro-intestinal (**Mureşan et al., 2018**). De ce fait, les gènes de résistance aux antibiotiques devrait être très stable et non transférable et le potentiel de transmission d'éléments génétiques aux microorganismes intestinale/alimentaire nécessite d'être pris en considération (**Malago et al., 2014**).

En littérature, les bactéries lactiques peuvent présenter une résistance acquise aux chloramphénicol, gentamicine, ampicilline, érythromycine et tétracycline, mais peut être naturellement (intrinsèque) résistantes aux différents types d'antibiotiques (**Mureşan et al., 2018**).

III.3.2. 2. Activité hémolytique :

Comme l'hémolyse est un facteur de virulence commun entre les agents pathogènes, le premier paramètre de sécurité à évaluer in vitro était l'activité hémolytique des bactéries (**Carasi et al., 2014**). L'absence d'activité hémolytique est considérée comme une exigence de sécurité lors de la sélection d'une souche probiotique (**FAO/WHO 2002**).

Ce test est important car les lactobacilles sont en générale reconnus comme des commensales sûres, et l'absence d'hémolysines garantit que la virulence opportuniste ne se produira pas parmi les isolats - ce qui est une exigence pour une éventuelle fabrication alimentaire à grand échelle (**Peres et al., 2014**).

III.3.3. Origine :

Les bactéries probiotiques peuvent être obtenues à partir de diverses sources, notamment le microbiote intestinal humain, les aliments et d'autre environnement naturels (**Gheziel et al., 2018; Meybodi et al., 2017**). Les souches appartenant à des espèces bactériennes présentes

dans la flore intestinale pourraient avoir une meilleure chance de survie dans leur environnement d'origine (Morelli *et al.*, 2007).

Il est recommandé donc que le micro-organisme soit d'origine humaine, en raison de la plus grande propension à s'adapter à l'intestin humain, compte tenu également de la plus grande possibilité d'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (FAO/OMS, 2002 ; Shewale *et al.*, 2014).

III.4.Critères fonctionnelles :

III.4.1. Tolérance à l'acidité :

La tolérance aux acides est l'une des premières propriétés examinées lors de la sélection des souches probiotiques (Tuomola *et al.*, 2001). En effet, avant d'atteindre le tractus gastro-intestinal les bactéries probiotiques doivent d'abord survivre au transit dans l'estomac et avoir leurs effets bénéfiques pour la santé en tant que cellules viables métaboliquement actives lorsqu'elles arrivent dans le colon (Dunne *et al.*, 2001; Lim *et al.*, 2009).

Le pH de l'estomac varie généralement de 2,5 à 3,5, mais il peut être aussi bas que pH 1 ou 2 à des taux plus élevés de sécrétion gastrique ou supérieure au pH 6 après la digestion des aliments (Sánchez *et al.*, 2017). Au niveau microbien, l'exposition à des conditions de pH faible, comme un acide fort dans l'estomac, entraîne une réduction du pH intracellulaire par protons (ions H⁺) provenant de l'environnement et affecte également le pH transmembranaire (Amund, 2016) ; ce qui diminue l'activité des enzymes cytoplasmiques (Even *et al.*, 2002).

Les bactéries lactiques, comme autres bactéries, ont développé des systèmes de détection du stress et des défenses contre le stress, qui leur permet de résister à des conditions difficiles et à des changements environnementaux soudains (Zamfir *et al.*, 2013), la résistance de certaines bactéries lactiques à l'acidité a été étudiée *in vitro* pour évaluer le pourcentage de survie des bactéries à la sortie du compartiment gastrique (Dolié *et al.*, 2018), et de nombreuses bactéries probiotiques peuvent survivre dans les conditions gastriques à pH (1,5-2) pendant le jeûne et 4-5 après le repas (Malago *et al.*, 2014).

III.4.2. Tolérance aux sels biliaires :

Les acides biliaires sont reconnus comme étant des molécules amphipatiques, tensioactifs, à forte activité antimicrobienne et agissent comme des détergents, en perturbant les membranes cellulaires (**Lebeer et al., 2008**), de manière significative, les sels biliaires font partie des facteurs qui peuvent affecter la viabilité des LAB dans les TIG, influençant ainsi la santé de l'hôte (**Grosu-Tudor et al., 2012**).

La bile serait inhibitrice pour la plupart des bactéries à Gram positif y compris les genres lactobacilles en fonction de la concentration (**Obinna-Echem et al., 2018**). La concentration physiologique de sels biliaires dans le tractus gastro-intestinal de l'homme est estimée entre 0,3 % et 0,4 % p/v (**Jia et al., 2010**). Il serait donc importante pour les microorganismes probiotiques de résister aux concentrations élevées de sels biliaires qui miment le système digestif humain (**Hasali et al., 2018**).

Il a été suggéré que cette l'enzyme pourrait être une protéine de choc détergente qui permet aux lactobacilles de survivre au stress biliaire intestinal (**De Smet et al., 1995**). Les (BSH) dites également les pénicillines V amidases (PVA) (EC 3.5.1.11), appartiennent à la famille des enzymes choloylglycine hydrolase et ont été classées hydrolases nucléophiles N-terminales avec un résidu cystéine N-terminal (**Patel et al., 2010**), Bile Salt hydrolase (BSH) est une enzyme qui hydrolyse les acides aminés des sels biliaires conjugués (glycine ou taurine), réduisant ainsi leur toxicité (**Papadimitriou et al., 2015**). Il entraîne également l'abaissement du taux de cholestérol et la réduction du risque d'obésité et d'athrosclérose (**Wang et al., 2010**).

III.4.3. Pouvoir d'adhésion :

La capacité d'adhésion aux cellules épithéliales et aux surfaces des muqueuses a été suggérée comme étant une propriété importante pour nombreuses souches bactériennes utilisées comme probiotiques (**Prabhurajeshwar et al., 2017**), c'est une propriété spécifique de la souche, et également comme un mécanisme important pour prévenir la colonisation par des entéropathogènes (**Rodri'guez'guez et al., 2012**).

Malgré que les expériences d'adhésions in vivo soient difficiles à réaliser, plusieurs modèles in vitro ont été développés pour évaluer les capacités d'adhésion de diverses bactéries (**Tallon et al., 2007**). Au début des années 1990, certains chercheurs se sont intéressés à deux lignées de cellules tumorales, Caco2 et HT29, afin de proposer un meilleur système de modélisation pour tester l'adhésion des lactobacilles in vitro (**Morelli et al., 2000**).

En effet, différentes méthodes sont possibles pour la numération de bactéries probiotiques adhérentes sur ces lignées cellulaires (comptage à l'aide d'un microscope optique ou en épifluorescence, par marquage radioactif ou avec des fluorochromes ou quantification par PCR en temps réel) (**Ezzariga et al., 2015**).

Toutefois, l'adhésion doit être examinée dans le contexte de la complexité globale de la TIG et en relation avec les caractéristiques fonctionnelles spécifiques d'une souche probiotique (**Arellano et al., 2019**). Il a été constaté que l'adhérence de la souche bactérienne est liée aux caractéristiques de la surface des cellules ; les protéines de surface devraient avoir un effet notable sur les propriétés de la paroi cellulaire de nombreuses souches de lactobacilles (**Wasko et al., 2014**). A titre d'exemple, la protéine de liaison au mucus (MUB) de *L. reutri*1063 (**Roos et al., 2002**).

III.4.3.1.L'agrégation:

Le phénomène d'agrégation est un critère essentiel pour sélectionner des lactobacilles comme bactéries probiotiques, et comporte deux types:

L'auto-agrégation (adhésion de bactéries appartenant à la même souche les unes aux autres) et la Co-agrégation (adhésion de bactéries de deux ou plusieurs espèces différentes les unes aux autres) ; l'auto-agrégation des probiotiques et/ou Co-agrégation peuvent avoir un effet sur le comportement d'adhésion (**Ranadheera et al., 2014**). Sont des propriétés importantes des souches probiotiques en termes de colonisation, de persistance à long terme et l'un de mécanisme de lutte contre les infections contre les espèces pathogènes dans le tractus gastro-intestinal (**Caggia et al., 2015**).

Les bactéries d'agrégation peuvent également atteindre une masse suffisante pour former des biofilms ou adhérer aux surfaces muqueuses de l'hôte et exercer leurs fonctions (**Grześkowiak et al., 2012**). De plus, les propriétés d'agrégation des probiotiques avec les pathogènes sont importantes à la fois pour la conservation des aliments et pour l'impact thérapeutique des aliments sur le microbiote intestinal (**Ferreira et al., 2011**).

L'agrégation bactérienne entre les cellules d'une même souche (auto-agrégation) est d'une importance considérable et constitue l'un des facteurs clés pour vérifier la capacité de la souche de bactéries lactiques à adhérer à la cavité buccale et au tractus gastro-intestinal, où les bactéries lactiques doivent être actives et fournir leurs effets bénéfiques (**Nikolic et al., 2012**).

La Co-agrégation pourrait promouvoir un "microenvironnement" autour de l'agent pathogène dans lequel les substances inhibitrices excrétées telles que les acides, le H₂O₂ et les substances de type bactériocine à concentration élevée (**Barrons et al., 2008**). La Co-agrégation donc pourrait informer sur la capacité des probiotiques à former une barrière pour empêcher la colonisation du tractus gastro-intestinal par des souches indésirables (**Nivoliez et al., 2014**).

La capacité de Co-agrégation est étroitement liée à la spécificité des souches (**Cozzolino et al., 2020**), Il est possible que cette capacité soit liée à la présence de molécules spécifiques dans la surface des LAB qui agissent comme des ligands pour se lier aux pathogènes ou comme des adhésines pour se fixer à l'épithélium intestinal (**Campana et al., 2017**).

III.4.3.2. Hydrophobicité :

L'hydrophobicité de la surface cellulaire est une interaction non spécifique entre les cellules microbiennes et l'hôte (**Todorov et al. 2011**), elle est probablement due à une interaction complexe entre les composants hydrophobes et hydrophiles, les composants chargés négativement et positivement, et à la surface de la bactérie (**Abdulla et al. 2014**).

La mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire utilisant les hydrocarbures peut être considérée comme un indicateur de la capacité des bactéries à adhérer aux cellules épithéliales (**Dhewa et al., 2009**). Par conséquent, les souches qui adhèrent bien aux hydrocarbures pourraient être considérées comme des candidats probiotiques positifs (**Deep et al., 2015**).

Les lactobacilles à surface cellulaire hydrophobe peuvent facilement adhérer à l'épithélium de l'hôte et renforcent la compétition et la colonisation dans le tractus gastro-intestinal contre les agents pathogènes (**Jain et al., 2017**).

III.4.4. Colonisation :

La capacité de la colonisation de tractus gastro-intestinale est un facteur important pour la sélection des probiotiques (**Mishra et al., 2005**). Des études dans des conditions in vitro ont montré que certaines souches de bactéries lactiques présentant des propriétés probiotiques ne pouvaient pas toujours conserver leur présence dans la muqueuse intestinale et que ces microorganismes ne pouvaient pas être déterminés dans les selles après 1 à 2 semaines (**Alp et al., 2019**).

La possibilité d'une colonisation durable de l'écosystème intestinal par un microorganisme probiotique – qui correspond au maintien à un niveau constant et au développement local de celui-ci sans qu'une ré-inoculation périodique ne soit nécessaire – est considérée comme conceptuellement impossible du fait d'un grand déséquilibre de force en faveur des microorganismes du microbiote autochtone, quantitativement plus abondants (**Piquepaille, 2013**).

III.4.5. Activité antimicrobienne :

L'une des caractéristiques importantes des lactobacilles probiotiques est d'exercer une activité antagoniste contre les bactéries pathogènes en raison de leur capacité à produire de l'acide lactique et d'autres acides organiques qui abaissent le pH dans l'intestin humain, et à produire du H₂O₂ et de la bactériocine, établissant ainsi un environnement hostile pour la croissance et la survie de diverses bactéries pathogènes humaines (**Jose et al., 2015 ; Servin et al., 2004**). En outre, l'inactivation des micro-organismes indésirables pendant la fermentation est un élément essentiel de la conservation des aliments (**Kos et al., 2008**).

Les espèces de *Lactobacillus reuteri*, qui fait partie de la microflore normale de l'homme et de nombreux autres animaux, produit une substance antimicrobienne de faible poids moléculaire, la reutéline ; *Lactobacillus plantarum* produit une bactériocinoplanaricine S de classe II et *Lactobacillus acidophilus* produit une bactériocinacidophilucine A de classe III

(Quwehand *et al.*, 2004). *Lb. Salivarius* CECT 5713 est une souche capable de produire de l'acide L-lactique, de l'acide acétique et du peroxyde d'hydrogène ce qui la rend capable d'inhiber le développement de *Listeria monocytogenes* Ohio et *Klebsiella oxytoca* CECT 860T in vitro (Martín *et al.*, 2006).

III.4.6. Avoir un rôle bénéfique sur l'hôte :

Il existe une variété d'effets bénéfiques des probiotiques sur la santé. Il est admis que ces effets manifestés par les probiotiques sont propres à une souche (Ebel *et al.*, 2014). Parmi ces effets figurent (Vasiljevic *et al.*, 2008):

- Inhibition des agents pathogènes intestinaux et d'*Helicobacter pylori*.
- Traitement et prévention contre les allergies.
- Effet hypocholestérolémique. Modulation du système immunitaire.
- Prévention des maladies inflammatoires de l'intestin.
- Réduction du risque associé à la mutagénicité et cancérogénicité.
- Prévention et réduction des symptômes de la diarrhée.
- Réduction de l'intolérance au lactose.

III.5. Critères technologiques :

III.5.1. Stabilité :

Les microorganismes probiotiques sont disponibles sous différentes formes. Ils peuvent être consommés sous la forme de suppléments alimentaires en capsules contenant des cultures viables lyophilisées ou sous la forme de produits alimentaires fermentés tels que les yogourts, qui demeurent un véhicule par excellence pour leur consommation (Gagnon, 2007 ; Sanders, 2003; Parvez *et al.*, 2006).

III.5.2. Viabilité :

Il existe plusieurs facteurs d'environnementaux qui peuvent affecter la viabilité des probiotiques, tels que l'acidité, le stress d'oxygène, la température de stockage, la compétition de Co-culture, la pression osmotique, la teneur en humidité, il est donc crucial que les aliments contenant des probiotiques maintiennent le nombre de bactéries ($\geq 10^6$ CFU/g), jusqu'à la fin de la durée de conservation (**Stanton *et al.*, 2003**).

Pour cette raison les scientifiques utilisent des technologies avancées pour stabiliser la viabilité des probiotiques pendant leur traitement et leur stockage (**Ananta *et al.*, 2004**). Parmi ces tentatives, la micro-encapsulation définie comme une technologie permettant d'enrober et de protéger des composés sensibles ou des êtres vivants, atteste de sa réelle potentialité à maintenir la viabilité des probiotiques depuis leur traitement (production de biomasse, lyophilisation, stockage, application en bon état) jusqu'à leur prise en charge et leur passage dans le tube digestif (**De Prisco *et al.*, 2015**).

Les probiotiques étant des microorganismes vivants, il est essentiel de dénombrer avec précision la population de microorganismes viables lors de la préparation et d'exprimer cette information au consommateur sur l'étiquette du produit (**Davis *et al.*, 2014**). La méthode de comptage sur plaque est traditionnellement utilisée pour évaluer la viabilité des cellules dans la préparation des probiotiques, cependant, la cytométrie en flux couplée à l'épifluorescence est une méthode rapide et très prometteuse pour la mesure de la viabilité (**Alakomi *et al.*, 2005**). Aujourd'hui, le nombre de souches viables des probiotiques spécifiques peuvent être évalués par PCR (**Desfossés-Foucault *et al.*, 2012**).

III.5.3. Conservation :

Une fois que la souche est choisie, il faut l'isoler et la conserver à une température très basse de l'ordre de -80°C afin de garantir sa stabilité génétique c'est-à-dire d'empêcher toute possibilité de mutation sur de longues périodes (**Chalabi, 2017**).

III.5.Mode d'action des probiotiques :**III.5.1.Exclusion compétitive de micro-organismes pathogènes :**

Les mécanismes utilisés par une souche probiotique visant à exclure ou à réduire la croissance d'autres espèces microbiennes dans l'environnement digestif sont variés:(i)la création d'un microenvironnement hostile en modifiant le microbiote résident, (ii) la réduction de la disponibilité des récepteurs des microorganismes pathogènes afin de limiter leur adhésion, leur entrée ou leur translocation, (iii) la diminution du pH de la lumière intestinale par la production d'acides organiques, en particulier l'acétate et le lactate, (iv) l'épuisement compétitif des nutriments essentiels à la survie du pathogène (**Bermudez-Brito, 2012 ; Preidis et al., 2011**).

III.6.Les immunobiotiques :

Les probiotiques peuvent interférer tout comme les bactéries du microbiote endogène sur le système immunitaire pouvant ainsi moduler certaines réponses immunitaires (**Kimmel et al., 2018**).

III.6.1.Immunité innée :**III.6.1.1.Effet cellulaire :**

Des études récentes impliquant des modèles d'animaux suggèrent également que les lactobacilles peuvent moduler le réponses immunitaires , éventuellement en activant les macrophages , en affectant la production de cytokines ,en augmentant l'activité des cellules Natural killer ou en modulant la production d'immunoglobulines (**Mohamadzadeh et al., 2011 ; Klaenhammer, 2005 ; Sengupta, 2013**).

Certaines études ont montré que l'ingestion de bactéries probiotiques peut augmenter le nombre de cellules NK (**Castellazzi et al., 2007; Gill et al., 2001**) et peut également augmenter l'activité des cellules NK (**Matsuzaki et al., 2005; Shida et al., 2006 ; Watzl et al., 2008**).

Dans une étude réalisée sur 52 volontaires sains recevant une préparation de *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (5×10^{10} UFC/jour), l'activité phagocytaire des macrophages augmente de 15 %, et l'activité cytotoxique des cellules NK de plus de 70 % (Villéger, 2014).

III.6.1.2. Profils des cytokines :

Les bactéries probiotiques vont activer les cellules immunitaires qui vont : **i)** initier une cascade de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 et le TGF- β et **ii)** freiner la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12, l'IL-10 et le TNF- α (Preidis et Versalovic 2009).

Comme exemple, l'apport de *L. casei* a permis de réduire la production de TNF- α et de réparer les dommages causés à l'intestin, cependant aucun effet positif sur la production d'IFN γ , IL-10 et IL-4 n'a été détecté (Pozo-Rubiot *et al.*, 2012).

Tandis que, les espèces du genre *lactobacillus* en tant que probiotique pourraient améliorer la fonction du système immunitaire par induction de l'augmentation de la production d'IFN- γ par les lymphocytes T (Clancy *et al.*, 2006).

III.6.2. l'immunité adaptative :

Les souches probiotiques possèdent la capacité d'accroître le nombre de cellules productrices d'IgA dans la lamina propria et ainsi de promouvoir la sécrétion d'IgA dans la lumière intestinale (Thomas, 2016). L'administration orale de *lactobacillus GG* a montré une augmentation de la réponse immunitaire intestinale IgA (Malin *et al.*, 1996). Ainsi qu'une augmentation des taux d'IgG spécifiques et une diminution des taux d'IgE chez le patient traité avec le probiotique (Ivory *et al.*, 2008).

III.6.2.1. Effet barrière :

Cette barrière est à la fois physique, grâce à la cohésion des cellules épithéliales et à leurs interactions avec le tissu conjonctif sous-jacent ; chimique, grâce à la sécrétion de mucus et de substances défensives (α -défensines) et protectrices contre de potentiels micro-organismes

pathogènes ; immunitaire, grâce à la participation des cellules épithéliales à l'immunité innée à leurs interactions avec le système lymphoïde associé au tube digestif (Denizot, 2013).

Certains de ces microorganismes renforcent la barrière intestinale en stabilisant les jonctions serrées entre les cellules épithéliales et en diminuant la perméabilité intestinale (Doron et Gorbach, 2006), et évitent l'apoptose des cellules épithéliales (Mennigen, Nolte *et al.*, 2009).

III.6.2.2. Les jonctions serrées :

Les bactéries probiotiques pourraient modifier la signalisation de la protéine kinase C et la redistribution de la protéine zonula occludens-2 (ZO-2), un facteur crucial dans le maintien des jonctions serrées épithéliales (Zyrek *et al.*, 2007).

En 2007 l'équipe de Yan *et al* a découvert deux protéines sécrétées par *Lactobacillus rhamnosus* GG appelées p75 et p40 en raison de leur poids moléculaires (respectivement 75 kDa et 40 kDa), inhibent l'apoptose des cellules épithéliales intestinales induite par des cytokines comme le Tumor Necrosis Factor α (TNF α) en activant le facteur anti-apoptotique Akt et contribuent ainsi au maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale (Yan *et al.*, 2007).

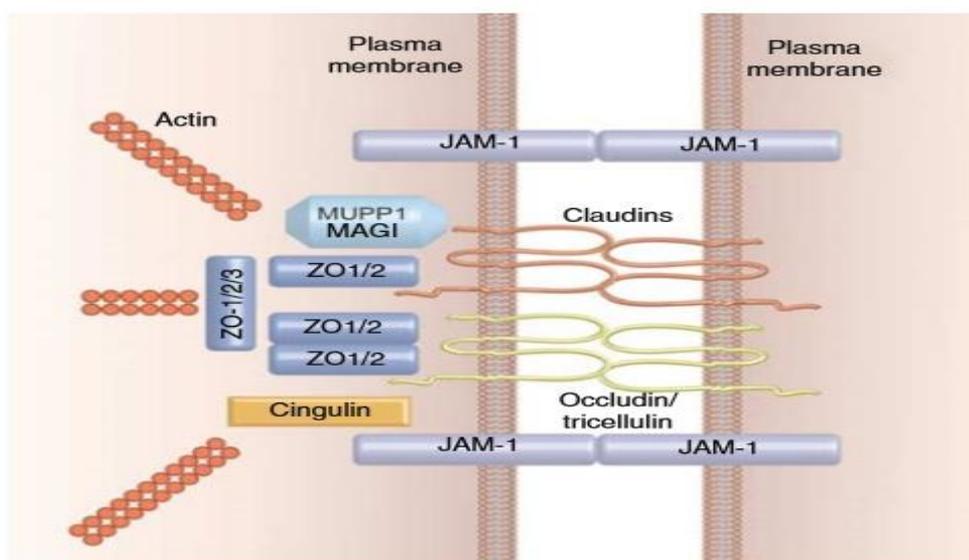


Figure 07: Représentation schématique de la structure de base de composés transmembranaires des jonctions serrées (Niessen *et al.* 2007).

III.6.2.3.Intégrité intestinale :

Les probiotiques jouent un rôle essentiel dans la préservation de l'intégrité de la barrière intestinale en induisant la production du mucus (par stimulation de l'expression des ARN messagers des mucines) et des peptides antimicrobiens (défensines) et en inhibant l'hyperperméabilité intestinale provoquée par les infections, le stress, ou la présence de cytokines pro-inflammatoires, comme le l'interféron (IFN- γ) ou TNF- α (**Er-razine, 2019**).

III.6.2.4.Stimulation de la production de mucines /défensines :

Plusieurs espèces probiotiques de *Lactobacillus* augmentent la production de certaines mucines lorsque ces souches sont mises en contact avec des lignées épithéliales intestinales humaines (HT-29 et Caco-2) (**Ezzariga et al., 2015**).

A titre d'exemple *Lactobacillus casei* GG augmentait l'expression de mucine dans les lignées cellulaire intestinales humaines Caco-2 (MUC2) et HT29 (MUC2 et MUC3), ainsi bloquait l'invasion et l'adhésion d'*Escherichia coli* (**Mattar et al., 2001 ; Mattar et al., 2002**).

Matériels
Et
Méthodes

Matériels et Méthodes

IV.1. Présentation du lieu de l'étude expérimental :

L'intégralité de notre travail pratique a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie du centre universitaire d'Ain Témouchent Belhadj Bouchaib.

Objectif :

Les objectifs de cette étude s'articulent autour de ces deux points :

- Isoler et caractériser des souches de lactobacilles à partir du lait de chèvre.
- Etudier in vitro de quelques aptitudes probiotiques des souches lactobacilles isolées en suivant les critères de sélection.

IV.2. Echantillonnage et techniques de prélèvement :

IV.2.1. Prélèvement des échantillons :

Les échantillons de lait cru de chèvre ont été prélevés à partir de différentes fermes d'élevage dans les régions d'Ain Kihel, Ain Tolba, Aghlal et Ougbellil situant à la willaya d'Ain Témouchent.

Un totale de 12 échantillons de lait crus de chèvre ont été collectés auprès de la race **arabe (Arbia)** le 09/03/2020 dans des conditions aseptiques.

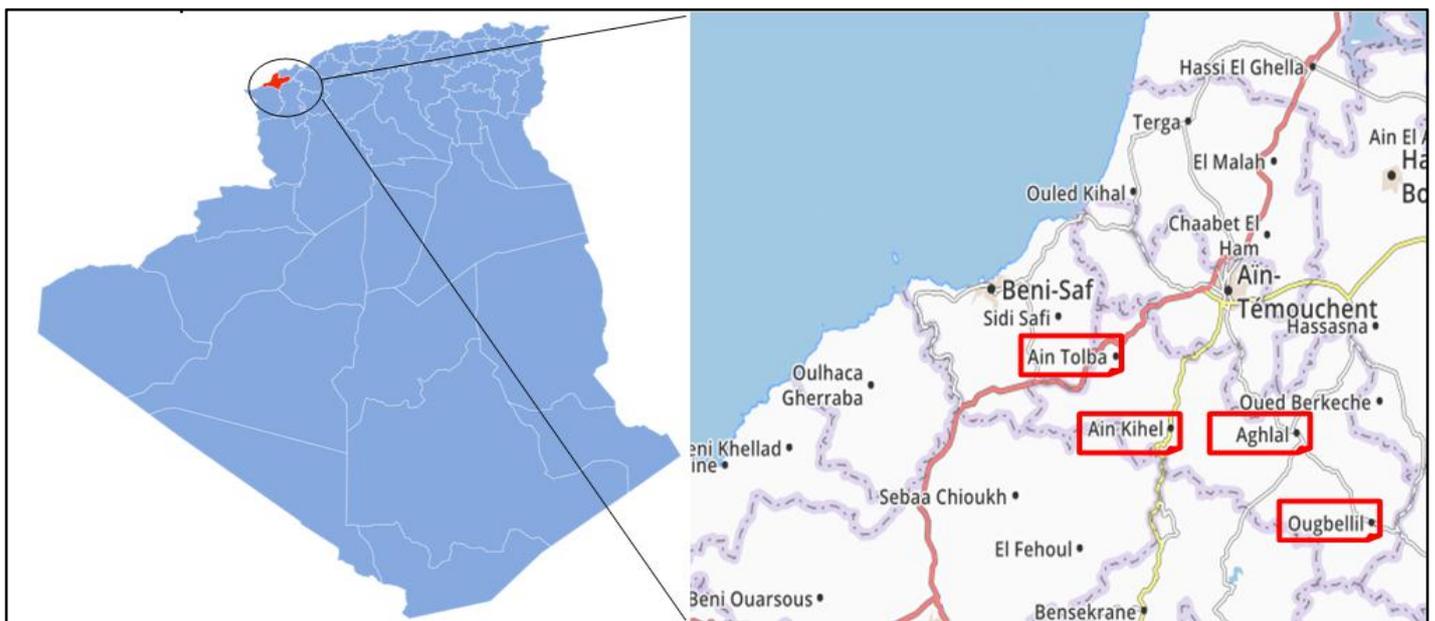


Figure 08: Carte représentative de différentes régions de prélèvement des échantillons.

Matériels et Méthodes

IV.2.2. Conditions de prélèvement:

Le prélèvement de lait a été fait le matin au moment de la traite manuelle. Après lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée et séchage du pis, stérile après avoir éliminé soigneusement la première dizaine de jets, le lait a été recueilli dans des flacons en verre de 250 ml, étiquetés (espèce, race, lieu, date de prélèvement), conservé à 4°C et acheminé directement au laboratoire pour analyse.

IV.3. Matériels :

IV.3.1. Matériel et milieux de culture utilisés : Voir **annexe I, annexe II**

IV.3. 2. Les souches indicatrices :

- **Provenance des souches pathogènes :**

Les différentes souches pathogènes utilisées dans cette études sont reportées dans le (Tableau N(04), Voir annexe VI) ; Ces souches nous ont été fournies de la collection du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire d'Oran. **ATCC:** American Type Culture collection.

IV.3. Méthodes :

IV.3.1. Isolement des souches :

Afin d'isoler les lactobacilles une gamme de dilution décimale allant de (10^{-1} à 10^{-6}) est effectuée : après avoir met 9 ml d'eau physiologique dans une série de tubes à essai stériles, 1ml de la solution mère ou de la dilution décimale précédente bien homogénéisée est transféré aseptiquement dans le tube de dilution décimale suivante. Seules les dilutions (10^{-5} et 10^{-6}) qui sont retenues pour l'ensemencement le milieu de culture. Ces dilutions permettent d'obtenir des colonies suffisamment séparées.

Un volume de 1mL de ces dernières à fait objet d'un ensemencement sur gélose MRS (pH 5.7) et incubés en anaérobiose à 37°C pendant 72h (**Rubio et al, 2014**).

Matériels et Méthodes

IV.3.2.Purification :

Les colonies présentant les caractéristiques typiques des LAB ont été prélevées et purifiées par repiquage successifs deux ou trois fois sur des boîtes de gélose MRS fraîche (**Wassie et al 2016**).

Les colonies présentant des caractéristiques renseignant sur la pureté des souches (bien distinctes, bien développées, même taille, même forme et de même couleur) sont retenues pour des examens macroscopiques, microscopiques.

IV.3.3. Conservation des souches pures :

Deux types de conservations sont à noter :

- **La conservation à court terme :**

La conservation des isolats se fait en tube sur gélose MRS inclinée et stockés à 4°C ainsi la sub-culture est effectuée chaque 15 jour (**Shaikh et al.2013**).

- **La conservation à long terme :**

Les cultures ont été maintenues dans 10% de lait écrémé avec 1 % glucose et 0.3% extrait de levure et stockées à -80°C (**Song et al 2015**).

Matériels et Méthodes

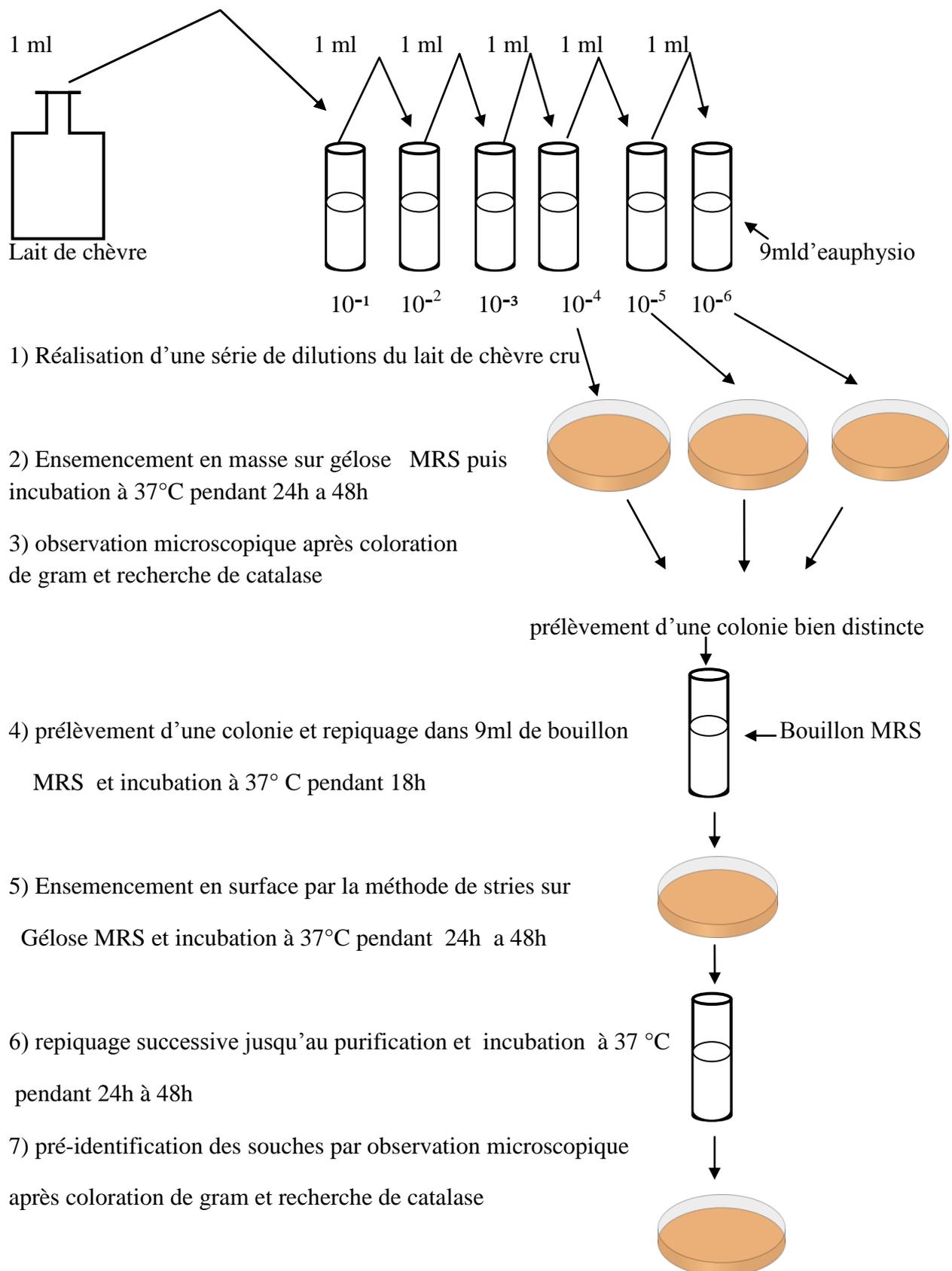


Figure 09 : Diagramme d'isolement et de purification des lactobacilles .

Matériels et Méthodes

IV.3.4. Identification morphologique :

Comme mentionné dans la neuvième édition du Manuel de bactériologie déterminative de Bergey (1994), "la différenciation des espèces du genre *Lactobacillus* requiert une expertise particulière" (Bernardeau et al 2008).

IV.3.4.1.Aspect macroscopique :

La couleur, la forme, bordure, la culture et la texture des isolats sélectionnés ont été prises en compte après leur croissance sur gélose MRS (de Man, Rogosa et Sharpe) (Sharma et al 2016).

IV.3.4.2.Aspect microscopique :

Les isolats sélectionnés ont été examinés pour leurs propriétés morphologiques, telles que la taille, la forme, la disposition des cellules et les propriétés de coloration (Barua et al 2015).

- **Coloration de gram :**

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, et dans le but d'écarter toute contamination, les souches ont été soumises à la coloration de Gram. Cette étape sert à distinguer entre les bactéries gram+ Ve et gram- Ve, les bâtonnets, les coques et ainsi que le mode de regroupement.

L'observation des cellules est réalisée à l'aide d'un microscope optique par Grossissement x100 en utilisant l'huile à émersion.

IV.3.5. Identification physiologique

- **Test de la catalase :**

Il permet de déterminer si la bactérie contient la catalase, une enzyme catalysant la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



Une goutte de 3 % d'H₂O₂ a été déposée sur une lame stérile aseptiquement, une boucle de la culture bactérienne a été ajoutée à cette solution et on l'a laissée réagir pendant 30 secondes. La présence d'une bulle a été enregistrée comme catalase positive et son absence comme négative (Shuhadha et al. 2017).

Matériels et Méthodes

- **Croissance en présence de Na Cl :**

La croissance en milieu de culture à concentrations 4 et 6,5 % de NaCl ont été utilisées pour l'isolement des bacilles (**Maqsood et al 2013**).

Les cultures sont ensemencées dans deux milieux de MRS liquides à différentes concentration de Na Cl : 4 et 6.5%. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 72 h. La capacité à croître dans ces milieux hostiles est appréciée par une croissance dans les milieux de culture et en comparaison avec un tube témoin réalisé avec une culture dans du MRS sans Na Cl.

- **Croissance à différentes températures :**

La tolérance à la température des isolats a été déterminée par des cultures de nuit incubées à 15, 37 et 45 °C pendant 48-72 h (**Aazami et al 2016**).

Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen visuelle des milieux (sous forme de trouble).

IV.3.6. Identification biochimique :

- **Type fermentaire :**

La production de gaz par les lactobacilles a été observée en inoculant 1ml de suspension de cellules bactériennes dans un tube à essai contenant des cloches de durham inversés et du bouillon de MRS. Après incubation à 37 C° pendant 48 heures, la production de gaz dans la cloche de durham indique que les bactéries fermentant le glucose en CO₂ et en acide (**Aritonang et al 2017**).

- **Désamination de l'arginine(ADH):**

Des tubes de bouillon d'hydrolyse d'arginine autoclavés ont été inoculés avec les cultures isolées (1%) et incubés à 37°C pendant 48 h, après incubation ,3 à 4 gouttes du réactif de Nessler's ont été ajoutées à chaque tube à essai et observées. Une couleur (jaune à orange) indiquant un résultat négatif pour l'hydrolyse de l'arginine. (**Puniya et al 2012**).

Matériels et Méthodes

- **Identification par la galerie API 50 CHL :**

L'API 50 CHL est un système standardisé qui associe la fermentation de 50 glucides à des espèces de bactéries. Il est utilisé pour l'identification des Lactobacilles et des genres apparentés.

Les isolats cultivés pendant 24 h à 30°C dans un bouillon de MRS, ont été centrifugés (10000g pendant 5 min) et les cellules collectées ont été lavées avec une solution saline stérile et remises en suspension dans 5 ml de milieu API 50 CHL à une concentration finale de 2 McFarland. Cette solution a été utilisée pour remplir les cupules d'API 50 CHL, puis incubée à 35°C pendant 48 heures.

Le profil biochimique obtenu pour chaque isolat LAB a été analysé à l'aide de la base de données du logiciel d'identification API (APILAB PLUS) (Tongwa et al 2019).

IV.4.Mise en évidence in vitro de quelque caractère probiotique :

IV.4.1.Tolérance à l'acidité :

La tolérance aux acides a été déterminée conformément à la méthode de (Thirabunyanon et al 2009) avec certaines modifications.

Les isolats de lactobacilles testés ont été cultivés pendant 18 heures dans un bouillon de MRS à 37°C et centrifugés à 3000 g pendant 15 min à 4°C puis lavés deux fois avec du tampon PBS stérile. 1ml à servit pour l'inoculation de 9ml de la même solution ajustée à un pH de 2,5 en utilisant du HCl 5M et du PBS à (pH 6,4) qui a servi de témoin. Chaque souche a été cultivée sur gélose MRS en trois exemplaires et incubée en anaérobiose à 37°C pendant 48heures.

Après incubation, le nombre de cellules viables a été évalué à 0 h et 3 h d'incubation par la méthode comptage sur boite et exprimés en unités formant colonie par millilitre (UFC/ml).

Le taux de survie et calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Taux de survie}\% = \frac{\log N_i}{\log N_0} \times 100$$

N_i est le nombre de cellules viables (UFC/ ml) après un temps d'incubation (3 h).

N_0 est le nombre initial de cellules viables à 0 h (UFC/ml) dans le contrôle.

Matériels et Méthodes

IV.4.2. Tolérance aux sels biliaires :

La méthode décrite par **Tulumoglu et al. (2013)** et **Argyri et al. (2013)** a été suivie pour déterminer la tolérance aux sels biliaires de souches.

Les cellules bactériennes issues d'une incubation de 18 h à 37°C ont été récupérées par centrifugation à 3000 g pendant 15 min à 4°C. Les culots ont été lavés deux fois avec le tampon PBS (pH 7,2), avant d'être remises en suspension dans une solution PBS.

Une aliquote de chaque suspension a été ajoutée a des tubes contenant 9 ml de solution PBS stérile (pH 8), avec ajout de 0,3 % (p/v) de sels biliaires (Sigma) et sans ajout (témoin). Ensuite ils ont été légèrement vortexé. 0,1 ml de chaque tube a été prélevée immédiatement à 0h et après 4h d'exposition à 37°C puis ensemencé en surface de gélose MRS (pH 6,2).

Le nombre de cellules viables a été évalué à 0 h et 3 h d'incubation par la méthode comptage sur boîte et exprimés en unités formant colonie par millilitre (UFC/ml) après 24 à 48h d'incubation en anaérobiose à 37°C. Ainsi le taux de survie a été estimé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Taux de survie}\% = \frac{\log N_{3h}}{\log N_{0h}} \times 100$$

IV.4.3. Activité hémolytique :

Pour l'activité hémolytique, la culture en bouillon MRS des souches de lactobacilles, cultivée pendant la nuit, a été ensemencée sur une boîte de gélose au sang (Hi-Media, Inde) et incubée à 37 C° pendant 72 h. ensuite, les boîtes ont été observées pour la formation de toute zone hémolytique propre (α -hémolyse) ou verdâtre (β -hémolyse), ou aucune zone (γ -hémolyse) autour des colonies de lactobacilles (**Halder et al 2017**).

Matériels et Méthodes

IV.4.4. Hydrophobicité :

La méthode décrite par **Collado et al. (2008)** a été suivie pour déterminer l'hydrophobicité des souches :

Des cultures jeunes de 18h à 37C° ont été préparées dans le bouillon MRS. Le culot bactérien a été récupéré par centrifugation à 8000 tr/min pendant 10 min à 4 °C, suivie de deux lavages successifs puis resuspendu dans une solution saline tampon de phosphate stérile (PBS, pH 7,2). La densité optique initiale de la suspension a été ajustée approximativement à 0,5 à 600nm (DO₀). Un volume égal d'hydrocarbure (xylène) a été ajouté, puis mélangé par vortex pendant 5 minutes. La phase aqueuse a été soigneusement éliminée après 1h d'incubation à 37C° et sa densité optique DO_{final} a été mesurée à 600 nm.

L'affinité aux hydrocarbures (hydrophobicité) a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Hydrophobicité \%} = \frac{(DO_0 - DO_{\text{final}})}{DO_0} \times 100$$

Où DO₀ et DO_{final} sont les valeurs d'absorbance avant et après extraction avec des hydrocarbures, respectivement.

Matériels et Méthodes

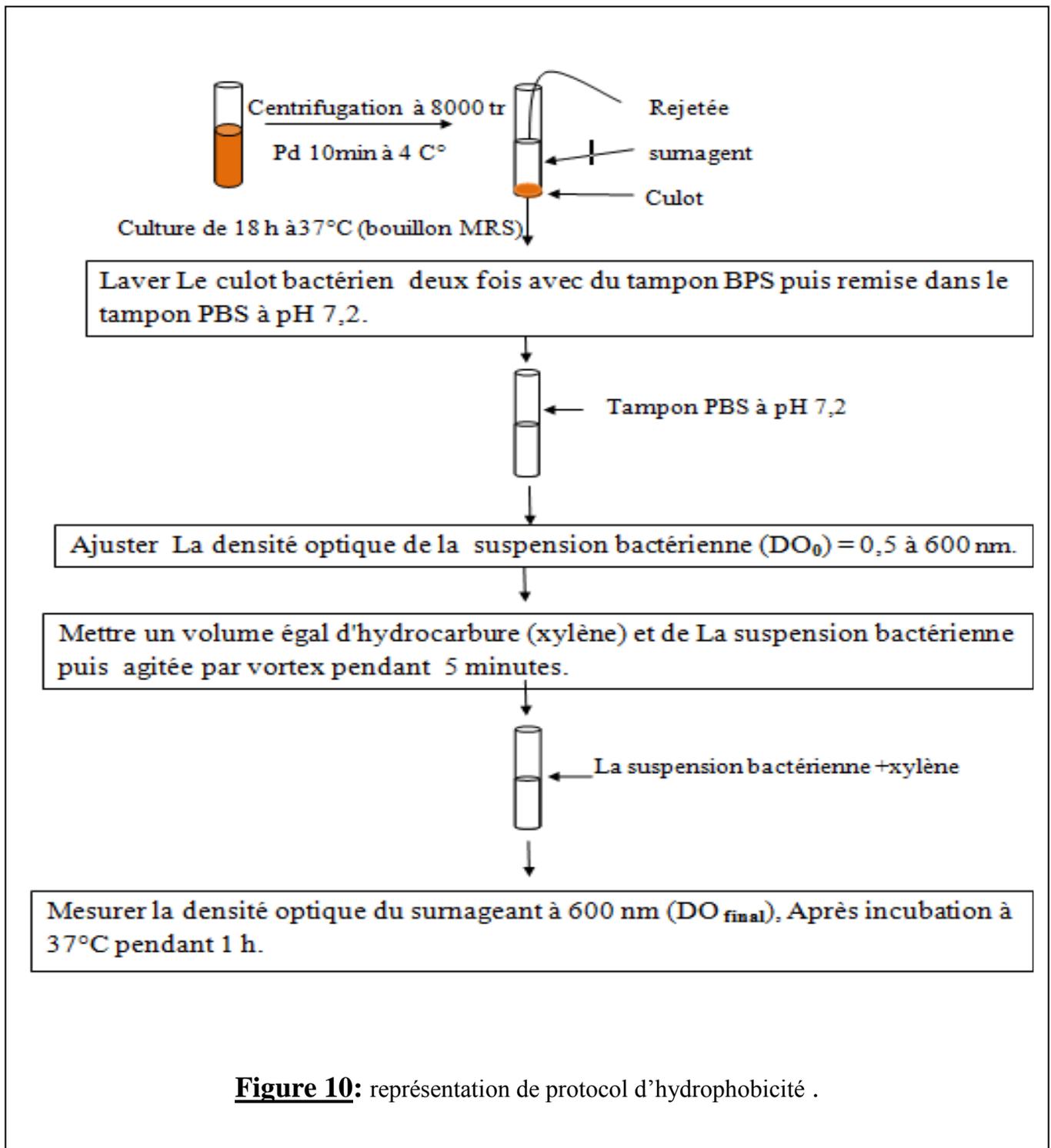


Figure 10: représentation de protocole d'hydrophobicité .

Matériels et Méthodes

IV.4.5 .Auto agrégation :

L'autoagrégation a été réalisée selon la méthode de **Del Re et al. (2000)** avec des modifications mineures.

Un pré Culture bactérienne de chaque souche a été préparée dans un bouillon de MRS à 37 °C pendant 18 heures, centrifugée à 4000 g pendant 10 min. le culot bactérien a été lavé deux fois avec du tampon PBS stérile (pH 7,2) et remis en suspension dans la même solution, ainsi ajustée à une densité optique (A_{0h}) = 0,5-0,6 à 600 nm. La suspension bactérienne (4 ml) a été ensuite agitée par vortex pendant 10 s.

Après incubation à 37°C pendant 2 h et 24h, la densité optique du surnageant est mesurée à 600 nm ($A_{2h/24h}$) à température ambiante. L'expérience a été effectuée en trois exemplaires

L'auto-agrégation est exprimée en (%) suivant cette la formule :

$$\text{Autoagrégation \%} = 1 - (A_{2h/24h}/A_{0h}) \times 100.$$

IV.4.6.Co-agrégation :

La Co- agrégation a été déterminée par la méthode de (**Yadav et al. 2017**) avec quelque modification.

Des cultures overnight de lactobacilles dans le bouillon MRS et de souches pathogènes dans le bouillon Mueller Hinton ont été centrifugés (3500 tr/min, 15 min) et les culots obtenus ont été lavés deux fois avec du PBS solution (ph 7, 2). Ils ont été remis en suspension dans le même tampon, et l'absorbance à 600 nm a été ajustée à 0,5. Par la suite, les suspensions à des volumes égaux (2 ml) de lactobacilles et de souches pathogènes ont été mélangées et par la suite incubé à température 37 c° sans agitation pendant 4 h.

Les tubes contenaient 2 ml de suspension de chaque espèce bactérienne considérés comme contrôle. Après l'incubation, la phase supérieure de chaque suspension été soigneusement retiré, et l'absorbance (D.O 600 nm) a été mesurée, dont le pourcentage était calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage de Co-agrégation} = [(DO \text{ lac} + DO \text{ path}) - 2 DO \text{ mix}/(DO \text{ lac} + DO \text{ path})] \times 100$$

ODLac : densité optique de la souche Lactobacille.

ODEco : densité optique de souche pathogène, ODmix : optique densité du mélange.

Matériels et Méthodes

IV.4.7. Adhésion aux cellules épithéliales :

Ce test consiste à étudier la capacité des souches Lactobacilles d'adhérer aux cellules épithéliales. La méthode utilisée est celle décrite par **Lin et al. (2007)**.

Préparation des cellules épithéliales :

Des segments d'iléon provenant de poulets ont été ouverts et lavés avec une solution saline tamponnée au phosphate stérilisée (PBS, pH 7,2). Ils ont été maintenus dans du PBS à 4 °C pendant 30 minutes, suivis d'un lavage 3 fois avec ce tampon, puis ils ont été tenus une deuxième fois dans le PBS à 4 °C pendant 3h. Les cellules épithéliales sont récupérées en grattant la surface tapissant l'intestin (côlon) par une lame stérile. Des dilutions décimales sont réalisées jusqu'à 10^{-4} , cette suspension cellulaire a été examinée par microscope pour assurer qu'elle n'était pas contaminée et que la concentration des cellules épithéliales est approximativement 5×10^{-4} cellules/ml.

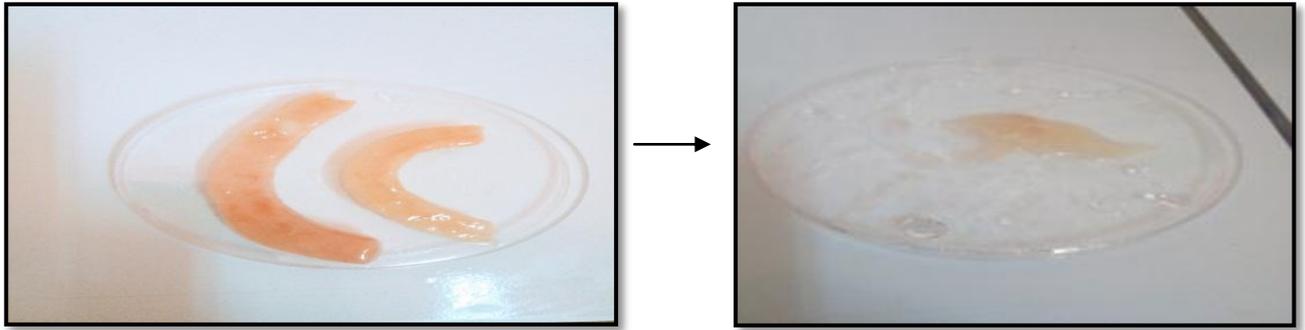
Préparation des cultures bactériennes jeunes :

Des cultures bactériennes jeunes (18h) sont centrifugées à 5000g/10min et le culot (10^8 cellules/ml) de chaque souche est récupéré dans 2ml du PBS.

Réalisation du test :

Pour cet essai 1 ml de la dilution 10^{-4} de la suspension des cellules épithéliales a été mélangé avec 1 ml de cellules bactériennes puis incubées à 37 °C pendant 30 min. Après incubation, une préparation de frottis et une coloration au cristal violet 0.5% pendant 5 min a été réalisée pour observer l'adhésion au microscope optique (G X 100). Le test est considéré positif si le nombre de bactéries adhérentes est supérieur à 15.

Matériels et Méthodes



1. Préparation de segments d'iléon/colon.

2. Grattage des cellules épithéliales.



3. Mètres les cellules obtenues dans 9 ml de PBS pour la préparation des dillutions.

Figure 11 : Préparation les cellules épithéliales d'intestin du poulet.

IV.4.8.La sensibilité aux antibiotiques:

La sensibilité aux antibiotiques a été évaluée suivant la méthode d'antibiogramme décrite par (Tavakoli et al 2017) avec modifications:

Après remplissage des boites de Pétri avec de la gélose MRS et solidification, les souches de lactobacilles (10^6 - 10^7 UFC/ml) obtenues après 48 h d'incubation à 37°C dans du bouillon

Matériels et Méthodes

MRS ont été inoculées sur la surface de la gélose MRS. Les disques antibiotiques ont été placés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile, par la suite les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

La résistance aux antibiotiques des *Lactobacillus* a été réalisée sur un ensemble d'antibiotiques: ampicilline vancomycine Tétracycline Gentamicine Erythromycine chloramphénicol (10, 30,30, 10, 15,30) µg, et la pénicilline (10U).

Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres (mm).

Tableau 05 : liste des antibiotiques utilisés.

Mode d'action	Antibiotique	Famille	symbole	Charge/disque	Unité de la charge
Inhibe la synthèse d'enveloppe bactérienne	Ampicilline	Bêtalactamines	AM	10	µg
	Pénicilline		PE	10	U
	Vancomycine	Glycopeptides	VA	30	µg
Inhibe la synthèse des protéines	Tétracycline	Tétracyclines	TE	30	µg
	Gentamicine	aminosides	GM	10	µg
	Erythromycine	macrolides	E	15	µg
	chloramphénicol	phénicolés	C	30	µg

IV.4.9.L'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne des lactobacilles contre différentes bactéries indicatrices a été déterminée par la méthode de diffusion en puits décrite par (Rizqiati et al. 2015).

Matériels et Méthodes

Les surnageants de culture sans cellules ont été préparés en cultivant les isolats de lactobacilles dans un bouillon de MRS à 37 °C pendant 18 h et centrifugés à 12 000 x g pendant 10 min à 4 °C.

Ils ont été ajustés à un pH de 6,0 à l'aide de Na OH 3N, les cellules ont été complètement exclues en filtrant le surnageant dans un filtre à membrane stérile de 0,22 µm. **(Laitinen et al.2010).**

Ensuite des puits de 5 mm de diamètre et ont été creusés un emporte-pièce stérile dans la gélose nutritive moelle (25 ml) pré-ensemencées (1 % v/v) avec les souches indicatrices appropriées, qui étaient mentionnée dans le **tableau N°04.**

100 µl du surnageant de chaque souche sélectionnée au paravent sont introduit l'aide de pipette pasteur dans chaque puits. Les boites ont été incubées dans des conditions optimales pour la croissance des microorganismes cibles. L'activité antibactérienne se révèle après 24 heures d'incubation par l'apparition de zones claires autour des puits et leurs diamètres ont été mesurés en millimètres (mm).

Résultats

Et

Discussion

Résultats et Discussion

V .1.Caractérisation phénotypique des isolats :

L'isolement sur milieu MRS a permis d'obtenir un total de (13) souches de bactéries lactiques, certains sont en forme de coque et autre en forme de bacille. Ces cultures sont obtenues après l'incubation à 37 °C pendant 48 à 72h.

Tous les isolats en forme de coque ont été éliminés de cette étude alors que celles en forme de bacille sont retenues et leurs appartenances ou non **au genre *Lactobacillus*** a été approuvé suivant les caractéristiques morphologiques et biochimiques.

Parmi les bactéries lactiques, le genre *Lactobacillus* compte parmi la microflore naturellement présente dans le lait, ce qui est rapporté par (Setyawardani *et al.*, 2011 ; Bhuiyan *et al.*, 2017 ; Bousmaha-Marroki et Marroki., 2011).

V .1.1.L'observation macroscopique :

✓ Sur milieux MRS solides :

L'observation à l'œil nu a permis de déterminer l'aspect morphologique des colonies de lactobacilles: Colonies circulaires petites, moyennes, bombées, crémeuses, lisses, de couleur blanchâtre et ayant un contour régulier (Figure 12). Ce qui a été observé par (Forouhandeh *et al.*, 2010 ; Manzoor *et al.*, 2006 ; Padmavathi *et al.*, 2018).

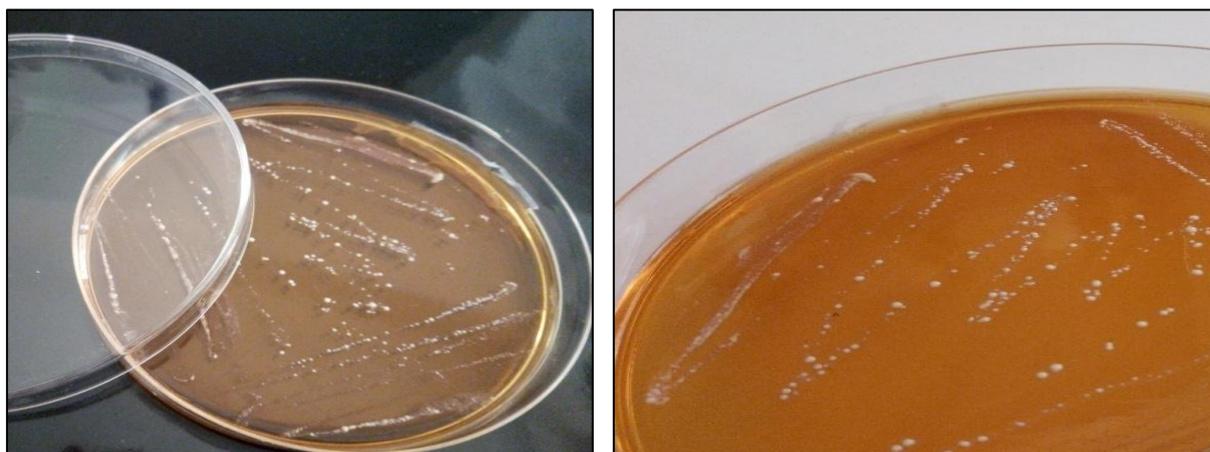


Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies des lactobacilles cultivées sur gélose (MRS).

Résultats et Discussion

✓ **Sur milieu liquide MRS :**

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène et fumeux dans le milieu MRS liquide, dans certains tubes ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques (Figure 13).



Figure 13 : Aspect des lactobacilles sur milieu MRS liquide à 37 °C après 24h d'incubation par rapport au témoin.

V .1.2. L'observation microscopique :

• **Coloration de Gram :**

L'observation microscopique après la réalisation de la coloration de Gram, a démontré que ces souches sont des bacilles (moyennes et longues), des coccobacilles en chaînettes et parfois isolées, avec un Gram positif pour toutes les isolats (Figure 14). (**Kaktcham et al., 2012**) ont trouvé les mêmes résultats.

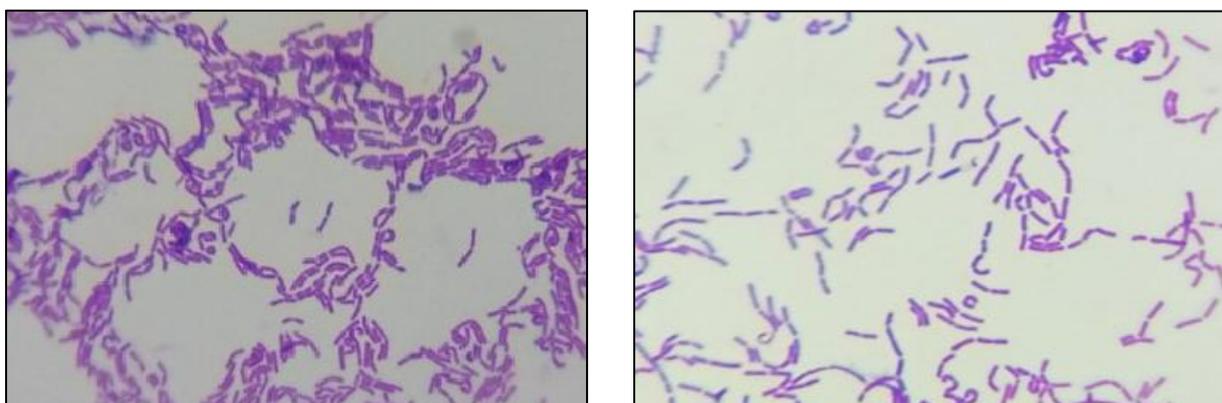


Figure 14 : Aspect microscopiques des isolats de lactobacilles après coloration de gram

(x100)

Résultats et Discussion

- **Test de catalase :**

Les résultats pour ce test sont montrés dans la figure (15) :



Figure 15 : résultat après la mise en évidence du test de catalase.

Après le test de catalase on trouve que les 6 isolats après les menées par H_2O_2 ne forment aucune bulle d'air(O_2), ce qui nous confirme que ces lactobacilles étaient catalase négatif donc le test est une catalase négative (Figure 15).

Selon le Bergey's Manuel de la Systématique Bactérienne « les Firmicutes », les lactobacilles sont catalase négative (De Vos *et al.*, 2009).

V .2. Identification des souches:

V.2.1. Tests physiologiques et biochimiques :

L'objectif de cette partie est d'identifier les isolats et purifiées précédemment.

L'ensemble des résultats relatifs aux caractéristiques physiologiques et biochimiques des 6 isolats sont regroupé dans le tableau (06) :

Tableau 06 : caractéristiques physiologiques et biochimiques des 6 isolats.

Caractéristiques	Gram	Forme	Catalase	Regroupement	Croissance à 15 °C	Croissance à 37°C	Croissance à 45°C	Croissance à 4% Na Cl	Croissance à 6,5% Na Cl	ADH	Type fermentaire
Lb.N01	+	Bac	-	en chaînette, parfois	+	+	-	+	+	-	Ho
Lb.N02	+	Bac	-	Isolée, en chaînette	+	+	+	+	+	-	He
Lb.N03	+	Bac	-	en diplo, en Hamas	+	+	+	-	-	-	He
Lb.N04	+	Bac	-	en chaînette, isolée	-	+	+	+	-	+	Ho
Lb.N05	+	Bac	-	Isolée, en Hamas	-	+	+	+	-	-	He
Lb.N06	+	Bac	-	Isolée, souvent en chaînette	+	+	+	+	+	+	Ho

+ : test positif ; - : test négatif ; **Bac** : bacille ; **ADH** : Arginine dihydrolase ; **Ho** : homofermentaires ; **He**:hétérofermentaire.

Résultats et Discussion

- **La croissance à différentes températures :**

La croissance à différentes températures est un test qui permet de subdiviser les souches en deux groupes : groupe des souches mésophiles et le groupes des souches thermophiles.

Une croissance notable pour la totalité des isolats 37°C et la plupart de ces souches ont une croissance sous une température de 45°C. Seulement **Lb.N04** et **Lb.N05** qui n'ont pas pu pousser à 15°C, alors que le reste de souches ont poussé à cette température.

- **La croissance à différentes concentrations (4 et 6.5 %) :**

La mise en culture des souches à la présence de différentes concentrations (4 et 6.5 %) de Na Cl, nous a permis d'évaluer leurs aptitudes à croître dans des conditions extrêmes.

Tous les isolas ont pu pousser à 4 % de Na Cl à l'exception de **Lb.N05** n'a pas pu.

Lb.N01, **Lb.N02** et **Lb.N06** résistent à 6.5 % de Na Cl, au contraire **Lb.N03**, **Lb.N04**, **Lb.N05** n'ont pas résisté à cette concentration.

- **Type fermentaire :**

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation de CO₂, utilisant un milieu liquide contenant du glucose muni d'une cloche de Durham.

La moitié de nos souches testées sont homofermentaires (**Lb.N01**, **Lb.N04** et **Lb.N06**), ils fermentent le sucre sans production de gaz. L'autre moitié comprenant (**Lb.N02**, **Lb.N03** et **Lb.N05**) a manifesté un métabolisme hétérofermentaire, ils fermentent le sucre avec production de gaz.

- **Hydrolyse d'arginine (ADH):**

Le catabolisme de l'arginine se manifeste par une coloration violette (ADH+), donc les bactéries ayant l'enzyme ADH vont alcaliniser le milieu après son acidification, cela est traduit par le virage de l'indicateur de pH du jaune vers le violet par libération d'ammoniac. Par contre, pour les lactobacilles incapables de l'hydrolyser, le milieu reste jaune donc ces derniers sont ADH négatifs.

Résultats et Discussion

Il semble que la majorité des isolats ne possèdent pas l'enzyme ADH (**Lb.N01, Lb.N02, Lb.N03 et Lb.N05**), dont la couleur du milieu a resté jaune. A l'exception de **Lb.N04** et **Lb.N06** qui sont marqués ADH+.

- **Identification par la galerie API 50 CHL :**

Parmi les 6 isolats, une seule a été sélectionnée pour une identification approfondie avec la galerie API 50 CHL. Le résultat d'identification est rapporté dans le **tableau 07(Annexe V)**.

Donc ce test de ré-identification effectué nous permettent de confirmer qu'elle appartient à l'espèce de lactobacillus *plantarum* avec un pourcentage de fiabilité de par rapport aux références (**De Almeida Júnior., 2015 ; Maket et al., 2017**).

V.3.Etude du potentiel probiotique des souches de lactobacille :

V.3.1.Tolérance à l'acidité :

La propriété de la tolérance à l'acidité joue un rôle important pour assurer la survie des probiotiques lors de leur passage dans le milieu acide de l'estomac de l'hôte. Toutefois, les bactéries lactiques sélectionné pour sa propriété probiotique doit être capable de résister à la forte acidité qui existe dans l'estomac afin de coloniser et d'exercer un effet positif (**Ghatani et al., 2017**).

Le pH de l'estomac varie généralement de 2,5 à 3,5 (**Singh et al., 2012**). La valeur du pH (2,5) utilisée dans cette étude pour la sélection des souches à potentielle probiotiques est très sélective et même si ce n'est pas la valeur exacte du pH de l'estomac humain, elle assure l'isolement des souches très tolérantes aux acides (**Pennacchia et al., 2004**), de plus les aliments restent dans l'estomac pendant 3h. On a donc pris en compte le délai de 3 h. (**Sridevi et al., 2015**).

Résultats et Discussion

L'effet de l'exposition à un milieu acide à (pH 2,5) mimant l'acidité gastrique a été examinée sur tous les isolats. Ainsi les résultats sont représentés dans le tableau (08) ci-dessous :

Les isolats	Taux de survie
Lb.N01 (<i>Lb. Plantarum</i>)	75,1%
Lb.N02	54,8%
Lb.N03	56,50%
Lb.N04	49,8%
Lb.N05	65%
Lb.N06	57,00%

Tableau 08 : Taux de survie des isolats testés après exposition à un (pH 2, 5) pendant 3h.

À la lumière de ces résultats, le comportement des isolats vis-à-vis un pH de 2,5 montre que ces derniers ont pu survivre à ce pH durant la période de 3h.

La souche qui a marqué une résistance remarquable avec un taux de survie égale à 75,1% s'agit de **Lb.N01** suivis par les isolats **Lb.N05**, **Lb.N06**, **Lb.N03** et **Lb.N02** qui ont montré une tolérance en % dans l'ordre de (65 ; 57,00 ; 56,50 et 54,8), respectivement. En revanche, **Lb.N04** a enregistré le moindre taux de survie (49,8%).

On observe que le taux de survie varie d'un isolat à autre, ce qui est en accord avec **Belicová et al. (2013)**, qui ont signalé que la tolérance au faible pH ainsi le passage du probiotique dans des milieux à faible pH dépend de la souche.

Nos résultats sont en accord avec une étude précédente déroulée par **Nami et al., (2018)**, dans laquelle quarante-quatre souches de lactobacilles isolées de divers produits laitiers artisanaux collectées dans différentes parties d'Azerbaïdjan ont montré une croissance remarquable à pH 2,5, à l'exception juste de quatre isolats, à savoir DP20, DP21, DP38, et DP43.

Résultats et Discussion

Comme le rapportent également **Haghshenas et al., (2017)**, les 19 souches sélectionnées isolées à partir de produits laitiers fermentés iraniens ont toutes conservé leur viabilité même après 3 heures d'exposition à un pH de 2,5. Les souches de lactobacilles ont présenté un taux de survie modéré, allant de (71% à 76%) à un pH de 2,5 pendant 3 h.

Nos résultats sont rejoins à ceux de **Guo et al., (2015)**, ils ont rapporté que différentes souches de lactobacilles isolées de Suan-tsai et Koumiss (aliments fermentés traditionnels) ont montré un pourcentage de survie situait entre 59,2 % et 85,2 % après 3 h d'incubation à un pH de 2,5.

Ceci est également similaire aux travaux de **Colombo et al., (2018)**, qui ont trouvé que toutes les souches testées (15 LAB obtenues d'un environnement laitier) présentaient une résistance aux conditions simulées de l'estomac (3 h et étaient capables de survivre à un pH gastrique de 2,5). Ils ont confirmé qu'aucune des cultures étudiées ne présentait une diminution de population supérieure à 1 log.

En contrepartie, **Asnake et Mogessie ., (2010)** ont indiqué qu'un pourcentage de survie de 24% des lactobacilles isolées de produits fermentés traditionnels qui a été enregistrée après exposition à un pH de 2,5 pendant 3 h.

De même, **Ribeiro et al., (2018)** ont démontré q' un dénombrement des bactéries en dessous des limites de détection (ND) pour *Lactobacillus plantarum* isolé du fromage était le résultat d'exposition à (pH2, 5) à 3h.

Selon (**Biard., 2016**), il existe un mécanisme par lequel les bactéries s'adaptent à des pH inhabituellement bas, appelé *Acid Tolerance Response* (ATR). La tolérance aux acides est obtenue notamment par le maintien du pH intracellulaire, la préservation de la fonctionnalité de la membrane cellulaire et l'induction de protéines de réponse au stress (**Nemska et al., 2019**).

Résultats et Discussion

Corcoran et al., (2005) ont signalé que la résistance à un faible pH par les lactobacilles est due à la présence de l'activité de la F₀F₁-ATPase. La F₀F₁-ATPase est une enzyme à sous-unités multiples, comprenant une partie catalytique (F₁) pour l'hydrolyse de l'ATP et une partie membranaire intégrale (F₀) qui fonctionne comme un canal membranaire pour la translocation des protons (**Revilla Guarinos., 2014**). Elle contrôle la concentration intracellulaire de H⁺, maintenant ainsi l'homéostasie du pH et la viabilité des cellules (**Guo et al., 2009**).

La production de protéines de réponse au stress est aussi l'une des stratégies essentielles pour que les cellules acquièrent une tolérance ou s'adaptent à un environnement acide (**Wu et al., 2014**). D'autres études ont également démontré que le stress acide induit des modifications de la teneur en acides gras de la membrane cytoplasmique chez les lactobacilles (**Montanari et al., 2010**).

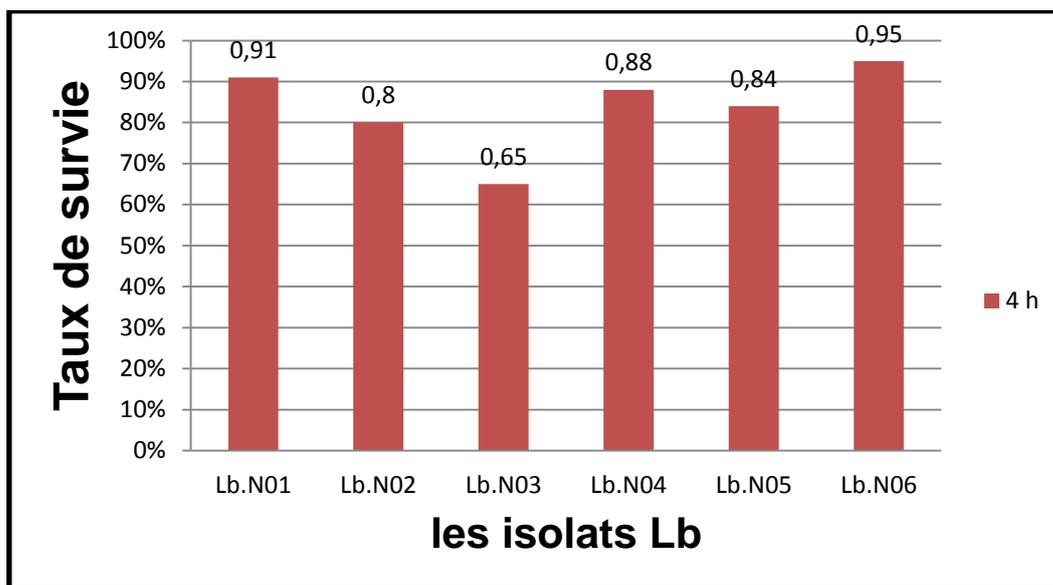
De manière générale, la tolérance aux acides des souches probiotiques leur confère un avantage concurrentiel dans l'environnement gastro-intestinal, et lorsqu'ils sont utilisés comme cultures de démarrage dans la fermentation des aliments ou comme compléments alimentaires dans la préparation d'aliments acides (**Pithva et al., 2014**).

V.3.2. Tolérance aux sels biliaires :

Bien que leur concentration dans le tractus gastro-intestinal humain soit variable, la concentration moyenne de bile dans l'intestin est de 0,3% (P/V) et que le temps de séjour est de 4 heures, (**Nader et al., 2018**).

Dans les conditions préalablement cités, nos isolats sont exposés et les résultats obtenus sont indiqués dans la figure (16) (**Tableau (09) voir annexe VI**) :

Résultats et Discussion



La Figure 16: Taux de survie des isolats **Lb** testés après exposition à une concentration de (0,3%) pendant 4h.

Nous notons en analysant le graphe que la quasi-totalité des isolats testés arrive à survivre lorsqu'ils sont mis en contact avec 0.3 % de bile à 4h avec des taux de survie acceptables.

Ce test a montré que parmi les (05) lactobacilles isolés dans notre étude, **Lb.N06** et **Lb.N01** ont présenté les meilleurs pourcentages de survie (95)% et (91)%, respectivement. Cela est révélé par une réduction négligeable du taux de viabilité des cellules ≤ 1 Log (UFC/ml) qui a été enregistré.

Tandis que le faible pourcentage de (65%) enregistré correspondant au taux de survie de l'isolat **Lb.N03**, cette valeur indique que la présente isolat semble affecter durant les 4 heures d'incubation à 0,3%.

En ce qui concerne les autres isolats **Lb.N02**, **Lb.N04**, **Lb.N05**, ils ont arrivé à survivre à 0.3 % où une réduction du compte cellulaire (ne dépasse pas 2 log (UFC/ml) a été observée au bout de 4h.

Résultats et Discussion

D'après **Adesulu-Dahunsi et al., (2018)**, les bactéries lactiques sont considérés comme probiotiques lorsqu'ils possédaient une des propriétés standard des probiotiques : la tolérance à 0,3 % de la concentration de sel biliaire après 4 heures, et ont montré également dans leur étude que deux souches de *L. plantarum* isolées produits alimentaires fermentés nigériens ont montré une bonne survie de (96,9_100,4 %).

Ces observations concordent avec ceux de **Bentaheur et al. (2016)** sur trois souches de bactéries lactiques provenant d'aliments fermentés traditionnelles dont *L. brevis* FF2 était la plus résistante (99,46 %) à une concentration de sel biliaire de 0,3 %, après 4 h d'exposition.

Des résultats semblables ont été eus par **Bujnakova et al., (2017)**, aux quelles neuf souches probiotiques présumées de *L. plantarum* provenant de la masse ovine et caprine et de fromages stockés ont été examinées pour leur survie en présence de sels biliaires (0,3% oxgall) après 4 h, et comme résultats une survie varie entre de 89% à 99% a été enregistrée.

Comme le montre également **Tokatl et al., (2015)**, qui ont testé la capacité de 25 souches provenant de cornichons naturellement fermentés - parmi 153 souches présélectionné à tolérer les conditions de sels biliaires similaires, ont trouvé que celle-ci résistent très bien, en particulier 5 souches sélectionnées de genre *L. brevis* sont révélées très tolérantes (94 à 99 %).

De même, il a été démontré par **Owusu-Kwarteng et al., (2015)** qu'un total de 16 souches de *L. fermentum* isolées à partir de pâte de millet spontanément fermentée, testées dans des conditions similaires et ont montré une résistance (taux de survie \geq 80 %).

Dans leur étude, **Kaur et al., (2017)** ont trouvé que parmi tous les isolats de lait de yak testés, six souches de lactobacilles étaient capables de survivre dans des concentrations de sel biliaire de 0,3 % pendant 4 heures, mais avec un taux de viabilité de 60 à 80 %.

Les souches de lactobacilles résistantes aux sels biliaires, peuvent se développer, survivre et exercer leur action physiologique normale et se métaboliser dans le tractus gastro-intestinal TIG (**Rayavarapu et al., 2019**). La tolérance aux sels biliaires est à la fois un des

Résultats et Discussion

critères de sélection des bactéries probiotiques et aussi une fonction complexe mettant en jeu de nombreux mécanismes permettant à ces bactéries de survivre à cet environnement.

Pour **Alang *et al.*, (2019)**, la résistance des isolats LAB aux sels biliaries est due non seulement à la présence de la couche de peptidoglycane et de la paroi cellulaire plus épaisse que possèdent les bactéries Gram-positives qui protègent les cellules de la lyse, mais aussi au composant lipidique de la membrane (acide teichoïque) des bactéries à Gram positif peuvent maintenir la structure de la membrane et diminuer les flux cellulaires dues aux sels biliaries (**Roostita *et al.*, 2015 ; Kimoto *et al.*, 2002**).

Il est intéressant aussi de noter qu'il y a deux raisons importantes qui aident les micro-organismes à se développer dans une concentration élevée de sels biliaries : premièrement, l'effet protecteur de la matrice alimentaire, et deuxièmement, l'activité hydrolase des sels biliaries (BSH) qui hydrolyse la bile conjuguée et conduit à la réduction de son effet toxique (**Begley *et al.*, 2005 ; Vasie *et al.*, 2017**).

Tout cela nous a permis de déduire que la résistance aux sels biliaries varie beaucoup parmi les espèces de bactéries lactiques et même entre les souches elles-mêmes (**Zamani *et al.*, 2016**).

V.3.3.L'activité hémolytique :

L'activité hémolytique est nécessaire pour évaluer les probiotiques et pour déterminer l'absence de pathogénicité. Cette activité est évaluée en fonction de la présence ou de l'absence de zone de d'inhibition autour de la croissance des souches de lactobacilles sur les boites de gélose au sang (**Rao *et al.*, 2015**).

Tous les tests effectués sur la gélose au sang sont révélés négatifs (absence d'halo) ; on dit alors que les isolats testées sont à hémolyse gamma. Ces résultats sont accordés par (**Jose *et al.*, 2015**).

V.3.4. Hydrophobicité :

L'une des propriétés principales pour qu'une souche puisse répondre à la définition des lactobacilles probiotiques est d'évaluer l'hydrophobicité de leurs surfaces cellulaire.

Résultats et Discussion

Celle-ci est considérée comme l'une des caractéristiques physico-chimiques qui favorisent le premier contact entre les microorganismes et les tissus de l'hôte (Azat *et al.*, 2016).

L'adhésion des microorganismes aux hydrocarbures tels que le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le xylène, le toluène et l'hexa décane a été largement utilisée pour mesurer l'hydrophobicité de la surface cellulaire des LAB (Divya *et al.*, 2012). Dans notre étude nous avons utilisé un solvant organique s'agit de xylène en raison de l'absence des effets négatifs sur les cellules bactériennes (Draksler *et al.*, 2004).



Figure (17) : Hydrophobicité des isolats Lb testées.

La (figure 17) montre l'aspect de ce test et les résultats d'évaluation sont regroupés dans la figure (18) (Tableau (10) voir annexe VI) :

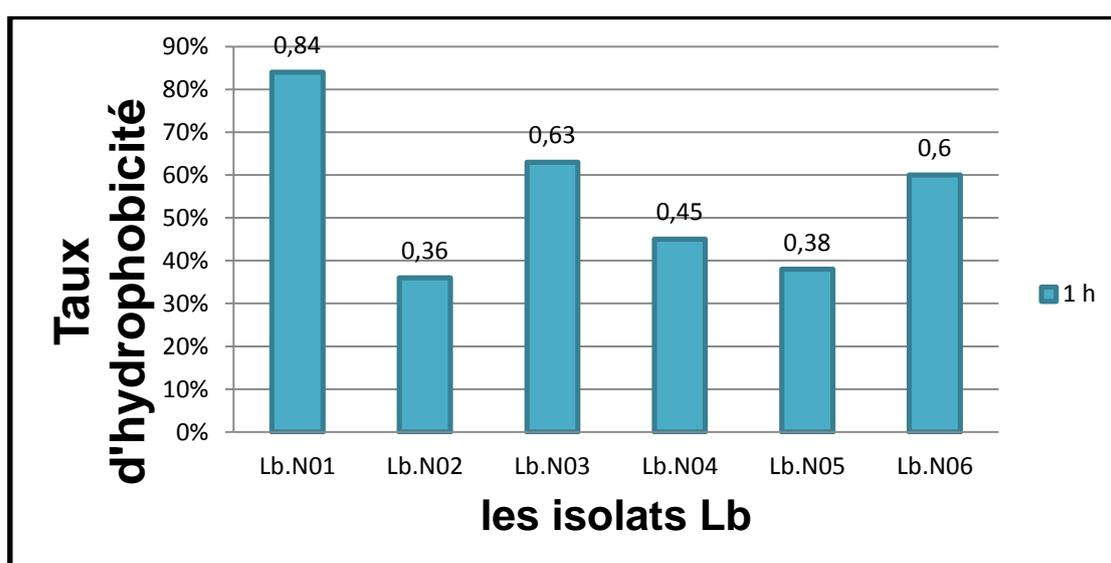


Figure 18: Taux d'hydrophobicité des isolats Lb testées après 1h d'incubation.

Résultats et Discussion

Les isolats qui ont fait l'objet de ce test ont marqué des valeurs variant entre faible, moyenne et forte. Il ressort de ces résultats que la moyenne d'hydrophobicité pour la totalité est comprise de (54%).

La forte affinité au xylène après 1h de contact est enregistrée avec **Lb.N01** (84 %) alors que la plus faible est celle marquée avec **Lb.N02** (36%).

On remarque que **Lb.N03**, **Lb.N06**, **Lb.N04** et **Lb.N06** ont enregistrés une hydrophobicité de (63%), (60%), (45%) et (38%), respectivement.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Tuo et al. (2013)**, qui ont démontré qu'une d'hydrophobicité, allant de 16,90 à 96,62% a été observée pour toutes les souches testées. La plupart des souches ont montré une hydrophobicité plus élevée que le *LGG* (64,14 %), tandis que *Lactobacillus casei* 94 a montré la plus faible hydrophobicité (16,90 %).

D'après les constatations révélées par **García-Cayuela et al.(2014)**, toutes les souches de lactobacilles isolées des fromages faits au lait cru ont révélées des valeurs d'hydrophobie élevées (N60%). En outre, quatre souches de *L. plantarum* ont montré les affinités les plus élevées pour ce solvant (N90%).

Ces valeurs sont proches de celles obtenues par **Kumara et al., (2018)** pour les isolats LM13/b, LC5/a et LC4/c identifiés comme étant *Lactobacillus fermentum*, ces derniers ont enregistré une hydrophobicité variable (50,41 %, 41,97 % et 41,22 %), respectivement.

Nos résultats sont non rejoints avec ceux d'**Archer et al., (2015)**, dont le pourcentage d'hydrophobicité des isolats de lactobacilles (9 isolats de *L. fermentum* (sélectionnés à partir de produits laitiers fermentés indigènes) était compris entre 0,55% et 57,69%.

Le test d'hydrophobicité est utilisé comme méthode indirecte pour évaluer la probabilité des candidats probiotiques à adhérer aux cellules de la muqueuse intestinale et donc estimer leur capacité prospective de colonisation intestinale (**Pokorná et al., 2019**).

Résultats et Discussion

Généralement les lactobacilles possèdent des surfaces cellulaires de nature hydrophobe (García- Cayuela *et al.*, 2014).

La forte hydrophobie des souches est justifiée selon Schär-Zammaretti *et al.*, (2003) par la richesse en acide lipoteichoïque et en protéines de surface alors que celles qui possèdent une teneur plus élevée en polysaccharides sont hydrophiles. Ils ont rapporté également que l'hydrophobicité varie même entre les espèces génétiquement proches, et entre les cultures d'une même espèce.

V.3.4.Auto-aggregation:

L'auto-agrégation détermine la capacité d'une souche bactérienne à interagir avec elle-même, de manière non spécifique, ce qui est connu comme une condition préalable à la colonisation et à l'infection du tractus gastro-intestinal par des agents pathogènes grâce à la capacité d'adhésion (Del Ré *et al.*, 2000).

Expérimentalement, l'agrégation est le processus de regroupement réversible des cellules, conduisant à leur précipitation spontanée dans le milieu dans lequel elles sont en suspension, elle peut être utilisée pour la sélection préliminaire des souches à potentiel probiotiques (Kaktcham *et al.*, 2018). le comportement de cette autoagrégation est montré dans la (figure 19).

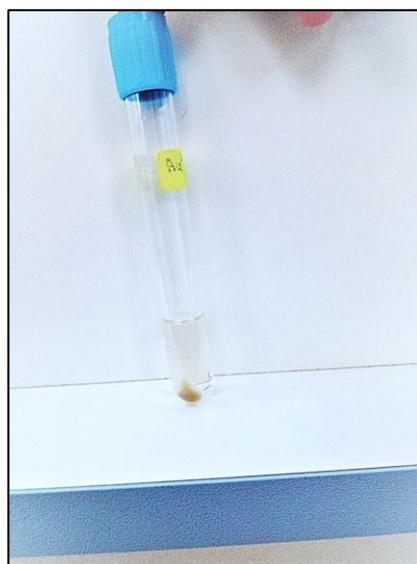


Figure (19) : Autoagrégation des isolats **Lb** testées

Résultats et Discussion

Les résultats d'agrégation après les deux périodes d'incubation 2 et 24h sont illustrés dans la figure (20) (**Tableau (11) voir annexe VI**) :

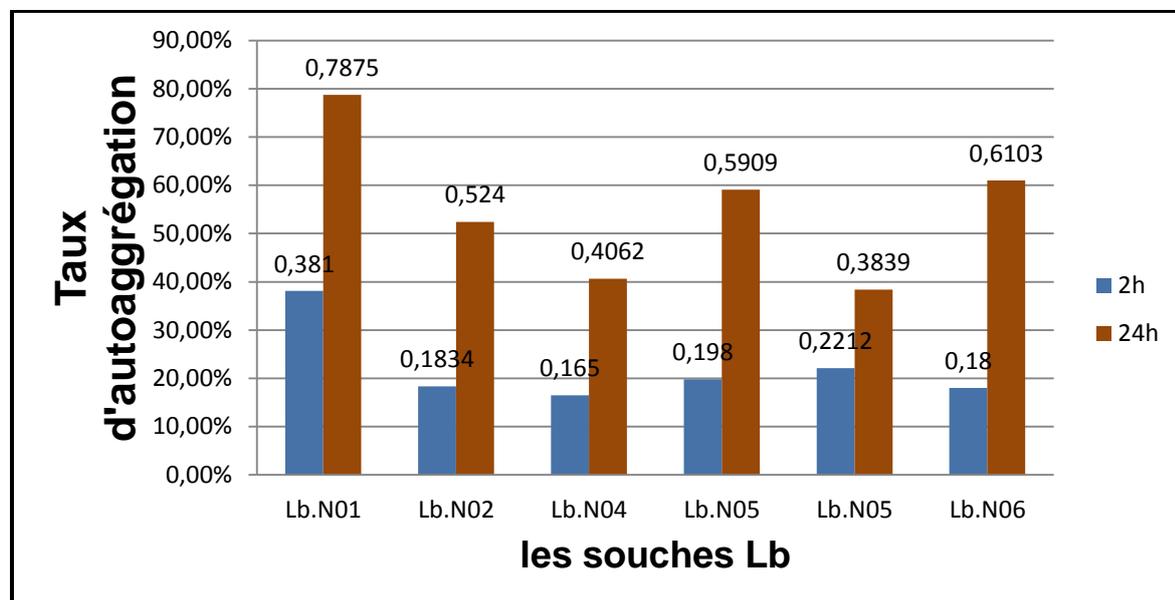


Figure 20 : Taux d'auto-agrégation des isolats **Lb** testées après 2 et 24h d'incubation.

Des pourcentages d'auto-agrégation varient entre (18,00 % et 38,1%) sont enregistrées pour la totalité des isolats après 2h d'incubation. La valeur la plus élevée est marquée chez **Lb.N01** avec un pourcentage de (38,1%), tandis que la plus faible est marquée chez **Lb.N06** avec un pourcentage de (18,00%).

Après 24h d'incubation, un intervalle d'auto-agrégation allant de (38,39% à 78,75%) a été marqué, **Lb.N01** a également enregistré le meilleur taux d'agrégation avec un pourcentage de (78,75%), par contre **Lb.N05** a révélé le plus faible taux d'agrégation (38,39%).

On observe d'après ces données que le taux d'agrégation augmente durant prolongement du temps d'incubation. En fait, des isolats qui ont noté des faibles pourcentages d'auto-agrégation après 2h d'incubation, à titre d'exemple **Lb.N02**, **Lb.N05** et **Lb.N06** qui ont révélées des pourcentages n'atteignant pas les (20%) , ont révélées après 24h d'incubation des pourcentages plus forts à (50%).

Résultats et Discussion

Similairement à la présente étude, **Kim et al., (2019)** ont rapportés que les lactobacilles testés présentaient des niveaux variables d'auto-agrégation (de 2,1 à 38,9 %), des souches présentaient une auto-agrégation relativement élevée (20,1 à 29,2 %), tandis que d'autres avaient une capacité d'agrégation très faible (< 10 %).

De leur part, **Da silva et al., (2019)** ont montré que la souche *Lactobacillus plantarum* isolées de lait de chèvre avait un bon potentiel d'agrégation après 2h d'incubation avec un pourcentage de (84,24%).

Dans l'étude menée par **Meira et al., (2012)** les douze isolats de lactobacilles provenant de fromages de brebis brésiliens et testées pour leur potentiel d'auto-agrégation, ont montré une auto-agrégation plus de 50 % après 24 heures, soulignant que *L. casei* était la souche la plus auto-agrégante (79-8 %) malgré que leurs comportement n'était pas clairement indiqué au cours des deux premières heures, il était plus apparent à partir de 16 heures jusqu'à 24h la période d'incubation finale. Ceci suggère que le taux d'auto-agrégation des souches augmente avec le temps d'incubation (**Chaudhary et al., 2019**).

Vu que l'auto-agrégation est une condition préalable essentielle à la formation d'un biofilm et qui contribue à la colonisation et à l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (**Nallala et al., 2017**), de nombreux travaux ont été réalisés afin de reconnaître les propriétés structurelles de la surface cellulaire des souches probiotiques responsables d'agrégation (**Guan et al., 2020**).

À titre d'exemple les travaux de **Tareb et al., (2013)**, dans les quel sont décrit que le potentiel d'auto-agrégation des deux lactobacilles testés semble être médié par des interactions glucide-lectine et/ou des composants protéiques.

Les résultats obtenus dans notre étude sur la capacité d'agrégation des isolats de lactobacilles probiotiques sont en accord avec les rapports précédents, selon lesquels la capacité de liaison des lactobacilles est avéré dépendante des propriétés spécifiques de la souche (**Mallapa et al., 2019**).

Résultats et Discussion

V.3.6.Co-agrégation :

Le test de Co- agrégation est une méthode fiable permettant d'évaluer l'interaction étroite entre les microorganismes probiotiques et bactéries pathogènes (Suvarna *et al.*, 2018). Plusieurs auteurs suggèrent que la capacité de Co- agrégation des lactobacilles avec les agents pathogènes peut être utilisée pour la sélection préliminaire des souches probiotiques (Srisesharam *et al.*, 2018 ; Tweman *et al.*, 2009 ; Gunyakti *et al.*, 2019).

Dans cette étude, nous avons examiné la capacité des lactobacilles à se Co-agréger avec certaines bactéries pathogènes sont : *E. coli* O157: H7, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de ce test sont présentés dans figure (21) (Tableau (12) voir annexe (VI) :

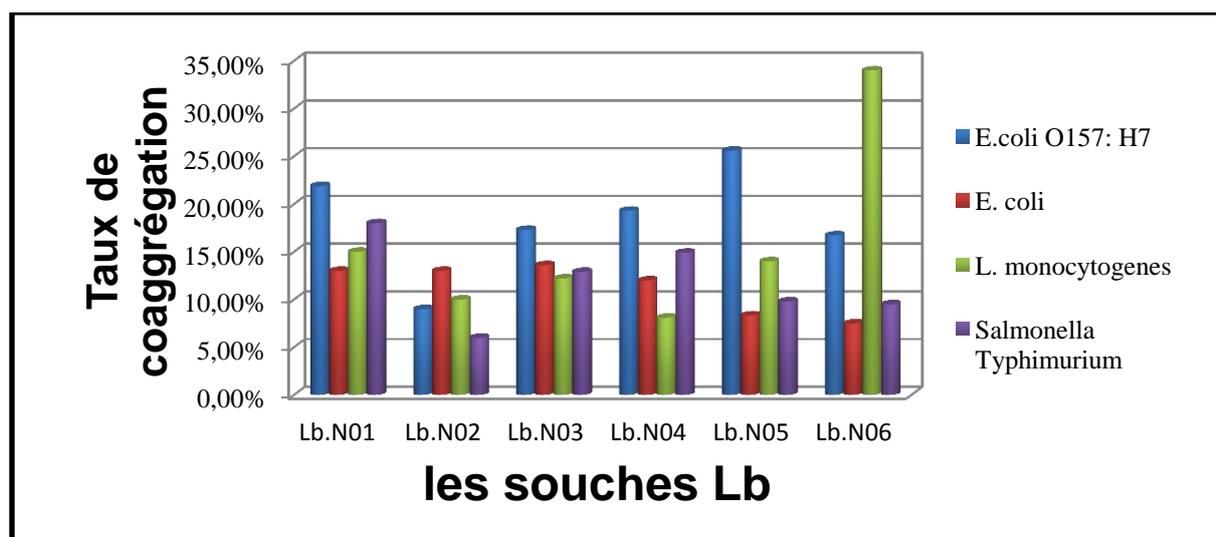


Figure 21 : Taux de Co- agrégation des isolats **Lb** testées après 4h d'incubation.

D'après Ferrari *et al.*, (2016), Il est possible que le temps d'incubation avec le microorganisme pathogène peut interférer dans cette étude. Mais dans notre étude ont appris en compte un seul temps d'incubation s'agit de 4h, en raison qu'un bon pourcentage de Co-agrégation dans une courte période est important pour empêcher l'adhésion des bactéries pathogènes à la muqueuse intestinale d'après Funck *et al.*, (2019).

Résultats et Discussion

En se basant sur nos résultats, les pourcentages de Co- agrégation les plus élevés par rapport aux autres isolats (34% ; 32,43% ; 25,6 et 21,9%) sont enregistrés par **Lb.N06**, **Lb.N03**, **Lb.N05**, et **Lb.N01** avec *L. monocytogenes* ; *Staph. Aureus* et *E. coli O157:H7*. Tandis que la plus faible Co- agrégation a été présentée par **Lb.N06** et **Lb.N02** avec *E. coli* (7,5 %) et avec *Salmonella Typhimurium* (6 %), respectivement.

En terme de moyenne, il apparaît que **Lb.N03** est fortement Co-agrégante avec tous les bactéries pathogènes testées, alors que **Lb.N02** est la plus faible.

D'après les résultats enregistrés, on suggère que les isolats testées ont la capacité de Co- agrégation accompagné d'un pouvoir antagoniste vis-à-vis les bactéries pathogènes citées précédemment.

Dans une étude similaire, **Hashemi et al., (2014)** ont trouvé que toutes les souches de lactobacilles testées (*Lb.plantarum* ; *Lb.paraplantarum*) isolées des fromages traditionnels ont montré une coagrégation avec *E. coli O157:H7* et *S. aureus* avec un pourcentage approximativement de (13-25%) et (15-28%) respectivement.

Nos résultats sont en accordance avec ceux d'**Abushelaibi et al., (2017)**, dont les isolats de lactobacilles (34 et 70) parmi l'ensemble des isolats de bactéries lactiques testées isolées du lait de chamelle ayant démontré une plus grande capacité de Co- agrégation avec les souches pathogènes y compris *E. Coli O157:H7* ; *S. Typhimurium* ; *L. monocytogenes* et *S. aureus*.

D'après les résultats obtenus par **Reuben et al., (2020)**, toutes les souches de lactobacilles isolées de lait de chèvre ont montré une capacité de Co- agrégation avec les agents pathogènes particulièrement l'isolat G9, qui a exprimé un pourcentage allant de 8,03 à 33,19 %. Ils ont montré également que la souche C3 isolée de lait de vache a exprimé une forte capacité de Co- agrégation (>80%) avec tous les agents pathogènes non seulement par rapport aux autre isolats testés mais par rapport aussi à leur taux d'auto-agrégation (égale à 54.50%).

Résultats et Discussion

Cela nous a permis de confirmer la corrélation mentionnée par **Vizoso Pinto et al., (2007)**, ils ont prouvé qu'une forte propension à l'auto-agrégation n'entraîne pas nécessairement une forte propriété de Co- agrégation, mais les souches ayant une forte capacité de Co- agrégation présentent généralement aussi une auto-agrégation élevée.

Au contraire de nos données **Santos et al., (2016)**, ont montré que parmi les lactobacilles isolées d'aliment fermenté la souche 289 présentait une Co- agrégation plus élevée avec les trois agents pathogènes alimentaires notamment avec *E. coli* ATCC 25922 et *Salmonella enterica* var. *Typhimurium* ATCC 14028 (> 60%).

En outre, on a remarqué que la Co- agrégation des isolats de lactobacilles avec les bactéries pathogènes testées était statistiquement variable en fonction des isolats de lactobacilles et en fonction aussi des souches pathogènes utilisés, ce qui est mentionné également par **(Montoro et al., 2016)**. Le phénomène de Co- agrégation est probablement lié à la présence de molécules spécifiques dans la surface des bactéries agissant soit comme ligands liant les pathogènes et/ou comme adhésines pour la fixation aux cellules épithéliales **(Sengupta et al., 2013)**.

En résumé que les capacités de Co- agrégation des souches de lactobacilles peuvent empêcher la colonisation intestinale par des bactéries pathogènes et représentent un important mécanisme de défense de l'hôte **(Bao et al., 2010 ; Dias et al., 2013)**.

La Co- agrégation permet de réduire les distances entre les cellules des probiotiques et des bactéries pathogènes, augmentant l'efficacité des métabolites antimicrobiens produits par les probiotiques viables (acides organiques, bactériocines...) **(Tareb et al., 2013)**, en fait, les souches ayant ces propriétés antimicrobiennes pourraient avoir une signification supplémentaire, car leur mode d'action antimicrobienne contre le partenaire pathogène Co- agrégant pourrait permettre une meilleure élimination de ce dernier **(Todorov et al., 2017)**.

Toutefois, si les bactériocines produites par ces souches n'inhibent pas le partenaire de Co- agrégation, les souches peuvent coexister, ce qui peut faciliter la formation d'un biofilm mixte **(Jeronymo-ceneviva et al., 2014)**.

Résultats et Discussion

Donc les lactobacilles associés à l'alimentation et qui Co- agrègent avec de nombreux pathogènes présentent un intérêt particulier au regard des applications potentielles dans les usines de transformation des aliments (Gómez *et al.*, 2016).

V.3.7. Adhésion aux cellules épithéliales :

L'une des propriétés importantes des bactéries probiotiques, y compris les lactobacilles, est leur capacité à adhérer à des sites cibles pour leur colonisation dans l'intestin qui exprime une fonctionnalité optimale (Duary *et al.*, 2011). Par ailleurs, plusieurs travaux ont montré que l'adhésion est un critère de sélection indispensable des bactéries à potentiel probiotiques (Abdel-Daim *et al.*, 2013 ; Celebioglu *et al.*, 2018 ; Lau *et al.*, 2018).

Les difficultés rencontrées dans l'étude d'adhésion bactérienne *in vivo*, en particulier chez l'homme, ont suscité beaucoup d'intérêt pour le développement de modèles *in vitro* pour la sélection préliminaire de différentes souches (Singh *et al.*, 2014), c'est le cas dans notre étude qu'on a utilisé des cellules épithéliales d'origine animale (cellules épithéliales de poulet). La capacité d'adhésion des souches a été déterminée par un nombre des bactéries adhérentes supérieurs à 15 (Lin *et al.*, 2007).

Tableau 13 : Adhésion de souches **Lb** testées aux cellules épithéliales du colon et de l'iléum du poulet.

Souches testés		Lb.N01	Lb.N02	Lb.N03	Lb.N04	Lb.N05	Lb.N06
Test	Colon	+	-	-	-	+	-
	Iléum	+	-	-	-	-	-

Adhésion (+)

Absence d'adhésion (-)

D'après les résultats recueillis dans notre étude, on constate que les isolats testés sont non adhérents excepté de deux isolats qui ont eu la capacité d'adhérence.

Résultats et Discussion

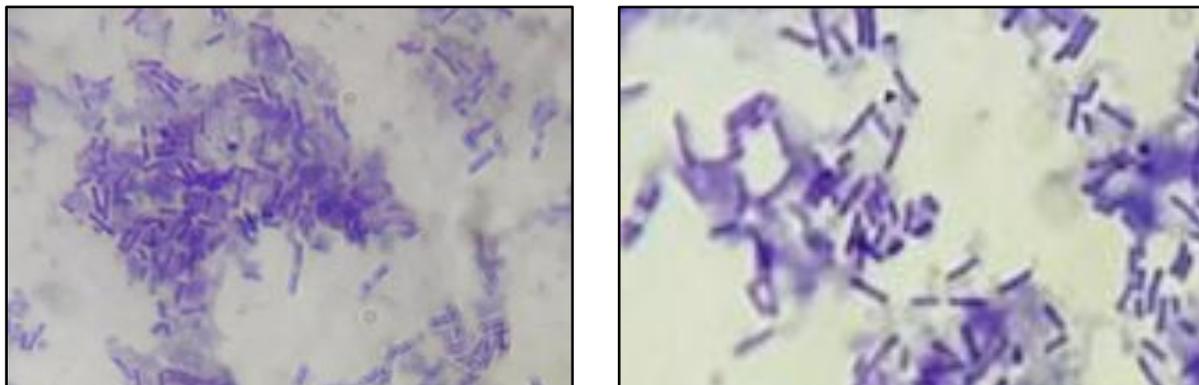


Figure 22: Test d'adhésion (x100).

Les examens microscopiques montrent que les isolats **Lb.N01** et **Lb.N05** ont la capacité d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin poulet avec nombres de 28 et 20 cellules bactériennes/cellule épithéliale respectivement, alors que **Lb.N02**, **Lb.N03**, **Lb.N04** et **Lb.N06** sont marquées comme non adhérentes (moins de 15 cellules bactériennes/cellule épithéliale).

Dans une étude similaire, **N'tcha et al., (2016)** ont révélé que *L.casei* et *L.fermentum* ont été parmi les bactéries lactiques testées isolées de bière traditionnelle qui ont été révélées tous adhèrent aux cellules épithéliales (côlon et iléon) des poulets de chair.

Dans le même contexte, **Kumar et al., (2015)** ont montré un test d'adhérence positif de LBS 2 provenant des produits laitiers aux cellules épithéliales du rat.

Les travaux de **Tsai et al., (2016)** ont aussi montré que trois des souches de lactobacilles (LAP5, LF33, LPL5) de la poudre LAB fabriquée, viable et tuée par la chaleur, ont révélées une bonne adhérence aux cellules intestinales des porcs.

Bien que les mécanismes spécifiques ne soient pas encore bien compris, les recherches suggèrent que les interactions glucide-protéine jouent un rôle clé dans l'adhésion de ces protéines aux oligosaccharides liés à la mucine, en particulier si l'on considère que de nombreuses protéines de liaison au mucus contiennent des régions homologues aux domaines de liaison d'autres protéines connues telles que les lectines (**Mahrous et al., 2014**).

Résultats et Discussion

Ashida, Yanagihara, Shinoda et Yamamoto., (2011) ont décrit la présence d'une protéine de surface (SlpA) chez *L. acidophilus* qui joue un rôle clé dans son adhésion aux cellules Caco-2. Autrement *L.reuteri* 1063 et *L.acidophilus* NCFM se fixent au mucus au moyen de protéines extracellulaires de fixation du mucus (Mub), *L.plantarum* WCSF1 présente une adhésion par son adhésion spécifique à la lectine comme le mannose (Msa) (Baloch *et al.*, 2019).

Garcia-Gonzalez *et al.*, (2018) ont signalé que la variabilité considérable de la capacité d'adhésion au sein d'une même espèce, confirment que cette attitude est strictement dépendante de la souche et influence les activités probiotiques potentielles de chaque souche (Ivec *et al.*, 2007 ; Tallon *et al.*, 2007).

En se basant sur notre résultats, on suggère que l'isolat **Lb.N01** peut protéger contre la colonisation des pathogènes sur les cellules hôtes en bloquant leurs adhésion aux récepteurs des cellules intestinales. Puisque l'adhésion conduit à des interactions directes qui peuvent entraîner l'exclusion compétitive des pathogènes et la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte (Sepova' *et al.*, 2018).

V.3.8.Activité antibactérienne :

L'effet antibactérien de surnageant des cultures de lactobacilles étudiées est mis en évidence par la méthode des puits, et apparait ainsi comme étant des zones claires toute autour des puits.

Les souches pathogènes utilisées dans cette étude sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Vibrio cholerae*.

Résultats et Discussion

Les résultats relatifs à ce test sont récapitulés dans le tableau (14):

Les souches	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
Lb.N01	10,6mm	14mm	21mm	19mm	6mm
Lb.N02	8mm	10mm	16mm	12mm	12mm
Lb.N03	11mm	15mm	10mm	10mm	8mm
Lb.N04	11,4mm	12mm	10mm	6mm	11mm
Lb.N05	8,1mm	15mm	18mm	10mm	13mm
Lb.N06	9mm	3mm	10mm	0mm	0mm

Tableau 14: Résultats d'activité antibactérienne des isolats de lactobacilles vis-à-vis différentes bactéries indicatrices.

Il s'avère que les zones d'inhibitions étaient prononcées dans la majorité des cas indiquant la possibilité d'inhibition de ces souches cibles, à Gram positif: *Staphylococcus aureus* et à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *Vibrio cholerae* par les isolats de lactobacilles.

Nous avons constatés que la meilleure activité inhibitrice a été observée avec **Lb.N01** avec un diamètre de ZI=21mm à l'égard de *Pseudomonas aeruginosa* et ZI=19mm à l'égard de *S. Typhimurium*.

Néanmoins, la faible activité inhibitrice a été observé chez **Lb.N06** qui semble inactive vis-à-vis deux s souches pathogènes à savoir *Pseudomonas aeruginosa* et *Vibrio cholerae*.

Nous notons que **Lb.N02**, **Lb.N03**, **Lb.N04** et **Lb.N05** sont actives contre les bactéries indicatrices avec des diamètres d'inhibition allant de (8 à 18 mm).

Résultats et Discussion

Ces observations rejoignent les travaux de **Makete *et al.*, (2017)**, qui dans leur étude montre que tous les isolats notamment trois souches de *Lactobacillus plantarum* ont montré des effets antibactériens contre les pathogènes testés, tous étant plus antagonistes contre *P. aeruginosa* et *S. Typhimurium*.

Ces résultats se rapprochent à ceux de **Rahmen *et al.*, (2015)**, qui ont trouvé que les souches isolées du lait de bufflonne à savoir les lactobacilles, ont montré une activité inhibitrice de croissance contre les espèces *Vibrio cholerae*, *S. typhi*, *E. coli* et *Shigella* ayant des IDZ de 10-22 mm.

Autrement, **Sahoo *et al.*, (2020)** ont rapporté que tous les isolats de provenant de produits laitiers fermentés ont montré une activité antibactérienne contre la détérioration des aliments et les bactéries pathogènes, en particulier contre *S. aureus*, lorsque les zones inhibitrices variaient entre 9,5 mm et 11,1 mm de diamètre.

Il ressort clairement des résultats obtenus dans l'étude de **Riane *et al.*, (2020)** que les souches présumées au genre *Lactobacillus plantarum* étudiée présente un antagonisme prononcé contre les bactéries pathogènes dont le diamètre des zones d'inhibition est compris entre 12 et 14,2 mm.

Au contraire, l'étude de **Bouzaid *et al.*, (2016)** a révélé que la souche BL1v (*L. acidophilus*) isolée du lait de vache est dépourvue d'activité inhibitrice à l'égard de toutes les souches indicatrices testées.

Il est intéressant de noter que l'action des souches de bactéries lactiques de la même espèce ou d'espèces différentes peut être liée à l'existence de différents mécanismes d'inhibition ou également à la nature de la substance inhibitrice, cela contribue aux différences observés dans les diamètres de zone d'inhibition et par conséquent de la sensibilité des souches indicatrices testées (**Risqiati *et al.*, 2015**). Cela peut être due à la diminution des niveaux de pH, à la compétition pour les substrats ou à la production de substances à action bactéricide ou bactériostatique, y compris les bactériocines et les substances de type bactériocine (**Kumari *et al.*, 2016**).

Résultats et Discussion

En fait, l'activité antimicrobienne de plusieurs souches de lactobacilles probiotiques a été principalement attribuée à un effet d'abaissement du pH (Fayol-Messaoudi *et al.*, 2005). De plus, il est à noter que les acides organiques ont un effet inhibiteur important sur les bactéries gram-négatives (Nebyou *et al.*, 2020),

Certaines souches probiotiques de lactobacilles présentent une activité bactéricide contre les bactéries gastriques ou entérovirulentes à Gram négatif ou à Gram positif après un contact direct *in vitro* (Liévin-Le Moal *et al.*, 2014).

Dans une étude effectuée par Aslim *et al.*, (2005), trois souches de lactobacilles isolées des produits laitiers turcs étaient capables de produire des substances de type bactériocine contre un certain nombre de bactéries d'altération et pathogènes.

Akpinar *et al.*, (2011), ont également montré que *L. bulgaricus* produit une bactériocine appelée Bulgarican qui a une activité inhibitrice envers les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

L'effet inhibiteur attribué à la synthèse de substances antagonistes de type bactériocine contre les germes pathogènes a été documenté par de nombreux chercheurs en particulier en particulier chez le genre *Lactobacillus plantarum*.

Comme Oldak *et al.*, (2017), qui ont rapporté que *Lb. Plantarum* Os1-Os17 synthétise des bactériocines de classe IIa, qui indiquent une forte activité anti-*Listeria* de ces souches.

Pareil pour Hu *et al.*, (2013), qui ont décrit une bactériocine appelée plantaricine 163, produite par *L. plantarum* qui a montré une large activité inhibitrice contre les pathogènes alimentaires, y compris *S. Typhimurium*, *E. coli* et aussi *L. monocytogenes*, et *S. aureus*.

Dans l'étude actuelle, les souches antagonistes de lactobacilles isolées présentant une activité antimicrobienne pour un ou plusieurs micro-organismes pathogènes sont considérés comme efficaces pour leur rôle en hygiène intestinale.

Résultats et Discussion

V.3.9. La résistance aux antibiotiques :

La sensibilité aux antibiotiques des souches LAB est une condition préalable importante pour la sélection des probiotiques. (Choi *et al.*, 2018), il reste une préoccupation majeure pour la technologie des cultures probiotiques.

Les résultats de l'antibiogramme réalisé vis-à-vis les 07 antibiotiques testés de différentes familles, nous ont permis de catégoriser les lactobacilles testées comme étant sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) (**tableau 15**) :

Tableau 15: Résultats de la résistance et la sensibilité aux antibiotiques.

Les souches	Inhibe la synthèse d'enveloppe bactérienne			Inhibe la synthèse des protéines			
	AMP	PE	VA	Te	CN	C	E
	10 µg	10 U	30 µg	30 µg	10 µg	30 µg	15 µg
Lb.N01	S	S	R	S	I	S	S
Lb.N02	S	S	R	S	I	S	S
Lb.N05	S	S	R	S	R	S	I
Lb.N06	S	S	R	S	R	S	S
Lb.N04	S	S	R	I	R	R	R
Lb.N03	S	S	R	S	R	S	R

AMP : Ampicilline, PE : Pénicilline, VA : Vancomycine, CN : Gentamicine, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, E : Erythromycine.

D'après les résultats regroupés dans le tableau, la sensibilité de nos isolats est très variables vis-à-vis certains antibiotiques, mais aussi des profils similaires vis-à-vis certains d'autres.

En analysant les résultats de sensibilité aux antibiotiques inhibant la synthèse de l'enveloppe bactérienne, toutes les lactobacilles testées ont été trouvées sensibles vis-à-vis

Résultats et Discussion

l'ampicilline, par contre sont toutes résistantes au vancomycine. Une activité inhibitrice de la pénicilline qu'on a observée sur l'ensemble des isolats.

On constate d'un part que tous les lactobacilles testés possèdent une sensibilité aux antibiotiques inhibant la synthèse des protéines notamment vis-à-vis la tétracycline et le chloramphénicol à l'exception de **Lb.N04** qui a révélé une sensibilité intermédiaire à la tétracycline et semble résistante au chloramphénicol et **Lb.N01**, **Lb.N02** et **Lb.N06** qui sont aussi sensibles vis-à-vis l'érythromycine.

D'autre part un pouvoir de résistance contre certains d'autres antibiotiques par nos isolats , à savoir **Lb.N03**, **Lb.N04**, **Lb.N05** et **Lb.N06** contre la gentamicine, **Lb.N03** et **Lb.N04** contre l'érythromycine.

Les lactobacilles testés ont montré un spectre de sensibilité variable par rapport à la souche considérées et à l'espèce, ce qui est mentionné également par (**Siroli et al., 2017**).

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Pisano et al., (2014)**, qui ont rapporté que dans le groupe des antibiotique inhibant la synthèse de la paroi cellulaire, toutes les souches de lactobacilles isolées des produits laitiers ont été trouvées résistantes au vancomycine et sensibles non seulement à l'ampicilline, mais aussi aux antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines comme la tétracycline, le chloramphénicol, l'érythromycine, et modérément sensibles à la gentamicine.

Une étude déroulée par **Casarotti et al., (2017)** montre que toutes les souches de lactobacilles isolées à partir d'eau de mozzarella de buffle étaient sensibles à l'ampicilline et résistantes à la vancomycine.

Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par **Tavakoli et al. (2017)** qui ont indiqué que *L. plantarum* MT.ZH193 avait une sensibilité modérée à la gentamicine, alors que les autres souches étaient résistantes à cet antibiotique.

Au cours de leurs travaux sur les lactobacilles isolées du fromage, **Silva et al., (2019)** ont trouvé que parmi les pourcentages de sensibilité aux antibiotiques les plus élevés ont été signalés pour la pénicilline à 80 %.

Résultats et Discussion

Contrairement à nos résultats, le test de résistance aux antibiotiques élaboré par **Ahmed., (2013)** a révélé que les espèces de lactobacilles isolées étaient sensibles à la vancomycine.

En général les résultats obtenus dans notre étude sont conformes au profil de sensibilité des lactobacilles rapporté par les auteurs, indiquant qu'ils sont généralement sensibles aux antibiotiques. Ils sont sensibles à l'érythromycine, un antibiotique à spectre Gram positif, à la tétracycline et au chloramphénicol, des antibiotiques à large spectre, et au bêta-lactame (pénicilline et ampicilline) (**Temmerman *et al.*, 2003; Danielsen et Wind., 2003 ; Cebeci *et al.*, 2003**).

Selon **Anandharaj *et al.*, (2015)**, la résistance aux antibiotiques observée pour les souches de lactobacilles est considérée comme intrinsèque ou naturel, car il est codé par les chromosomes et donc non transmissible.

Bien que toutes les souches lactobacilles présentent une résistance à la vancomycine, ça ne cause aucun problème car cette résistance est intrinsèque et codifiée par les gènes chromosomiques (**De Souza *et al.*, 2019**). Preuve de cela, la résistance à la vancomycine des souches de lactobacilles a été attribuée à la présence de D-Ala-D lactate dans leur peptidoglycane au lieu du dipeptide normale D-Ala- D-Ala, qui est la cible de l'antibiotique (**Coppola *et al.*, 2005 ; Danielsen et Wind., 2003 ; Monteagudo-Mera *et al.*, 2012**).

De leurs parts, **Jobby *et al.*, (2020)**, ont proposé l'utilisation de la vancomycine pour l'isolement sélectif de lactobacilles.

Cependant **Zhou *et al.*, (2005)** ont signalé que chez les lactobacilles, certaines résistances aux antibiotiques peuvent être codées par un plasmide et non pas totalement intrinsèque. Il est donc possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autres espèces et genres (**Samedi *et al.*, 2019**).

La résistance aux antibiotiques des microorganismes bénéfiques -tels que les probiotiques- a fait l'objet de recherches en raison du risque accru de transfert de la résistance de l'alimentation à la population bactérienne intestinale (**Zoumpopoulou *et al.*, 2018**). Tandis que la présence de cette propriété de résistance aux antibiotiques est avantageuse, car elle

Résultats et Discussion

permet à ces dernières de survivre dans le tractus gastro-intestinal pendant le traitement aux antibiotiques (**Bin Masalam *et al.*, 2018**).

Conclusion

Conclusion

Le but de notre étude est de mettre en place une collection de souches lactiques affiliées au genre *Lactobacillus* extraite de lait de chèvre ayant un potentiel probiotique pour un usage industriel. Il ressort de ces résultats que le lait de chèvre est une véritable niche écologique pour les bactéries lactiques. En fait, la pré-identification des différentes souches a montré une assez importante diversité de flore lactique dont les espèces de lactobacilles sont fréquemment présentes.

Les résultats obtenus ont permis de montrer que les souches de lactobacilles étudiées sont à Gram positive (+), que sont dépourvues de catalase, ainsi que certains sont homofermentaires et certains d'autre sont hétérofermentaire. La plus part de ces isolats peuvent être cultivé à 45°C, à différentes concentration de Na Cl (4% et 6.5%), et la majorité aussi des isolats ne possèdent pas l'enzyme ADH. L'identification biochimique des isolats au stade espèce -utilisant la galerie API 50 CHL a montré qu'il s'agit de *Lactobacillus plantarum*.

L'étude de l'aspect sécuritaire par l'activité hémolytique nous a conduit à démontré que les lactobacilles testées sont sans hémolyse, dit alors à hémolyse gamma.

Afin de sélectionner celles dotées d'une activité probiotiques, un certain nombre de critère ont été suivis et effectuées *in vitro* ; à l'issue d'une exposition au (pH 2,5) durant 3h et au (0,3%) de sels biliaires durant 4h, **Lb.N01** (*Lactobacillus plantarum*) et **Lb.N06** ont présenté les meilleurs pourcentages de survie (75,1%,95%) respectivement. On peut les classer comme souches tolérantes.

En ce qui concerne l'hydrophobicité, la forte affinité au xylène après 1h de contact est enregistrée avec la souche **Lb.N01** (84%) alors que la plus faible est celle marquée avec **Lb.N02** (36%). Et dans les deux périodes d'incubation choisis lors du test d'auto-agrégation, **Lb.N01** a également notée la plus forte valeur en comparaison aux autres isolats.

(34%) est le meilleur taux de Co-agrégation de **Lb.N06** avec *L. monocytogenes*, ce qui nous a permet de suggérer que les lactobacilles testés présentant ces taux de Co-agrégation peuvent être douées d'une activité antibactérienne et d'un pouvoir antagoniste vis-à-vis les bactéries pathogènes.

Conclusion

Le suivi du pouvoir d'adhésion qu'on a mis en évidence sur les cellules épithéliales d'origine animale (cellules épithéliales de poulet), a montré que les souches de lactobacilles testées sont non adhérentes excepté de deux isolats qui ont eu la capacité d'adhérence qui sont **Lb.N01** (*Lactobacillus plantarum*) et **Lb.N05**. On peut prédire que ces isolats ont un pouvoir de colonisation intestinale.

En examinant l'activité antagoniste exercée par tous les souches à l'encontre des souches indicatrices à Gram positif et à Gram négatif, Les souches ont pu inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*, d'*Escherichia coli*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *S. Typhimurium* et de *Vibrio cholerae* avec des diamètres entre 0 et 21 mm. On a résolu que cela peut être associée à de nombreux éléments, actif chacun seul ou résulte de l'effet combiné de ces éléments.

Les résultats obtenus lors du test d'antibiogramme ont montré que les isolats de lactobacilles étaient dans certains cas sensibles aux antibiotiques, cependant dans d'autres cas sont résistantes. Ces résistances généralement décrites comme fréquemment comme intrinsèques ou naturelles.

Nous avons pu déduire que ces pouvoirs varient selon le genre et l'espèce de la souche, même au sein d'une même espèce. Et que **Lb.N01** (*Lactobacillus plantarum*) isolée est une bonne candidate, car elles montrent un comportement remarquable vis-à-vis des tests réalisés lors de ce travail.

Pour conclure, notre travail a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives :

- Réaliser des méthodes génotypiques permettant une identification fiable des isolats.
- Etude de la stabilité des conditions industrielles : pH, température ... etc. Ainsi que l'optimisation du rendement de leur productivité.
- Amélioration de la viabilité par certains systèmes d'encapsulation, ou d'aliments vecteurs.
- Etude de l'adhésion aux cellules épithéliales d'origine humaines.
- La purification des substances antimicrobiennes synthétisées par ces souches afin de confirmer leur nature et leurs modes d'action.
- Confirmer l'effet probiotique des isolats par la réalisation d'autres tests *in vitro* et *in vivo*.

*Références
bibliographique*

Références bibliographie

Aazami, N., Kalantar, E., Poormazaheri, H., Pour, N, S,v.,and Jouzan, G,S. (2016). Selection and characterization of potential probiotic Lactobacilli spp isolated from chicken feces may be used as a potent antibacterial agent. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, vol. 35, no 1, p. 50-57.

Abdel-Daim, A., HASSOUNA, N., HAFEZ, M., Mohamed, S, A, A.,and Mohammad, M, A.(2013). Antagonistic activity of *Lactobacillus* isolates against *Salmonella typhi* in vitro. *BioMed research international*, vol. 2013.

Abdulla, A, A., Abed, T, A., and Saeed, A, M.(2014).Adhesion, Autoaggregation and Hydrophobicity of Six *Lactobacillus* Strains.*British Microbiology Research Journal*, vol,4, no,4,P,381-391.

Abrada, S. (2017). Probiotiques et leur intérêt dans la prévention des troubles digestifs. Thèse de doctorat.

Abushelaibi, A., AL-Mahadin, S., EL-Tarabily, K., Shah, N, P.,Ayyash, M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 79, p. 316-325.

Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., and Sanni, A. I. (2018).Probiotic and technological properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from cereal-based nigerian fermented food products. *Food Control*, vol. 92, p. 225-231.

Ahmed, A. A. (2013).In vitro screening of Lactobacillus species from homemade yoghurt for antagonistic effects against common bacterial pathogens. *Jordan Journal of Biological Sciences*, vol. 147, no 898, p. 1-6.

Ahmed, A. S., El-Bassiony, T., Elmalt, L. M., and Ibrahim, H. R. (2015).Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins.*Food Research International*,

Ahmed, F.E., (2003). Genetically modified probiotics in foods. *Trends in Biotechnology*, vol. 21, no 11, p. 491-497.

Références bibliographie

Aidani, E., Delfan, P., Akbarian, M., Akbarian, A.; Ghasemkhani, N.; Moayedi, F. (2014). Genomics of lactic acid bacteria: features, function, and comparative genomics: a review. *Int J Biosci*, vol. 5, no 4, p. 34-46.

Aissaoui, M., Degnouche, K., Boulakhrasse, Z., and Boukhalfa, H. (2019). Growth performance in pre-weaning alpine goats reared in the arid conditions of southeastern Algeria. *AgroBiologia*, vol. 9, no 1, p. 1439-1448.

Akalu, N., Assefa, F., and Dessalegn, A. (2017). In vitro evaluation of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented Shamita and Kocho for their desirable characteristics as probiotics. *African Journal of Biotechnology*, vol. 16, no 12, p. 594-606.

Akpinar, A., Yerlikaya, O., and Kilic, S. (2011) .Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts. *African Journal of Microbiology Research*, vol. 5, no 6, p. 675-682.

Alais , C. (1984).Principes des techniques laitières. *Science du Lait*, P.196-197.

Alakomi, H-L., Matto, J., Virkajarvi, I ., and Saarela, M. (2005). ‘Application of a microplate scale fluorochrome staining assay for the assessment of viability of probiotic preparations’. *Journal of Microbiological Methods*, vol,62,p: 25-35.

Alang, H., Kusnadi, J., Ardyati, T., Suharjono, S. (2019) .Identification of lactic acid bacteria as a probiotic candidate isolated from the fresh milk of Toraja Belang buffalo, South Sulawesi, Indonesia. *Drug Invention Today*, vol. 11, no 3.

Alomar, J., (2007).Étude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et de *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine.

Alp, D., Kuleaşan, H. (2019). Adhesion mechanisms of lactic acid bacteria: conventional and novel approaches for testing. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 35, no 10, p. 156.

Références bibliographie

Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R and Turgeon, H. (2002) : Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait ; Vignola C. L, *Science et technologie du lait-Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, Québec, p. 1-73.*

Amund, O, D.(2016) .Exploring the relationship between exposure to technological and gastrointestinal stress and probiotic functional properties of lactobacilli and bifidobacteria.

Anam, C., Riyanto, J., Rofiq, A. A., (2012).Introduction of goat milk pasteurisation equipment to the Etawah crossbred dairy goat farmers in East Java Province, Indonesia. *In: Proceedings of the First Asia Dairy Goat Conference, Kuala Lumpur, Malaysia .* Universiti Putra Malaysia Press. p. 147-148.

Anandharaj, M., Sivasankari, B., Santhanakaruppu, R., Manimaran, M., Rani, R, P.,Sivakumar, S. (2015).Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. *Research in microbiology*, vol. 166, no 5, p. 428-439.

Ananta E, Birkeland SE, Corcoran B, Fitzgerald G, Hinz S, Klijn A., ... and Knorr ,D . (2004).Processing Effects on the Nutritional Advancement of Probiotics and Prebiotics. . *Microbial Ecology in Health and Disease*, vol. 16, no 2-3, p. 113-124.

Archer, A,C., et Halami, P, M. (2015) .Probiotic attributes of *Lactobacillus fermentum* isolated from human feces and dairy products. *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 99, no 19, p. 8113-8123.

Arellano, K., Vazquez, J., Park, H., Lim, J., Ji, Y., Kang, H. J., ... and Holzapfel, W. H. (2019).Safety Evaluation and Whole-Genome Annotation of *Lactobacillus plantarum* Strains from Different Sources with Special Focus on Isolates from Green Tea. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, p. 1-14.

Argyri, A, A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K-A, G., Tsakalidou, E., Nychas, G, J, E., Panagou, E,Z., Tassou,C,C.(2013).Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests.*Food microbiology*, vol. 33, no 2, p. 282-291.

Références bibliographie

Aritonang, S., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., and Husmaini.(2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from Okara and evaluation of their potential as candidate probiotics.*Pakistan J. Nutri*, vol. 16, p. 618-628.

Ashida, N., Yanagihara, S., Shinoda, T., and Yamamoto, N. (2011).Characterization of adhesive molecule with affinity to Caco-2 cells in *Lactobacillus acidophilus* by proteome analysis.*Journal of bioscience and bioengineering*, vol. 112, no 4, p. 333-337.

Aslim, B., Yuksekdag, Z. N., Sarikaya, E., Beyatli, Y. (2005). Determiration of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 38, no 6, p. 691-694.

Asnake, D., and Mogessie, A. (2010). Evaluation of the probiotic properties and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from awaze, qotchqotcha and tef dough, traditional Ethiopian fermented foods. *Journal of Food Safety*, vol. 12, p. 187-191.

Azat, R., Liu, Y., Kayir, A., Lin, D., Zhou, W., Zheng, X. (2016) .Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomed and Biotechnol)*, vol. 17, no 8, p. 597-609.

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B., Moussaand .M.,Kihal. (2004).Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, vol. 21, no 5, p. 579-588.

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., and Ouzrout, R. (2005).Caractérisationphénotypique des bactéries lactiques isoléesa partir de lait cru de chèvrede deux populations caprines locales" arabia et kabyle". *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, p 30-37.

Baliarda, A., (2003). Evaluation de la reponse au stress chez les bacteries lactiques appartenant aux genres *pediococcus*et *tetragenococcus* approches physiologiques et genetiques. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux.

Références bibliographie

Baloch, M, N., Siddiqui, R., Zafar, U., Haider, F.,Mojgani, N., Sana, E.

(2019) .Persistence and safety assessment of novel probiotic strain *Lactobacillus plantarum* Istrain Lp86 and Lp36 in *Salmonella typhi* infected mice. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, vol. 32.

Bano, P., Abdullah, M., Nadeem, M., Babar, M. E., and Khan, G. A. (2011). Preparation of functional yoghurt from sheep and goat milk blends. *Pak. J. Agri. Sci*, vol. 48, no 3, p. 211-215.

Bao, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, S.,Dong, X., Zhang,H. (2010). Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control*, vol. 21, no 5, p. 695-701.

Barrangou, R., Lahtinen, S. J., Ibrahim, F., and Ouwehand, A. C. (2012).Genus lactobacillus.*Lactic acid bacteria.Microbiological and functional aspects*, vol. 7.

Barrons, R.(2008).Use of *Lactobacillus* Probiotics for Bacterial Genitourinary.

Barua, R., Al Masud, H. M. A., Mahmud, Md. N., Hakim, M, A.(2015).Assessment of Potential Probiotic *Lactobacillus* Strains Isolated from Goat Milk.*IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 10, no 4, p. 09-15.

Begley, M., Gahan, C, GM, and Hill, C. (2005).The interaction between bacteria and bile.*FEMS microbiology reviews*, vol. 29, no 4, p. 625-651.

Belicová, A., Mikulášová, M., and Dušinský, R. (2013).Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza cheese.*BioMed research international*, vol. 2013, P.1–8.

BenTaheur, F., Kouidhi, B., Fdhila, K., Elabed,H.,Ben Slama, R., Mahdouani,K., Bakhrouf, A., Chaieb, K. (2016) .Anti-bacterial and anti-biofilm activity of probiotic bacteria against oral pathogens. *Microbial pathogenesis*, vol. 97, p. 213-220.

Références bibliographie

Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S., Gomez-Llorente, C., and Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, vol. 61, no 2, p. 160–174.

Bernardeau, M., Vernoux, J, P., Henri-Dubernet, S ., Guéguen, M . (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The Lactobacillus genus. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 126, p. 278–285

Bhuiyan, R., Shill, S., Islam, A., and Chakraborty, S. (2017). Screening of Lactobacillus spp. from raw goat milk showing probiotic activities against pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, vol. 11, no 15, p. 620-625.

Biard, N. (2016). Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson.

Bin Masalam, M, S., Bahieldin, A., ALHARBI, M, G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S, K., Harakeh, S, M., and Al-Hindi, R,R .(2018). Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2018.

Bousmaha-Marroki, L., and Marroki, A. (2015). Antibiotic susceptibility and heterogeneity in technological traits of lactobacilli isolated from Algerian goat's milk. *Journal of food science and technology*, vol. 52, no 8, p. 4708-4723.

Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., Hasib, A. (2016). Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). *Microbiol. Ind. San and Environn*, vol. 10, no 1, p. 1-12.

Buergin, W, A., Signer, E., Friess, H.M., Berger, R., Birbaumer, A., Just, M., (1980). The diagnostic significance of antibodies to various cow's milk proteins (fluorescent immunosorbent test).

Références bibliographie

Bujnakova, D., and Strakova, E. (2017).Safety, probiotic and technological properties of Lactobacilli isolated from unpasteurised ovine and caprine cheeses. *Annals of Microbiology*, vol. 67, no 12, p. 813-826.

Butel, M, J. (2014).Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Anti-infectieux*, vol. 16, no 2, p. 33-43.

Caggia, C., De Angelis, M., Pitino, I., Pino, A., Randazzo, C.L. (2015) .Probiotic features of Lactobacillus strains isolated from Ragusano and Pecorino Siciliano cheeses. *Food microbiology*, vol. 50, p. 109-117.

Campana, R., van Hemert, S., and Baffone, W. (2017).Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion. *Gut Pathogens*, vol. 9, no 1, p. 1-12. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 62, no 9, p. 715-725.

Caplice, E., and Fitzgerald, G, F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of foodmicrobiology*, Vol .50.P : 131–149.

Carasi, P., Díaz, M., Racedo, S, M., De Antoni, G., Urdaci, M, C., and Serradell, M, D, A.(2014) .Safety characterization and antimicrobial properties of kefir-isolated *Lactobacillus kefiri*. *BioMed Research International*, vol. 2014.

Carmona, B. (2016).les probiotiques (bactéries et levures): où en est-on aujourd’hui? .Thèse de doctorat. Université de Montpellier.

Carr, F. J., Chill, D. and Maida, N. (2002).The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical reviews in microbiology*, vol. 28, no 4, p. 281-370.

Casarotti, S, N., Carneiro, B, M., Todorov, S, D., Nero,L, A., Rahal, P., Penna, A,L , B .(2017). In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from water buffalo mozzarella cheese. *Annals of microbiology*, vol. 67, no 4, p. 289-301.

Références bibliographie

Castellazzi, A.M., Valsecchi, C., Montagna, L., Malfa, P., Ciprandi, G., Avanzini, M. A. and Marseglia, G.L. (2007). In vitro activation of mononuclear cells by two probiotics: *Lactobacillus paracasei* I 1688, *Lactobacillus salivarius* I 1794, and their mixture (PSMIX). *Immunological Investigations*, vol. 36, no 4, p. 413-421.

Cebeci, A., and Gürakan, C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, vol. 20, no 5, p. 511-518.

Celebioglu, H. U., Svensson, B. (2018) .Dietary nutrients, proteomes, and adhesion of probiotic lactobacilli to mucin and host epithelial cells. *Microorganisms*, vol. 6, no 3, p. 90.

Chalabi, S. (2017). Probiotiques et troubles fonctionnels intestinaux: conseils à l'officine. Thèse de doctorat.

Charalampopoulos, D., and Rastall, R. A. (Eds.). (2009). Prebiotics and probiotics science and technology .Vol. 1. Springer Science and Business Media.

Chaudhary, A., and Saharan, B. S. (2019). Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum*. *J Pure Appl Microbial*, vol, 13, no, 2, P. 933-948.

Choi, A. R., Patra, J. K., Kim, W. J., and Kang, S. S. (2018). Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food. *Frontiers in microbiology*, vol. 9, p. 1963.

Clancy, R. L., Gleeson, M., Cox, A., Callister, R., Dorrington, M., D'este, C., ... and Henriksson, A. (2006). Reversal in fatigued athletes of a defect in interferon γ secretion after administration of *Lactobacillus acidophilus*. *British journal of sports medicine*, 2006, vol. 40, no 4, p. 351-354

Coeuret, V.C., Ubernet, S.D., Ernardeau, M.B., Ueguen, M.G., Ernoux, J.P.V., 2003. Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Le Lait*, vol. 83, no 4, p. 269-306.

Collado, M. C., Meriluoto, J., Salminen, S. (2008). Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European food research and technology*, vol. 226, no 5, p. 1065-1073.

Références bibliographie

Colombo, M., Castilho, N, P, A., Todorov, S, D., and Nero, L, A. (2018). Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production. *BMC microbiology*, vol. 18, no 1, p. 219.

Conesa, C., Sánchez, L., Rota, C., Pérez, M. D., Calvo, M., Farnaud, S., and Evans, R. W. (2008). Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 150, no 1, p. 131-139.

Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E. (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Le Lait*, vol. 85, no 3, p. 193-204.

Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., Sholeva, Z., Georgieva, N. Danova, S. (2005). Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Applied and environmental microbiology*, vol. 71, no 6, p. 3060-3067.

Cozzolino, A., Vergalito, F., Tremonte, P., Iorizzo, M., Lombardi, S, J., Sorrentino, E., ... and Succi, M. (2020). Preliminary Evaluation of the Safety and Probiotic Potential of *Akkermansiamuciniphila* DSM 22959 in Comparison with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microorganisms*, vol. 8, no 2, p. 189.

Da Silva, L, A., Neto, J, H, P, L., and Cardarelli, H, R. (2019). Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria. *Annals of Microbiology*, vol. 69, no 13, p. 1497-1505.

Danielson, M., Wind, A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, vol, 82, p. 1– 11.

Références bibliographie

Davis, C. (2014). Enumeration of probiotic strains: review of culture-dependent and alternative techniques to quantify viable bacteria. *Journal of microbiological methods*, vol. 103, p. 9-17.

De Almeida Júnior, W. L. G., da Silva Ferrari, Í., de Souza, J. V., da Silva, C. D. A., da Costa, M. M., and Dias, F. S. (2015). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, vol. 53, p. 96-103.

De Prisco, A., Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: a focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science and Technology*, vol. 48, p. 27-39.

De Smet, I., Van Hoorde, L., VandeWoestyne, M., Cristianes, H., and Verstraete, W. (1995). Significance of Bile Salt Hydrolytic Activities of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 79, p. 292-301.

De Souza, B, M, S., Borgonovi, T, F., Casarotti, S, N., Todorov, S, D., Penna, A, L, C. (2019). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* strains isolated from mozzarella cheese: probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 11, no 2, p. 382-396.

De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., & de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16(9), vol. 16, no 9, p. 1018-1028.

Deep, S., Kundu, S. (2015). Assessment of Preliminary in Vitro Probiotic Characteristics of the Folate Producing Yogurt Starter Culture *Streptococcus* and *Lactobacillus* Species.

Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., Palenzona, D. (2000). Adhesion, auto aggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in applied microbiology*, vol. 31, no 6, p. 438-442.

Denizot, J. (2013). Perméabilité intestinale et régulation de l'expression du gène CEACAM6: implication des bactéries *Escherichia coli* associées à la maladie de Crohn. Thèse de doctorat.

Références bibliographie

Desfossés-Foucault, E., Dussault-Lepage, V., Le Boucher, C., Savard, P., LaPointe, G., and Roy, D., (2012). Assessment of probiotic viability during Cheddar cheese manufacture and ripening using propidiummonoazide-PCR quantification. *Front. Microbial.* vol,3, p: 1–11.

Dhewa, T., Bajpai, V., Saxena, R.K., Pant, S., and Mishra, V. (2004). Selection of *Lactobacillus* strains as potential probiotics on basis of in vitro attributes. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, vol. 5, no 1, p. 45.

Dias, F, S., Duarte, W ,F., Santos, M ,R, R, M., RAMOS , E, R, M., SCHWAN , R, F. (2013) . Screening of *Lactobacillus* isolated from pork sausages for potential probiotic use and evaluation of the microbiological safety of fermented products. *Journal of food protection*, vol. 76, no 6, p. 991-998.

Divya, J, B., Varsha, K, K., Nampootheri, K, M. (2012). Newly Isolated Lactic Acid Bacteria with Probiotic Features for Potential Application in Food Industry. *Appl Biochem Biotechnol.*

Dolié, E. (2018). Rôle de la flore intestinale dans l'immunité: usage actuel des probiotiques et futures indications. Thèse de doctorat.

Doron, S., Gorbach, S.L. (2006). Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert review of anti-infective therapy*, 2006, vol. 4, no 2, p. 261-275.

Doyon, A., Tremblay, G., Cinq-mars, D., (2005). Influence de l'alimentation sur la composition du lait de chèvre: revue des travaux récents. In : *Colloque sur la chèvre. CRAAQ.* p. 1-23.

Draksler, D., Gonzálesa, S, and Oliver, G. (2004). Preliminary assays for the development of a probiotic for goats. *Reproduction Nutrition Development*, vol. 44, no 5, p. 397-405.

Dressaire, C. (2009). Comprendre l'adaptation de *Lactococcus lactis* par une approche de biologie intégrative à l'échelle du génome. Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.

Références bibliographie

Drouault, S .and Corthier, G. (2001) .Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research*, vol. 32, no 2, p. 101-117.

Duary, R. K., Y. S. Rajput, V. K. Batish, and S. Grover.(2011) .Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells.*Indian J. Med. Res.* 134: 664-671.

Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S.,... and Collins, K. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with in vivo findings. // *American Journals of Clinic Nutrition*, vol. 73, no 2, p. 386-392.

Ebel, B., Lemetais, G., Beney, L., Cachon, R., Sokol, H., Langella, P. and Gervais, P. (2014) .Impact of Probiotics on Risk Factors for Cardiovascular Diseases.A Review.*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, , vol. 54, no 2, p. 175-189.

Er-Razine, R. (2019).Le rôle du microbiote intestinal et son retentissement sur la prévalence des maladies métaboliques .Thèse de doctorat.

Even S, Lindley N, D., Loubiere ,P., Coccain-Bousquet, M .(2002). Dynamic response of catabolic pathways to autoacidification in *Lc. lactis*: transcript profiling and stability in relation to metabolic and energetic constraints. *Applied and Environmental Microbiology*.vol. 45, no 4, p. 1143-1152.

Fahmi, A. H., Sirry, I., and Safwat, A. (1956).The size of fat globules and the creaming power of cow, buffalo, sheep and goat milk.*Indian J. Dairy Sci*, vol. 9, p. 80-86.

FAO/OMS (2002).Guidelines for the evaluation of probiotics in food.Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS).Working Group Report.London, Ontario, Canada.

FAO/WHO (2002).Guidelines for the evaluation of probiotics in food.Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>. Accessed 28 July 2016

Références bibliographie

Fayol-Messaoudi, D., Berger, C, N., Coconnier-Polter, M, H., Lie´vin-Le Moal, V ., and Servin, A, L.(2005).pH-, Lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic Lactobacilli against *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium*. *Applied and environmental microbiology*, vol. 71, no 10, p. 6008-6013.

Ferrari, I, S., De Souza, J, V., RAMOS, C, L., da Costa,M,M., Schwan, R, F., Dias, F, S. (2016) .Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. *Food microbiology*, vol. 60, p. 29.

Ferreira, C, L.,Grzes´kowiak,L., Collado, M, C., and Salminen, S.(2011).In Vitro Evaluation of *Lactobacillus gasseri* Strains of Infant Origin on Adhesion and Aggregation of Specific Pathogens.*Journal of food protection*, 2011, vol. 74, no 9, p. 1482-1487.

Foerst, P., and Santivarangkna, C. (2016).Advances in Probiotic Technology: Probiotic Cell Cultivation. *Taylor and Francis Group, LLC*.

Forouhandeh, H., Vahed, S. Z ., Hejazi, M. S.,Nahaei,M,R .,and Dibavar,M,A.(2010). Isolation and phenotypic characterization of *Lactobacillus* species from various dairy products.*Current Research in Bacteriology*, vol. 3, no 2, p. 84-88.

Fragné, M. (2014).L'élevage caprin en France: situation actuelle et perspectives .Thèse de doctorat.

Françoise, L. (2010).Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products.*Food microbiology*, vol. 27, no 6, p. 698-709.

Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* ,vol. 66, no 5, p. 365-378.

Funck, G, D., Marques, J, L., Cruxen, C, E, D, S., Sehn, C, P.,Haubert, L., Dannenberg, G, D, S., ... Fiorentini, Â, M. (2019).Probiotic potential of *Lactobacillus curvatus* P99 and viability in fermented oat dairy beverage.*Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 43, no 12, p. e14286.

Références bibliographie

Gaddour, A., Najari, S., and Abdennebi, M. (2013). Physiochemical and sensory characteristics of yogurt produced from goat milk. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol. 12, no 24, p. 1700-1703.

Gagnon, M. (2007). Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale: analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins.

García-Cayuela, T., Korany, A. M., Bustos, I., Gomez de Cadiñanos, L. P., Requena, T., Peláez, C., and Martínez-Cuesta, M. (2014). Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype. *Food Research International*, vol. 57, p. 44-50.

Getaneh G, Mebrat A, Wubie A, Kendie H (2016) Review on Goat Milk Composition and Its Nutritive Value. *J Nutr Health Sci*, 2016, vol. 3, no 4, p. 1-10.

Ghatani, K., and Tamang, B. (2017). Assessment of probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from fermented yak milk products of Sikkim, India: Chhurpi, Shyow, and Khachu. *Food Biotechnology*, vol. 31, no 3, p. 210-232.

Gheziel, C., Russo, P., Arena, M. P., Spano, G., Ouzari, H. I., Kheroua, O., ... and Capozzi, V. (2018). Evaluating the probiotic potential of *lactobacillusplantarum* strains from Algerian infant feces, towards the design of probiotic starter cultures tailored for developing countries. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, vol. 11, no 1, p. 113-123.

Ghosh, T., Beniwal, A., Semwal, A., and Navani, N. K. (2019). Mechanistic insights into probiotic properties of lactic acid bacteria associated with ethnic fermented dairy products. *Frontiers in microbiology*, vol. 10, p. 502.

Gill, H. S., Rutherford, K. J., and Cross, M. L. (2001). Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. *Journal of Clinical Immunology*, vol, 21, no 4, p. 264-271.

Goetsch, A. L., Zeng, S. S., and Gipson, T. A. (2011). Factors affecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research*, vol. 101, no 1-3, p. 55-63.

Références bibliographie

Gómez, N, C., Ramiro, J, M, P., Quecan, B, X, V, and de Melo Franco, B, D, G. (2016).Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli O157: H7* biofilms formation. *Frontiers in microbiology*, vol. 7, p. 863.

Gotcheva, V., Hristozova, E., Hristozova, T., Guo, M., Roshkova, Z., and Angelov, A. (2002).Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains.*Food Biotechnology*, 16(3), vol. 16, no 3, p. 211-225.

Grosu-Tudor, S, S., Zamfir, M. (2012).Probiotic potential of some lactic acid bacteria isolated from Romanian fermented vegetables.*Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, vol. 17, no 1.

Grzeškowiak, L., Collado, M, C., Salminen, S. (2012).Evaluation of aggregation abilities between commensal fish bacteria and pathogens.*Aquaculture*, vol. 356, p. 412-414.

Guan, C., Chen, X., Jiang, X., Zhao , R., Yuan, Y., Chen, D.,... and Gu.,R.(2020).In vitro studies of adhesion properties of six lactic acid bacteria isolated from the longevous population of China. *RSC Advances*, vol. 10, no 41, p. 24234-24240.

Gudguen, L. (1997). La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre. *COLLOQUES-INRA*, p. 67-80.

Gueimonde, M., Jalonen, L., He, F., Hiramatsu, M., and Salminen, S. (2006).Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli.*Food research international*, vol. 39, no 4, p. 467-471.

Gueimonde, M., Sanchez, B., de los Reyes-Gavilan, C.G., and Margolles, A. (2013.)Antibiotic resistance in probiotic bacteria.*FRONTIERS IN MICROBIOLOGY*, 2013, vol. 4.

Références bibliographie

Guintard, C., Ridouh, R., Thorin, C., and F. Tekkouk-Zemmouchi (2018). Etude ostéométrique des métapodes de chèvres (*Capra hircus*, L., 1758) d'Algérie: cas de la race autochtone Arabia. *Revue Méd. Vét.*, vol. 169, p. 10-12.

Gunyakti, A., Asan-Ozusaglam, M. (2019). *Lactobacillus gasseri* from human milk with probiotic potential and some technological properties. *LWT*, vol. 109, p. 261-269.

Guo, C, F., Zhang, S., Yuan, Y, H., Yue, T, L., Li, J, Y. (2015). Comparison of lactobacilli isolated from Chinese suan-tsai and koumiss for their probiotic and functional properties. *Journal of Functional Foods*, vol. 12, p. 294-302.

Guo, M., Park, Y. W., Dixon, P. H., Gilmore, J. A., and Kindstedt, P. S. (2004). Relationship between the yield of cheese (Chèvre) and chemical composition of goat milk. *Small Ruminant Research*, vol. 52, no 1-2, p. 103-107.

Guo, Z., Wang, J., yan, L., Chen, W., Liu, X., Zhang, H. (2009). In vitro comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* a potential new probiotic, with selected probiotic strains. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 42, no 10, p. 1640-1646.

Haenlein, G. F. W. (1992). Rôle of goat meat and milk in human nutrition. In *Proceedings of the Fifth International Conference on Goats*. Indian Council of Agricultural Research Publishers. Vol. 2, No. part II, p. 575-580.

Haenlein, G. F. W. (2001). Past, present and future perspectives of small ruminant dairy research. *J. Dairy Sci.* vol. 84, no 9, p. 2097-2115.

Haenlein, G. F. W. (2004). Goat milk in human nutrition. *Small ruminant research*, vol. 51, no 2, p. 155-163.

Haghshenas, B., Nami, Y., Almasi, A., Abdullah, N., Radiah, D., Rosli, R., ...

Khosroushahi, A, Y. (2017). Isolation and characterization of probiotics from dairies. *Iranian journal of microbiology*, vol. 9, no 4, p. 234.

Références bibliographie

Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, S, S., Pal,N,K., andMandal, S. (2017).Indigenous probiotic *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria. *Biomedicines*, vol. 5, no 2, p. 31.

Hammes, W. P., and Hertel.C.(1995).Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2ndeds W. B. Whitman), p. 1450, pp.465-532.Springer Dordrecht Heidelberg London New York.

Hasali, N, H., Zamri, A, I., Lani, M, N., and Mubarak, A. (2018).Antibiotic susceptibility, antibacterial activity and Probiotic characterisation of isolated *lactobacillusBrevis*strains from *heterotrigonaitamahoney*.

Hashemi, S, M, B., Shahidi, F., Mortazavi, S, A.,Milani, E.,Eshaghi, Z. (2014) .Potentially probiotic *Lactobacillus* strains from traditional Kurdish cheese.*Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 6, no 1, p. 22-31.

Hayam M. Abbas, Fatma A.M. Hassan, Mona A.M. Abd El-Gawad and A. K. Enab. (2014). Physicochemical Characteristics of Goat's Milk.*Life Science Journal*, vol. 11, no 1s.

Henry, R. (2011). Caractérisation des régulateurs transcriptionnelsRgg et étude du rôle de la protéine Rgg0182 de *Streptococcus thermophilus*. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré-Nancy 1.

Hervé-Jiménez, L. (2009).Post-genomic analysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus* cooperative growth in milk .Thèse de doctorat.

Holzappel W H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., and Schillinger U.(2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition.*The American journal of clinical nutrition*.vol. 73, no 2, p. 365s-373s.

Holzappel, W. H., and Wood, B. J. (2014).Introduction to the LAB.*Lactic Acid Bacteria*, p. 1-12.

Références bibliographie

Hu, M., Zhao, H., Zhang, C., Yu, J., and Lu, Z. (2013). Purification and characterization of plantaricin 163, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 163 isolated from traditional Chinese fermented vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, no 47, p. 11676-11682.

Huys, G., Botteldoorn, N., Delvigne, F., Vuyst, L., Heyndrickx, M., Pot, B. (2013). Microbial characterization of probiotics—Advisory report of the Working Group « 8651 Probiotics » of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Molecular Nutrition and Food Research*. vol, 57, no, 8, p, 1479-1504.

Idoui, T. (2008). Bactérie lactiques indigènes: Isolement, identification et propriétés technologiques: Effets probiotiques chez le poulet de chair ISA15, le lapin de souche locale et le rat Wistar (Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella), Algérie, p. 179

Iñiguez-Palomares, C., Pérez-Morales, R., & Acedo-Félix, E. (2007). Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, vol. 49, no 3-4, p. 46-54.

Ivec, M., Botić, T., Koren, S., Jakobsen, M., Weingartl, H., Cencić, A. (2007). Interactions of macrophages with probiotic bacteria lead to increased antiviral response against vesicular stomatitis virus. *Antiviral research*, vol. 75, no 3, p. 266-274.

Ivory, K., Chambers, S, J., Pin, C., Prieto, E., Arqués, J, L., Nicoletti, C. (2008). Oral delivery of *Lactobacillus casei* Shirota modifies allergen-induced immune responses in allergic rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*, vol. 38, no 8, p. 1282-1289.

Jain, N., Mehta, A., and Bharti, V. (2017). Screening, Characterization, and In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of *Lactobacillus* Strains. *SCREENING*, vol. 10, no 8.

Jandal, J, M., (1996). Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, vol. 22, no 2, p. 177-185.

Jeronymo-Ceneviva, A, B., De Paula, A, T., Silva, L, F., Todorov, S, D., Dora, B, G., Franco, M., Penna, A, L, B. (2014) . Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo mozzarella cheese. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 6, no 3-4, p. 141-156.

Références bibliographie

Jia, L., Shigwedha, N., and Mwandemele, O, D. (2010). Use of Dacid-, Dbile-, zacid- and zbile- Values in Evaluating *Bifidobacteria* with Regard to Stomach pH and Bile Salt Sensitivity. *Journal of Food Science*, Vol.75, No.1, pp. M14- M18.

Jia, R., Chen, H., Chen, H., Ding W., (2016). Effects of fermentation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on product quality and fatty acids of goat milk yogurt. *Journal of dairy science*, vol. 99, no 1, p. 221-227.

Jobby, R., Flora, Y., Bora, A., Jha , P., Kawalkar ,H., Desai, N .(2020).Exploring Probiotic Activity of *Lactobacillus* sp. Isolated from Indigenous Breeds of Cattle Milk and Fecal Samples in Bhutan Village, MH., IN. *Current Microbiology*, p. 1-7.

Juarez, M., and Ramos, M. (1986).Physico-chemical characteristics of goat's milk as distinct from those of cow's milk.*Federation Internationale de Laiterie*.

Kacem, M., Zadi-Karam, H., & Karam, N. E. (2003). Identification of lactic acid bacteria isolated from milk and fermented olive oil in western Algeria. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, vol. 23, no 2, p. 135-141.

Kakelar,H, M., Barzegari, A., Hanifian, S., Barar, J., Omid, Y. (2018) .Isolation and Molecular Identification of *Lactobacillus* with Probiotic Potential from Abomasums Driven Rennet.*Food chemistry*, 2019, vol. 272, p. 709-714.

Kaktcham, P, M., Temgoua, J, B., Zambou, F, N. (2018).In vitro evaluation of the probiotic and safety properties of bacteriocinogenic and non-bacteriocinogenic lactic acid bacteria from the intestines of Nile tilapia and common carp for their use as probiotics in aquaculture. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 10, no 1, p. 98-109.

Kaktcham, P. M., Zambou, N. F., Tchouanguép, F. M., El-Soda, M., and Choudhary, M. I. (2012). Antimicrobial and safety properties of lactobacilli isolated from two Cameroonian traditional fermented foods. *Scientia Pharmaceutica*, vol. 80, no 1, p. 189-204.

Références bibliographie

Kapadiya, D. B., Prajapati, D. B., Jain, A. K., Mehta, B. M., Darji, V. B., and Aparnathi, K. D. (2016). Comparison of Surti goat milk with cow and buffalo milk for gross composition, nitrogen distribution, and selected minerals content. *Veterinary world*, vol. 9, no 7, p. 710

Karam, N. E. (1995). Constitution d'un souchier de bactéries lactiques à intérêt biotechnologique: étude biochimique et moléculaire (Thèse de doctorat, Université d'Oran), Algérie, p. 212.

Karam, N. E., and Zadi-Karam, H. (1994). Isolement et caractérisation de bactéries lactiques de laits crus d'Algérie. *Alimentation, génétique et santé de l'enfant*, Eds JF Desjeux et M. Touhami, L'Harmattan, p. 257-264.

Kassa, K. S., Ahounou, S., Dayo, G. K., Salifou, C., Issifou, M. T., Dotché, I., (2016). Performances de production laitière des races bovines de l'Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 10, no 5, p. 2316-2330.

Kaur, M., Singh, H., Jangra, M., Kaur, L., Jaswal, P., DUREJA, C., ... Pinnaka, A. K. (2017). Lactic acid bacteria isolated from yak milk show probiotic potential. *Applied Microbiology and biotechnology*, vol. 101, no 20, p. 7635-7652.

Kharrat, M., (2010). Capacités adaptatives de la chèvre Baladi alimentée sur parcours en conditions semi-arides de la Békaa (Liban). Thèse de doctorat. Montpellier, SupAgro.

Kim, J. H and Baik, S. H. (2019). Probiotic properties of *Lactobacillus* strains with high cinnamoyl esterase activity isolated from jeot-gal, high-salt fermented seafood. *Annals of Microbiology*, vol. 69, no 4, p. 407-417.

Kimmel, R. (2018). Intérêt des probiotiques dans le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* : revue de la littérature. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

Kimoto, H., Ohmomo, S., and Okamoto, T. (2002). Enhancement of bile tolerance in lactococci by Tween 80. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 92, no 1, p. 41-46.

Références bibliographie

Kizerwetter-Świda, M., Binek, M. (2016). assessment of potentially probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences* .Vol. 19, No. 1, p. 15–20

Kleanhammer, T.R., Barrangou, R., Buck, B.L., Azcarate-Peril, M.A., and Alermann, E. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 29, p. 3936-409.

Kos, B., Šušković, J., Beganović, J., Gjurac'ić, K., Frece, J., Iannaccone, C., Canganella, F. (2008). Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 24, no 5, p. 699-707.

Kumar, A., and Kumar, D. (2015). Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. *Anaerobe*, vol. 33, p. 117-123.

Kumar, H., Yadav, D., Kumar, N., Seth, R., and Goyal, A. K., (2016). Nutritional and nutraceutical properties of goat milk-a review. *Indian J. Dairy Sci*, vol. 69, p. 513-518.

Kumara, S. S., Bashisht, A., Venkateswaran, G., Hariprasad, P., Gayathri, D. (2018). Characterization of novel *Lactobacillus fermentum* from curd samples of indigenous cows from Malnad region, Karnataka, for their aflatoxin B 1 binding and probiotic properties. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 11, no 4, p. 1100-1109.

Kumari, A., Angmo, K., Monika, Savitri, and Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and partial purification of its bacteriocin. *CIBTech J. Biotechnol*, vol. 5, p. 8-16.

Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M., Ouhssine, M. (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-societe de pharmacie de bordeaux* .vol. 144, no 3/4, p. 237.

Lafleur, M. M. R., Litalema, L., Utshudienyema, N., Dino, L., Kapiteni, M., Justin, M., ... and Alio, A. (2018). Brief Theoretical Overview of the Goat (*Capra hircus* L. 1758) Indigenous of Ituri in the Democratic Republic of Congo and of Africa. *American Scientific*

Références bibliographie

Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS), vol. 44, no 1, p. 209-230.

Lai, C. Y., Fatimah, A. B., Mahyudin, N. A., Saari, N., and Zaman, M. Z. (2016). Physico-chemical and microbiological qualities of locally produced raw goat milk. *International Food Research Journal*, vol. 23, no 2.

Laitinen, K., Collado, M., and Isolauri, E. (2010). Early nutritional environment: focus on health effects of microbiota and probiotics. *Beneficial microbes*, vol. 1, no 4, p. 383-390.

Lau, L, Y, J., and Chye, F, Y. (2018). Antagonistic effects of *Lactobacillus plantarum* 0612 on the adhesion of selected foodborne enteropathogens in various colonic environments. *Food Control*, vol. 91, p. 237-247.

Lebeer, S., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S, C, J. (2008). Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews Dec*, vol, 72 no, 4, P.728-764.

Lee, K. W., Shim, J. M., Park, S. K., Heo, H. J., Kim, H. J., Ham, K. S., and Kim, J. H. (2016). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potentials from kimchi, traditional Korean fermented vegetable. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 71, p. 130-137.

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

Liévin-Le Moal, V., and Servin, A. L. (2014). Anti-infective activities of lactobacillus strains in the human intestinal microbiota: from probiotics to gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agents. *Clinical microbiology reviews*, vol. 27, no 2, p. 167-199.

Lilly, D. M., and Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, vol. 147, no 3659, p. 747-748.

Références bibliographie

Lim, S. M., and Im, D. S. (2009). Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *J. Microbiol. Biotechnol*, 2009, vol. 19, no 2, p. 178-186.

Lin, W, H., Yu, B., Jang, S, H., Tsen, H, Y. (2007). Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*, vol. 13, no 3-4, p. 107-113.

López-Aliaga, I., Alférez, M. J. M., Nestares, M. T., Ros, P. B., Barrionuevo, M., & Campos, M. S. (2005). Goat milk feeding causes an increase in biliary secretion of cholesterol and a decrease in plasma cholesterol levels in rats. *Journal of dairy science*, vol. 88, no 3, p. 1024-1030.

Mahrous, H., Badran, E, M., and El-Bagoury, A, M. (2014). Identification Of Potentially Probiotic Bacteria from Traditional Dairy Product (Laban Rayeb) Of Egypt. *International Journal of World Research*, vol. 1, no 5, p. 2347-2359.

Makete, G., Aiyegoro, O, A., and Thantsha, M, S. (2017). Isolation, identification and screening of potential probiotic bacteria in milk from south african saanen goats. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 9, no 3, p. 246-254.

Malago, J. J., Koninkx, J. F. J. G., and Marinsek-Logar, R. (2014). *Probiotic bacteria and enteric infections*. Springer ,2014 .

Malin, M., Suomalainen , H ., Saxelin, M., Isolauri ,E. (1996). Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus GG*. *Annals of Nutrition and Metabolism*, vol. 40, no 3, p. 137-145.

Mallappa, R, H., Singh, D, K., Rokana, N., Pradhan,D., Batish, V,K. (2019). Screening and selection of probiotic *Lactobacillus* strains of Indian gut origin based on assessment of desired probiotic attributes combined with principal component and heatmap analysis. *LWT*, vol. 105, p. 272-281.

Références bibliographie

Manzoor, A., UL-Haq, I., BAIG, S., Qazi, J. I., and Seratlic, S. (2016). Efficacy of locally isolated lactic acid bacteria against antibiotic-resistant uropathogens. *Jundishapur journal of microbiology*, vol. 9, no 1.

Maqsood, S., Hasan, F., and Masud, T. (2013). Characterization of lactic acid bacteria isolated from indigenous dahi samples for potential source of starter culture. *African journal of Biotechnology*, vol. 12, no 33.

Marteau, P., and Olivier, S. (2017). L'intolérance au lactose. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, vol. 52, p. S13-S18.

Martín, R., Jiménez, E., Olivares, M., Marín, M. L., Fernández, L., Xaus, J., and Rodríguez, J. M. (2006). *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int. J. Food Microbiol.* vol. 112, no 1, p: 35-43.

Masood, M. I., Qadir, M. I., Shirazi, J. H., and Ikram U, K. (2011). Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Critical reviews in microbiology*, vol. 37, no 1, p. 91-98.

Mathieu, J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. *Lavoisier Tec and Doc*. Pp .220.

Matsuzaki T., Saito M., Usuku K., Nose H., Izumo S., Arimura K. and Osame, M. (2005). A prospective uncontrolled trial of fermented milk drink containing viable *Lactobacillus casei* strain Shirota in the treatment of HTLV-1 associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis. *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 237, no 1-2, p. 75-81.

Mattar, A. F., Drongowski, R. A., Coran, A. G., and Harmon, C. M. (2001). Effect of probiotics on enterocyte bacterial translocation in vitro. *Pediatric surgery international*, vol. 17, no 4, p. 265-268.

Mattar, A., Teitelbaum, D. H., Drongowski, R., Yongyi, F., Harmon, C., and Coran, A. (2002). Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatric surgery international*, vol. 18, no 7, p. 586-590.

Meira, S. M., Helfer, V. E., Velho, R. V., Lopes, F. C., and Brandelli, A. (2012). Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese. *Journal of Dairy Research*, vol. 79, no 1, p. 119-127.

Références bibliographie

Mennigen, R., Nolte, K., Rijcken, E., Utech, M., Loeffler, B., Senninger, N., and Bruewer, M. (2009). "Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis." *American journal of physiology-Gastrointestinal and liver physiology*, vol, 296, no, 5, p: 1140-9.

Meybodi, M, N., Mortazavian, A. M., Sohrabvandi, S., Cruz, A. G., and Mohammadi, R. (2017). Probiotic supplements and food products, comparison for different targets.

Millette, M., Luquet, F, M., Ruiz, M, T ., and Lacroix , M. (2008) .Characterization of probiotic properties of Lactobacillus strains. *Dairy Science and Technology*, vol. 88, no 6, p. 695-705.

Minelli, E. B., Benini, A., Marzotto, M., Sbarbati, A., Ruzzenente, O., Ferrario, R., ... and Dellaglio, F. (2004). Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *International Dairy Journal*, vol. 14, no 8, p. 723-736.

Mishra, V., and Prasad, D. N. (2005). Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 103, no 1, p. 109-115.

Mohamadzadeh, M., Pfeiler, E, A., Brown, J, B., Zadeh, M., Gramarossa, M., Managlia, E.,... and Klaenhammer, T, R. (2011). Regulation of induced colonic inflammation by *Lactobacillus acidophilus* deficient in lipoteichoic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, no Supplement 1, p. 4623-4630.

Mohammed, A. (2014). Utilisation des tanins condensés de la pulpe de caroube en alimentation des caprins du nord du Maroc: Effet sur les performances de production et la qualité nutritionnelle des produits.

Mohanty, D. P., Mohapatra, S., Misra, S., and Sahu, P. S. (2016). Milk derived bioactive peptides and their impact on human health—A review. *Saudi journal of biological sciences*, vol. 23, no 5, p. 577-583.

Références bibliographie

Montanari, C., Kamdem, S, L. S., Serrazanetti, D, I., Etoa,F., Guerzoni, M,E.(2010).Synthesis of cyclopropane fatty acids in *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus* *franciscensis* and their cellular fatty acids changes following short term acid and cold stresses. *Food microbiology*, vol. 27, no 4, p. 493-502.

Monteagudo-Mera, A., Rodríguez-Aparicio, L., Rúa, J., Martínez-Blanco, H., Navasa, N., García-Armesto, M. R., and Ferrero, M. Á. (2012). In vitro evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin. *Journal of Functional Foods*, vol. 4, no 2, p. 531-541.

Montoro, B, P., Benomar, N., Lavilla Lerma, L., Gutiérrez, S, C., Gálvez, A., and Abriouel, H. (2016).Fermented Aloreña table olives as a source of potential probiotic *Lactobacillus pentosus* strains. *Frontiers in microbiology* vol. 7, p. 1583.

Morelli, L. (2007).In vitro assessment of probiotic bacteria: From survival to functionality. *International Dairy Journal*, vol. 17, no 11, p. 1278-1283.

Morelli, L.(2000) .In vitro selection of probiotic lactobacilli: a critical appraisal. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, vol. 1, no 2, p. 59-67.

Morgan, F., Massouras, T., Barbosa, M., Roseiro, L., Ravasco, F., Kandarakis., ... and Raynal-ljutovac, D. (2003). Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small Ruminant Research*vol. 47, no 1, p. 39-49.

Mukdsi, M. C. A., Haro, C., González, S. N., and Medina, R. B. (2013).Functional goat milk cheese with feruloyl esterase activity.*Journal of Functional Foods*, vol. 5, no 2, p. 801-809.

Mureşan, A., Sârbu, I., Pelinescu, D., Ionescu, R., Csutak,O., Stoica, I,C,O., Vassu-dimov, T. (2018) .In vitro selection of some lactic acid bacteria strains with probiotic potential. *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 23, no 1, p. 13327.

N'tcha, C., Haziz, S., Agbobatinkpo, P., Vieira-Dalodé., G, Boya, B., Codjia,J, T, C ... Baba-Moussa, L. (2016).Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from a beninese

Références bibliographie

traditional beer's ferment. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, vol. 7, no 2, p. 314-330.

Nader, M., Gewaily, E.M., Bedrous, V.S., and Mohamed, G.M. (2017).Screening of potential probiotic lactic acid bacteria from different sources by *in vitro* tests. *Journal of Agricultural Research*, vol. 45, no 1, p. 301-315.

Nallala, V.,Sadishkumar, V., and Jeevaratnam, K. (2017).Molecular characterization of antimicrobial *Lactobacillus* isolates and evaluation of their probiotic characteristics in vitro for use in poultry. *Food Biotechnology*, vol. 31, no 1, p. 20-410.

Nami, Y., Haghshenas, B., Bakhshayesh, R, V., Jalaly, H, M.,Lotfi, H.,Eslami,S , Hejazi , M, A.(2018) .Novel autochthonous lactobacilli with probiotic aptitudes as a main starter culture for probiotic fermented milk. *LWT*, vol. 98, p. 85-93.

Nebyou, A, E., Sharma, S, P., and Taneja, P. (2020).Anti-microbial activity of potential probiotic lactic acid bacteria against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA).*bioRxiv*.

Nemska, V., Logar, P., Rasheva, T., Sholeva,Z., Georgieva, N., Danova, S. (2019). Functional characteristics of lactobacilli from traditional Bulgarian fermented milk products. *Turkish Journal of Biology*, vol. 43, no 2, p. 148-153.

Niessen,C, M.(2007) .Tight Junctions/Adherens Junctions: Basic Structure and Function. *Journal of Investigative Dermatology*, Vol, 127,no 11, p: 2525–2532.

Nikolic, M., López, P., Strahinic, I., Suárez, A., Kojic, M., Fernández-Garcí, M., ... andRuas-Madiedo, P.(2012).Characterisation of the exopolysaccharide (EPS)-producing *Lactobacillus paraplantarum*BGCG11 and its non-EPS producing derivative strains as potential probiotics.*International journal of food microbiology*, vol. 158, no 2, p. 155-162.

Nivoliez, A., Veisseire, P., Alaterre, E., Dausset, C., Baptiste, F., Camarès, O., Paquet-Gachinat , M. , Bornes, S.(2014).Influence of manufacturing processes on cell surface

Références bibliographie

properties of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35®. *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 99, no 1, p. 399-411.

Nurliyani, N., Eni, H., and Mhne, S. (2012).The effect of goat milk fractions supplementation on serum IgE response and leukocytes count in dinitrochlorobenzene sensitized rat. p. 795-798.

Obinna-Echem, P, C. (2018). “Acid, Bile and Aggregation Abilities of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from *Akamua* Nigerian Fermented Maize Food.” *American Journal of Food Science and Technology*, vol. 6, no. 1, P. 7-11.

Oldak, A., Zielińska, D., Rzepkowska, A., Długosz, E., Kolożyn-Krajewska, D. (2017).Comparison of antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from two different kinds of regional cheeses from Poland: oscypek and korycinski cheese. *BioMed research international*, vol. 2017.

Ouadghiri, M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine.

Owusu-Kwarteng, J., Tano-Debrah, K., Akabanda, F., and Jespersen.(2015).Technological properties and probiotic potential of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from West African fermented millet dough. *BMC microbiology*, vol. 15, no 1, p. 261.

Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P, R., Ranganath, N, N., Veerabhadrapa, P.(2018).Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification.*Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, vol. 16, no 2, p. 357-362.

Pageot,M.,Primault, F. (2016) .Le point sur les probiotiques en parodontologie et odontologie conservatrice en 2015.Thèse de doctorat.

Références bibliographie

Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Foligné, B., Alexandraki, V., Kazou, M., Pot, B., and Etsakalidou, E. (2015). Discovering probiotic microorganisms: invitro, invivo, genetic and omics approaches. *Frontiers in microbiology*, vol. 6, p. 58.

Park, Y. W. (Ed.). (2009). *Bioactive components in milk and dairy products*. John Wiley and Sons.

Park, Y. W., and Haenlein, G. F. (2007). Goat milk, its products and nutrition. *Handbook of food products manufacturing*, vol. 2, p. 449-488.

Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., and Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* vol, 68, no1, p. 88-113.

Parker, R. B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*, vol. 29, p. 4-8.

Parvez, S., Malik, K.A., Kang, S. A., and Kim, H.-Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 100, no 6, , p. 1171-1185.

Patel, A, K., Singhania, R,R., Pandey, A., Chincholkar, S,B. (2010). Probiotic bile salt hydrolase: current developments and perspectives. *Appl Biochem Biotechnol*, vol, 162 ,no, 1, p. 166-180.

Pennacchia, C., Ercolini, D., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G., Villani, F. (2004) . Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat science*, vol. 67, no 2, p. 309-317.

Pensuet P., Toussaint G., (1995). La chèvre. In : L'élevage des chèvres et des moutons. Paris : De Vecchi S.A., 274 pp.

Peres, C, M., Alves, M., Hernandez-mendoza, A., Moreira, L., Silva, S., Bronze, M, R... and Malcata, F. X. (2014). Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 59, no 1, p. 234-246.

Références bibliographie

Phillips, C. J. C. (2012).The welfare of dairy goats. In *First Asia Dairy Goat Conference*, Vol. 9, p. 43.

Piquepaille, C. (2013) .Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales.Thèse de doctorat. Université de Limoges.

Pisano, M, B., Viale, S., Conti, S., Fadda, M, E., Deplano, M.,Melis, M, Deiana, M., and Cosentino, S. (2014).Preliminary evaluation of probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from Sardinian dairy products. *BioMed research international*, vol. 2014.

Pithva, S., Shekh, S., Dave, J., Vyas, B, R, M. (2014). Probiotic attributes of autochthonous *Lactobacillus rhamnosus* strains of human origin. *Applied biochemistry and biotechnology*, vol. 173, no 1, p. 259-277.

Pokorná, A., Maňáková, T., Čížek, A., (2019).Properties of potentially probiotic Lactobacillus isolates from poultry intestines. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 88, no 1, p. 73-84.

Pozo-Rubio, T., Olivares, M., Nova, E., De Palma, G., Mujico, J. R., Ferrer, M. D., ... and Sanz, Y. (2012).Immune development and intestinal microbiota in celiac disease.*Clinical and Developmental Immunology*, vol. 2012, P. 12.

Prabhurajeshwar, C., and Chandrakanth, R. K. (2017). Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances. *biomedical journal*, vol. 40, no 5, p. 270-283.

Preidis, G. A., and Versalovic, J. (2009). Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology*, vol. 136, no 6, p. 2015-2031.

Preidis, G. A., Hill, C., Guerrant, R. L., Ramakrishna, B.S.,Tannock,G. W.,Versalovic, J. (2011).Probiotics, enteric and diarrheal diseases, and global health.*Gastroenterology*, vol. 140, n°1, p. 8–14.

Puniya, M., Sangu, K. P. S., and Bhardwaj, A.(2012).Isolation and biochemical characterization of Lactobacillus species isolated from Dahi. *Journal of Research in Antimicrobials*, vol. 1, p. 1-11p.

Références bibliographie

- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., Girbés, T.** (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences* .vol. 5, no 18, p. 1765.
- Quwehand, A. C., and Vesterlund, S.** (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *Lactic Acid Bacteria. FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 2004, vol. 139, p. 375-396.
- Rahman, M. M., Aktar, S., Faruk, M. O., Uddin, M. S., Ferdouse, J., and Anwar, M. N.** (2018). Probiotic Potentiality of *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* MTi1 and *Lactobacillus coryniformis* MTi2 Isolated from Intestine of Nile Tilapia: An in vitro Evaluation. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, vol. 12, no 3, p. 1037-1045.
- Rahman, S. M. K.** (2015). Probiotic properties analysis of isolated lactic acid bacteria from buffalo milk. *Archives of clinical microbiology*, vol. 7, no 1, p. 6.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., Baines, S. K.** (2014). Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *Journal of Functional Foods*, vol. 8, p. 18-25.
- Rao, K. P., Chennappa, G., Suraj, U., Nagaraja, H., Charith Raj, A. P., Sreenivasa, M. Y.** (2015). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from sorghum-based traditional fermented food. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 7, no 2, p. 146-156.
- Rayavarapu, B., Tallapragada, P.** (2019). Evaluation of potential probiotic characters of *Lactobacillus fermentum*. *Scientific Study & Research. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, vol. 20, no 2, p. 183-197.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., and Chilliard, Y.** (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small ruminant research*, vol. 79, no 1, p. 57-72.
- Rejiniemon, T. S., Hussain, R. R., and Rajamani, B.** (2015). In-vitro functional properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented ragi malt. *South Ind J Biol Sci*, 1(1), 15-23. vol. 1, no 1, p. 15-23.

Références bibliographie

Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Rubayet Ul Alam .,A. S. M., and Jahid, I. K. (2020).Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no 2, p. 1223-1237.

Revilla Guarinos, A. (2014). Characterization of Two Component Systems of *Lactobacillus casei* BL23 and their involvement in stress response. Thèse de doctorat.

Riane, K., Sifour, M., Ouled-Haddar, H.,Idoui ,T . , Bounar,S., and Boussebt, S. (2020).Probiotic properties and antioxidant efficiency of lactobacillus plantarum 15 isolated from milk. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 9, no 5, p. 516-520.

Ribeiro, S, C., Stanton, C., Yang, B., Ross, R. P.,Silva,C, C.G. (2018). Conjugated linoleic acid production and probiotic assessment of *Lactobacillus plantarum* isolated from Pico cheese. *LWT*, vol. 90, p. 403-411.

Rizqiati, H., Sumantri, C., Noor, R. R., Damayanthi, E., and Rianti, E. I. (2015).Characteristics of indigenous probiotic from river buffalo milk in North Sumatera Indonesia. *Int J Sc Basic Appl Res*, vol. 22, p. 113-120.

Rodas, A. M., Ferrer, S., and Pardo, I. (2005).Polyphasic study of wine *Lactobacillus* strains: taxonomic implications. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, vol. 55, no 1, p. 197-207.

Rodríguez, E., Arqués, J. L., Rodríguez, R., Peirotén, Á., Landete, J. M., and Medina, M. (2012). Antimicrobial properties of probiotic strains isolated from breast-fed infants. *Journal of Functional Foods*, vol. 4, no 2, p. 542-551.

Roos, S., and Jonsson, H. (2002). A high-molecular-mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus componentsThe GenBank accession number for the sequence reportedin this paper is AF120104. *Microbiology*, vol. 148, no 2, p. 433-442.

Références bibliographie

Roostita, L. B., Khotimah, K., Hunainah, R. S., Safitri, R., Miranti, M., Chairunnisa, H., Utama, G. L. (2015). Characterization of *Enterococcus* bacteria isolated from bovine colostrum as probiotics. *Sci Bull Ser F Biotechnol*, vol. 11, p. 202-5.

Rubio, R., Jofré, A., Martín, B., Aymerich, T., Garriga, M. (2014). Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faeces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages. *Food microbiology*, vol. 38, p. 303-311.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Ma'ntto, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, vol. 84, no 3, p. 197-215.

Sahi, S., Afri-Bouzebda, F., Bouzebda, Z., and A Djaout. (2018). Étude des mensurations corporelles de caprins dans le Nord-Est algérien. *Livestock Research for Rural Development*, , vol. 30.

Sahoo, S., Maji, U. J., and Mohanty, S. (2020). Incidence and preliminary characterization of Lactic acid bacteria as potential probiotic strains from an artisanal milk product, Chilika curd of Odisha.

Saini, A. L., and Gill, R. S. (1991). Goat milk: An attractive alternate. *Indian Dairyman*, vol. 42, p. 562-564.

Saini, K and Tomar, S. K., (2017). In vitro evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* cultures of human origin capable of selenium bioaccumulation. *LWT*, vol. 84, p. 497-504.

Salveti, E., Torriani, S., and Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 4, no 4, p. 217-226.

Samedi, L., and Charles, A. L. (2019). Evaluation of technological and probiotic abilities of local lactic acid bacteria. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, vol. 7, no 1, p. 9-19.

Sánchez, M. T., Adolfin Ruiz, M., and Morales, M. E. (2017). Evaluation of Tablets Containing a Probiotic Strain for an Oral Administration. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 5, p. 194-206.

Références bibliographie

Sanders, M, E., (2003).Probiotics: considerations for human health. *Nutrition reviews*, vol. 61, no 3, p. 91-99.santé humaine. Masson, Paris. Vol, 6.p. 35-41.

Santos, T, T., Ornella, R, M, S., Arcucio, L, B., Oliveira, M, M.,Nicoli, J, R., ... and Vinderola, G. (2016).Characterization of lactobacilli strains derived from cocoa fermentation in the south of Bahia for the development of probiotic cultures. *LWT*, vol. 73, p. 259-266.

Savado, A., and Traore, A, S. (2011).La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 5, no 5, p. 2057-2075.

Schär-Zammaretti, P., and Ubbink, J. (2003) .The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations. *Biophysical Journal*, vol. 85, no 6, p. 4076-4092.

Sengupta, R ., Altermann, E., Anderson, R, C., McNabb, W, C., Moughan, P, J., and Roy, N, C. (2013). The role of cell surface architecture of lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract.*Mediators of inflammation*, vol. 2013.

Setyawardani, T., Rahayu, W. P., Maheswari, R., and Palupi, N. H. S. (2011). Identification and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from indigenous goat milk. *Animal Production*, vol. 13, no 1.

Shaikh, M., and Shah, G. (2013).Determination of probiotic properties of lactic acid bacteria from curd.*Global Journal of Biology, Agriculture & Health Sciences*, vol. 2, p. 119-122.

Sharma, K., Sharma, N., and Sharma, R.(2016). Identification and evaluation of in vitro probiotic attributes of novel and potential strains of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products of North-West Himalayas. *J Clin Microbiol Biochem Technol*, vol. 2, no 1, p. 018.

Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkar, C. D., and Singh, A. (2014). Selection criteria for probiotics: A review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*,vol. 9.

Références bibliographie

Shida, K., Suzuki, T., Kiyoshima-Shibata, J., Shimada, S., and Nanno, M. (2006).Essential roles of monocytes in stimulating human peripheral blood mononuclear cells with *Lactobacillus casei* to produce cytokines and augment natural killer cell activity.*Clinical and Vaccine Immunology*, vol, 13,no 9, p. 997-1003.

Shinde, P, B. (2012) .Probiotic: an overview for selection and evaluation.*Int J Pharm and Pharm Sci*, 2012, vol. 4, p. 14-21.

Shuhadha, M, F, F., Panagoda, G, J., Madhujith, T., Jayawardana, N, W, I, A. (2017).Evaluation of probiotic attributes of *Lactobacillus* sp. isolated from cow and buffalo curd samples collected from Kandy. *Ceylon Medical Journal*, vol. 62, no 3.

Silva, C. C. G., Domingos-Lopes, V, M. F. P., Magalhães,A. F., Freitas ,D. A. S. R., Rosa ,H. J. D. ,and Dapkevicius, M. L. N. E. (2015). Latin-style fresh cheese enhances lactic acid bacteria survival but not *Listeria monocytogenes* resistance under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Dairy Science*, vol. 98, no 7, p. 1-7.

Silva, J. G., Castro, R. D., Sant'anna, F. M., Barquete,R,M., Oliveira,L,G. ,Acurcio,L,B.,and Souza,M,R. (2019) . In vitro assessment of the probiotic potential of lactobacilli isolated from Minas artisanal cheese produced in the Araxá region, Minas Gerais state, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária and Zootecnia*, vol. 71, no 2, p. 647-657.

Singh, T. P., Malik, R. K., Gurpreet, K., Renuka. (2014).Safety assessment and evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus reuteri* strains under in vitro conditions.*International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 3, no 2, p. 335-348.

Singh, T.P., Kaur, G., Malik, R.K., Schillinger, U., Guias, C. and Kapila, S. (2012). Characterization of Intestinal *Lactobacillus reuteri* Strains as Potential Probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, vol, 4, no 1, p .47-58.

Siroli, Lorenz., Patrignani, F., Serrazanetti, D, I.,Parolin, C ., Palomino, R, A, Ñ., Vitali, B., and Lanciotti, R. (2017).Determination of antibacterial and technological properties of vaginal lactobacilli for their potential application in dairy products.*Frontiers in microbiology*, vol. 8, p. 166.

Références bibliographie

Slačanac, V., Božanić, R., Hardi, J., Rezessyné Szabó, J. U. D. I. T., Lučan, M., & Krstanović, V. (2010). Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *International Journal of Dairy Technology*, vol. 63, no 2, p. 171-189.

Socol, C, R., Vandenberghe, L, P, D, S., Spier, M, R., Medeiros, A, B, P., Yamaguishi, C, T., Lindner, J, D, D., ... and Thomaz-Socol, V. (2010). The potential of probiotics: a review. *Food Technology and Biotechnology*, vol. 48, no 4, p. 413-434.

Song, M., Yun, B., Moon, J., Park, D, J., Lim, K., and Oh, S. (2015). Characterization of selected *Lactobacillus* strains for use as probiotics. *Korean journal for food science of animal resources*, vol. 35, no 4, p. 551.

Sridevi, V., Sirisha, R., and Swapna, S. N. (2015). Screening of probiotic Goat Milk and Cow Milk isolates for acid resistance, antagonistic activity and tolerance to antimicrobial activity of Spices: molecular identification of potential probiotic goat milk isolate, G8. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 4, p. 406-421.

Srivesharam, S., Park, H, S., Soundharajan, I, Kuppusamy, P., Kim, D, H., Jayraaj, I, A., ... Choi, K, C. (2018). Evaluation of probiotic *Lactobacillus plantarum* against foodborne pathogens and its fermentation potential in improving *Lolium multiflorum* silage quality. *Biotech*, vol. 8, no 10, p. 443.

Stanton, C., Desmond, C., Coakley, M., Collins, J, K., Fitzerald, G., and Ross, R, P. (2003). Challenges facing development of probiotic containing functional foods. In: *Franworth, E.R. (Ed.), Handbook of Fermented Functional Foods*. Vol. 27. p. 27–58.

Stiles, M, E., Holzapfel, W, H., (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 36, no 1, p. 1-29.

Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., ... and Liu, W. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature communications*, vol. 6, no 1, p. 1-13 .

Références bibliographie

Suvarna, S., Dsouza, J., Ragavan, M, L., Da, N. (2018).Potential probiotic characterization and effect of encapsulation of probiotic yeast strains on survival in simulated gastrointestinal tract condition. *Food science and biotechnology*, vol. 27, no 3, p. 745-753.

Taale, E. (2016).Recherche de molécules bioactives d'origine microbienne: caractérisation biochimique et moléculaire des souches de bactéries isolées du Soumbala, du Bikalga et de certains yaourts consommés au Burkina Faso, productrices de bactériocines .Thèse de doctorat.

Tailliez P. (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. Masson, Paris. Vol, 6.p. 35-41.

Tallon, R., Arias, S., Bressollier, P., Urdaci,M.C.(2007) .Strain-and matrix dependent adhesion of *Lactobacillus plantarum* is mediated by proteinaceous bacterial compound. *Journal of applied microbiology*, vol. 102, no 2, p. 442-451.

Tareb, R ., Bernardeau, M., Gueguen, M., Vernoux, J,P.(2013).In vitro characterization of aggregation and adhesion properties of viable and heat-killed forms of two probiotic *Lactobacillus* strains and interaction with foodborne zoonotic bacteria, especially *Campylobacter jejuni*. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 62, no 4, p. 637-649.

Tavakoli, M., Hamidi-Esfahani, Z., Hejazi, M. A., Azizi, M. H., and Abbasi, S. (2017). Characterization of probiotic abilities of *Lactobacilli* isolated from Iranian Koozeh traditional cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 67, no 1, p. 41-48.

Taylor, S. L. (1986). Immunologic and allergic properties of cows' milk proteins in humans. *Journal of food protection*, vol. 49, no 3, p. 239-250.

Teanpaisan, R., and Dahlen, G. (2006). Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species.*Oral microbiology and immunology*, vol. 21, no 2, p. 79-83.

Références bibliographie

Tefiel, H., Ata, N., Chahbar, M., Benyarou, M., Fantazif, K., Yilmaz, O., ..., and Gaouar, S, B, G.(2018).Genetic characterization of four Algerian goat breeds assessed by microsatellite markers.*Small Ruminant Research*, vol. 160, p. 65-71.

Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J. (2003).Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products.*International Journal of Food Microbiology*, vol. 81, no 1, p. 1-10.

Tesfaye, A. (2014). Antagonism and primary in vitro probiotic evaluation of lactic acid bacteria (LAB) recovered from ergo. *ARPN J Agric Biol Sci*, vol. 9, no 7, p. 240-245.

Thirabunyanon, M., Boonprasom, P., and Niamsup, P. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from fermented dairy milks on anti proliferation of colon cancer cells. *Biotechnology letters*, vol. 31, no 4, p. 571-576.

Thomas, M. (2016). Place de la micronutrition dans la prise en charge à l'officine des patients pour lesquels le gluten est déconseillé. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

Todorov, S, D., Holzapfel, W., and Nero, L, A. (2017).In Vitro evaluation of beneficial properties of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* ST8Sh. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 9, no 2, p. 194-203.

Todorov, S. D., Furtado, D. N., Saad, S. M. I., Tome, E., and Franco, B. D. G. M. (2011). Potential beneficial properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 110, no 4, p. 971-986.

Tokatli, M., Gülgör, G., Bağder Elmaci, S., Egleyen,N.,A. and Özçelik. F. (2015).In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles.*BioMed research international*, vol. 2015.

Tongwa, Q, M., Manet, L., Mouafo, H, T., and Fossi,B,T. (2019).Evaluation of Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raphia Palm Wine (*Raffia mambillensis*).*South Asian Journal of Research in Microbiology*, p. 1-14.

Références bibliographie

Trias, M, R. (2008).Lactic acid bacteria as bioprotective agents against foodborne pathogens and spoilage microorganisms in fresh fruits and vegetables.University of Girona.

Tsai, C. C., Chou, L. C., Tsen, H. Y., and Lin, J.S. (2016) .An in vitro Investigation of the Antagonistic Effects of Multiple Strains of *Lactobacillales* on *Salmonella Enterica Serovar Choleraesuis*.*Appli Micro Open Access*, 2 (1000109), vol. 2.

Tulumoglu, S., Kaya, H. I., and Simsek, O., Ph, D. (2014).Probiotic characteristics of *Lactobacillus fermentum* strains isolated.

Tulumoglu, S., Yuksekdag, Z, N., Beyatli, Y., Simsek, O., Cinar, B, Yaşar, E. (2013). Probiotic properties of lactobacilli species isolated from children's feces. *Anaerobe*, vol. 24, p. 36-42.

Tuo, Y., Zhang, W., Zhang, L., Ai, L., Zhang, Y., Han, X., Yi, H. (2013). Study of probiotic potential of four wild *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Anaerobe*, vol. 21, p. 22-27.

Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E., and Salminen, S. (2001).Quality assurance criteria for probiotic bacteria.*The American journal of clinical nutrition, The American journal of clinical nutrition*, vol. 73, no 2, p. 393s-398s.

Twetman, L., Larsen, U., Fiehn, N, E., Steckse´ N-Blicks,C ., and Twetman, S. (2009).Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: an in vitro study. *Acta Odontologica Scandinavica*, vol. 67, no 5, p. 284-288

Tziboula-Clarke, A., (2003).Encyclopedia of Dairy Science., vol. 2'.(Eds H Roginnski, JW Fuquay, PF Fox) pp. 1270–1279. 2003.

Vamanu, E., Vamanu, A., Pelinescu, D., Nita, S., and Rusu, N. (2011).The Viability of the *Lactobacillus rhamnosus* IL4. 2 strain in simulated gastrointestinal conditions. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, vol. 44, no 1, p. 459-464.

Références bibliographie

Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., DeVos, P., kersters, K. and Swings, J. (1996).

Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiological reviews*, vol. 60, no 2, p. 407-438.

Vasiee, A., BehbahanI, B, A., Yazdi, F, T., Mortazav, S., Noorbakhsh,H. (2018).

Diversity and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from horreh, a traditional Iranian fermented food. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 10, no 2, p. 258-268.

Vasiljevic, T., Shah, N.P., (2008). Probiotics From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*.Vol, 18, p.714-728.

Vignola, C, L. (2002).Science et technologie du lait: transformation du lait. *Presses inter Polytechnique*.

Villeger, R. (2014).Etude in vitro des propriétés probiotiques de bactéries du genre *Bacillus*: Interaction avec l'hôte et effets de l'association avec un prébiotique. Thèse de doctorat.

Vizoso Pinto, M, G., Schuster, T., Briviba, K.,Watz, B., Holzapfel, W, H., and Franz, C, M, A, P. (2007).Adhesive and chemokine stimulatory properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains.*Journal of food protection*, vol. 70, no 1, p. 125-134.

Wadoum, R. E. G., Florence, F. A., Marie, K. P., Kamdem, U. L. B., Kenfack, C. H. M., Edith-Marius, F. K., ... and Ngoufack, F. Z. (2019). In Vitro Antimicrobial Characterization of *Lactobacillus* Isolates Towards Their Use as Probiotic Alternatives to Antibiotic Growth Promoters. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 4, no 3, p. 72.

Waśko, A., Polak-Berecka, M., Paduch, R., & Józwiak, K. (2014).The effect of moonlighting proteins on the adhesion and aggregation ability of *Lactobacillus helveticus*.*Anaerobe*, vol. 30, p. 161-168.

Wassie, M., and Wassie, T. (2016) .Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk.*Int J Adv Res Biol Sci*, vol. 3, no 8, p. 44-49.

Références bibliographie

Watzl, C. (2008).Natural killer cells, probiotics and cancer. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, vol. 3, no 3, p. 141-146.

Wu, C., He, G., and Zhang, J. (2014).Physiological and proteomic analysis of *Lactobacillus casei* in response to acid adaptation. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, vol. 41, no 10, p. 1533-1540.

Yadav, R., Singh, P, K., Puniya, A, K., and Shukla, P. (2017).Catalytic interactions and molecular docking of bile salt hydrolase (BSH) from *L. plantarum* RYPR1 and its prebiotic utilization. *Frontiers in microbiology*, vol. 7, p. 2116.

Yan, F., Cao, H., Cover, T, L., Whitehead,R., Washington, M, K., and Polk, D,B .(2007).Soluble Proteins Produced by Probiotic Bacteria Regulate Intestinal Epithelial Cell Survival and Growth. *Gastroenterology*, vol. 132, no 2, p. 562-575.

Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suàrez, V., Vinderola, G., ...and Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), vol. 28, no 5, p. 1033-1040.

Zamani, H. (2016).Isolation of a potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* from Siahmezgi cheese and its characterization as a potentially probiotic.

Zamfir ,M ., Grosu-Tudor, S, S.(2013). Stress response of some lactic acid bacteria isolated from Romanian artisan dairy products . *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 30, no 2, p. 375-384.

Zeller, B. (2005).Le fromage de chèvre: spécificités technologiques et économiques. Thèse de doctorat.

Zenebe, T., Ahmed, N., Kabeta, T., and Kebede, G. (2014). Review on medicinal and nutritional values of goat milk. *Academic Journal of Nutrition*, vol. 3, no 3, p. 30-39.

Zervas, G., and Tsiplakou, E. (2013).Goat milk. *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*, p. 498-518.

Références bibliographie

Zheng, J., Ruan, L., Sun, M., and Gänzle, M. (2015). A genomic view of lactobacilli and pediococci demonstrates that phylogeny matches ecology and physiology. *Applied and environmental microbiology*, vol. 81, no 20, p. 7233-7243.

Zhou, J. S., Pillidge, C. J., Gopal, P. K., Gill, H. S. (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *International journal of food microbiology*, vol. 98, no 2, p. 211-217.

Zielińska, D., Rzepkowska, A., Radawska, A., & Zieliński, K. (2015). In vitro screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Current microbiology*, vol. 70, no 2, p. 183-194.

Zoumpopoulou, G., Foligne, B., Christodoulou, K., Grangette, C., Pot, B., Tsakalidou, E. (2008). *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. *International journal of food microbiology*, vol. 121, no 1, p. 18-26.

Zoumpopoulou, G., Tzouvanou, A., Mavrogonatou, E., Alexandraki, V., Georgalaki, M., Anastasiou, R. (2018). Probiotic features of lactic acid bacteria isolated from a diverse pool of traditional Greek dairy products regarding specific strain-host interactions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, vol. 10, no 2, p. 313-322.

Zweifel, C., Muehlherr, J. E., Ring, M. and Stephan, R. (2005). Influence of different factors in milk production on standard plate count of raw small ruminant's bulk tank milk in Switzerland. *Small Ruminant Research*, vol. 58, no 1, p. 63-70.

Zyrek, A. A., Cichon, C., Helms, S., Enders, C., Sonnenborn, U., and Schmidt M A. (2007). "Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKC ζ redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair." *Cellular microbiology*, vol. 9, no, 3, p: 804-816.

Annexe

Annexe I :

Matériels de laboratoire

- Appareils utilisés
- Agitateur + plaque chauffante (STUART)
- Autoclave
- Bain marie
- Balance de précision
- Bec bunsen
- Centrifugeuse électrique
- Compteur de colonies
- Etuve bactériologique
- Four Pasteur
- Jarre d'anaérobiose
- Micropipettes
- Microscope optique
- pH-mètre
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre
- Vortex électrique
- **Produits chimiques**
- Ethanol 96%
- Solution d'eau oxygénée (3%)
- Peptone
- NaCl
- NaOH 0.1M
- HCl (Biochemchemopharma)
- Violet de gentien
- Fushine
- Phénolphtaléine
- Alcool
- Lugol

Annexe

- Verrerie
- Boîtes de pétri
- Tubes à essai
- Pipette Pasteur
- Eprouvettes, fioles, bécher, pipettes

Annexe II: Composition des milieux de cultures

❖ Milieux solides :

Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960) : ce milieu est recommandé pour la croissance des Lactobacilles

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose.....	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	0.05 g
Agar.....	12g
Tween80	1 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml

pH =6.5

Autoclavage : 121°C /15min

❖ Milieux liquides :

Bouillon Nutritif (Diagnostic Liofilchem, Italie)

Extrait de viande.....	1 g/l
Extrait de levure.....	2 g/l
Peptone.....	5 g/l
Chloride de sodium.....	5 g/l

pH du milieu : 6,8±0,2

Stériliser par autoclavage à 120°C pendant 15 min

Annexe

MRS -Bouillon

Peptone	10g
Extrait de viande8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
Citrate d'ammonium	2, 0 g
Tween 80	1, 0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté	0, 05 g

pH = 6.2

Tampon phosphate PBS

Na ₂ HPO ₄	17,81g/l
KH ₂ PO ₄	13,697g/l
Eau distillée	1000 ml

pH 7,4

Stérilisation à 120 pendant 20mn

Milieu API 50 CHL

Polypeptone	10g
Extrait de leueur	50g
Tween 80	1 ml
K ₂ HPO ₄	29g
Acétate de sodium	5g
Citrate diamoniaque	2 g
Sulfate de magnésium	0.20 g
Sulfate de magenèse	0.05 g
Bromocrésol Pourpre	0.17 g

Annexe

Annexe III: Coloration de Gram

1. Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au **Violet de Gentiane** laissé agir pendant 1 minute.
2. Rejeter le colorant et recouvrir de **Lugol** pendant 30 secondes.
3. Rejeter le **Lugol**.
4. Recouvrir d'alcool en inclinant la lame jusqu'à l'obtention des premières gouttes incolores, rincer à l'eau distillée.
5. Recouvrir la **fuschine**, laisser agir 30 secondes.
6. Rincer à l'eau distillée.
7. Sécher la lame, ainsi la lame est prête à l'observation.

Annexe IV :

Les comptages sont exprimés en nombre d'unités de flore aérobie mésophile totale formant des colonies par g ou ml d'échantillon (UFC/g ou/ ml), ce nombre étant obtenu par l'évaluation quantitative. Pour le comptage, on utilise la formule suivante :

$$N = c / (n1 + 0,1n2) \times d$$

Avec : N = Nombre de micro-organismes par ml de produit,

c = Nombre de colonies dans les boites retenues,

n1 = Nombre de boites retenues à la 1 ère dilution,

n2 = Nombre de boites retenues à la 2 ème dilution,

0,1 = constante.

d = taux de la dilution correspondant à la 1ère dilution.

Annexe

Annexe V : Résultats API 50 CHL

Tableau 07 : La souche *LbN° 01* appartient à l'espèce *Lactobacillus plantarum*.

	<i>LbN° 01</i>
Glycérol	-
Erythritol	-
D-Arabinose	-
L-Arabinose	+
D-Ribose	+
D-Xylose	-
L-Xylose	-
D-Adonitol	-
MDX	-
D-Galactose	+
D-Glucose	+
D-Fructose	+
D-Mannose	+
L-Sorbose	-
L-Rhamnose	-
Dulcitol	-
Inositol	-
D-Manitol	+
D-Sorbitol	+
MDM	+
MDG	-
NAG	+
Amygdaline	+
Arbutine	+
ESC	+
Salicine	+
D-Celiobiose	+
D-Maltose	+
D-Lactose	+
D-Melibiose	+
D-Saccharose	+
D-Trehalose	+
Imuline	-
D-Mélézitose	+
D-Raffinose	+
Amidon	-
Glycogène	-
Xylitol	-
Gentiobiose	+
D-Turanose	+
D-Lyxose	-
D-Tagatose	-
D-Fucose	-
L-Fucose	-

Annexe

D-Arabitol	-
L-Arabitol	-
GNT	+
5KG	-
2KG	-
Identifié comme:	<i>Lactobacillus plantarum</i>

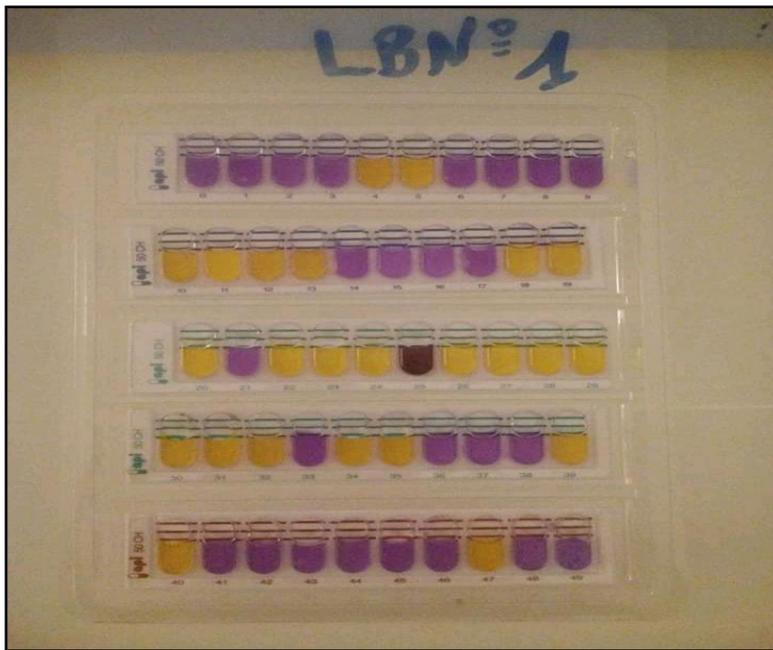


Figure : profil fermentaire de *LbN° 01* (*Lactobacillus plantarum*).

Annexe

Annexe VI :

Tableau (04) : Les différentes souches pathogènes utilisées.

Souches Référence	Condition de culture
<i>Vibrio cholerae</i>	Bouillon BHI à 37C°
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bouillon BHI à 37C°
<i>Staphylococcus Typhimurium</i>	Bouillon BHI à 37C°
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27883	Bouillon BHI à 37C°
<i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922	Bouillon BHI à 37C°
<i>Escherichia coli</i> O157: H7	Bouillon BHI à 37C°
<i>Listéria monocytogenes</i>	Bouillon BHI à 37C°
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Bouillon BHI à 37C°

Tableau (09) : Taux de survie des isolats **Lb** testées après exposition à une concentration de (0,3%) pendant 4h.

Souches	Taux de survie
Lb.N01	91%
Lb.N02	80%
Lb.N03	65%
Lb.N04	88%
Lb.N05	84%
Lb.N06	95%

Annexe

Tableau (10) : Taux d'hydrophobicité des isolats **Lb** testées après 1h d'incubation.

Souches	Taux d'hydrophobicité
Lb.N01 (<i>Lb.plantarum</i>)	84 %
Lb.N02	36%
Lb.N03	63%
Lb.N04	45%
Lb.N05	38%
Lb.N06	60%

Tableau (11) : Taux d'auto-agrégation des isolats **Lb** testées après 2 et 24h d'incubation.

		Taux d'auto-agrégation	
		2h	24h
Souches	Lb.N01 (<i>Lb.plantarum</i>)	38,1%	78,75%
	Lb.N02	18,34%	52,40%
	Lb.N03	16,50%	40,62%
	Lb.N04	19,8%	59,09
	Lb.N05	22,12%	38,39%
	Lb.N06	18,00%	61,03%

Annexe

Tableau (12) : Taux de Co-agrégation des isolats **Lb** testées après 4h d'incubation.

Souches	<i>E.coli</i> O157: H7	<i>E. coli</i>	<i>L.</i> <i>monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i>	<i>Staph. Aureus</i>
Lb.N01 <i>(Lb.plantarum)</i>	21,9 %	13%	15%	18%	16%
Lb.N02	9%	13%	10%	6 %	19%
Lb.N03	17,3%	13,6%	12,2%	12,9%	32,43%
Lb.N04	19,3%	12%	8,1%	14,9%	13%
Lb.N05	25,6%	8,34%	14%	9,8%	23%
Lb.N06	16,72%	7,5%	34%	9,5%	12%