REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par :

ZIANI CHAIMA KHOULOUD
HALHOULI IMANE

Thème :

Appréciation de l'efficacité des méthodes de conservation d'une bactérie probiotique à l'aide des biomolécules d'origine végétales.

Soutenue publiquement le : 28/06/2025, Devant le jury composé de :

Licir. M	**MAA**	U.Médéa	Président
Kaaboub. E	**MCB**	U. Médéa	Examinateur
Chami. B	**MAA**	U.Médéa	Encadreur

Année universitaire : 2024-2025

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la santé, la force et la patience pour mener à bien ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde gratitude à M. Chami Bouaza, notre encadrant, pour sa disponibilité, ses conseils judicieux et son accompagnement tout au long de ce travail.

Nous remercions chaleureusement les membres du jury, M. Licir Mourad et M. Kaaboub Elaid, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer notre travail, ainsi que pour leurs remarques constructives.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble des enseignants du département de biologie de l'Université de Médéa pour la qualité de leur enseignement et leur engagement pédagogique tout au long de notre parcours.

Nos remerciements les plus sincères vont à nos familles, pour leur soutien moral et matériel inconditionnel, et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Enfin, nous adressons un salut amical à nos collègues et amis pour leur entraide, leur esprit de camaraderie et les bons moments partagés durant ces années d'études.

DEDICACES

Avant tout, je rends grâce à ***Allah****, le Tout-Puissant, le Clément,*

Lui qui m'a accordé la patience, la force et la santé pour mener à bien ce travail. Sans Sa miséricorde et Sa guidance, rien n'aurait été possible.

Je me dédie également à ***moi-même****,*

à celle qui a cru, persévéré et refusé d'abandonner malgré la fatigue, le stress et les doutes.

Ce mémoire est le témoignage d'un chemin semé de défis mais aussi de belles victoires intérieures.

À mes parents bien-aimés*, pour leur amour pur, leurs sacrifices silencieux, et leurs prières constantes.*

Votre présence est une bénédiction que je ne cesserai jamais de remercier.

À ma famille, mes frères et sœurs, *pour leur patience et leurs encouragements constants.*

À mon binôme, Imane, *pour ta détermination, ta rigueur et la belle énergie que tu as apportée à chaque étape de ce projet.*

À toutes les personnes qui ont croisé mon chemin avec bienveillance (enseignants, collègues, ami(e)s)

Et à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'accomplissement de ce travail.

Qu'Allah vous récompense pour chaque mot d'encouragement, chaque geste de soutien, chaque prière.

CHAYMA

DEDICACES

Je commence cette dédicace en remerciant du fond du cœur ***Allah****,*
Le Très Miséricordieux, Le Très Sage,

pour m'avoir accordé la force, la patience et la guidance tout au long de ce parcours.
C'est par Sa volonté que j'ai pu surmonter les épreuves et arriver jusqu'ici.

Je me dédie à ***moi-même****,*
pour chaque nuit blanche, chaque doute surmonté, chaque effort fourni.

Ce mémoire est le reflet d'un long chemin parcouru, parfois semé d'embûches, mais toujours porté par la volonté d'avancer et de réussir.

À mes parents*, source d'amour pur et de soutien inébranlable,*

vos prières ont été mon refuge et votre confiance, mon moteur.

Merci pour votre patience et vos sacrifices, que seul Allah peut récompenser à leur juste valeur.

À ma sœur Douaa*, compagnonne de cœur, de rires et de confidences,*
merci pour ta présence douce, tes mots réconfortants et ton amour discret.
Tu as été une lumière dans mes journées chargées.
À ma famille*, pour leur présence réconfortante et leur compréhension durant mes absences et mes silences.*

À ma partenaire de travail , *Chayma,*
pour ton esprit de collaboration, ta patience et ton engagement constant tout au long de ce travail partagé.

À mes enseignant(e)s*, pour leur accompagnement généreux et leur savoir partagé avec passion.*

Que ce travail constitue un modeste hommage à celles et ceux
qui ont cru en moi, même lorsque moi-même j'en doutais.

IMANE

Table des matières :

Introduction **1**

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Historique et définitions **2**

I.1. Historique 2

I.2. Notions complémentaires 3

a.Probiotiques 3

b.Prébiotiques 3

c.Symbiotiques 3

d.Bactéries lactiques (LAB) 4

e.Fermentation 4

I.3.Definition 4

II. Critères de sélection des souches probiotiques **5**

II.1. Critères de sécurité 6

Identification de la souche 6

II.2. Critères fonctionnels 7

- Survie au cours du transit digestif 7
- Activité d'hydrolase des Sels biliaires 7
- Adhésion au mucus et/ou cellules épithéliales humaines 7
- Activité antimicrobienne 8

II.3. Critères technologiques 9

III. Micro-organismes utilisés comme probiotiques **9**

III.1. Les bactéries lactiques et leur action probiotique 9

III.2. Les Bifidobactéries et leurs actions probiotiques 11

III.3. Les levures et leurs utilisations comme probiotique 13

IV. Mécanismes d'action des probiotiques **15**

IV.1. Renforcement de la barrière épithéliale 15

IV.2. Production de substances antimicrobiennes 16

IV.2.1. Les acides organiques 16

IV.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 16

IV.2.3. Le dioxyde de carbone(Co_2): 16

IV.2.4. Les bactériocines: 16

IV.3. Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes 17

IV.4. Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale 17

IV.5. Modulation du système immunitaire 18
V. Effet des probiotiques sur la santé 19
V.1. Amélioration de l'intolérance au lactose 19
V.2. Réduction des diarrhées 21
- Production de substances antimicrobiennes 21
V.3. Infection à Helicobacter pylori 22
V.4. Constipation 23
V.5. Maladies inflammatoires de l'intestin 24
V.6. Maladies allergiques 25
V.7. Cancer 27
VI. Sources potentielles des probiotiques 28
VI.1. Le yaourt 28
VI.2. Le fromage 29
Les fromages à pâte molle 30
Les fromages à pâte dure 30
VI.3. Le kéfir 30
VI.3.1. Le kéfir de fruit 30
VI.3.2. kéfir de lait 31
VII. Formes d'application des probiotiques 33
VII.1. Réglementation 33
VII.2. Conditions de mise sur le marché des probiotiques 34
VII.2.1. Médicaments probiotiques 35
VII.2.2. Aliments probiotiques 37
VII.2.3. Notion de dosage 37
VII.2.4. Etiquetage approprié 38
VIII. Conservation des aliments probiotiques 39
VIII.1. Facteurs de conservation 39
VIII.1.1. Chaleur 39
VIII.1.2. Effets de l'oxygène 39
VIII.1.3. Humidité 39
VIII.1.4. Lumière 40
VIII.1.5. Les emballages en carton 40
VIII.1.6. Les emballages en plastique 40
VIII.1.7. Les flacons en verre et en aluminium 40

VIII.2. Des additifs pour conserver les probiotiques 41
VIII.2.1. Le phosphate de calcium 41
VIII.2.2. La cellulose microcristalline 41
VIII.2.3. Le carboxyméthylcellulose 42
VIII.2.4. Le dioxyde de silicium 42
VIII.2.5. Pectine 42
VIII.2.6. Gomme arabique (exsudat de sève) 44
VIII.2.7. Collagene 44
VIII.2.8. La whey 45
VIII.2.9. L'amidon 46

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Objectif de l'étude 48
2. Matériel 48
2.1. Matériel végétal 48
2.1.1. La gomme arabe 48
2.1.2. La résine d'amande 49
2.1.3. Conservateurs chimiques 49
2.2. Produit alimentaire 51
2.2.1. Echantillonnage 51
3. Méthodes 52
3.1. Analyses microbiologiques: 52
3.2. Identification microbiologique 52
3.3. Estimation de la charge bactérienne avant traitement 57
3.4. Estimation de la charge bactérienne après traitement: 59
3. 4.1.Préparation des conservateurs 59
3.5. Analyses physicochimiques 60
3.5.1. L'acidité (pH) 60
3.5.2. La viscosité 60

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Analyses microbiologiques: 60
1.1. Identification microbiologique 60
a. Etude macroscopique 60
b. Etude microscopique 61
c. Estimation de la charge bactérienne 63

Sommaire

2. Analyses physicochimiques 66
2.1. Variation du pH dans.....66
2.1.1. Les échantillons traités par des conservateurs végétaux.....66
2.1.2. Les échantillons traités par des conservateurs chimiques.....66
2.2. La viscosité.....67
3. Discussion 69
Conclusion.....71

Liste des tableaux :

Tableau 1: Effets de santé revendiqués de souches du genre Bifidobacterium **(**.....12
Tableau 2: Effets de santé revendiqués des levures du genre Saccharomyces.....15
Tableau 3 : Exemples de bactéries lactiques utilisées dans la fermentation des aliments.....33
Tableau 4 : Nomenclature pour les micro-organismes probiotiques.....34
Tableau 5 : Présentation des médicaments probiotiques ayant fait l'objet d'une demande d'autorisation de mise sur le marché.....36
Tableau 6 : Echantillons de différentes marques de yaourt utilisées. 52
Tableau 7 : Caractéristiques morphologiques des colonies des échantillons de trois produits testés…60
Tableau 8 : Observation microscopique des isolats après coloration simple 63
Tableau 9 : Coloration de Gram des isolats des échantillons de yaourt 65
Tableau 10 : Dénombrement des bactéries dans les 3 échantillons avant traitement.....65
Tableau 11 : Dénombrement des bactéries dans le produit Activia après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$)).....64
Tableau 12 : Dénombrement des bactéries dans le produit Danone après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$)).....66
Tableau 13 : Dénombrement des bactéries dans le produit Soummam après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$)).....67
Tableau 14 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Activia traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).....69
Tableau 15 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Soummam traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).....69
Tableau 16 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Danone traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).....70

Liste des figures :

Figure 1: Observation microscopique d'une bactérie lactique Lactobacillus à l'aide d'un microscope électronique **(1)**..... 4
Figure 2 : Activité antibactérienne des aliments probiotiques**.(2)** 8
Figure 3: Les bactéries lactiques qui une action probiotique. **(3)** 11
Figure 4: Les Bifidobactéries sous microscope photonique G x : 1000**.(4)** 11
Figure 5 : Les levures (Saccharomyces cerevisiae) sous microscope photonique G r : 1000. **(5)** 14
Figure 6 : Mécanisme d'inhibition d'adhésion des pathogènes **(a)** par compétition spécifique **(b)** compétition non spécifique **(Servin et Coconnier; 2003)**.....18
Figure 7: Les étapes de fabrication du yaourt **(Bourlioux et al ;2011)**.....29
Figure 8 : Préparation du kéfir de fruit(**8)**.....31
Figure 9 : Les grains de kefir de lait **(9)**.....32
Figure 10 : Positionnement des aliments probiotiques en santé**.(Boudouhi et al ;2005)**.....35
Figure 11 : Unités d'acides galacturoniques reliées entre elles comme dans la chaîne de pectine **(a)** et les groupements fonctionnels carboxyle **(b)**, ester **(c)** et amides **(d)** pouvant se retrouver dans différents types de pectine **(Allwyn Sundar Raj et al ; 2012)** 43
Figure 12 : Morphologie et structure du collagène**. (24)** 45
Figure 13 : Structure de l'amylose **(a)** et l'amylopectine **(b)** qui forment l'amidon (**Blennow et *al.*, 2002**).....47
Figure 14 : Echantillon de gomme arabe après purification (Photos personnelle).....48
Figure 15 : Echantillon de la résine d'amande après purification (Photos personnelle).....49
Figure 16 : Sorbate de potassium sous forme de poudre 50
Figure 17 : Acide benzoïque sous forme de poudre.....50
Figure 18 : La mytricine.....50
Figure 19 : Echantillons de différentes marques de yaourt utilisées (Soummam, Danone et Activia)...51
Figure 20 : Travail devant le bec bunsen dans des conditions contrôlées (photo personnelle).....53
Figure 21 : stérilisation du matériel (photo personnelle).....53
Figure 22 : Série des dilutions préparées. 58
Figure 23 : Ensemencement par étalement (en surface et en double couche).....59
Figure 24 : Préparation conservateurs et l'addition avec des produits examinés. (Photos personnelle). 60
Figure 25 : Observation des deux formes bactéries lactiques à l'état frais **(a :** Lactococcus **; b :** Lactobacillus).....62
Figure 26 : Variation du pH des échantillons de yaourt traités par des additifs végétales après 21jour de conservation.....67
Figure 27 : Variation du pH des échantillons de yaourt traités par des additifs chimiques après 21jour de conservation.....68

Liste des abréviations :

Microorganismes et génétique :

E. coli : *Escherichia coli*

S. thermophiles : *Streptococcus thermophiles*

Lb : *Lactobacillus* (abréviation générale)

Leu :*Leuconostoc* (genre bactérien)

***Lactobacillus casei* (DN114) 001** : souche probiotique spécifique de *L. casei*

***Lactobacillus acidophilus* (LA) 401** : souche probiotique spécifique de *L. acidophilus*

GG : *Lactobacillus rhamnosus GG*

LGG : *Lactobacillus rhamnosus GG* (abréviation identique)

ATTC : American Type Culture Collection (devient souvent ATCC)

CNCM I : Collection Nationale de Cultures de Micro-organismes, catégorie I

NCIMB : National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria

CIRM : Centre International de Ressources Microbiennes

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique (France)

Institutions et réglementations :

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

GRAS : GenerallyRecognized As Safe (statut réglementaire aux USA)

QPS : QualifiedPresumption of Safety (statut de sécurité en Europe)

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

Liste des abréviations

Biologie et immunologie :

ADN : Acide Désoxyribonucléique

IgA : Immunoglobuline A

IgE : Immunoglobuline E

pH : Potentiel hydrogène (acidité/alcalinité)

PKC : Protéine Kinase C

Th1 / Th2 : Types de cellules T auxiliaires

IL-4, IL-5, IL-10 : Interleukines 4, 5, 10

IFN-γ : Interféron gamma

ROS : ReactiveOxygenSpecies (espèces réactives de l'oxygène)

Biochimie :

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

CO2 : Dioxyde de carbone

MUC2 / MUC3 : Gènes codant les mucines 2 et 3

BCAA : Branched-Chain AminoAcids (acides aminés à chaîne ramifiée)

Mesures microbiologiques :

CFU / UFC : Colony-Forming Units / Unités Formant ColoniE

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMC : Carboxyméthylcellulose (agent épaississant)

ZI : Zone d'inhibition

Milieux de culture :

MRS : Man, Rogosa and Sharpe (milieu spécifique aux lactobacilles)

Liste des abréviations

M17 : Milieu utilisé pour la culture de streptocoques lactiques

TSB : Tryptic Soy Broth

TSA : Tryptic Soy Agar

Autres abréviations techniques :

LAB : Lactic Acid Bacteria (bactéries lactiques)

TSE : Transmissible Spongi form Encephalopathies

ISO : International Organization for Standardization

IDF : International Dairy Federation

FC : Fécale coliforme ou flore coliforme selon le contexte

PPM : Parties par million

Résumé

Cette étude a été effectuée dans le but de comparer l'impact des conservateurs chimiques (benzoate, sorbate, mytricine) et naturels (gomme arabique, gomme d'amande) sur la viabilité des probiotiques dans divers yaourts fermes (Soummam, Danone, Activia) stockés à 4 °C pendant une durée de 21 jours.

Les résultats ont démontré que les agents conservateurs chimiques ont considérablement diminué la présence bactérienne, mettant en péril la viabilité des probiotiques. Cependant, les gommes végétales ont amélioré la conservation des souches et maintiennent un pH stable de 4,1-4,3 et l'acidification réduite.

En ce qui concerne la texture, les agents chimiques ont transformé la structure de yaourt en le rendant plus visqueux, tandis que les gommes végétales l'ont conservé trop doux et naturel. Par conséquent, la gomme arabique et d'amande démontrent toutes les deux leur efficacité et leur fonctionnalité naturelles pour prolonger la vie des produits laitiers probiotiques sans affecter leurs caractéristiques et leur valeur nutritionnelle.

Mots-clés : Probiotiques ; Biomolécules végétales ; Additifs naturels ; conservateurs chimiques.

Abstract:

This study was conducted to compare the impact of chemical (benzoate, sorbate, mytricin) and natural (gum arabic, almond gum) preservatives on the viability of probiotics in various set yogurts (Soummam, Danone, Activia) stored at 4°C for 21 days.

The results demonstrated that chemical preservatives significantly educed bacterial presence, compromising probiotic viability. However, plant-based gums improved strain preservation and maintained a stable pH of 4.1–4.3, while reducing acidification.

Regarding texture, chemical agents transformed the yogurt's structure, making it more viscous, while plant-based gums kept it soft and natural. Therefore, both acacia and almond gum demonstrate their natural effectiveness and functionality in extending the shelf life of probiotic dairy products without affecting their characteristics and nutritional value.

Keywords: Probiotics; Plant biomolecules; Natural additives; Chemical preservatives.

ملخص:

اجريت هذه الدراسة لمقارنة تأثير المواد الحافظة الكيميائية (البنزوات، السوربات، الميتريسين) والطبيعية (الصمغ العربي، صمغ اللوز) على صلاحية البروبيوتيك في أنواع مختلفة من الزبادي الصلب (صومام، دانون، أكتيفيا) المخزنة عند 4 درجات مئوية لمدة 21 يومًا. وأظهرت النتائج أن المواد الحافظة الكيميائية تقلل بشكل كبير من وجود البكتيريا، مما يعرض حيوية البروبيوتيك للخطر. ومع ذلك، فإن صمغ النبات يحسن حفظ السلالات ويحافظ على درجة حموضة مستقرة تتراوح بين 4.1 و4.3 ويقلل من الحموضة.

أما بالنسبة للملمس، فقد أدت العوامل الكيميائية إلى تغيير بنية الزبادي وجعلته أكثر لزوجة، في حين حافظ الصمغ النباتي على قوامه ناعمًا وطبيعيًا للغاية. لذلك، يثبت كل من الصمغ العربي واللوز فعاليتهما الطبيعية ووظيفتهما في إطالة عمر منتجات الألبان الحيوية دون التأثير على خصائصها وقيمتها الغذائية

الكلمات المفتاحية :البروبيوتيك؛ الجزيئات الحيوية النباتية؛ الإضافات الطبيعية؛ المواد الحافظة الكيميائية.

Introduction

Introduction :

L'idée qu'une alimentation saine puisse améliorer la qualité de vie s'est largement répandue ces dernières années.
Cette évolution a entraîné un fort développement du marché des produits « sains », tels que les aliments biologiques ou allégés **(Izquirdo, 2009).** Dans ce contexte, la notion d'aliment fonctionnel s'est imposée : il s'agit d'un aliment dont l'effet bénéfique sur l'organisme a été scientifiquement démontré, indépendamment de ses apports nutritionnels **(The European Food Information Council, 2009)**. Ces bienfaits doivent apparaître après une consommation normale **(Izquirdo, 2009).**

Les principales fonctions ciblées sont les systèmes digestif, cardiovasculaire, immunitaire, nerveux et osseux. Ces effets sont souvent liés à des composants tels que les probiotiques, les oméga 3 et 6, les phytostérols et les antioxydants **(Dunne et al., 1999)**. Les probiotiques, en particulier, sont utilisés dans la prévention et le traitement de nombreuses affections. On les retrouve dans divers aliments fermentés ou compléments **(Beroigui, 2023).** Leur marché a connu une croissance rapide, atteignant 10 milliards d'euros en 2008 contre 6 milliards en 2003, représentant environ 10 % du marché mondial des aliments fonctionnels. Cette expansion s'explique en grande partie par leurs propriétés prophylactiques promues dans les produits laitiers fermentés **(Izquirdo, 2009 ; Dunne et al., 1999).**

Cette évolution des habitudes alimentaires a suscité de nouveaux questionnements scientifiques. La recherche s'oriente désormais vers la valorisation de composants nutritionnels d'intérêt et vers des approches durables et naturelles dans le domaine des aliments fonctionnels.

De ce fait, la recherche de l'impact des méthodes de conservation d'une bactérie probiotique à l'aide des biomolécules d'origine végétales a fait l'objectif de ce travail, pour ce faire, plusieurs axes sont visés, à savoir :

- **L'isolement des groupes microbiens à partir du yaourts .**

- **La mise en évidence de l'activité de ces molécules sur la qualité bactériologique ainsi qu'alimentaire des yaourt**

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I. Historique et définitions :

I.1. Historique :

Dans les années 1900, deux chercheurs découvrent, en observant des microorganismes, que ces derniers ont le pouvoir de moduler la flore intestinale. Eli Metchnikoff, chercheur à l'Institut Pasteur et Prix Nobel en 1908, s'interroge sur l'effet bénéfique procuré sur le corps humain ou animal par la simple ingestion de certains aliments enrichis en microorganismes. Il suggère une dépendance des microbes intestinaux vis-à-vis de l'alimentation, ce qui rend possible une modification de la flore intestinale. Il suffit de « remplacer les microbes dangereux par les microbes utiles » **(Colarelli ,2010).**

A l'époque, sa théorie est essentiellement basée sur l'observation de paysans bulgares. Metchnikoff lie leur longévité à leur consommation pantagruélique de lait fermenté. Il identifie deux bactéries bienfaisantes : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* **(Colarelli ,2010).**

Parallèlement, Henry Tissier, pédiatre français, remarque que les bactéries trouvées dans les selles des enfants sains présentent une morphologie particulière, en Y, elles sont dites bifides. Lors d'un épisode infectieux tel que la diarrhée, le nombre de ces bactéries diminue dans les selles des enfants malades **(Colarelli ,2010).**

Il suggère d'administrer ces bactéries positives en quantité importante chez les jeunes patients souffrant de diarrhées afin de restaurer la flore microbienne intestinale **(Colarelli ,2010).**

Metchnikoff et Tissier sont donc les premiers à émettre l'idée d'administrer des microorganismes exogènes afin de pallier un éventuel dysfonctionnement de notre écosystème intestinal. Le concept « probiotiques » est né. Mais il faudra attendre 1954 pour réellement voir apparaître le terme de« Probiotique » dans la revue Hippokrates dans un article intitulé « « Anti-undprobiotika » de Ferdinand Vergin. Dans cet article, il traite des effets délétères des antibiotiques et des effets positifs de certaines substances antimicrobiennes sur la flore intestinale (**Vergin , 1954**). Il nomme alors les bactéries capables de synthétiser ces substances positives pour l'hôte « probiotiques ». Selon l'étymologie grecque du mot, « pro » qui signifie « pour » et « bios » « la vie », Vergin montre bien l'opposition entre les termes antibiotiques et probiotiques. Il cherche à souligner l'importance des effets bénéfiques qu'apportent ces microorganismes sur la flore intestinale (**Vergin , 1954).**

En 1965, Lilly et Stilwell, dans la revue Science, définissent les probiotiques comme des substances produites par des microorganismes capables de stimuler la croissance d'autres micro-organismes (**EM Consult, 2007**).

En 1989, Fuller souligne la nature microbienne des probiotiques en redéfinissant le terme comme un « complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l'animal hôte en améliorant son équilibre intestinal » **(Colarelli ,2010).**

En 1992, Havenaar et Huis in'tVelt affinent un tout petit peu plus le terme en « une culture viable composée d'une ou d'un mélange de bactéries qui, lorsqu'elle est appliquée à l'animal ou à l'homme, exerce un effet bénéfique sur l'hôte en améliorant les propriétés de la flore indigène. » (**Klaenhammer ; 2000**).

En 1998, Guarner et Schaafsmaa précisent que les probiotiques sont « des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte » **(Klaenhammer ; 2000).**

En 2002, l'Organisation Mondiale de la Santé se penche sur le sujet afin d'officialiser la définition et d'éviter toute dérive. Les probiotiques sont donc définis comme « organismes vivants (appelés bactéries ou ferments) qui, ingérés en quantité suffisante, procurent un bénéfice sur la santé de l'hôte » (**Afssa, 2005).**

I.2. Notions complémentaires :

a. Probiotiques :

Microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. **(Guarner *et al*;2017).**

b. Prébiotiques :

Ingrédients sélectivement fermentés qui induisent des changements spécifiques dans la composition et/ou l'activité du microbiote intestinal produisant ainsi un effet bénéfique sur la santé de l'hôte.**(Guarner *et al* ;2017).**

c. Symbiotiques :

Produits qui contiennent à la fois des probiotiques et des prébiotiques, et qui produisent un effet bénéfique sur la santé.**(Guarner *et al* ;2017).**

d. Bactéries lactiques (LAB) :

Classification fonctionnelle de bactéries non pathogènes, non toxigènes, Gram positives tout à fait utiles pour la fermentation alimentaire par production d'acide lactique à partir des hydrates de carbone. Des espèces de *Lactobacillus, Lactococcus*, et *Streptococcus thermophilus* sont incluses dans ce groupe. De nombreux probiotiques sont aussi des bactéries de l'acide lactique, mais quelques-uns (comme certaines souches d'*E. coli*, de bactéries formant des spores et des levures utilisées comme probiotiques).**(Guarner *et al* ;2017).**

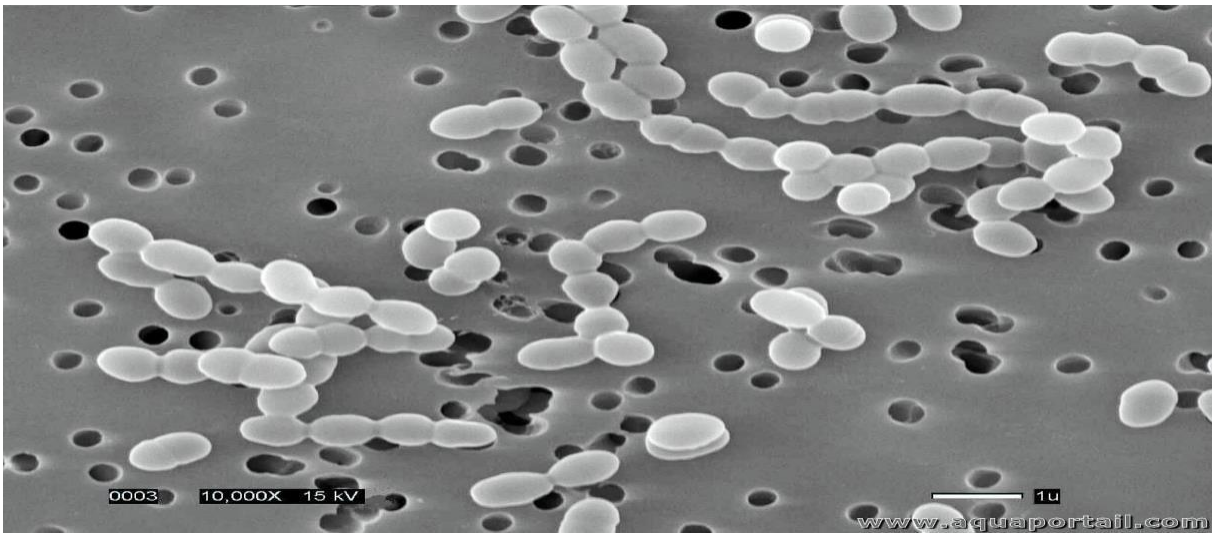


Figure 1: Observation microscopique d'une bactérie lactique Lactobacillus à l'aide d'un microscope électronique **(1).**

e. Fermentation :

Processus par lequel un microorganisme transforme la nourriture en d'autres produits, habituellement par la production d'acide lactique, d'éthanol et d'autres produits finaux du métabolisme**(Guarner et *al* ;2017).**

I.3. Définition :

Le terme de probiotique a été construit à partir des mots grecs « **προ** », préfixe signifiant « pour » ou « en faveur de », et « **βίος** », désignant la vie. Probiotique signifie donc étymologiquement « en faveur de la vie », mais il a surtout été utilisé initialement comme l'antonyme d'antibiotique. Sa définition a ensuite largement évolué au fil du temps (**Coudeyras et Forestier ;2010**).

Le concept probiotique est réellement né en 1960, suite à de nombreuses années de découvertes scientifiques. Le principe est simple : améliorer la trophicité de la muqueuse intestinale,

engendrant ainsi une cascade de réactions positives dans l'organisme tout entier (**Colarelli, 2010**).

Les probiotiques sont des préparations contenant des microorganismes et leurs métabolites, utilisés comme additifs alimentaires, et qui affectent de façon bénéfique l'organisme hôte (**Smoragiewicz et *al* ;1993).**

Les probiotiques sont des microorganismes vivants pour lesquels un bénéfice pour la santé de l'hôte a été démontré lors de leur administration en doses adéquates (**FAO-OMS ;2001**). Les espèces de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* sont les plus communément utilisées comme probiotiques, mais la levure *Saccharomyces boulardii* et quelques espèces de *E. coli* et de *Bacillus* sont également utilisées. Parmi les nouveaux venus, on peut également compter le *Clostridium butyricum*, récemment autorisé comme aliment nouveau par l'Union européenne **(Guarner et *al* ;2017).**

Les bactéries lactiques, y compris des espèces de *Lactobacillus*, utilisées pour la conservation de la nourriture par fermentation depuis des milliers d'années, peuvent jouer un double rôle comme agents de la fermentation alimentaire et potentiellement comme agents bénéfiques pour la santé. Stricto sensu, cependant, le terme "probiotique" devrait être réservé aux microbes vivants pour lesquels un bénéfice pour la santé a été démontré dans des études contrôlées chez les humains. La fermentation concerne globalement la préservation d'un vaste ensemble de produits agricoles (céréales, racines, tubercules, fruits, légumes, lait, viande, poissons, etc.)**(Guarner et *al* ;2017).**

II. Critères de sélection des souches probiotiques

Une grande variété de produits probiotiques a été développée et mise sur le marché ces dernières années ; cependant, les effets attribués à bon nombre de ces produits ne sont pas soutenus par une justification scientifique adéquate. Les produits de qualité médiocre doivent être dénoncés car ils discréditent les autres aux yeux des non spécialistes. Par conséquent, il est nécessaire d'établir des critères rationnels pour le criblage et la sélection des microorganismes candidats, sans oublier d'évaluer l'efficacité des souches sélectionnées sur l'homme avec des essais cliniques contrôlés. L'élucidation des mécanismes à la base des effets santé et nutritionnels attribués aux probiotiques peut aider à associer de façon plus rationnelle des effets aux bactéries

probiotiques, et à choisir les souches ou les mélanges de souches les plus prometteurs à cet égard **(Izquirdo ;2009).**

II.1. Critères de sécurité :

Identification de la souche :

- **Origine :**

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte. Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères, ce qui s'explique entre autres par des températures optimales de croissance variables selon les souches **(Klein et *al* ;1998).**

- **Innocuité**

Les micro-organismes probiotiques prévus pour la consommation humaine doivent être totalement sûrs, ce qui signifie qu'ils ne posent aucun risque de toxicité ou de pathogénicité. Habituellement, l'utilisation de micro-organismes dans la fermentation alimentaire bénéficie d'une longue tradition et d'un historique de sécurité qui attestent de leur innocuité, un concept que l'on désigne par le terme « familiarité ». L'idée de « familiarité » permet pour certaines espèces bactériennes de présumer de la sécurité d'une souche provenant d'un taxon qui a un passé d'utilisation sans danger. Suivant cette méthode, une liste de souches probiotiques considérées comme sûres a été établie : il s'agit de souches à statut **QPS** (Qualified Presumption of Safety) en Europe ou **GRAS** (Generally Recognized As Safe) aux États-Unis **(Luquet et Corrieu ;2005).**

- **Résistances aux antibiotiques :**

Le test le plus pertinent est la détermination des concentrations minimales inhibitrices (**CMI**). En raison de l'utilisation sans discernement des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire la résistance aux antibiotiques est devenue une caractéristique de plus en plus courante des micro-organismes, ce qui provoque de graves problèmes dans le traitement des infections microbiennes. La résistance aux antibiotiques des bactéries peut être intrinsèque (caractéristique d'une espèce ou d'un genre donnés) ou acquis (dérive soit de mutations génétiques ou soit de l'acquisition d'ADN étranger provenant d'autres bactéries). Ainsi, les souches probiotiques utilisées ne doivent ni être résistantes, ni induire de résistances aux antibiotiques (par le biais de gènes de résistances pouvant être transmis à des micro-organismes nocifs) (**Huys et *al*., 2013**).

II.2. Critères fonctionnels :

- **Survie au cours du transit digestif :**

Afin d'atteindre le site d'action et exercent leurs effets bénéfiques, les probiotiques doivent d'abord surmonter un certain nombre de barrières physiques et chimiques dans le tractus gastro-intestinal **(Huckle, Zhang ;2011).**

La capacité de survie des probiotiques est variable d'une souche à l'autre. Certains sont détruits dès leur passage dans l'estomac par contre, d'autres peuvent résister et survivent tout au long du transit. Au niveau de l'estomac, plus de deux litres de suc gastrique avec un pH aussi bas que 1,5 est sécrété chaque jour, tout microorganisme probiotique doit avoir une tolérance élevée à l'acidité pour qu'il puisse survivre. Les microorganismes qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum. Des modèles *in vitro* stimulants les conditions gastro-intestinales sont utilisées pour la sélection des souches probiotiques **(Belhamra,2017).**

- **Activité d'hydrolase des Sels biliaires :**

La bile est une solution aqueuse composée d'acides biliaires, le pigment de la biliverdine, qui confère à la bile une couleur jaune verdâtre **(Behira,2011/2012).**

La bile joue un rôle essentiel dans la digestion des lipides comme détergent biologique par l'émulsification et la solubilité lipidique. Avant sa sécrétion dans le duodénum, les acides biliaires sont conjugués soit avec la glycine (glycoconjugués) soit avec la taurine (tauroconjugués) (**Begley et *al* ;2006**). Dans le colon la bile conjuguée subit plusieurs changements chimiques en incluant la deconjugation. Dehydroxylation, dehydrogénation et déglucuronidation. Souvent seulement par l'activité microbienne (**Begley et *al* ;2006**).La nature antimicrobienne dû à sa propriété détergente, qui dissout les membranes bactérienne**(Behira , 2011/2012).**

Les **BSH** sont généralement des enzymes intracellulaires, insensibles à l'oxygène qui catalysent l'hydrolyse des sels biliaires. Un certain nombre de BSH ont été identifiés et caractérisés chez des bactéries probiotiques, la capacité des souches probiotiques à produire des BSH a été souvent considérée comme critère de sélection des souches probiotiques **(Belhamra , 2017).**

- **Adhésion au mucus et/ou cellules épithéliales humaines**

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est l'un des principaux critères de sélection des souches probiotiques ; elle est considérée comme une condition préalable à la colonisation

(**Ouwehand et *al* ;1999**). Plus la bactérie passe le temps dans le tractus gastrointestinale plus elle aura la chance d'exercer un effet bénéfique pour l'hôte **(Izquirdo ;2009)**, l'adhésion peut être importante pour la stimulation du système immunitaire, permettrait de prévenir l'implantation de pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales via des mécanismes de compétition. L'adhésion des souches au mucus ou à l'épithélium est habituellement étudiée *in vitro* en utilisant des mucus humain ou animal et des cultures cellulaires comme les **$Caco_2$** ou**HT29** (**Servin et Coconnier ;2003).**

- **Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne est l'un des critères de sélection les plus importants pour les probiotiques. Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide ou bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines (**Belhamra,2017).**

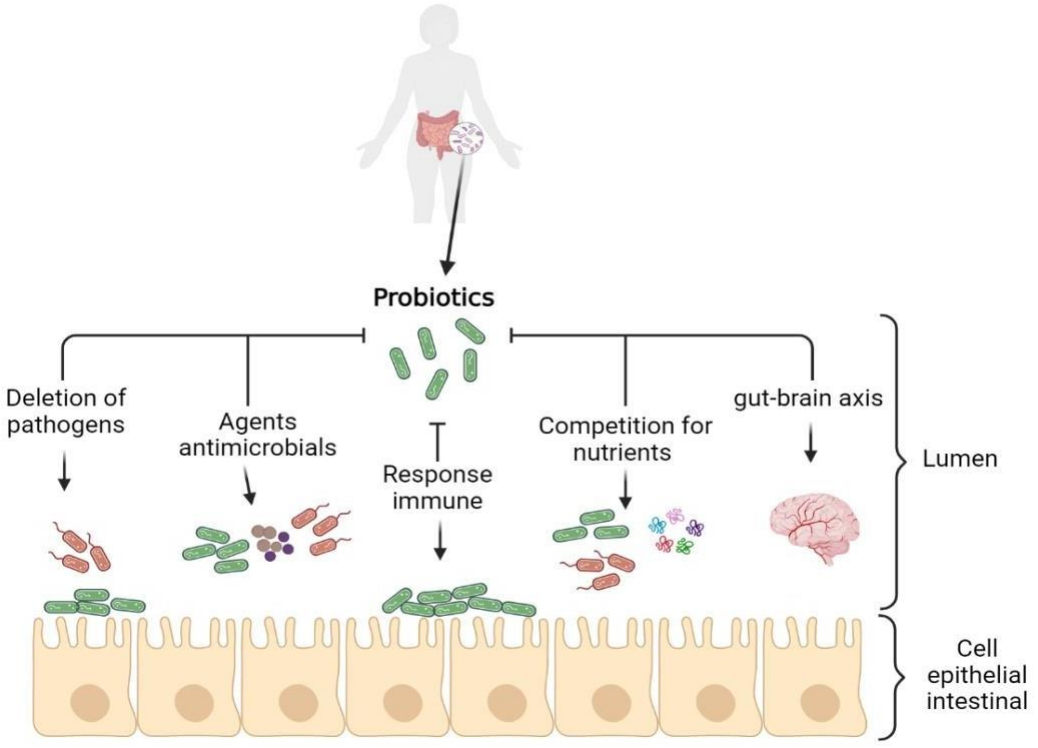


Figure 2 : Activité antibactérienne des aliments probiotiques**. (2)**

II.3. Critères technologiques :

Plusieurs aspects technologiques doivent être pris en compte dans la sélection des souches probiotiques. En effet, les souches probiotiques doivent garder leurs caractéristiques durant tous les procédés de production, de conservation et de distribution **(Belhamra ,2017).**

La plupart des définitions des probiotiques, soulignent que les microorganismes doivent être viables et atteindre leur site d'action vivants. Un nombre minimal de **10^7 cellules viables /g** de produit est nécessaire pour exercer un effet probiotique. Les souches doivent garder leurs viabilités sans se multiplier pour ne pas provoquer d'effet indésirable sur la qualité organoleptique du produit **(Ouwehand et *al* ;1999).**Les produits doivent être conservés dans des conditions appropriées, il est nécessaire de contrôler régulièrement l'identité de la souche et ses propriétés **(Belhamra ,2017).**

III. Micro-organismes utilisés comme probiotiques

III.1. Les bactéries lactiques et leur action probiotique :

Le terme bactérie lactique (**BAL**) désigne un ensemble de bactéries Gram + ayant en commun la production d'acide lactique comme métabolite final de la fermentation des sucres. Les BAL sont des microorganismes procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes. Elles sont généralement immobiles, asporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles **(Dellaglio et *al* ;1994).** Comme elles ne possèdent pas de cytochrome, ces bactéries ne tirent pas leur énergie de la respiration, mais plutôt par phosphorylation du substrat au cours de la fermentation des sucres. Leur croissance dépend donc de la fermentation de ces sucres et il est possible de classer les BAL suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides. En effet, les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique en suivant la voie d'Embden-Meyerhof, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone en plus de l'acide lactique suivant la voie des pentoses phosphates **(Prescott et *al* ;2003).** Onze genres bactériens figurent dans la catégorie des BAL : *Aerococcus, Alloicoccus, Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus,*

Streptococcus, Tetragenococcus et Vagococcus. Les bactéries du genre *Bifidobacterium* ne sont pas considérées comme des BAL typiques. De plus en plus répandu dans l'industrie laitière**(Millette, 2007).**

Le rôle principal des BAL est la production d'acide lactique qui influence la texture, le goût et la qualité microbiologique des produits ainsi fermentés. L'abaissement du pH limite aussi la croissance des bactéries indésirables ce qui permet d'augmenter la durée de vie des aliments (**Abee et *al*., 1995)**.

Outre les acides organiques, de nombreux autres métabolites sécrétés par les BAL ont une influence sur la qualité organoleptique des aliments. Ceux-ci incluent les bactériocines, les diacétyles et le peroxyde d'hydrogène **(Nettles et Barefoot;1993).**

Les BAL tolèrent de petites quantités d'oxygène, mais de trop grandes teneurs peuvent leur être néfastes. Ceci est probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H2O2) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le H2O2 doit être éliminé car son accumulation devient toxique pour les microorganismes producteurs. Le système enzymatique le plus efficace d'élimination de H2O2 est la catalase dont les BAL sont déficientes. Les BAL possèdent plutôt une peroxydase, moins efficace que la catalase. Ainsi, comme les BAL n'éliminent pas facilement le H2O2, elles sont considérées comme micro-aérophiles. Les BAL aromatisants telle que *Lactococcus lactissubsp .Lactisbiovar. Diacetylactis* produisent des composés aromatiques qui contribuent au goût des produits frais et à la production de CO2 responsable des fissures dans certains types de fromage. Enfin, quelques BAL produisent des exopolysaccharides (EPS) qui influencent l'aspect et la texture des produits fermentés **(Welman et Maddox ;2003)**

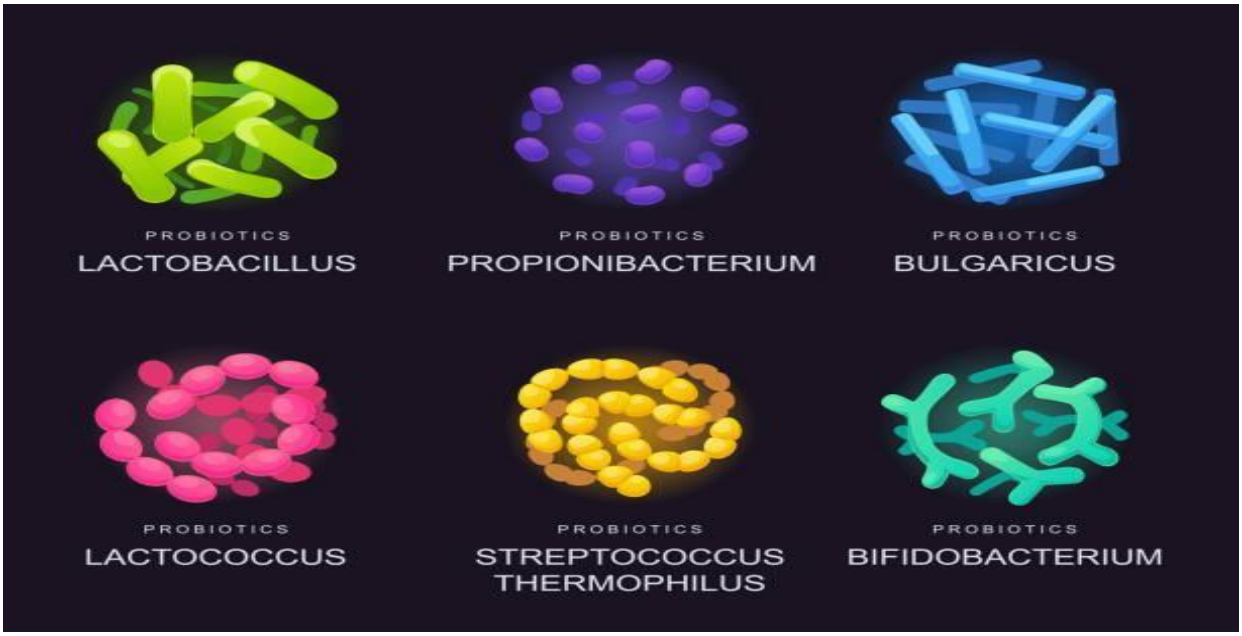


Figure 3: Les bactéries lactiques qui une action probiotique. **(3)**

III.2. Les Bifidobactéries et leurs actions probiotiques :

Les Bifidobactéries sont des bâtonnets en formes variées dont la forme Y est la plus caractéristique, elles sont Gram positives, non sporulées, strictement anaérobies, hétérofermentaires produisent de l'acide lactique ou acétiques (**Belhamra ,2017).**



Figure 4: Les Bifidobactéries sous microscope photonique G x : 1000**.(4)**

Les bactéries du genre Bifidobacterium comptent aujourd'hui 48 espèces issues du monde humain et animal, et appartenant à la famille des Bifidobacteriaceae (**Bottacini et *al* ;2014).**

Elles peuvent être isolées de diverses parties du corps humain telles que le tractus gastro-intestinal (bouche, bronches et intestin), le vagin, mais aussi de son environnement tel que les eaux usées **(Carmona ,2016).**

Les souches du genre Bifidobacterium sont également utilisées comme bactéries probiotiques pour leur grande variété de mécanismes de résistance aux sels biliaires. Les effets sur la santé apportés par les bactéries appartenant au genre Bifidobacterium vont dépendre de la dose et de la souche utilisée. De nombreuses publications confirment les bienfaits de certaines souches spécifiques dans la prévention et le traitement de certaines maladies **(Carmona , 2016).**

Genre *Bifidobacterium*

Espèce	Propriété de santé rapporté dans la littérature
B. animalis* subsp. *Lactis	• ***B. animalis* subsp. *Lactis* DN-173 010 :** traitement de la constipation fonctionnelle chez les adultes • Modulation de l'activité du cerveau • réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés • ***B. animalis. subsp lactis* DN-173 010 :** réduction de la numération microbienne totale dans la plaque dentaire • ***B. animalis. subsp lactis* MB 202 / DSMZ 23733 :** réduction du taux de cholestérol • ***B. animalis* subsp. *lactis* BI-04 :** réduction du risque de maladie des voies respiratoires supérieures
B. breve	• Prévention et traitement de l'entérocolite nécrosante chez les nouveau-nés • ***B. breve* MB 113 / DSMZ 23732 :** réduction du cholestérol
B. bifidum	• réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés • ***B. bifidum* MB 109 / DSMZ 23731 :** réduction du taux de cholestérol
B. infantis	• Réduction des symptômes du syndrome de l'intestin irritable • réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés • Réduction des ballonnements chez les personnes présentant des troubles fonctionnels intestinaux
B. longum	• Prévention et traitement de l'entérocolite nécrosante chez les nouveau-nés • réduction de la diarrhée induite par rayonnement • Réduction des symptômes du syndrome de l'intestin irritable • ***B. longum* SMCC P0001 :** traitement des maladies gastro-intestinales • ***B. longum* CCM 7952** : réduction de l'allergie

Tableau 1: Effets de santé revendiqués de souches du genre Bifidobacterium **(Carmona, 2016).**

III.3. Les levures et leurs utilisations comme probiotique :

Les levures sont des champignons unicellulaires, utilisés dans l'industrie alimentaire pour la production de boissons alcoolisées (fermentation alcoolique), telles que la bière, le vin, l'alcool industriel et le saké mais également dans la fabrication du pain (panification) (**Steensels et *al.*, 2014).**

En plus d'être importantes dans ces domaines, les levures sont actuellement employées comme outil de biotechnologie pour la production de l'insuline humaine, de vaccins (hépatite B et papillomavirus) ainsi que pour leurs bienfaits sur la santé (**Moslehi-Jenabian et *al* ;2010**).

Parmi ceux-ci, les effets sur la santé les plus connus sont ceux exercés sur le microbiote intestinal en tant que microorganisme probiotique **(Carmona ,2016).**

Les levures actuellement employées comme probiotique dans les produits pharmaceutiques (compléments alimentaires ou médicaments) appartiennent au genre s*accharomyces* et sont peu nombreuses. Il s'agit, de la souche *Saccharomyces cerevisiae* mais plus particulièrement *Saccharomyces cerevisiae* variété boulardii(**Moslehi-Jenabian et *al* ;2010**). *Saccharomyces cerevisiae* variété boulardii se caractérise par sa grande tolérance au pH acide et sa capacité à se développer à une température de 37 ° C (**Kelesidis et *al* ;2012**).

Pour la petite histoire, au début des années 1920, Henri Boulard (microbiologiste français) en voyage en Indochine observe qu'une population locale se sert d'une décoction d'écorce de litchis et de mangoustans pour lutter contre les symptômes diarrhéiques induits par la bactérie *Vibrio cholerae*. L'analyse microbiologique réalisée par Henri Boulard a permis d'isoler une levure capable de se développer à haute température qu'il nomma: *Saccharomyces boulardii*(**Goulet , 2009**).

Morphologiquement et physiologiquement, cette levure est comparable à *Saccharomyces cerevisiae*, cependant son identification taxonomique est encore discutée. En effet, certains auteurs considèrent que c'est une souche de *Saccharomyces cerevisiae* tandis que d'autre la voit comme une espèce distincte. Actuellement, les données issues de la littérature portant sur la recherche ADN positionne cette levure comme une variété de Saccharomyces cerevisiae (**Moslehi-Jenabian et *al* ;2010**).

Parmi les levures utilisées pour leurs effets bénéfiques sur la santé, *Saccharomyces boulardii* est la seule levure avec des effets cliniques et la seule préparation de levure avec une efficacité probiotique prouvée dans des études en double aveugle (**Carmona , 2016).**

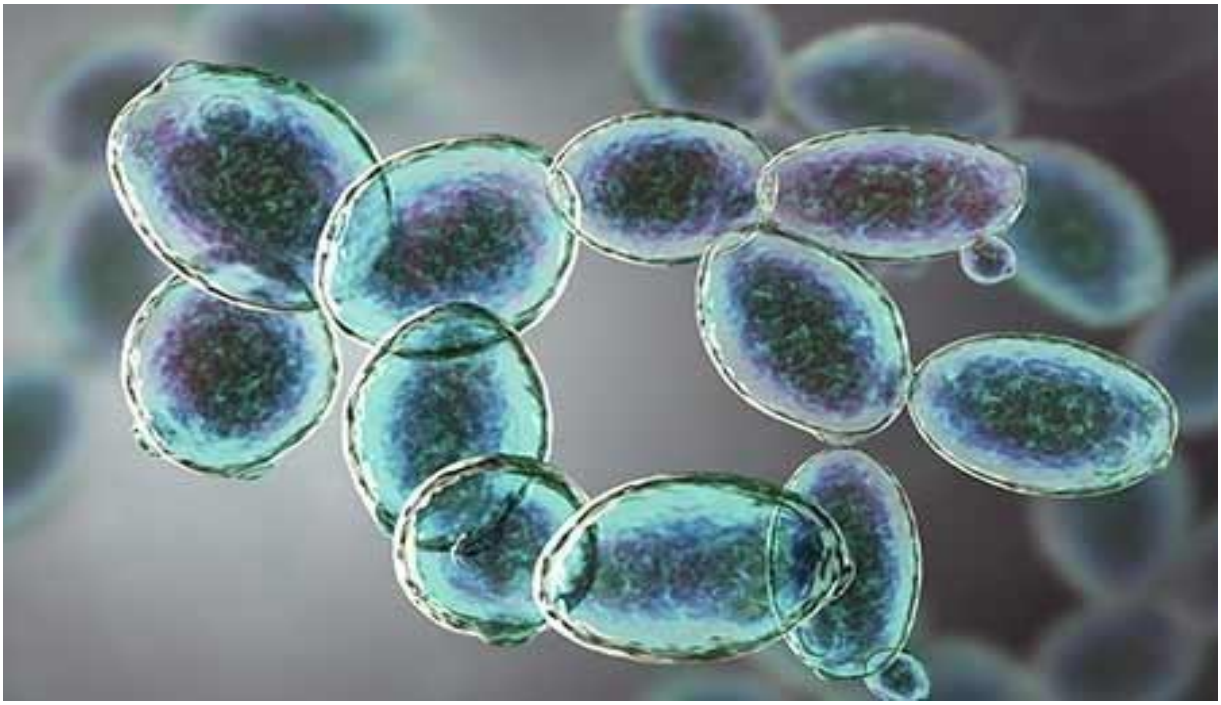


Figure 5 : Les levures (Saccharomyces cerevisiae) sous microscope photonique G r : 1000. **(5)**

Les levures du genre *Saccharomyces*

Activité	Espèce de levure	Propriété de santé rapporté dans la littérature
Effet probiotique	*Saccharomyces cerevisiae* var. boulardii	• Traitement de la diarrhée des voyageurs • Traitement et réduction de la durée de la diarrhée • Traitement des symptômes du syndrome du côlon irritable • Traitement de la colite ulcéreuse modérée • Traitement et réduction de la colite pseudomembrane récurrente causée par C. *difficile* • Traitement de la gastro-entérite aiguë chez les enfants

Biodégradation des phytates	*S. cerevisiae* *S. kluyveri*	• La dégradation de l'acide phytique permet d'améliorer la biodisponibilité des minéraux divalents notamment du zinc, du calcium , du magnésium et du fer et présente donc une importance nutritionnelle
Augmentation des apports en folates	*S. cerevisiae*	• Prévention des anomalies de fermeture du tube neural • Prévention des anémies mégaloblastiques • Réduction du risque de maladies cardiovasculaires • Prévention du cancer du colon • Prévention de la maladie d'Alzheimer
Dégradation et absorption des mycotoxines	*S. cerevisiae*	• Agit comme antitoxique dans certaines mesures

Tableau 2: Effets de santé revendiqués des levures du genre Saccharomyces **(Carmona , 2016).**

IV. Mécanismes d'action des probiotiques

IV.1. Renforcement de la barrière épithéliale :

La barrière intestinale présente un mécanisme de défense majeur impliqué dans le maintien de l'intégrité épithéliale et dans la protection de l'organisme contre les agressions de l'environnement. Les défenses de la barrière intestinale sont constituées par la couche muqueuse, les peptides antimicrobiens, IgA sécrétoires et le complexe d'adhérence de jonction épithéliale *(***Bermudez-Brito et *al.*, 2012**).

Les probiotiques ont été largement étudiés pour leur implication dans le maintien de cette barrière. Cependant, les mécanismes par lesquels les probiotiques améliorent la fonction de barrière intestinale ne sont pas complètement comprises *(***Bermudez-Brito et *al.*, 2012**).

Il a été rapporté que l'incubation des cellules intestinales avec les *Lactobacillus* influe de façon différentielle la phosphorylation des protéines de jonction d'adhérence et l'abondance de la

protéine kinase C (PKC), modulant ainsi positivement la fonction de barrière épithéliale **(Hummel et *al*., 2012; Bermudez-Brito et *al*., 2012**).

L'utilisation des probiotiques, prévient l'altération de l'épithélium induite par les cytokines qui caractérise les maladies inflammatoires de l'intestin, peut également contribuer au renforcement de la barrière muqueuse. Les mucines (Glycoprotéines) sont les principaux constituants macromoléculaires de mucus épithéliaux. Les probiotiques peuvent favoriser la sécrétion de mucus comme un mécanisme pour améliorer la fonction de la barrière et l'exclusion des agents pathogènes ***(*Bermudez-Brito et *al*., 2012).**

IV.2. Production de substances antimicrobiennes :

IV.2.1. Les acides organiques :

En particulier l'acide acétique et l'acide lactique, ont un effet inhibiteur contre les bactéries Gram-négatives, ils ont été considérés comme les principaux composés antimicrobiens responsables de l'activité inhibitrice des probiotiques contre les agents pathogènes (**Alakomi et *al* .,2000 ; Makras et *al*., 2006; Bermudez-Brito et *al*., 2012).**

L'acide organique pénètre dans la cellule bactérienne à travers la membrane bactérienne, il se dissocie à l'intérieur de son cytoplasme. L'éventuelle diminution du pH intracellulaire ou l'accumulation intracellulaire de la forme ionisée de l'acide organique peut conduire à la mort de l'agent pathogène *(***Ouwehand, 1998 ; Russell, Diez-Gonzalez , 1997).**

IV.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :

En outre, certains probiotiques sont capables de générer du peroxyde d'hydrogène en présence d'oxygène. L'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène est dû à son effet oxydant sur la surface cellulaire bactérienne *(***Collado et *al*., 2010).**

IV.2.3. Le dioxyde de carbone(Co_2):

Le dioxyde de carbone est produit par les bactéries hétérofermentaires, et son activité antimicrobienne est due à l'inhibition de décarboxylation enzymatique et son accumulation dans la membrane provoquant un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire **(Collado et *al*., 2010).**

IV.2.4. Les bactériocines:

Un grand nombre de bactéries lactiques produisent des peptides antibactériens qui sont les bactériocines inhibant la croissance de bactéries altérantes ou pathogènes. Les bactériocines

agissent au niveau de la membrane cellulaire par un mécanisme commun qui comprend la destruction des cellules cibles par la formation des pores et / ou l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire **(Bermudez-Brito et *al.*, 2012).**

IV.3. Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes :

Les mécanismes utilisés par une espèce de bactéries pour exclure ou réduire la croissance d'une autre espèce sont variés, y compris ; la création d'une micro-écologie hostile pour rendre l'environnement moins adapté à leurs concurrents, l'élimination des sites récepteurs bactériens disponibles, la production et la sécrétion de substances antimicrobiennes et des métabolites sélectifs, l'épuisement compétitif des nutriments essentiels (**Bermudez-Brito et *al.*, 2012).**

Les propriétés d'adhésion spécifiques qui sont due à l'interaction entre les protéines de surface et les mucines peuvent inhiber la colonisation des bactéries pathogènes et sont le résultat d'une activité antagoniste par certaines souches probiotiques contre l'adhésion des pathogènes gastro-intestinaux (**Servin, 2004**).

IV.4. Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale:

L'adhésion à la muqueuse intestinale est indispensable pour la colonisation et elle est importante pour l'interaction entre les souches probiotiques et l'hôte. La plupart des infections intestinales sont initiées par l'adhésion des pathogènes aux cellules entérocytaires de l'hôte **(Belhamra ,2017).**

Les bactéries lactiques présentent divers déterminants de surface impliquées dans leur interaction avec les cellules épithéliales intestinales **(servine, 2004).** Les cellules épithéliales intestinales produisent la mucine qui est un mélange complexe de glycoprotéine qui constitue un composant principale de la muqueuse, empêchant ainsi l'adhésion des bactéries pathogènes **(Collado et *al ;* 2005; Bermudez-Brito et *al.*, 2012**).

L'interaction spécifique a indiqué un lien possible entre les protéines de surface des bactéries probiotiques et l'exclusion compétitive des agents pathogènes du mucus (**Ouwehand et *al.*,2002),** les bactéries présentent des adhésines de surface qui assurent la fixation à la muqueuse, l'exemple le plus étudié des adhésines bactériennes ciblant le mucus est une protéine produite par *Lactobacillus reuteri*(mucus- binding-PROTIENE) (**Buck et *al.*,2005 ; Bermudez Brito et *al* .,2012**). Les probiotiques, telles que *L. plantarum*, ont la capacité d'induire MUC2 et MUC3 et d'inhiber l'adhérence de *E. coli* entéropathogène. Ces observations

indiquent que l'amélioration des couches muqueuses et du glycocalyx recouvrant l'épithélium intestinal, ainsi que l'occupation des sites de liaison microbiennes par *Lactobacillus spp*. fournir une protection contre l'invasion par des agents pathogènes (**Bermudez Brito et *al*.,2012**). Le processus d'adhésion microbienne des bactéries lactiques comprend également des interactions non spécifiques par des forces passives, des interactions électrostatiques, hydrophobes et des forces stériques (**Servin et Coconnier ; 2003).**

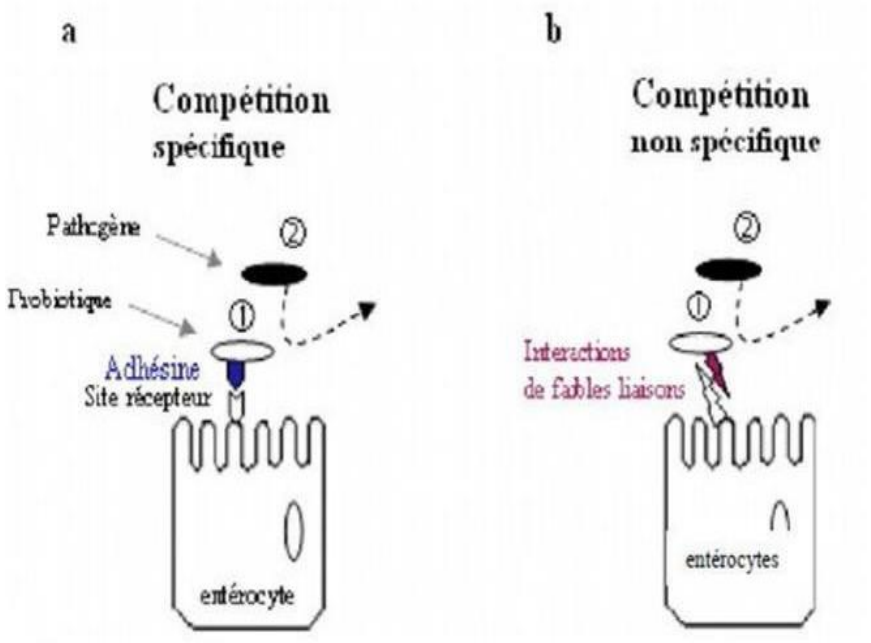


Figure 6 : Mécanisme d'inhibition d'adhésion des pathogènes **(a)** par compétition spécifique **(b)** compétition non spécifique **(Servin et Coconnier; 2003).**

IV.5. Modulation du système immunitaire :

Le système immunitaire peut être divisé entre les systèmes innés et adaptatifs. La réponse immunitaire adaptative (ou acquise) dépend des lymphocytes B et T, qui sont spécifiques pour des antigènes particuliers. En revanche, le système immunitaire inné (ou naturel) répond à des structures communes appelées motifs moléculaires associés aux pathogènes (**Gòmez *et al*.,2010 ; Bermudez-Brito et *al*., 2012).** La régulation immunitaire se traduit par une homéostasie entre l'activité des cellules Th1 et celle des cellules Th2 qui jouent un rôle principal dans le mécanisme de régulation immunitaire. Les cellules Th1 produisent des IFN-γ et confèrent une protection contre les pathogènes intracellulaires par activation des macrophages (**Kawakami , 2003).** Alors que, les Th2 sécrètent IL-4, IL-5sont plus impliquées dans l'immunité humorale

par activation et différenciation des cellules B, et particulièrement dans la production des anticorps IgE et IgA, au recrutement des éosinophiles, des mastocytes. Une inhibition croisée entre les cellules Th1 et Th2 induite par IFN-γ et IL-10 respectivement permet de maintenir un équilibre entre les Th1 et Th2 (**Kidd , 2003**).

Les probiotiques, grâce à leurs composants intra ou extracellulaires actifs, sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes, en transmettant des signaux qui modifient la réponse immunitaire de l'organisme-hôte. De nombreuses études ont rapporté que la prolifération des lymphocytes et la production des cytokines par les cellules du système immunitaire peuvent être sensiblement modifiées par l'ingestion de probiotiques (**Amrouche , 2005**).

Jijon et ses collaborateurs (**2004**) ont démontré que l'ADN issu d'un mélange de 8 souches probiotiques (*L. acidophilus MB 443, L. delbrueckiisubsp. bulgaricus MB 453, L. casei MB 451, L. plantarum MB 452, B. longum Y10, B. infantis Y1, B. breve Y8 et S. salivariussubsp. thermophilus MB 455*), réduis *in vitro* et *in vivo* les réponses inflammatoires au niveau de l'épithélium intestinal. Une étude clinique de (**Mastrandrea *et al.*,2004)** a montré les effets positifs des probiotiques dans le traitement des maladies allergiques. En effet, une administration quotidienne d'un mélange de *Lactobacillus acidophilus, L. delbrueckii*set *Streptococcus thermophilus* (10^9 bactéries vivantes) a permis de réduire significativement le taux de précurseurs circulants de lymphocytes CD34+ impliqués dans l'inflammation allergique systémique.

Lee et *al.* (**2004)** ont étudié *in vitro* l'activité anti-prolifération des fractions cytoplasmiques de *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei* et *Bifidobacterium longum*sur les lignées de cellules tumorales SNUC2A, SNU1, NIH/3T3. Ils ont constaté que toutes les fractions cytoplasmiques, particulièrement celles de *L. casei et B. longum*, inhibent la prolifération des cellules tumorales

V. Effet des probiotiques sur la santé

V.1. Amélioration de l'intolérance au lactose :

Le lactose des produits laitiers est digéré dans l'intestin grêle de l'homme par une enzyme membranaire, la lactase. Dans la plupart des ethnies, il existe un déclin génétiquement

programmé de l'activité lactase qui survient au moment de l'adolescence. Ainsi, à l'âge adulte, la plupart des habitants de la Terre ont une malabsorption partielle du lactose ingéré par déficit primaire acquis en lactase ; si les quantités de lactose non absorbées dans l'intestin grêle sont importantes, il peut en résulter des symptômes digestifs. On parle alors d'intolérance au lactose **(Bernard Fet Stéphane ;2007).**

Chez l'adulte déficient en lactase, le yaourt contenant *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* augmente la digestion du lactose dans l'intestin grêle, par comparaison à un lait standard ou à un produit laitier fermenté et thermisé, le traitement thermique affectant la viabilité des micro-organismes et neutralisant l'activité de la lactase bactérienne. Les probiotiques du yaourt réduisent la mal digestion d'une charge en lactose chez des sujets hypolactasiques de 6 % à 33 % selon les études (**De Vrese et *al.*,2001 ; Savaiano D.A et *al.*,1984).** Le yaourt améliore aussi la tolérance clinique au lactose. De nombreux autres probiotiques, tel *L. acidophilus,* ont aussi un effet favorable, bien qu'en général quantitativement moins prononcé (**Bernard et Stéphane ;2007**).

L'effet favorable des probiotiques sur la digestion du lactose s'explique principalement par l'ajout intra-luminal de la lactase d'origine bactérienne libérée dans la grêle proximale par lyse cellulaire sous l'effet de l'acidité gastrique et des sels biliaires et/ou produite par les corps bactériens vivants et en transit. La pharmacocinétique de la lactase contenue dans les bactéries du yaourt a été étudiée chez des sujets déficients en lactase par la méthode de perfusion intestinale. L'ingestion de yaourt augmente l'activité lactase dans l'intestin pendant plus de deux heures. Environ 20 % de la lactase présente dans le yaourt au moment de l'ingestion sont récupérés dans l'iléon terminal et la quantité de lactose non digérée après ingestion de yaourt est plus faible qu'après ingestion du même yaourt pasteurisé (**Marteau et *al.*,1990**).

L'effet stimulant sur la digestion du lactose peut aussi s'expliquer par l'activité de la perméase bactérienne favorisant l'entrée du lactose dans la cellule probiotique suivie de son hydrolyse lactasique et, pour ce qui est du yaourt, par une vidange gastrique, favorisant la digestion plus complète du lactose par la lactase résiduelle (**Bernard et Stéphane ;2007**).

V.2. Réduction des diarrhées :

Certaines bactéries lactiques sont utilisées dans la prévention ou le traitement des diarrhées infectieuses et des troubles digestifs liés à la prise d'antibiotiques (**Drouaul et et Corthier;2000).**

Plusieurs essais randomisés avec placebo ont montré l'efficacité de certaines bactéries lactiques dans la prévention des perturbations digestives liées à l'antibiothérapie. Les diarrhées associées à la prise d'antibiotiques constituent un problème fréquent qui touche environ 20% des patients hospitalisés et auxquels on administre des antibiotiques (**Barlett, 1992**). Un tiers de ces diarrhées est causée par *Clostridium* difficile (**Fekety et Shah ;1993**).

L'origine des deux autres tiers est incertaine mais pourrait être liée à des troubles dans le métabolisme des bactéries du côlon. Les grosses molécules alors non métabolisées par les bactéries du côlon s'accumuleraient exerçant un effet osmotique dans le côlon provoquant des diarrhées(**Vanderhoof ,1999**). Les bactéries lactiques ayant un effet significatif dans la prévention des perturbations intestinales liées à l'antibiothérapie sont essentiellement *E. faecium* SF68,*Lb. rhamnosus* GG et *Lb. Acidophilus*(**Drouaul et et Corthier ;2000).**

Plusieurs travaux ont démontré un effet thérapeutique significatif de plusieurs probiotiques, notamment *Lb. rhamnosus* GG sur la durée des diarrhées en cas de gastroentérites causées notamment par les rotavirus (**Buydens et Debeuckelaere .,1996 ; Camarri et *al*.,1981 ; Guarino et *al*.,1997 ; Isolauri et *al*.,1991 ; Majamaa et *al* .,1995 ; Pant et *al*., 1996 ; Raza et *al* ., 1995 ; Shornikova et *al*., 1997).**

De plus un essai randomisé avec placebo a montré que l'administration à des nourrissons hospitalisés de *B. bifidum* et *S. thermophilus* diminuait significativement le risque de diarrhée et de portage de rotavirus (**Saavedra et *al*.,1994**). La capacité des bactéries lactiques à prévenir la diarrhée du voyageur a fait jusqu'à présent l'objet d'un nombre limité d'études. Plusieurs mécanismes d'action des bactéries lactiques dans le traitement des affections intestinales avec diarrhées ont été proposés :

- **Production de substances antimicrobiennes :**

Certaines bactéries lactiques ont la capacité de produire des substances antimicrobiennes comme le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines ou encore les acides organiques. *Lb. rhamnosus* GG produit par exemple des composés tels que le peroxyde d'hydrogène et le

pyroglutamate qui inhibent *in vitro* la croissance de plusieurs bactéries Gram-positives et Grame négatives (**Meurman et *al*., 1995 ; Silva et *al*.,1987**).

Certaines bactéries lactiques produisent également des bactériocines qui présentent une action antibactérienne avec un large spectre d'action (**Moll et *al*.,1999 ; Naidu et *al*.,1999**).

V.3. Infection à Helicobacter pylori :

Une infection à *H. pylori* est le facteur de risque principal de la maladie ulcéreuse, de l'adénocarcinome gastrique et du lymphome de MALT. Sa pathogénie implique une étroite corrélation entre l'hôte et sa réaction immunitaire, la présence de facteurs de virulence chez la bactérie et l'environnement. Son traitement actuel repose sur une association d'antibioiques ou d'anti-infecieux avec un antisécrétoire gastrique (IPP). L'apparition de résistance à ces traitements suite à l'application clinique généralisée a modifié régulièrement le choix des molécules recommandées au cours des 15 dernières années. L'anitbiorésistance constitue à l'heure actuelle un grave problème de santé publique à l'échelle mondiale. Cette dernière et la mauvaise observance thérapeutique liée notamment aux effets indésirables du traitement constituent les facteurs d'échec principaux de la lute contre l'éradication *H. pylori*. Des thérapies alternatives peuvent avoir un rôle à jouer dans l'aide à l'éradication de cette bactérie virulente (**Kimmel ,2018**).

L'utilisation des probiotiques pour leur pouvoir de modulation du microbiote dans de nombreuses pathologies connaît un intérêt grandissant. Dans le cas de l'éradication d'*H.pylori*, les données disponibles sont parfois contradictoires. *in vitro*, des souches de *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, acidophilus* et *Biidobactérium longum*ont montré une inhibition de *H.pylori*parfois importante (**Allem et *al*.,2007**). En revanche, une autre souche de *Lactobacillus bulgaricus* et la souche de *Biidobactérium adolenis* n'ont pas eu d'inhibition sur *H.pylori*(**Allem et al ,2007**). Au vu de ces travaux, les différentes espèces ont une action propre sur *H.pylori*et il y a des déférences d'action au sein même d'une espèce.

Les souches probiotiques peuvent agir par différents mécanismes. Elles ont pour certaines d'une part un effet bactéricide direct par l'intermédiaire de la sécrétion de bactériocines, d'acide lactique, acétique ou de peroxyde d'hydrogène et d'autre part une action bactéricide indirecte par la stimulation de la sécrétion de défensives par les cellules intestinales ou la stimulation du système immunitaire inné et adaptatif ou encore l'amélioration protectrice de la couche de

mucus. Ces souches ont la capacité d'adhérer à la muqueuse intestinale participant alors à l'effet barrière vis à vis des pathogènes puisqu'elles entrent alors en compétition avec le pathogène. La modulation du macrobiote à la fois gastrique et intestinale joue également probablement un rôle dans leur action contre les bactéries pathogènes. En effet, l'ingestion de bactéries probiotiques a pour effet une modification des macrobiotes gastro-intestinaux. Il a été démontré que la présence de *H.pylori* entraîne une plus faible diversité du microbiote gastrique et semble influencer les communautés bactériennes des autres sites digestifs (**Schulz et *al*.,2018**).

Ainsi l'apport de bactéries exogènes pourrait faciliter le retour à une plus grande diversité et limiter la place d'*H.pylori*.

Le rôle immun modulateur des probiotiques est reconnu et intervient aussi dans la lutte pour l'éradication de *H. pylori*. Les propriétés sont propres à chaque souche. Certaines souches ont clairement une action anti *H.pylori*. Cependant, la différenciation des souches est importante car l'extrapolation de l'action d'une souche probiotique à l'ensemble des probiotiques n'est pas possible. Les mécanismes complets Restent mal connus(**Kimmel , 2018**).

V.4. Constipation:

On parle de constipation, ou transit ralenti, lorsque la fréquence des selles est inférieure à trois par semaine. Un traitement est nécessaire dès l'apparition de crampes au niveau du ventre, d'une sensation désagréable de lourdeur, ou encore de ballonnements. Lors de cette période les selles sont dures, sèches et peuvent donc être difficiles à évacuer : il y a un risque de déclenchement de crises hémorroïdaires. Autre complication possible, il s'agit d'une occlusion intestinale lors de constipation chronique chez les personnes âgées (**Poli , 2020**).

Les causes peuvent être diverses : alimentation pauvre en fibres, manque d'activité physique, hydratation insuffisante, prise de certains médicaments ralentissant le transit (exemple : antalgiques comme le Tramadol ou la Codéine) (**Poli ,2020**).

La diversité du microbiote se voit bouleverser lors d'épisodes de constipation. Les altérations se caractérisent principalement par la diminution de bactéries comme *Lactobacillus, Bifidobacterium* et *Bacteroides* spp (**Khalif et *al*.,2005**), mais également par l'augmentation de bactéries pathogènes telles que *Pseudomonas aeruginosa*et *Campylobacter jejuni*(**Poli ,2020**).

En 2001, une étude réalisée sur des rats montrait déjà le bienfait de la supplémentation de deux souches bactériennes *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacteriumbifidum* en réduisant le temps de transit(**Husebye et *al.*,2001**).

En effet, les bifidobactéries et les lactobacilles semblent être les espèces les plus bénéfiques puisqu'elles permettent la stimulation du péristaltisme intestinal, l'augmentation de l'humidité du bol fécal, ainsi qu'une production d'AGCC plus importante (ces acides agissent sur la motilité intestinale)(**Poli ,2020**).

Lactobacillus reuteri permet d'améliorer le nombre de selles chez les adultes souffrant de constipation.

Aussi, le complexe *Lactobacillus plantarum* et *Bifidobacterium lactis* ou *Bifidobacterium breve* étudié sur des adultes a permis de constater une amélioration significative de la fréquence des selles hebdomadaires et de la consistance de ces dernières (**Del Piano et *al.*,2010**).*Lactobacillus casei* et *L.paracasei*ont également démontré leur intérêt dans l'amélioration des symptômes de la constipation (**Mazlyn et *al.*,2013** ; **Riezzo et *al.*,2012).**

L'efficacité des probiotiques est également renforcée par la prise de prébiotiques, notamment les galacto-oligosaccharides qui ont prouvé leur efficacité pour favoriser le péristaltisme intestinal et soulager la constipation chez des modèles d'animaux **(Li et *al* ., 2013).**

V.5. Maladies inflammatoires de l'intestin :

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICIs) sont caractérisées par la présence de lésions inflammatoires pouvant toucher tout ou une partie du tube digestif. Les MICIs peuvent survenir à tout âge mais elles touchent plus fréquemment des personnes relativement jeunes ayant entre 20 et 40 ans. La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) sont les deux principales formes de MICI. L'étiologie des MICI est encore inconnue mais les études récentes indiquent que ces maladies inflammatoires chroniques sont multifactorielles. Des facteurs génétiques, environnementaux et microbiologiques peuvent êtres les causes principales des MICIs. Les MICI sont des pathologies idiopathiques chez les individus génétiquement prédisposés, mettant en cause un déséquilibre du système immunitaire et une composition modifiée du microbiote, également connu sous le nom de dysbiose**)Zaylen ,2018**).

La plupart des approches thérapeutiques classiques actuelles pour la prise en charge de MICI ont leurs limites, notamment pour la prise en charge de la MICI et présentent de nombreux effets secondaires. Les MICI sont clairement reconnus comme des maladies multifactorielles. La restauration de l'homéostasie du microbiote intestinal, le renforcement des fonctions intestinales, la modulation des réponses immunitaires ainsi la réactivation des processus autophagiques par l'utilisation des probiotiques constituent des nouvelles cibles thérapeutiques et/ou préventives pour lutter contre les complications des MICI (**Zaylen, 2018**)

V.6. Maladies allergiques :

La réaction allergique inflammatoire intervient dans un certain nombre de pathologies telles que la rhinite allergique, la dermatite atopique, les allergies alimentaires et l'asthme dont l'incidence est en forte augmentation. L'asthme notamment reste une cause majeure de morbidité dans les pays industrialisés. Les allergies alimentaires touchent 8 % des enfants de moins de 3 ans et environ 2 % de la population adulte. Ces réactions allergiques de type I sont dues à des réponses immunes exagérées initiées par le contact avec des molécules appelées allergènes. Elles sont caractérisées par une production accrue d'IgE spécifiques de ces allergènes, associée au développement d'une réaction inflammatoire. L'asthme en particulier est déclenché par une première étape de réaction immédiate qui apparaît dès les premières minutes de contact avec l'allergène, impliquant la fixation d'IgE sur les mastocytes et entraînant la libération de médiateurs responsables des manifestations pathologiques (**Grangette ,2007).**

Elle est suivie d'une seconde étape appelée réaction retardée, caractérisée par le développement d'une inflammation de la muqueuse liée à de fortes infiltrations d'éosinophiles, qui, diminuant les voies respiratoires, aboutit à une réduction de la capacité respiratoire. Au sein de cet infiltrat, d'autres populations sont retrouvées tels que les macrophages et les lymphocytes Th2 caractérisés par leur capacité à produire des cytokines de type 2 telles l'IL-4, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-13 jouant un rôle crucial dans l'amplification de la maladie. En effet, l'IL-4 permettant la commutation des immunoglobulines par les cellules B, entraîne une augmentation des IgE spécifiques de l'allergène. À l'inverse, l'interféron gamma (IFNγ) produit par les cellules de type Th1, en régulant de façon négative la production d'IL-4, permet de réduire la commutation isotypique des immunoglobulines [13] et de protéger ainsi l'hôte de pathologies allergiques associées à une déviation Th2. La période néonatale et la petite enfance sont des périodes cruciales pour l'établissement de cette balance Th1/Th2, et les nouveau-nés présentent de façon

physiologique, un profil Th2 prédominant, du fait de l'environnement in utero, au sein duquel de fortes concentrations en IL-4 et en prostaglandines sont détectées (**Holt et *al* ;1997**).

Par l'induction de cytokines pro-inflammatoires et proTh1, telles que l'IL-12, l'IFNγ, l'IL-6, le TNFα et l'IL-1β, certaines bactéries lactiques peuvent promouvoir la polarisation de la réponse vers un profil de cellules Th1, qui exercera alors un effet suppressif sur les réponses Th2 et permettra de limiter les désordres allergiques (**Hessle et *al*., 2000 ; Cross et Gill;2001**).

Nous avons en effet pu montrer que certaines bactéries lactiques étaient capables d'inhiber *in vitro* la production de cytokines Th2 (IL-4 et IL-5) induites par la stimulation de cellules mononucléées (PBMC) de patients allergiques par l'allergène spécifique (**Pochard et *al*.,2002**). Cet effet inhibiteur semble dépendre de la présence de cellules présentatrices d'antigène (tels que des monocytes) et impliquer l'induction d'IL-12 et d'IFNγ**(Pochard et *al*.,2002)**. . De plus, des cellules dendritiques de patients allergiques aux acariens, stimulées in vitro par des bactéries lactiques en présence de l'allergène spécifique (der p1) ont montré une maturation (augmentation des molécules de costimulation) et la production d'IL-12 et d'IL-10. Une telle activation de ces cellules par les probiotiques a permis l'obtention d'effet régulateur sur des cellules T, naïves ou mémoire en inhibant la production de cytokine Th2 (IL-4 et IL-5), confirmant la réorientation vers un profil Th1(**Pochard et *al*.,2005)**.

De plus, la coadministration de telles bactéries avec l'allergène majeur du bouleau (Bet v1), a conduit à une augmentation de la réponse anticorps spécifique IgG2a (caractéristique d'une réponse Th1), et d'une réduction de 98 % du ratio IgE/IgG2a chez des souris traitées, puis sensibilisées par l'allergène. Les sérums de ces souris ont, de plus, été capables d'inhiber la dégranulation de basophiles de rat induite par l'allergène (**Repa et *al* .,2003**). L'utilisation de probiotiques en combinaison avec un allergène semble donc être un outil prometteur pour la vaccination muqueuse contre les allergies de type I **(Grangette ,2007).**

Il a été montré que la souche *L. casei* Shirota pouvait stimuler in vitro la production d'IL-12, d'IFNγ, de TNFα et d'IL-10 par des PBMC et que cette induction était abrogée après déplétion en monocytes, suggérant le rôle critique des monocytes dans l'induction de cytokines et la polarisation Th1. Cette même souche a également pu induire l'activation des cellules NK également de façon dépendante de la présence de monocytes (**Shida et *al*.,2006**). L'augmentation de l'activité NK par les probiotiques a pu être confirmée in vivo, par une étude

clinique réalisée chez l'homme, par l'ingestion de laits fermentés contenant 4 x 1010 ufc de *L. casei*Shirota vivant. Cette activité a notamment pu être corrélée à l'induction d'IL-12 (**Takeda et *al.*,2006**). Shida et *al* (**1998**) ont également montré que *L. casei* Shirota permettait d'inhiber la production d'IgE par des splénocytes de souris sensibilisée par l'ovalbumine et restimulés in vitro par l'allergène. Cet effet a pu être corrélé à l'induction d'IL-12 et d'IFNγ et à la diminution d'IL4 et d'IL-5. Très récemment, la comparaison de 20 souches de lactobacilles sélectionnées par stimulation *in vitro* de splénocytes de souris sensibilisées à l'ovalbumine, a confirmé les capacités immunomodulatrices souches spécifiques plutôt qu'espèce-dépendantes de ces bactéries, mettant en évidence des souches capables d'induire de forte production d'IL-12. La production de cette cytokine a notamment pu être corrélée à une augmentation d'IFNγ et à une diminution d'IL-4. L'administration orale de souches ayant montré de fortes capacités à induire de l'IL-12, a permis de réduire les niveaux de réponse IgE spécifique. De façon très intéressante, ce travail a également montré que l'induction d'IL-12 était fortement réduite lorsque les lactobacilles étaient traités par de la N-acétyl-muramidase et corrélée de façon positive à la quantité de peptidoglycane, composant majeur de la paroi bactérienne, suggérant que la production d'IL-12 serait liée, en partie, à la composition ou la quantité de ce composant bactérien (**Sashihara et *al* ., 2006**).

V.7. Cancer :

La consommation de viande rouge cuite, en particulier la viande grillée au barbecue, et une faible consommation de fibres sont rapportées à jouer un rôle majeur dans l'apparition du cancer colorectal. La flore colique est également signalée pour provoquer la carcinogenèse médiée par des enzymes microbiennes telles que β-glucuronidase, azoréductase et nitroreductase, qui convertissent les procarcinogènes en carcinogènes (**Shah, 2007**).

L'effet anticancéreux des bactéries probiotiques est rapporté comme étant due à la suppression des sources de procarcinogènes ou les enzymes qui conduisent à leur formation, l'amélioration de l'équilibre de la microflore intestinale, la normalisation de la perméabilité intestinale conduisant à la prévention ou le retardement de l'absorption des toxines, le renforcement des mécanismes de barrière intestinale, et l'activation de facteurs cellulaires non spécifiques (telles que les macrophages et les cellules natural killer par l'intermédiaire de la régulation de la production d'interféron- γ (**Shah, 2007**).

Il a été rapporté que certaines souches de *L. acidophilus et Bifidobacteriumspp*ont la capacité de diminuer le taux des enzymes telles que la β-glucuronidase, la azoréductase et nitroréductase

responsable de l'activation des procarcinogènes et par conséquent, réduire le risque de développement de tumeurs (**Yoon et *al* ;2000; Shah, 2007**). Des études sur l'homme ont montré que l'ingestion de *L. acidophilus ou Lactobacillus casei* entraîne une réduction des niveaux des enzymes dans les selles de volontaires (**Senok et *al* .,2005**). *L. acidophilus, L. plantarum L. rhamnosus*et*Bifidobacterium*produisent des acides gras à chaîne courte, ces composés sont rapportés à inhiber la production de produits cancérigènes
en réduisant les activités enzymatiques (**Fotiadis et *al* ., 2008**).
Une étude portant sur l'impact de la consommation de probiotiques sur le cancer a
montré des résultats prometteurs, elle a démontré que l'utilisation de *L. casei* Shirota (présente dans la préparation «Yakult») a réduit le taux de récurrence du cancer superficiel de la vessie (**Aso et *al*.,1995; Senok et *al*., 2005**).

VI. Sources potentielles des probiotiques

Bien que le premier lait fermenté par des bifidobactéries ait été mis sur le marché il y a près de 50 ans, le domaine des aliments probiotiques ne s'est développé que dans les années 1970 (**Tamime et *al*., 1995**). En 1997, plus de 70 produits laitiers industriels tels que des laits fermentés, du fromage blanc, du babeurre et des desserts surgelés contenaient des bactéries probiotiques, dont plus de la moitié au Japon (**Shah, 1997**). Aujourd'hui, les marques LC1 (Nestlé), Vifit (Campina Melkunie), Actimel (Danone) et Yakult ont émergé comme des chefs de fil dans les yogourts et laits fermentés probiotiques (**Stanton et *al* ;2001**).

VI.1. Le yaourt :

Le yaourt se distingue du fromage par sa coagulation acide faite uniquement par les bactéries lactiques ainsi que par l'absence d'égouttage, de salage, de pressage et d'affinage. La norme A-11a du Codex Alimentarius (1975) précise que « le yogourt est un produit laitier coagulé par la fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à partir du lait, et ces bactéries lactiques thermophiles doivent être à l'état viable et en quantité abondantes (au moins 10^7 bactéries /g).Le rôle des streptocoques et lactobacilles dans la fabrication du yaourt peut être résumé comme suit : l'acidification du lait, la synthèse de composantes aromatiques, le développement de texture et de viscosité**(Demers ,2015).**

Les deux types les plus couramment fabriqués sont le yaourt ferme et le yaourt brassé. La fermentation se passe en pots pour le yaourt ferme, alors que celle du yogourt brassé a lieu avant le brassage et le conditionnement. Ceux-ci peuvent être produits soit à partir de lait entier, soit à partir de lait partiellement ou totalement écrémé. La figure 07 illustre les étapes de fabrication du yaourt **(Demers ,2015).**

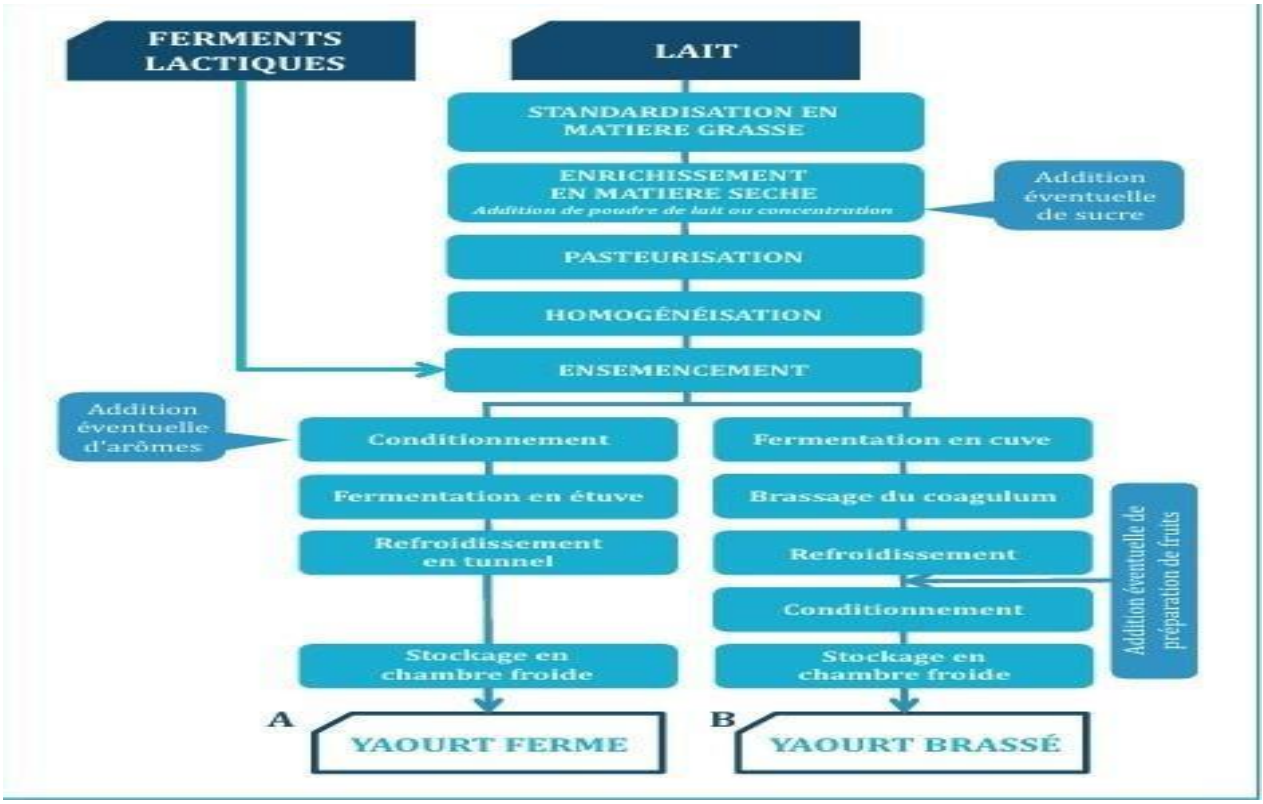


Figure 7: Les étapes de fabrication du yaourt **(Bourlioux et al ;2011).**

VI.2. Le fromage :

Similairement au yaourt, le fromage est une forme de préservation du lait et offre une diversité de flaveurs, textures et formes (**Fox et *al.*, 2000**). Sa popularité ne cesse d'augmenter puisque le fromage est utilisé dans de nombreux aliments préparés et produit dans plusieurs pays à travers le monde (**Aiqian et *al*, 2009**).

Les fromages sont des aliments qui peuvent contenir des probiotiques bénéfiques pour la santé. Cependant, certains types de fromages sont plus riches en probiotiques que d'autres (**6)**

Les fromages à pâte molle :

Les fromages à pâte molle, tels que le camembert et la brie, peuvent contenir une grande quantité de probiotiques. Cela est dû au processus de fabrication particulier de ces fromages, qui favorise la croissance des bactéries bénéfiques**. (6)**

Les fromages à pâte dure :

Les fromages à pâte dure, comme le cheddar et le parmesan, contiennent également des probiotiques, bien que leur concentration puisse être moindre que celle des fromages à pâte molle. Néanmoins, leur consommation régulière peut toujours fournir des bienfaits pour la santé. Il existe différentes espèces de bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du fromage, telles que *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Chaque espèce a ses propres caractéristiques et contribue de manière unique à la fermentation.(6)

VI.3. Le kéfir :

Le kéfir est une boisson idéale: très bonne pour la santé, naturelle, peu coûteuse, relativement simple et rapide à réaliser. En seulement 48h vous obtiendrez une super boisson, très désaltérante, légèrement pétillante, riche en probiotiques , on trouve deux types sont **(7) :**

VI.3.1. Le kéfir de fruit :

Le kéfir de fruit est une boisson naturellement pétillante et peu sucrée riche en probiotique issue de la fermentation naturelle des grains de kéfir de fruits. Sa provenance reste encore débattue. Le terme kéfir désigne à la fois la boisson fermentée et le ferment qui se présente sous la forme de grains translucides composés d'une communauté symbiotique de microorganismes (levures, bactéries lactiques et bactéries acétiques). Ces grains ne se trouvent pas dans la nature mais se transmettent entre cultivateurs de kéfir. Ainsi, à chaque fermentation les grains se multiplient et peuvent être partagés **(8).**

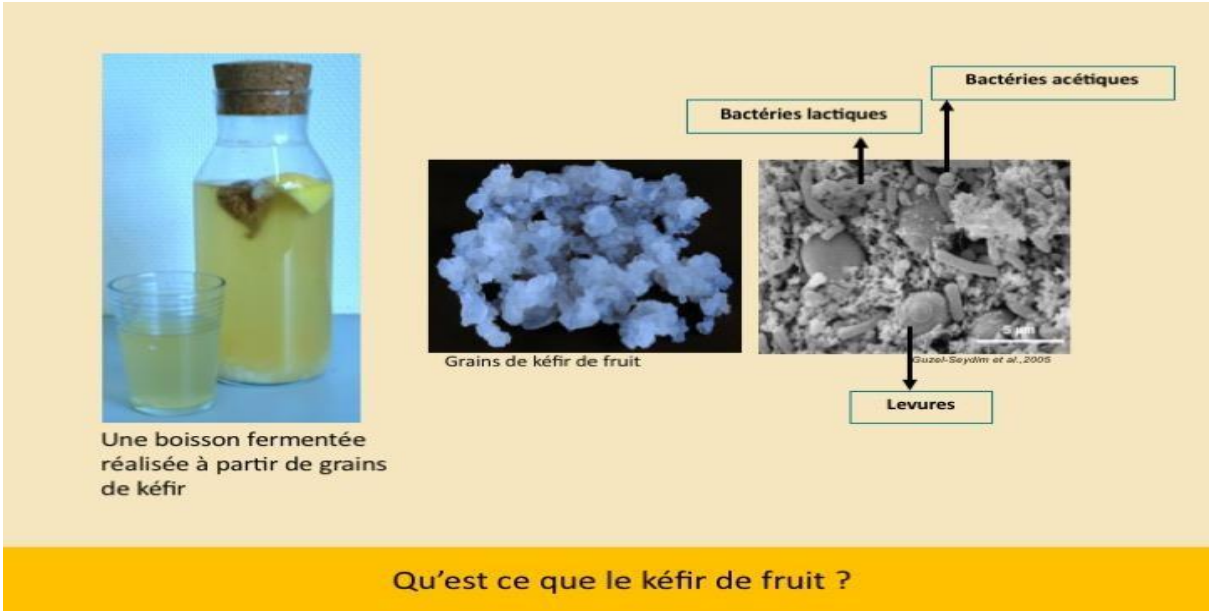


Figure 8 : Préparation du kéfir de fruit(**8).**

VI.3.2. kéfir de lait :

Le kéfir de lait est une boisson fermentée crémeuse, acidulée et légèrement pétillante que l'on peut faire à partir de n'importe quel lait animal. Ses origines remontent à plusieurs milliers d'années au cœur des montagnes du Caucase **(9).**

Le kéfir de lait est le cousin du yaourt, avec des microorganismes différents et en bien plus grand nombre. Il a un goût plus acide et une texture plus liquide. Il se fabrique traditionnellement à partir de grains de kéfir de lait, mais il est aussi possible de le préparer à partir de culture de kéfir en poudre **(9).**

Les grains de kéfir sont des petits amas blancs et gélatineux ressemblant à des petits choux-fleurs, regorgeant d'une multitude de bactéries et de levures en quête de lait à fermenter**(9).**

La fabrication de kéfir de lait maison présente de nombreux avantages :

- **Savoureux :**

  Ajustez la durée de fermentation et choisissez votre type de lait préféré pour personnaliser l'acidité, le goût et la texture. Ainsi, vous créez une boisson qui répond exactement à vos préférences.

- **Simple et rapide :**
  Avec un minimum d'équipement et d'ingrédients, vous pouvez démarrer une fermentation en quelques minutes, laissant ensuite la nature s'occuper du reste.

- **Sans risques :**
  En suivant les instructions de base pour la préparation et la conservation, le processus est sûr, avec très peu de risques de contamination.

- **Bénéfique pour la santé :**
  Riche en probiotiques, le kéfir peut aider à renforcer le système immunitaire, améliorer la digestion et l'équilibre de la flore intestinale **(9).**



Figure 9 : Les grains de kefir de lait **(9).**

Le tableau suivant illustre les différentes bactéries lactiques dans les aliments probiotiques.

Aliments/produits	***Ingrédients***	***Bactéries lactiques***
Fromages	Lait de vache, chèvre ou brebis	Lactocoques, lactobacilles…
Yaourt	Lait de vache	*S. thermophilus* et*Lb. bulgaricus*subsp.

Lait fermenté	Lait de vache	*Lb. acidophilus*
Kéfir	Lait de vache, de jument ou de chèvre	*Lb. Kefir*
Saucisse sèche	Porc, bœuf	Pediocoques, *Lb. plantarum, Lb. Brevis*
Saucisse semi-sècheIzushi	Porc Poisson, riz, légumes	Pediocoques *Leu. mesenteroides, Lb. Plantarum*
Ogi (Nigeria)	Maïs	*Lb. plantarum, L. lactis*
Olives	Olives vertes	Pédiocoques, *Lb. plantarum, Lb. brevis, Leu. Mesenteroides*
Pickles	Concombres	Pédiocoques, *Lb. Plantarum*
Choucroute	Chou	*Leu. mesenteroides, Lb. Plantarum*
Sauce soja	Soja	*Lb. bulgaricus*subsp. *Delbrueckii*
Vin	Raisin	*Leu. Oenos*
Sake	Riz	*Lb. sake, Lb. homohiochi, Leu. Mesenteroides*
Idli	Farines de riz et de haricots	*Leu. Mesenteroides*
"San Francisco sourdough	Farine de blé	*Lb. Sanfrancisco*

Tableau 3 : Exemples de bactéries lactiques utilisées dans la fermentation des aliments **(Drouault et Corthier ;2000)**

VII. Formes d'application des probiotiques

VII.1. Réglementation

Les propriétés d'un probiotique sont données par une souche spécifique, non par l'espèce ni par le genre. Dans la communauté scientifique, les souches probiotiques sont déposées dans une collection de cultures reconnue et acceptée au niveau international (ex : Centre International de Ressources Microbiennes (CIRM) de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA)**(10).**

L'identification et la nomination de ces souches se fait par le genre, l'espèce, la sous-espèce (s'il en existe) et par des caractères alphanumériques. Par exemple : (*Lactobacillus casei*-DN114 001)**(11)**ou encore *Lactobacillusacidophilus* LA 401 **(10).**

Genre	Espèce	Sous espèce	Désignation de la souche	Désignation de la souche selon le registre international	Surnom de la souche	Nom commercial du produit
Lactobacillus	*Rhamnosus*	sans	GG	ATTC 53103	LGG	Culturelle®
Bifidobacterium	*Animalis*	*Lactis*	DN- 173 010	CNCM I-2494	*Bifidus regularis*	Yaourt Activia®
Bifidobacterium	*Longum*	*Longum*	35624	NCIMB 41003	Bifantis	Align®

Tableau 4 : Nomenclature pour les micro-organismes probiotiques **(Organisation Mondiale de Gastroentérologie, 2017)(11).**

Pour qu'un produit soit qualifié de probiotique certaines conditions sont nécessaires. Cela implique des critères techniques, des critères fonctionnels, des critères d'innocuité et en particulier des critères d'identification de la souche selon la nomenclature internationale (**Guillemin, 2018 ; Bey ,2020**). Cette souche microbienne doit être vivante, capable de survivre au cours du transit intestinal et apte à proliférer au sein du tube digestif afin d'engendrer une action bénéfique .Ces attentes sont indiquées dans le rapport original de la Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO) et de l'OMS (2002), précisées en 2014 qui énumère onze recommandations**(12)(Hill et *al* .,2014).**

Ce rapport précise notamment que « les aliments fermentés, les prébiotiques, les greffes de microbiote fécal et les souches microbiennes du même genre ou de la même espèce que les souches probiotiques documentées mais qui n'ont pas subi de tests appropriés sur l'hôte cible ne doivent pas être considérés comme des probiotiques sur la base du respect de la définition scientifique. » (**Reid et *al.*,2019**).

VII.2. Conditions de mise sur le marché des probiotiques

Les conditions de mise sur le marché des probiotiques sont définies en fonction de leur application : médicament ou aliment**(Ninane et *al*., 2015).** Pour la plus grande partie d'entre eux, les probiotiques sont utilisés en tant qu'aliments fonctionnels ou compléments alimentaires et font partis dans ce cas-là, des "aliments santé" **(Figure 10).**Les "aliments santé" se trouvent entre le médicament et l'aliment traditionnel sont régis par lalégislation alimentaire **(Carmona, 2016).**

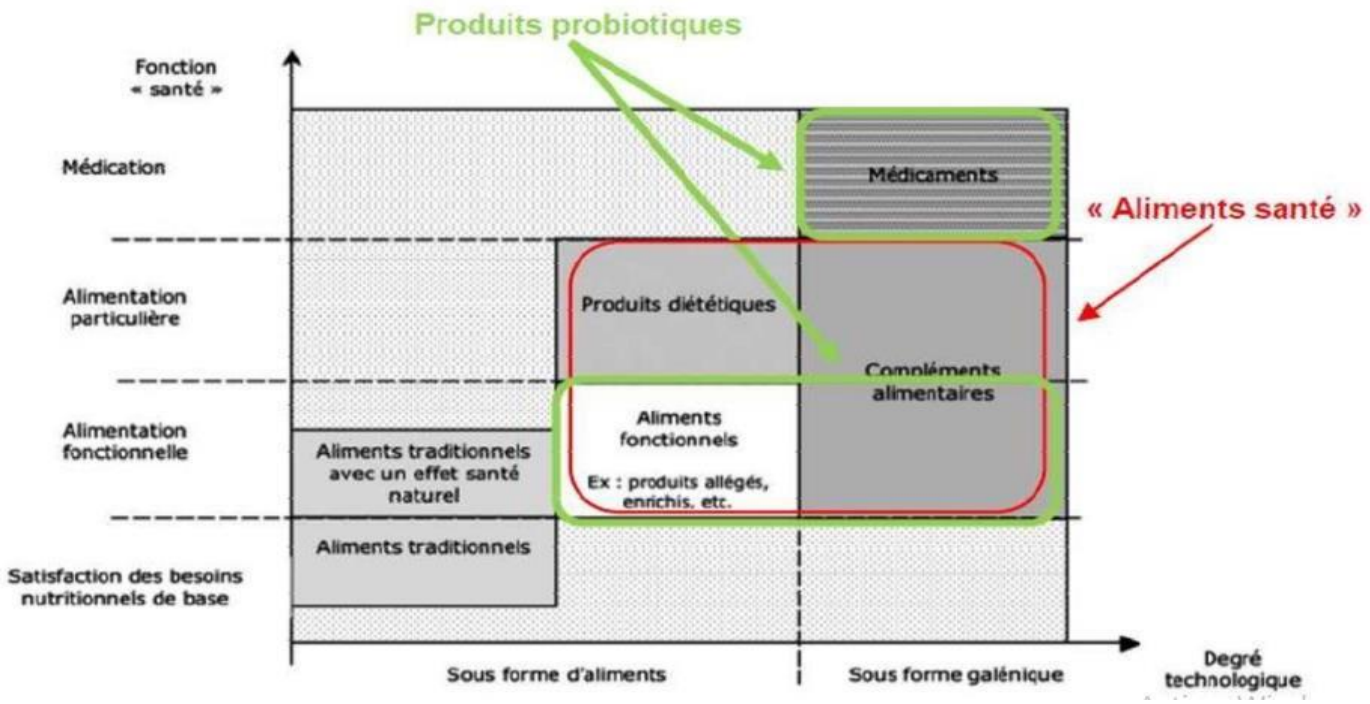


Figure 10 : Positionnement des aliments probiotiques en santé**.(Boudouhi et al ;2005).**

VII.2.1. Médicaments probiotiques

Les médicament sont définis par le code de la Santé publique (article L.5111-1) comme : « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. » **(13)**. Peu de probiotiques sont des médicaments ()

Spécialité	Présentation	Composition	Indication
Bacilor®	Existe sous forme de gélule (250 mg) et sachet (1.5 g)	*Lactobacillus casei* variété *rhamnosus*	Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée

Carbolevure®	Gélule adulte et enfant	Levure vivante et charbon activé	Traitement symptomatique des manifestations intestinales, Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée
Florgynal®	Gélule vaginale	*Lactobacillus casei* variété *rhamnosus* Doderleini, estriol et progestérone	Utilisé dans certaines affections gynécologiques
Trophigil®			
Ultra-levure	Existe sous forme de gélule (50 ou 200 mg) et sachet (100 mg)	*Saccharomyces boulardii*	Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée

Tableau 5 : Présentation des médicaments probiotiques ayant fait l'objet d'une demande d'autorisation de mise sur le marché **(AMM) (14)**

Pour être commercialisée, une spécialité pharmaceutique doit obtenir préalablement une autorisation de mise sur le marché (AMM). L'AMM est demandé par un laboratoire pharmaceutique, pour sa spécialité, sur la base d'un dossier comportant des données de qualité pharmaceutique, d'efficacité et de sécurité, dans l'indication revendiquée. Les données de qualité pharmaceutique, d'efficacité et de sécurité du dossier d'AMM sont issues notamment des expérimentations conduites chez l'animal et d'essais cliniques menés chez l'homme, selon des normes fixées internationalement et harmonisées au niveau communautaire **(Carmona, 2016).**

L'AMM est délivré après l'évaluation du rapport bénéfice/risque (qui doit être jugé favorable) et de la qualité pharmaceutique (qui doit être jugé satisfaisante). Les médicaments probiotiques cités dans le **Tableau 3** ont obtenu une AMM par les autorités compétentes. Les essais pharmaceutiques, précliniques et cliniques permettant la constitution du dossier d'AMM sont très couteux et doivent être régulièrement reproduits pour maintenir l'enregistrement du médicament. Ceci explique probablement le petit nombre de probiotiques enregistrés dans la liste des médicaments autorisés **(15).**

VII.2.2. Aliments probiotiques :

Depuis 2000, la consommation des aliments probiotiques a fortement augmenté surtout en Europe. Ceci peut s'expliquer, par une corrélation existante entre alimentation et effets bénéfiques pour la santé **(Benjamin C, 2016).**. Du fait qu'ils sont "destinés à être ingérés par l'être humain", les probiotiques utilisés comme compléments alimentaires, de même que les aliments fonctionnels, sont considérés comme des denrées alimentaires et sont régis par la législation s'y attenant. Ils se différencient des aliments diététiques (destinés à une alimentation particulière et doivent faire l'objet d'une formulation ou d'un procédé de fabrication spécifique pour se différencier de l'aliment courant), et des médicaments, en particulier pour ce qui est des allégations **(Ninane et *al.*,2015).**

VII.2.3. Notion de dosage :

La qualité des produits probiotiques repose sur le fabricant concerné. Comme la plupart des produits ne sont pas fabriqués selon les normes pharmaceutiques, les autorités de surveillance ne peuvent surveiller l'adhérence aux normes de qualité. Les facteurs qui sont spécifiquement importants en ce qui concerne la qualité des produits probiotiques sont, entre autres, le maintien de la viabilité (telle qu'indiquée par le nombre d'unités formant des colonies (CFO/UFC) jusqu'à la fin de la durée de conservation et une utilisation correcte de la nomenclature actuelle en ce qui concerne le genre, l'espèce et la souche de chaque organisme contenu dans le produit**. (Bernaola et al.,2010 ; Bindels et al ; 2016).**

Les doses de probiotiques nécessaires varient considérablement selon la souche et le produit. Bien que beaucoup de produits vendus sans ordonnance contiennent 1–10 milliards de CFU/UFC par dose, certains se sont révélés efficaces à des doses plus basses, alors que d'autres en nécessitent des plus élevées. Il n'est pas possible d'établir en général la dose nécessaire pour tous les probiotiques ; la dose nécessaire devrait s'appuyer sur des études sur l'humain démontrant un bénéfice pour la santé. **(Bernaola et al.,2010 ; Bindels et al ; 2016).**

Comme les probiotiques sont des organismes vivants, ils sont susceptibles d'extinction pendant le temps de stockage. Les fabricants responsables intègrent un petit surplus afin qu'à la fin de la durée de conservation du produit, celui-ci ne tombe pas en-dessous du degré de puissance mentionné sur l'étiquetage. Les souches de probiotiques produisant des spores, bien que moins bien étudiées que d'autres, ont l'avantage d'être plus résistantes au stress environnemental pendant leur durée de conservation. Il a été démontré dans certains cas que des produits

probiotiques actuellement sur le marché ne respectent plus les allégations mentionnées sur les étiquettes en ce qui concerne le nombre et les types de microbes viables contenus dans le produit**. (Bernaola et al.,2010 ; Bindels et al ; 2016).**

Il serait peut-être nécessaire de préciser une plage spécifique de CFU/UFC admissible afin de minimiser les risques de toxicité ainsi que les risques de perte d'efficacité entre le moment de la fabrication et la fin de leur durée de conservation **(Bernaola et *al.*,2010 ; Bindels et *al* ; 2016).**

VII.2.4. Etiquetage approprié :

L'étiquetage des produits probiotiques doit comprendre les éléments suivants :

- Le genre, l'espèce et la souche doivent être désignés selon une nomenclature commune.
- La quantité du ou des micro-organisme(s), le nombre de cellules viables de chaque souche probiotique, les conditions de conservation et de stockage ainsi que la date de péremption et de fabrication du produit
- Le contenu net et le poids égoutté en volume pour les liquides et en poids pour les solides.
- Le pays d'origine, l'usine de production et le lot.
- Des avertissements comme : « ne se substitue pas à un régime alimentaire varié », « tenir hors de portée des enfants ».
- Une dénomination de vente : la nature du produit doit être indiquée sans induire le consommateur en erreur. Le produit doit être étiqueté : « complément alimentaire à base de souches probiotiques/contenant des probiotiques ».
- Un mode d'emploi pour garantir une bonne utilisation du produit.
- La Liste des ingrédients doit comprendre tous les ingrédients classés selon leur poids initial au moment de la fabrication. Les additifs figurent à côté du nom spécifique et les allergènes doivent être signalés en gras.
- La dose journalière recommandée et la durée de la cure.
- Les noms et adresses du fabricant, emballeur, distributeur, importateur, exportateur ou vendeur pour une surveillance post-commercialisation**(Grattepanche ,2002)(12).**

VIII. Conservation des aliments probiotiques

VIII.1. Facteurs de conservation

VIII.1.1. Chaleur :

La chaleur est un activateur d'activité métabolique. Plus elle est élevée, plus les réactions biochimiques au sein des microorganismes ont de chance de se produire ; plus elle est basse, plus elles sont ralenties. Pour maintenir le plus longtemps possible l'état de dormance des probiotiques, mieux vaut donc maintenir les tubes au frais **(16).**

Par ailleurs, les hautes températures peuvent tout simplement détériorer la machinerie cellulaire des probiotiques (dénaturation des protéines) ; une atmosphère trop chaude peut ainsi provoquer un stress et mener à la mort des bactéries. Mais toutes les souches de probiotiques n'ont pas la même sensibilité à la chaleur. La levure *Saccharomyces boulardii* et certains probiotiques de la famille des *Bacillus* sont par exemple résistants à la chaleur et peuvent être conservés à température ambiante. La plupart des probiotiques appartenant aux familles des *Lactobacillu*s et des *Bifidobacterium*y sont en revanche sensibles **(16).**

Quand il est conservé à température ambiante, un probiotique peut perdre 10 à 15 % de sa population chaque mois. Il mérite donc d'être placé au réfrigérateur, avec une conséquence – et pas des moindres – que la réfrigération entraîne une condensation de l'humidité de l'air et une mise en contact des souches avec de l'eau **(16).**

VIII.1.2. Effets de l'oxygène :

La plupart des probiotiques sont des microorganismes dits « anaérobies stricts » : ils sont capables de vivre dans des environnements sans oxygène, comme c'est le cas dans les intestins. Contrairement à nous, la présence d'oxygène leur est particulièrement néfaste. **(16).**

Cette molécule de l'air peut en effet affecter non seulement leur survie, mais également leur prolifération. Elle exerce sur eux un effet toxique direct et peut être à l'origine de la production de molécules redoutables pour l'intégrité de leurs microstructures (notamment de l'ADN) : les radicaux libres appelés ROS (reactivoxygenspecies pour espèces réactives de l'oxygène en français) **(16).**

VIII.1.3. Humidité :

L'humidité est le premier facteur influençant négativement la stabilité des microorganismes pendant la durée de conservation d'un probiotique. Le fait qu'ils soient sous une forme lyophilisée, «dessiquée», les rend particulièrement sensibles à cette humidité **(16).**

L'absence d'eau dans les microorganismes est indispensable pour les maintenir en dormance. Cet état doit être maintenu jusqu'au moment où le consommateur prendra ses gélules. Si de l'humidité entre en contact avec le probiotique alors qu'il est encore dans son emballage (une atmosphère un peu trop humide peut suffire), celui-ci va être réactivé prématurément. Malheureusement, sans nutriments à disposition, sans environnement adéquat (proche de celui de l'intestin), les microorganismes vont tout simplement mourir. Ils seront alors dans l'incapacité d'exercer leurs effets lors de la prise**(16).**

Le problème c'est que la gélule ne suffit pas à protéger le probiotique qu'elle contient de l'humidité. La protection doit donc venir de l'emballage (pot, tube, sachet**…) (16).**

VIII.1.4. Lumière :

La lumière (ou l'exposition directe aux rayons du soleil) est susceptible de dégrader les probiotiques et d'entraîner leur mort(**Meng X *et al* ;2008**). Celle-ci peut aussi entraîner une augmentation de la température dans l'emballage qui est néfaste pour les probiotiques.**(16)**

VIII.1.5. Les emballages en carton :

Ils sont bien sûr à éviter à tout prix en raison de leur très forte perméabilité à l'humidité extérieure. **(16)**

VIII.1.6. Les emballages en plastique :

On retrouve deux grandes catégories de matériaux plastiques :

Le PET (polyéthylène téréphtalates) : il est souvent retrouvé comme emballage des probiotiques alors que cette matière plastique laisse migrer de trop grandes quantités de molécules d'eau (son indice MVTR est de 2). Ce n'est donc pas une bonne option ;

Le PEHD (polyéthylène haute densité) : c'est une matière plus efficace que le PET pour freiner la migration de l'eau, mais le passage des molécules reste possible (MTVR de 0,5).

Il faut savoir qu'à l'heure actuelle, les flacons en plastique sont les plus utilisés pour conditionner les probiotiques. Il existe pourtant des solutions plus efficaces pour avoir la juste dose de colonies vivantes au moment de la prise**. (16)**

VIII.1.7. Les flacons en verre et en aluminium :

Ce sont des matériaux parfaitement étanches puisque leur MTVR est de zéro à condition que les flacons soient équipés d'un bouchon avec un joint adhérant parfaitement. **(16).**

Deux bémols cependant :

Comme n'importe quel flacon, le problème c'est qu'à chaque ouverture, de l'humidité pénètre par l'ouverture. Et plus le nombre de gélules dans le flacon est important, plus on va devoir ouvrir et fermer le tube de nombreuses fois avant d'arriver à la dernière gélule, et plus les probiotiques seront exposés souvent à une arrivée d'humidité. Pour régler ce problème, les

fabricants peuvent utiliser des sachets ou des canisters de dessiccants qui vont absorber l'humidité. Malheureusement, ce procédé ne suffit pas à la supprimer totalement. **(16).**

Il y a un problème majeur avec les tubes en aluminium. Même si ce matériau est léger, pratique et recyclable à l'infini, ses conditions d'extraction ont de nombreuses conséquences écologiques néfastes. Elles génèrent en effet des quantités importantes de gaz à effet de serre et de nombreux résidus toxiques pour l'environnement.**(16)**

VIII.2. Des additifs pour conserver les probiotiques :

La survie d'un probiotique et le maintien de l'intégrité de ses fonctions biologiques dépendent de l'emballage et de la nature des souches. Un autre moyen d'assurer la stabilité des microorganismes existe, c'est le recours aux additifs.. Voici quelques exemples d'additifs couramment utilisés dans la formulation des probiotiques**(16).**

VIII.2.1. Le phosphate de calcium :

C'est un additif utilisé comme antioxydant et régulateur d'acidité, mais aussi anti-agglomérant et stabilisant. Les études montrent que, consommé en excès, il pourrait être nocif pour les reins et le système cardiovasculaire. Les phosphate de calcium $H_6CaO_9P_2$ se retrouvent naturellement dans notre organisme que ce soit dans les os ou encore dans les dents. Il s'agit dans ce cas-là de phosphate naturel, dit « organique ». Ces composés sont aussi utilisés en tant qu'additifs dans l'industrie alimentaire et sont alors synthétiques et qualifiés « d'inorganiques ». En tant qu'additif, il se présente sous forme de fine poudre blanche.

Dans l'industrie agroalimentaire, les principales fonctions de l'additif E341 sont :

- régulateur de l'acidité : il est ajouté pour contrôler le pH des denrées
- antioxydant : il préserve de l'oxydation les denrées alimentaires
- antiagglomérant : il assure la fluidité du produit dans lequel il se trouve
- agent de texture : sa présence permet de donner de la structure et certaine consistance
- agent levant : il permet, dans une pâte par exemple, d'augmenter le volume**(17) (18).**

VIII.2.2. La cellulose microcristalline :

La cellulose microcristalline ou cellulose en poudre ou encore avec la désignation E460. Cet agent de texture se présente sous la forme d'une poudre blanche inodore et sans saveur utilisée comme anti-agglomérant. Plusieurs études ont montré qu'une consommation élevée était associée à des risques plus importants de maladies cardiovasculaires. La cellulose microcristalline est un glucide indigestible n'apportant aucune calorie. Plus précisément, c'est un polysaccharide constitué d'une chaîne de molécules de glucose **(19).**

On retrouve la cellulose microcristalline dans :

- Les produits à teneur réduite en calories ;
- Les succédanés de fromages et pizzas ;
- Les sauces pour salades ;
- Les desserts ;
- Certaines crèmes glacées ;
- Les chewing-gums ;
- Les levures sèches inactivées ;
- Certaines boissons **(19).**

VIII.2.3. Le carboxyméthylcellulose :

La Carboxyméthylcellulose ou CMC est un sel soluble dans l'eau. Il appartient à la famille des polymères produits par éthérification de la cellulose naturelle en substituant les groupes hydroxyle par des groupes carboxyméthyle dans la chaîne de cellulose.
En étant dissout dans l'eau chaude ou froide, la CMC peut être produit avec des propriétés physiques et chimiques. Ces propriétés peuvent influer sur le comportement du produit dans ses diverses applications, en plus d'être essentielles pour optimiser les coûts de production.
il est utilisé comme additif pour l'industrie et permet différentes applications:
Épaississant, Stabilisant, Garniture, Fibres alimentaires, Émulsifiant **(20).**

VIII.2.4. Le dioxyde de silicium

Le dioxyde de silicium, plus communément appelé silice ou code E551 est un additif d'origine synthétique utilisé pour éviter que les aliments collent les uns aux autres, autrement dit un antiagglomérant. **(21).**

Le dioxyde de silicium est composé d'oxygène et de silicium d'origine synthétique, il est extrait de sable de quartz. On le trouve également de façon abondante dans la nature, en particulier dans les céréales **(21).**

VIII.2.5. Pectine

La molécule de pectine peut être considérée comme une longue chaîne non ramifiée contenant 200 à 1000 unités d'acide galacturonique liées par un pont -1,4-glucosidique.Des sucres neutres tels que le rhamnose, l'arabinose, le galactose et les xyloses peuvent aussi être présents dans la molécule de pectine (**Oakenfull ;1991**).

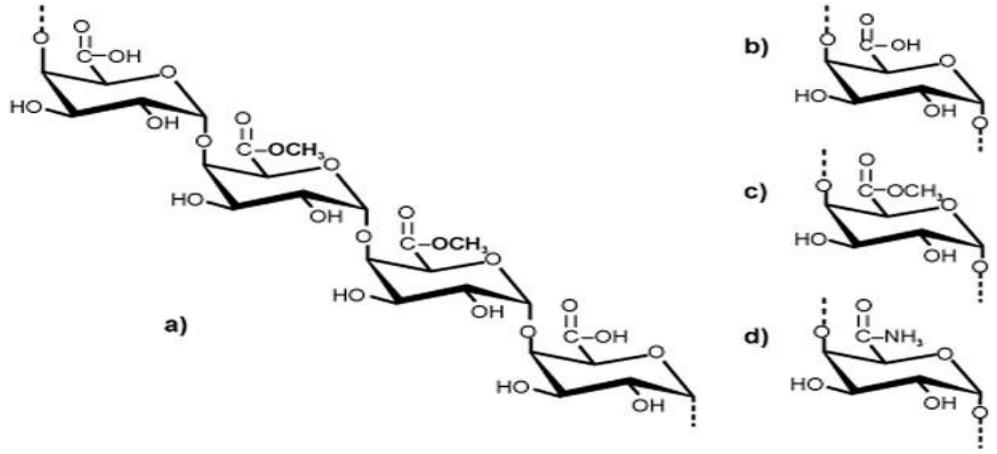


Figure 11 : Unités d'acides galacturoniques reliées entre elles comme dans la chaîne de pectine **(a)** et les groupements fonctionnels carboxyle **(b)**, ester **(c)** et amides **(d)** pouvant se retrouver dans différents types de pectine **(Allwyn Sundar Raj et al ; 2012).**

Certaines des unités d'acide galacturonique sont estérifiées. L'estérification des groupements carboxyliques par du méthanol permet d'obtenir différents types de pectine où la fonction carboxyle est remplacée par un groupement méthoxyle (O-CH3). L'estérification augmente l'hydrophobicité de la molécule et lui confère un caractère chimique différent (**Smith , 1976**). La pectine se retrouve dans la plupart des plantes mais elle est présente en plus grande concentration dans les agrumes (orange, citron, pamplemousse) et les pommes (**Sharma et *al*., 2006**). C'est un ingrédient important dans plusieurs produits alimentaires et elle est considérée comme étant un des additifs alimentaires les plus sécuritaires pour la santé (**Sriamornsak, 2011**). De plus, les pectines sont utilisées comme fibres alimentaires et exercent des effets physiologiques sur le tractus gastrointestinal en réduisant le temps de transit (**Spiller et *al*., 1980**) et l'absorption du glucose (**Jenkins et *al* ;1977**). Ces effets sont principalement causés par leurs capacités de formation de gels et de rétention d'eau (**Roberfroid 1993**). De plus, lors de la digestion, la pectine est résistante aux enzymes présentes dans l'estomac et les intestins mais elle est presque totalement dégradée par les enzymes pectinolytiques produites par le microbiote du côlon (**Thakur et *al* ; 1997**).

Toutefois, les pectines, tel que mentionné précédemment, sont solubles dans les fluides basiques ou neutres (tels que les fluides intestinaux), ce qui peut causer problème pour la protection des bactéries durant le passage dans le tractus gastrointestinal(**Gaudreau , 2015).** En effet, la pectine est non toxique et est biodégradable (**Shukla et *al*., 2011**).

De plus, la pectine est grandement utilisée comme agent gélifiant et stabilisant dans les aliments (**Bédié et *al*., 2008**) dont les produits laitiers (**Arltoft et *al*., 2008**).

La gélification de la pectine faiblement méthylée (LM) avec du calcium permet la production de gels de pectinate de calcium par gélification à froid et qui ont une solubilité réduite (**Wellner et *al*., 1998**). Ces gels sont considérés comme d'excellents systèmes car ils ne sont pas toxiques, ils sont fortement biocompatibles, ils sont résistants à l'acide et la force des gels obtenus est importante (**Sriamornsak ,1998 ; Atyabi et *al* ; 2005**). Ces gels sont aussi stables en conditions alcalines (**Kailasapathy ,2008**). Dû à leur résistance aux bas pH, les gels de pectinate de calcium seraient de bons substrats pour la microencapsulation de bactéries probiotiques et pourraient ainsi améliorer leur survie lors d'un entreposage dans des produits alimentaires acides et lors de leur passage dans le tractus gastrointestinal(**Gaudreau, 2015**).

VIII.2.6. Gomme arabique (exsudat de sève) :

La gomme arabique est exsudée des tiges et des branches des acacias. Elle est composée d'arrangements ramifiés de sucres simples et de protéines (**Rokka et Rantamiiki ,2010).**

La gomme arabique se distingue par ses excellentes propriétés émulsifiantes et ses faibles 36 viscosités, ce qui lui confère une place importante pour la rétention des huiles essentielles et autres produits en industrie alimentaire. Toutefois, les capsules à base de gomme arabique présentent une capacité limitée contre l'oxydation car elles agissent comme des membranes semi-perméables. La porosité à l'oxygène et le coût élevé de la gomme arabique sont aussi des facteurs prépondérants qui tendent à limiter son utilisation (**Bertolini et *al*., 2001 ; Krishnan et *al*., 2005**). Ce polymère pourrait cependant être combiné avec d'autres polymères pour en optimiser les propriétés (**Khalié ,2013**).

VIII.2.7. Collagene :

Le collagène est la protéine la plus abondante dans le corps humain, elle est synthétisée naturellement par l'organisme et représente l'élément principal des tissus conjonctifs : peau, vaisseaux, cartilages, tendons, ligaments, muscles, intestin... partout où il faut de la résistance. En effet, les fibres de collagène permettent de résister aux forces de tension dans les tissus.

C'est pourquoi le collagène joue un rôle majeur dans l'élasticité et la régénération de la peau et des tissus (**22)**.

Le collagène et les probiotiques peuvent potentiellement contribuer à soutenir la santé intestinale et cutanée.

D'autre part, le collagène, en tant que composant des tissus conjonctifs du corps, peut contribuer à soutenir l'intégrité de la muqueuse intestinale, où réside une grande partie de notre système immunitaire. Une muqueuse intestinale saine est essentielle à l'épanouissement des bactéries intestinales bénéfiques, ou nos probiotiques. En d'autres termes, le collagène peut aider à fournir la structure nécessaire à un intestin sain, tandis que les probiotiques peuvent aider à

maintenir un microbiome intestinal équilibré et, ensemble, ils pourraient contribuer à un corps et à un bien-être général plus sains**(23)**

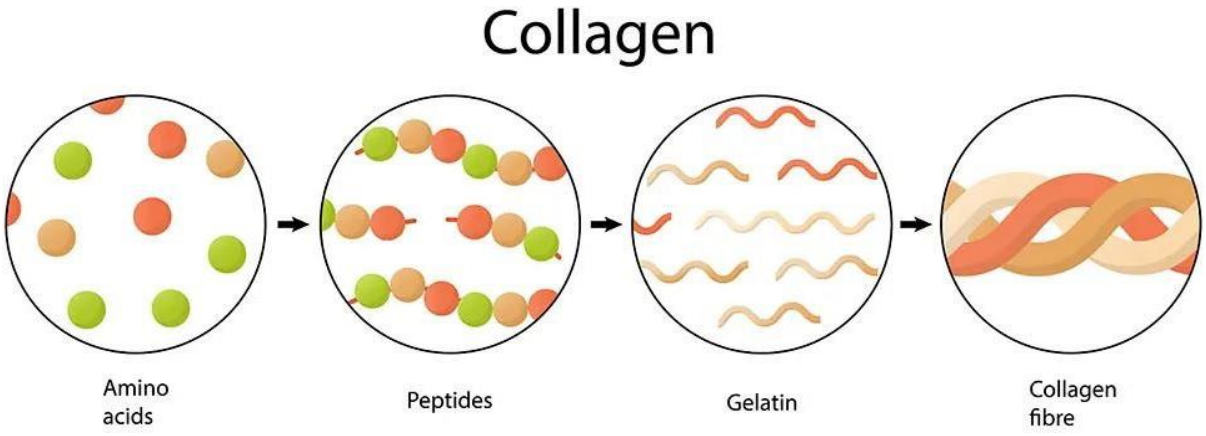


Figure 12 : Morphologie et structure du collagène**. (24)**

VIII.2.8. La whey :

La whey est une protéine complète, c'est-à-dire qu'elle contient les 9 acides aminés essentiels **(SAKAMI , HARRINGTON ;1993)** pour garantir le bon fonctionnement de l'organisme. Ces derniers permettent notamment de synthétiser les protéines. Ils sont donc indispensables. On ne peut les trouver que dans l'alimentation, car notre organisme ne les synthétise pas naturellement.**(25)**

La whey est une protéine issue du lait, couramment utilisée en nutrition sportive pour le développement de la masse musculaire et l'optimisation de la récupération. Elle est disponible sous forme de poudre aromatisée, et on la mélange généralement à de l'eau ou du lait délactosé**(26).**

La whey présente de nombreux bienfaits pour la santé :

Son rôle le plus connu est le fait qu'elle favorise l'augmentation de la masse musculaire et la consolidation des muscles.

.Elle assure l'ensemble des besoins de l'organisme en acides aminés essentiels, dont les BCAA, les acides aminés à chaîne ramifiée.

Elle est facilement assimilable par l'organisme, contrairement aux protéines végétales.

Elle permet de booster la récupération après l'effort.

Elle peut aider à perdre de la graisse dans le cadre d'une sèche ou d'un régime.

La consommation de whey permet de booster la santé cardiovasculaire.**(25).**

VIII.2.9. L'amidon :

L'amidon est généralement retrouvé sous forme de poudre blanche soluble dans l'eau. Il est constitué d'unités de D-glucose liées ensemble par des liaisons glycosidiques (**Anal A et Singh ; 2007**).

La capacité d'adhérence de certaines bactéries telles que les bifidobactéries à l'amidon constitue un avantage pour améliorer la rétention des probiotiques viables et métaboliquement actives dans le tractus intestinal. Plusieurs études ont été menées à cet effet et les résultats démontrent une augmentation de la viabilité des bactéries probiotiques *Lactobacillus acidophilus* en présence de mélange constitué d'alginate et d'amidon (**Jankowski et *al.*, 1997 ; Crittenden et *al.*, 2001**). Certaines études ont démontré que la présence d'amidon contribue à diminuer le risque du cancer de l'intestin en jouant le rôle de fibres alimentaires (**Mortazavian et *al* ;2007).** En effet, l'amidon est en grande partie non dégradé dans l'intestin grêle et est une partie importante des glucides disponibles dans le côlon humain pour la fermentation des bactéries, ce qui conduit à la production d'acides gras à courte chaîne. Ces produits finaux de fermentation peuvent exercer des effets positifs sur la santé de l'hôte (**lye et Kailasapathy, 2005**). Ces avantages constituent un atout pour l'utilisation de ce polymère comme matrice pour la microencapsulation de probiotiques aussi bien dans l'industrie alimentaire que pharmaceutique (**Khalié, 2013**).

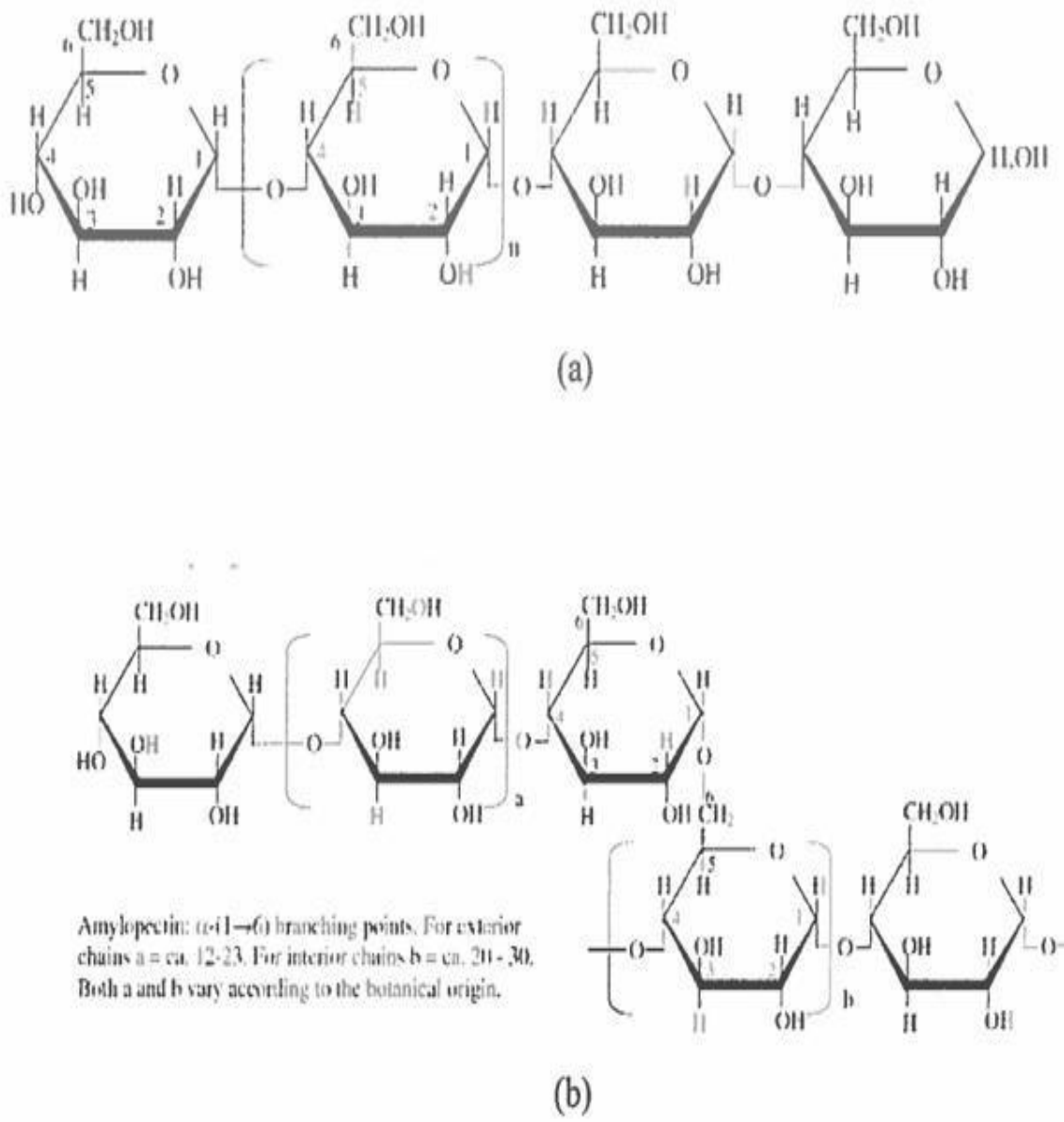


Figure 13 : Structure de l'amylose **(a)** et l'amylopectine **(b)** qui forment l'amidon (**Blennow et *al*., 2002**).

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

1. Objectif de l'étude :

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'efficacité de certaines méthodes de conservation d'une souche bactérienne probiotique, en utilisant des biomolécules d'origine végétale telles que la gomme arabique et la gomme d'amande. Pour cela, nous avons analysé trois marques de yaourt commercialisées localement (Soummam, Danone et Activia), tout en respectant les conditions d'hygiène et de chaîne du froid.

Les différentes analyses microbiologiques effectuées (examens macroscopique et microscopique), nous ont donné l'opportunité de suivre l'évolution des souches bactériennes et d'évaluer les impacts des diverses techniques de conservation. Cette expérience pratique a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Université Yahia Farès de Médéa.

2. Matériel :

2.1. Matériel végétal :

2.1.1. La gomme arabe :

Nous avons acheté la gomme arabique chez un herboriste pour l'utiliser dans notre expérience. Aussi appelée gomme d'acacia, est extraite de la sève de la cortex des arbres D'*Acaciasenegalis*. On l'utilise depuis des siècles en médecine traditionnelle, dans l'industrie alimentaire, la pharmacie et la production des produits cosmétiques.

La gomme arabe est un mélange complexe de polysaccharides et de glycoprotéines, qui lui confèrent une grande solubilité dans l'eau. Ces éléments se composent de structure polysaccharidique complexe à chaîne ramifiée principalement composée d'unités β-D-galactopyranosyl liées en 1,3, avec des chaînes latérales qui modifient leurs propriétés fonctionnelles **(Alobaidi ,2024)**



Figure 14 : Echantillon de gomme arabe après purification (Photos personnelle).

2.1.2. La résine d'amande :

Les trois principaux polysaccharides qui constituent la majorité des 92.36% de la résine d'amande sont l'arabinose (46.83%), le galactose (35.49%) et l'acide uronique (5.97%). La quantité de protéine est minime (2,45%). L'amandier est capable de produire une gomme d'amande, tout en offrant une excellente texture et un goût agréable aux boissons. La gomme d'amande est un polysaccharide soluble dans l'eau et ses caractéristiques biocompatibles découlent de ses propriétés hydrophiles et de sa capacité à former des liaisons hydrogène. Il offre plusieurs applications bénéfiques, telles que la renforcement des aliments, le conservateur, l'émulsifiant, le stabilisant, et il est une source de fibres alimentaires **(Venkatesan et *al*,2022).** Nous avons acheté la gomme amande chez un herboriste pour l'utiliser dans notre expérience.



Figure 15 : Echantillon de la résine d'amande après purification (Photos personnelle).

2.1.3. Conservateurs chimiques :

Le sorbate :

Le sorbate, utilisé dans notre expérimentation sous forme de sorbate de potassium (E202), est un conservateur alimentaire utilisé pour prévenir le développement des levures, des moisissures et des bactéries dans les aliments. Il est couramment utilisé dans les produits alimentaires tels que les fromages, les produits de panification, les charcuteries et les confitures. Le sorbate de potassium est également utilisé dans les produits cosmétiques et les cosmétiques bio **(Figure 16).**

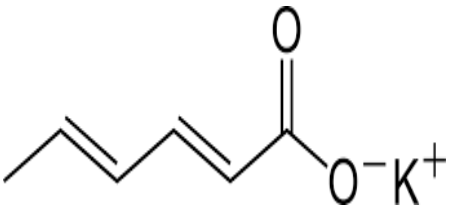




Figure 16 : Sorbate de potassium sous forme de poudre.

Acide benzoïque :

L'acide benzoïque est un acide carboxylique aromatique (acide phénol), un produit chimique couramment utilisé comme conservateur alimentaire et dans d'autres applications industrielles. Il est connu comme additif alimentaire sous le code E210.

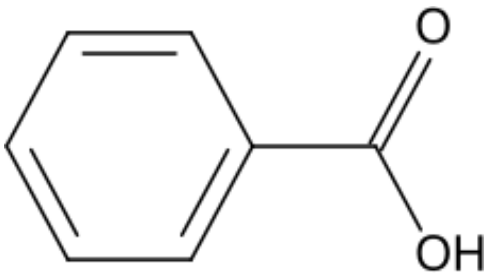




Figure 17 : Acide benzoïque sous forme de poudre.

Mytricine

Est une substance antifongique, tels que la nystatine (Mycostatine) ou l'amphotéricine B (Fungizone).



Figure 18 : La mytricine.

2.2. Produit alimentaire :

2.2.1. Echantillonnage

Deux lots, de (03) pots de yaourt, ont été prélevés du marché local des produits laitiers, avec le respect de la chaine du froid, (**Figure 19** et **Tableau 6**).

Prélevés selon les bonnes pratiques d'hygiène et d'échantillonnage, le premier lot est utilisé pour les différentes analyses, le deuxième a été stocké à +4°C, pour une durée de 21jours, selon le protocole préconisé par Saint-Eve et *al*, (2008) ; Saccaro M.D et *al*, (2009), avant toute analyse, l'inspection des pots, par vérification de leurs étanchéité, gonflement, présence de gaz ou d'odeur suspecte a été effectuée.



Figure 19 : Echantillons de différentes marques de yaourt utilisées (Soummam, Danone et Activia).

E	Marque	Type/produit	Poids	Lieu de production	Operateur
1	SOUMMAM	Yar. Au lait reconstitué aromatisé	95 g	ZI. Akbou-Béjaia-Algérie	Laiterie Soummam
2	DANONE	Y. Aromatisé partiellement écrémé	100g	ZI. Taharacht. Akbou-Béjaia-Algérie	Danone-Djurdjura-Algérie

3	ACTIVIA	Y. Aromatisé partiellement écrémé	100g	ZI. Taharacht. Akbou-Béjaia-Algérie	Danone-Djurdjura-Algérie

Tableau 6 : Echantillons de différentes marques de yaourt utilisées.

3. Méthodes :

3.1. Analyses microbiologiques :

La recherche des micro-organismes permet d'apprécier quantitativement et qualitativement la flore d'un produit à un moment donné. Ce qui permet de juger la sécurité (germes pathogènes pour l'Homme et les animaux), la conformité aux prescriptions règlementaires ou commerciales, l'hygiène de la préparation et l'efficacité des traitements appliqués et le respect des bonnes pratiques d'hygiène et des bonnes pratiques de fabrication.

3.2. Identification microbiologique :

L'objectif de l'analyse microbiologique est d'une part, la recherche ou la quantification d'un certain nombre de germes lactique. D'autre part, elle permet l'évaluation de la propreté des surfaces de travail, la bonne hygiène des opérateurs ou encore la qualité de tout ingrédient entrant dans le procédé de fabrication. C'est donc l'analyse microbiologique qui permettra de vérifier que le produit ne présente pas de risque pour la santé du consommateur lors de sa mise sur le marché.

Étape préliminaire

✓ **Préparation :**

- Du poste de travail
- Du matériel
- Des produits

✓ **Organisation de la paillasse**

- Localiser la zone de manipulation
- Désinfecter et allumer le bec bunsen (**Figure 20**)
- Rassembler produits et matériel (boites de pétri, pipettes, tubes, …)
- Référencer les boites de pétri, les tubes et flacons (**Figure 21**)

Remarque : le matériel doit être stérile.



Figure 20 : Travail devant le bec bunsen dans des conditions contrôlées (photo personnelle)



Figure 21 : stérilisation du matériel (photo personnelle).

a.1.Préparation de la culture bactérienne :

La culture bactérienne a été réalisée en plusieurs étapes dans des conditions aseptiques.

Tout d'abord, Une quantité de yaourt (Sommame, Activia, Danone) a été prélevée à l'aide d'une seringue stérile, puis transférée dans un tube contenant une solution physiologique composée d'eau distillée, de tryptone et de Tween 80. La suspension a été ajustée à une densité équivalenteà 0,5 UFC en utilisant un densitomètre.

Le milieu MRS a été préparé, stérilisé puis versé dans des boîtes de Pétri avant d'être laissé à solidifier. Ensuite, 0,1 mL de chaque échantillon de yaourt a été ensemencé par la méthode de double couche (étalement et surcouche) à l'aide d'une pipette stérile. Les boîtes ont été ensuite placées dans un dessicateur hermétiquement fermé afin de respecter les conditions anaérobies, puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48heures.

a.2..Etude macroscopique :

L'observation des colonies bactériennes, à l'aide de la loupe binoculaire ou même à l'œil nu, pour l'identification basée sur les caractères morphologiques (macroscopiques) suit les critères définis par(Joffin J.N et Leyral G 2006).

• **La taille des colonies** : moyenne, ou grosse…

• **La chromogénèse** : couleur de la colonie.

• **La forme des colonies** : rondes, irrégulières, etc.

• **L'élévation** : convexe, concave, ou plate.

• **L'opacité** : opaque, translucide, ou transparente.

• **La surface** : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée.

b. Etude microscopique :

Chaque culture a été soumise à une observation microscopique. Cette observation directe permet d'examiner la morphologie et la structure des cellules afin de distinguer les coques des bacilles et leur mode de regroupement.

b.1.La coloration de Gram :

Est une technique de coloration différentielle utilisée en microbiologie pour identifier et classifier les bactéries en deux groupes, Gram positives et Gram négatives, en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. Les bactéries Gram positives se colorent en bleu, tandis que les bactéries Gram négatives se colorent en rose ou en rouge.

- **Objectif :**

La coloration de Gram permet de visualiser les bactéries au microscope et de les classer en fonction de leur paroi cellulaire.

- **Mode opératoire :**

Application du colorant : Le violet de gentiane (ou cristal violet) est appliqué sur le frottis bactérien.

Application du mordant : Le Lugol est ensuite appliqué pour fixer le colorant dans la paroi des bactéries Gram positives.

Désaturation : Un solvant comme l'alcool est utilisé pour éliminer le colorant de la paroi des bactéries Gram négatives, car leurs parois sont plus fragiles et perméables.

Contre-coloration : Une solution de colorant de contraste (comme le safran) est utilisée pour colorer les bactéries Gram négatives, qui se colorent alors en rose ou en rouge.

b.2 Coloration par bleu de méthylène :

- **Objectif**

Est une technique utilisée en biologie et en médecine pour observer les cellules au microscope. Elle permet de mettre en évidence les structures cellulaires et de distinguer les cellules vivantes des cellules mortes. Le bleu de méthylène est un colorant qui se lie aux acides nucléiques (ADN et ARN) et aux protéines, ce qui permet de visualiser les cellules et leurs composants.

- **Procédure pour la coloration au bleu de méthylène :**

Préparation de l'échantillon :

L'échantillon (par exemple, un frottis bactérien ou une suspension de cellules) est préparé sur une lame de microscope.

Fixation (facultative) :

Pour une meilleure observation, l'échantillon peut être fixé (par exemple, par passage à la flamme) pour empêcher les cellules de se déformer.

Application du bleu de méthylène :

Le bleu de méthylène est appliqué sur l'échantillon et laissé pendant un certain temps.

Rinçage :

L'échantillon est rincé à l'eau distillée pour éliminer le colorant en excès.

Observation au microscope :

L'échantillon est observé au microscope pour visualiser les cellules colorées.

b.3.Coloration par l'éosine (éosine) :

- **Objectif**

Est une technique couramment utilisée en microbiologie pour mettre en évidence la morphologie bactérienne. L'éosine est un colorant acide qui se lie aux composants basiques des cellules, principalement les protéines cytoplasmiques. Elle permet de teinter les cytoplasmes, les fibres musculaires et les globules rouges en rose à rouge, facilitant ainsi la visualisation des structures cellulaires.

- **procedure de coloration par éisine** :

Préparation de l'échantillon :

Un échantillon biologique (ou un frottis cellulaire) est placé sur une lame de microscope.

Fixation (facultative) :

L'échantillon peut être fixé par une méthode chimique (formol, alcool) ou physique (chaleur) pour préserver les structures cellulaires.

Coloration à l'éosine :

L'éosine est appliquée sur l'échantillon et laissée agir pendant quelques minutes pour permettre la coloration des structures cytoplasmiques.

Rinçage :

L'excès de colorant est éliminé en rinçant la lame à l'eau distillée ou à l'alcool léger.

Observation au microscope :

L'échantillon est examiné au microscope, où les structures cellulaires apparaissent en différentes nuances de rose à rouge, selon leur affinité avec le colorant.

b.4. L'objectif Examen à l'état frais :

Une préparation à l'état frais des colonies permet d'examiner et de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. Ces caractères ont été étudiés par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle **(Joffin J.N et Leyral G, 2006).**

- **Observations microscopiques :**

L'observation des échantillons a été faite au microscope optique (Zeiss) à faible et à fort grossissement. Afin d'augmenter le pouvoir résolvant de l'objectif 100X, une goutte d'huile d'immersion a été déposée sur la lame.

3.3. Estimation de la charge bactérienne avant traitement:

Les estimations des charges, en bactéries lactiques (L.A.B*; Lactic Acid Bacteria), pour chaque échantillons, avant conservation et après conservation à +4°C, pendant 21jours, ont été basé sur des dénombrements (à partir des dilutions, réalisées par une solution stérile tryptone sel (TSE)+tween80, des Lactobacilles mésophiles à 37°C, et thermophiles à 44°C, sur le milieu gélosé MRS (Pronadisa Spain) (**Man et *al*., 1960**), et des Lactocoques mésophiles à 37°C et thermophiles à 44°C, sur le milieu gélosé M17 (Pronadisa- Spain) (**Tarzaghi et Sandine , 1975**), par réalisation des séries de dilutions décimales.

- **Réalisation des dilutions**

1 ml de chaque pot de yaourt est prélevé et introduit dans un flacon contenant 90 ml d'eau physiologique pour réaliser la solution mère, d'après cette dernière, des dilutions décimales sont réalisées allant de ($D10^{-2}$ $D10^{-4}$ et $D10^{-6}$).

1 ml de chaque dilution est prélevé et distribué dans les boites de pétri stérile pour effectuer les analyses microbiologiques. Solution mère (1ml de yaourt+9ml (d'eau physiologique 0.85% +tween80 + Treptone) **.(Figure 22)**

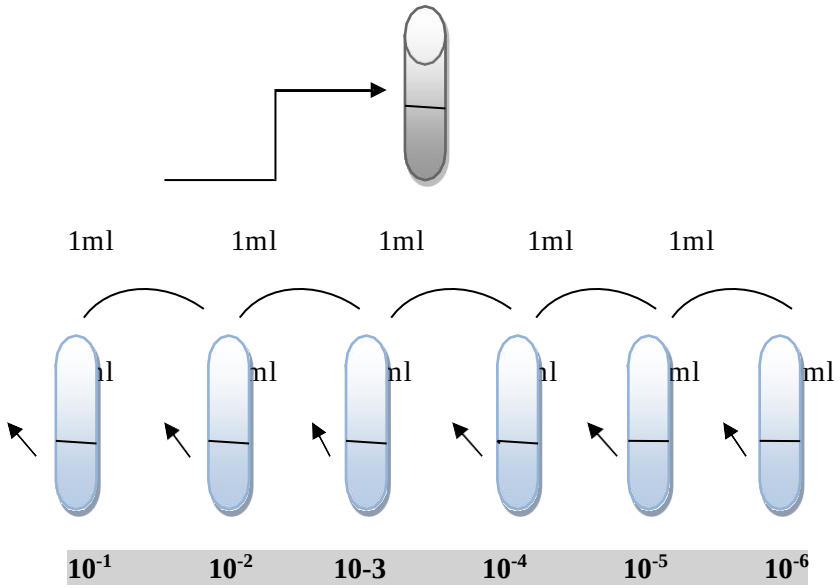


Figure 22 : Série des dilutions préparées.

- **L'ensemencement :**

L'ensemencement des différents échantillons, s'est fait en surface de la gélose M17 (**Norme ISO 7889/IDF, 2003**) pour les streptocoques lactiques, en profondeur (en double couche) pour la gélose MRS, pour les Lactobacilles (**Norme ISO 20128/IDF, 2006**) et en surface pour la gélose TSA. (**Figure 23**)

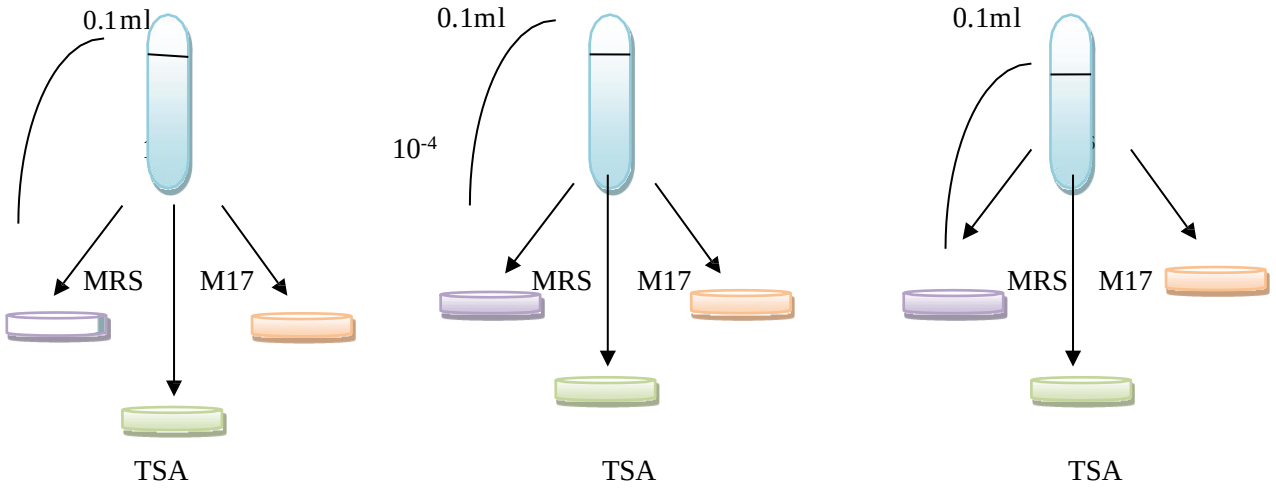


Figure 23 : Ensemencement par étalement (en surface et en double couche).

- **Le dénombrement :**

Les dénombrements des colonies de bactéries lactiques, ont été réalisés après 24h, 48h et 72h d'incubation, à l'aide d'un compteur de colonies (Selecta J.P.- Spain), les résultats, (sont les moyennes des trois répétitions (triplicatas), ont été exprimés en UFC*/ml (unité formant colonies/millilitre du produit)

$$FC/ml = \frac{NC \ x \ FD}{V}$$

NC :Nombre de colonies comptées

FD : Facteur de dilution

V :Volume d'ensemencement

3.4. Estimation de la charge bactérienne après traitement:

3. 4.1.Préparation des conservateurs

- **But :**

Pour comparer l'efficacité des conservateurs végétale par rapport aux témoins chimiques, les diverses marques de yaourt (Danone, Activia, Soummam) ont été enrichies avec des solutions stériles contenant des conservateurs à une concentration de 1000 ppm. Pour chaque 100 g de yaourt, nous avons utilisé une solution contenante 0,1 g de poudre mélangée à 5,25 ml d'eau distillée (ou 5 ml pour 95 g), que l'on ajoute au yaourt après un processus d'autoclavage (par une seringue). L'évaluation de la charge microbienne après traitement a facilité l'appréciation de l'efficacité antimicrobienne des extraits végétaux en comparaison avec les agents de conservation classiques.

- **Mode opératoire :**

Les solutions des substances de conservation ont été solubilisées dans de l'eau distillée stérile avec une concentration de 1000 ppm pour chaque tube à essai :

Conservateurs témoins :la poudre de benzoate de sodium**, s**orbate de potassium et la mytricine10%. **Conservateurs de type végétal** : la gomme arabique et la résine d'amande.

Pour chaque type de yaourt de 100 g, on ajoute 5,25 ml d'eau distillée + 0,1 g de poudre (conservateur). Cette solution doit être stérilisée par autoclavage avant d'être incorporée dans le yaourt.

Produit examiné	Quantité	Solution conservatrice
Danone	95g	5,00ml
Activia	100g	5,25 ml
Soummam	100g	5,25 ml



Figure 24 : Préparation conservateurs et l'addition avec des produits examinés. (Photos personnelle).

3.5. Analyses physicochimiques :

3.5.1. L'acidité (pH):

Mesure des pH à l'aide d'un pH mètre, type Sertes/ Inolab pH730 (Germany).

3.5.2. La viscosité :

La prise des valeurs de la viscosité, des échantillons, réalisée par écoulement à température ambiante puis par viscosimètre de marque: Rion Viscotester VT-03F (Origine: Chinoise) avec une limite de mesure à 20ºC : est de 300 mPascal (S) avant conservation.

Chapitre III :
Résultats et discussion

1. Analyses microbiologiques:

1.1. Identification microbiologique:

a. Etude macroscopique :

Pour l'ensemble des 3 échantillons étudiés, les résultats des données qualitatives (phénotypiques) des observations (**Tableau 7**) montrent des critères suivants :

Produit	Critères morphologiques	Aspect
Soummam	La taille des colonies	petites.
	La chromogénèse	blanchâtre
	La forme des colonies	rondes
	L'élévation	plat
	L'opacité	opaque.
	La surface	brillante.
	Consistance	crémeuse
Danone	La taille des colonies	moyenne.
	La chromogénèse	crème
	La forme des colonies	régulières.
	L'élévation	légèrement bombé
	L'opacité	opaque.
	La surface	lisse
	Consistance	crémeuse
Activia	La taille des colonies	petites à moyenne.
	La chromogénèse	Blanchâtre
	La forme des colonies	régulières.
	L'élévation	légèrement bombé
	L'opacité	opaque.
	La surface	lisse, brillante.
	Consistance	crémeuse

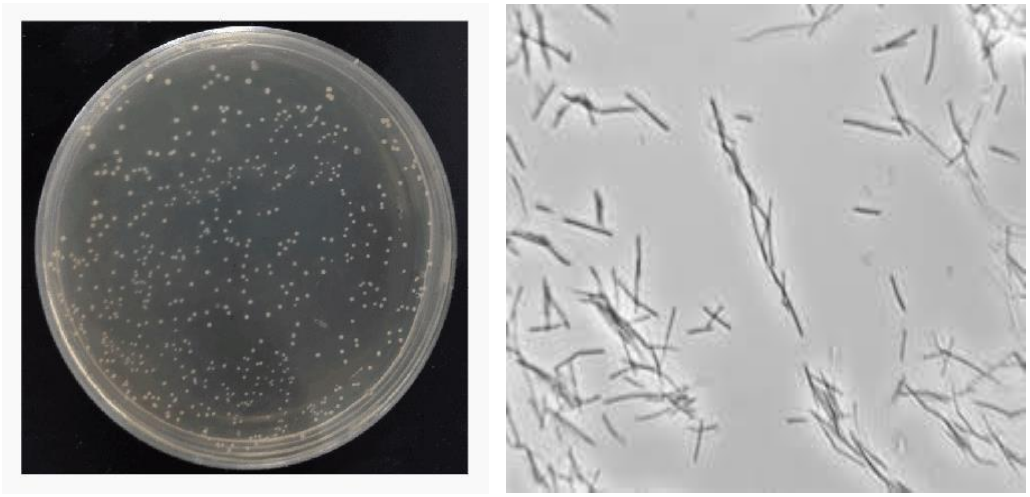
Tableau 7 : Caractéristiques morphologiques des colonies des échantillons de trois produits testés.

b. Etude microscopique :

b.1.1.Observation microscopique :

b.1.1.1. Observation à l'état frais :

L'observation à l'état frais des bactéries lactiques a permis de visualiser la viabilité des cellules sous microscope sans avoir besoin d'une coloration. Les bactéries observées montraient des formes distinguées, principalement en bâtonnets (type *Lactobacillus*) et fréquemment en coques disposées en chaînes (type *Lactococcus*). Leur immobilité était en accord avec les caractéristiques bien connues des bactéries lactiques, qui sont généralement non mobiles. Ces résultats préliminaires ont contribué à orienter les analyses complémentaires (culture en milieu sélectif, essais biochimiques).



a **b**

Figure 25 : Observation des deux formes bactéries lactiques à l'état frais **(a :** Lactococcus **; b :** Lactobacillus). Photos personnelles

b.1.1.2.Observation à l'état fixé (coloré) :

Le bleu de méthylène et l'éosine sont des colorants qui se fixent sur le cytoplasme bactérien, le rendant bleu sombre. Cette coloration est facile à réaliser et permet une observation rapide des bactéries. L'observation des colonies avec le bleu de méthylène et l'éosine des trois échantillons permet de visualiser la morphologie des bactéries et montré la dominance des de type Lactobacille. (**Tableau 8**).

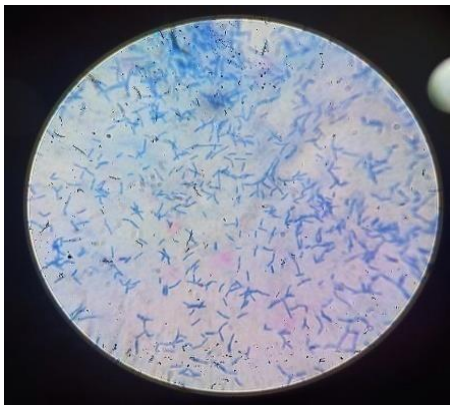
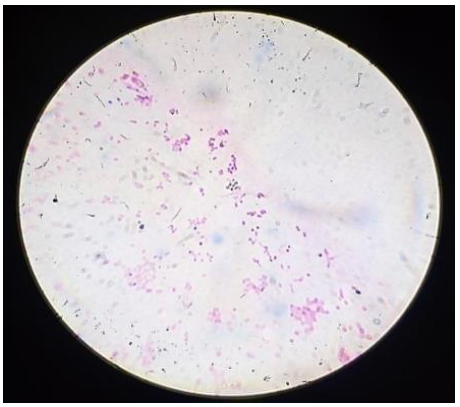
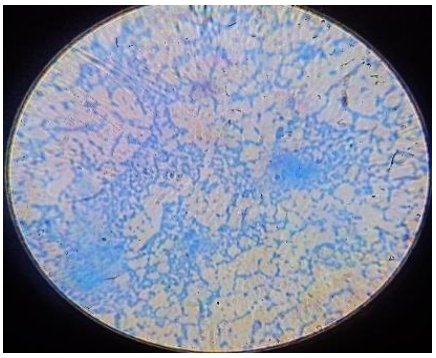
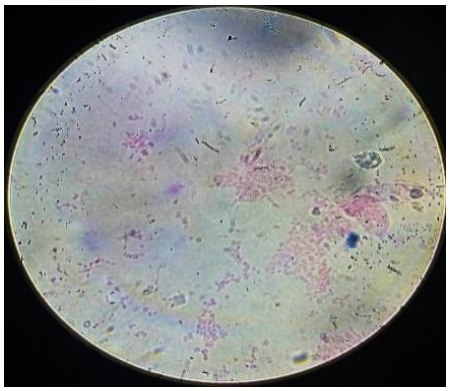
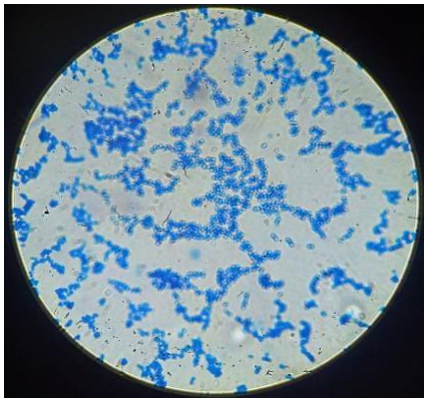
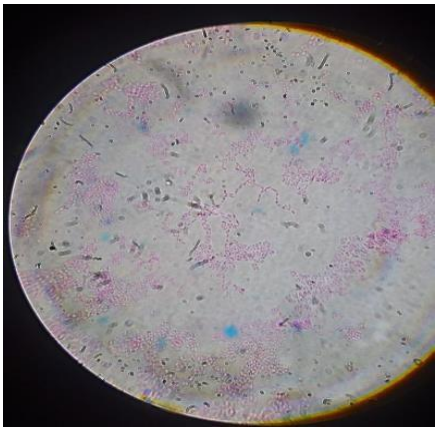
Produit testé	Coloration avec bleu de méthylène	Coloration avec l'éosine
Activia		
Soummam		
Danone		

Tableau 8 : Observation microscopique des isolats après coloration simple.

b.1.1.3. Coloration de Gram :

Les résultats de la coloration Gram a montré que la presque totalité des germes isolé ont le phénotype Gram positive (+) (**Tableau 9**).

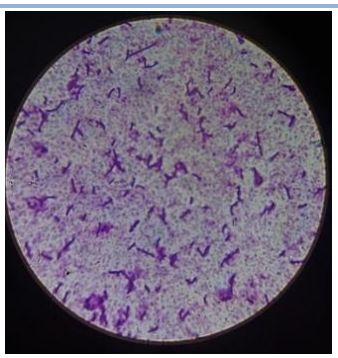
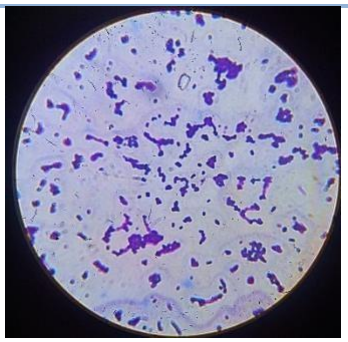
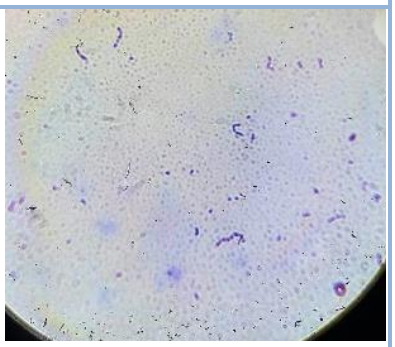
Produit testé	Gram	Observation microscopique
Activia	Gram +	
Soummam	Gram +	
Danone	Gram +	

Tableau 9 : Coloration de Gram des isolats des échantillons de yaourt.

c. Estimation de la charge bactérienne :

c.1. Dénombrement avant traitement :

Pour l'ensemble des 03 échantillons étudiées, les résultats moyens des données quantitatives du démembrement (**Tableau 10**) montrent des valeurs moyennes, pas très loin des normes

standards du yaourt comme le stipule la réglementation algérienne dans les deux milieux sélectifs (MRS et TSA) (**Jora, 1998**), avec une absence totale des mycètes.

Milieu / Produit	MRS(UFC/ml)			TSA(UFC/ml)		
	$D10^{-2}$	$D10^{-4}$	$D10^{-6}$	$D10^{-2}$	$D10^{-4}$	$D10^{-6}$
Danone	393×10^{3}	117×10^{5}	5×10^{7}	16×10^{3}	12×10^{5}	4×10^{7}
Activia	353×10^{3}	54×10^{5}	9×10^{7}	227×10^{3}	206×10^{5}	58×10^{7}
Soummam	396×10^{3}	212×10^{5}	12×10^{7}	270×10^{3}	187×10^{5}	54×10^{7}

Tableau 10 : Dénombrement des bactéries dans les 3 échantillons avant traitement.

c.2. Dénombrement après traitement :

- **Le produit Activia :**

Les résultats moyens des données quantitatives du démembrement (**Tableau 11**) montrent des valeurs significativement inférieures a celle enregistré dans le produit sans traitement, pas très loin des normes standards du yaourt avec les additifs chimiques, dans les boites contrôlées et notamment qui traitées avec la résine d'amande i y a une absence totale des cellules de moisissures.

Milieu / Conservateur	MRS(UFC/ml)			TSA(UFC/ml)		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Gomme arabe	280×10^{3}	27×10^{5} (S)	4×10^{7} (S)	248×10^{3}	122×10^{5}	6×10^{7} (S)
Gomme d'amande	237×10^{3}	19×10^{5} (S)	3×10^{7} (S)	245×10^{3}	48×10^{5}(S)	9×10^{7} (S)
Sorbate	/	/	/	135×10^{3}	56×10^{5}(S)	12×10^{7}(S)
Benzoate	23×10^{3}(S)	3×10^{5}(S)	/	56×10^{3}(S)	12×10^{5}(S)	2×10^{7}(S)
Mytricine	47×10^{3}(S)	5×10^{5}(S)	/	26×10^{3}(S)	11×10^{5}(S)	3×10^{7}(S)

Tableau 11 : Dénombrement des bactéries dans le produit Activia après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$))

- **Le produit Danone :**

Les résultats de dénombrement moyen (**Tableau 12**) ont signalé la diminution de la charge bactérienne pour les boites traitées avec la gomme arabe.

Milieu conservateur	**MRS(UFC/ mL)**			**TSA(UFC /mL)**		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Gomme arabe	40×10^{3}(S)	20×10^{5}(S)	1×10^{7}(S)	222×10^{3}	112×10^{5}	2×10^{7}(S)
Gomme amande	170×10^{3}	44×10^{5}(S)	3×10^{7}(S)	45×10^{3}	30×10^{5}	9×10^{7}
Sorbate	/	/	/	58×10^{3}	21×10^{5}	3×10^{7}(S)
Benzoate	1×10^{3}(S)	/	/	16×10^{3}	9×10^{5}(S)	/
Mytricine	153×10^{3}(S)	51×10^{5}(S)	/	32×10^{3}	25×10^{5}	2×10^{7}(S)

Tableau 12 : Dénombrement des bactéries dans le produit Danone après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$))

- **Le produit Soummam:**

En comparant les moyennes de la marque (Soummam) nous constatons qu'ils existent de différences peu significatives entre les échantillons traités par la résine d'amande et le témoin non traités. La charge microbienne est presque similairea ceux traités par la substance antifongique (Mytricine) (**Tableau 13**).

Milieu Conservateur	**MRS(UFC/ mL)**			**TSA(UFC /mL)**		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Gomme arabe	370×10^{3}	207×10^{5}	8×10^{7}(S)	356×10^{3}	129×10^{5}	4×10^{7}(S)
Gomme d'amande	307×10^{3}	266×10^{5}	55×10^{7}	122×10^{3}(S)	74×10^{5}(S)	6×10^{7}(S)
Sorbate	/	/	/	/	/	/

Benzoate	10×10^3(S)	1×10^5(S)	/	3×10^3(S)	/	/
Mytricine	1×10^3(S)	/	/	11×10^3(S)	5×10^5(S)	1×10^7(S)

Tableau 13 : Dénombrement des bactéries dans le produit Soummam après traitement. (S : statistiquement significative a ($p<0.05$))

2. Analyses physicochimiques :

2.1. Variation du pH dans

2.1.1. Les échantillons traités par des conservateurs végétaux :

Dans nos résultats (**Figure 26**), les valeurs du pH des échantillons (Soummam, Danone et Activia) traités avec la résine d'amande et la gomme arabe sont augmentées par rapport aux valeurs des boites témoins (diminution de degré d'acidité).

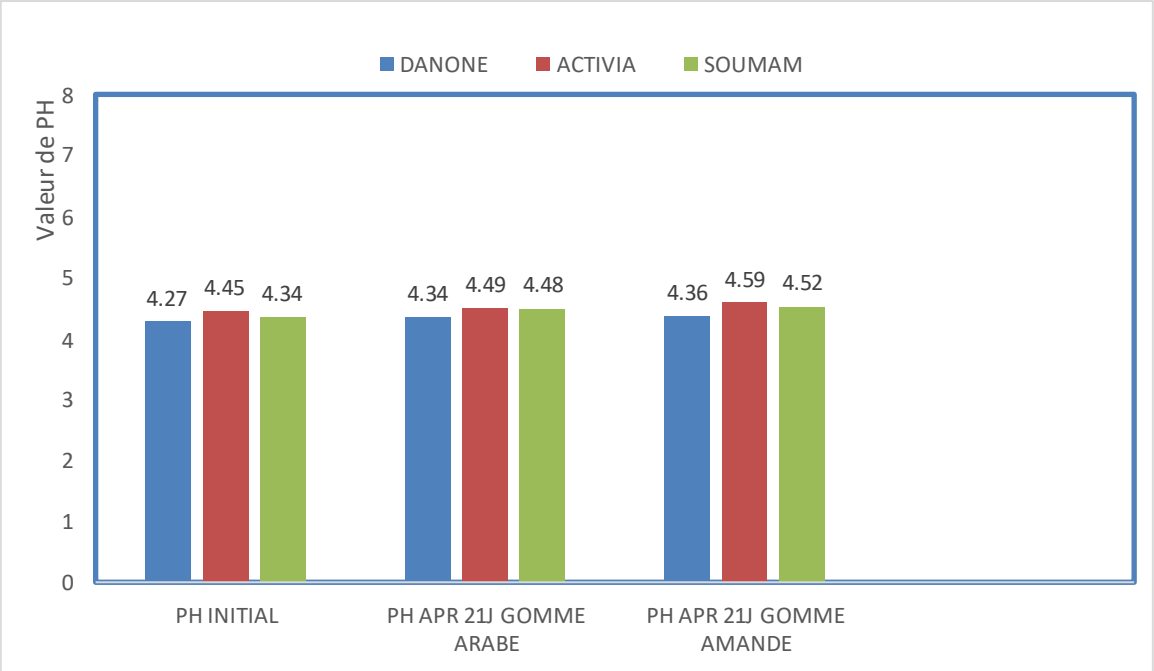


Figure 26 : Variation du pH des échantillons de yaourt traités par des additifs végétales après 21jour de conservation.

2.1.2. Les échantillons traités par des conservateurs chimiques :

D'après nos résultats, on remarque une acidification remarquable des produits traités par des additifs chimiques notamment avec le sorbate et le benzoate qui sont des acides organiques (**Figure 27**)

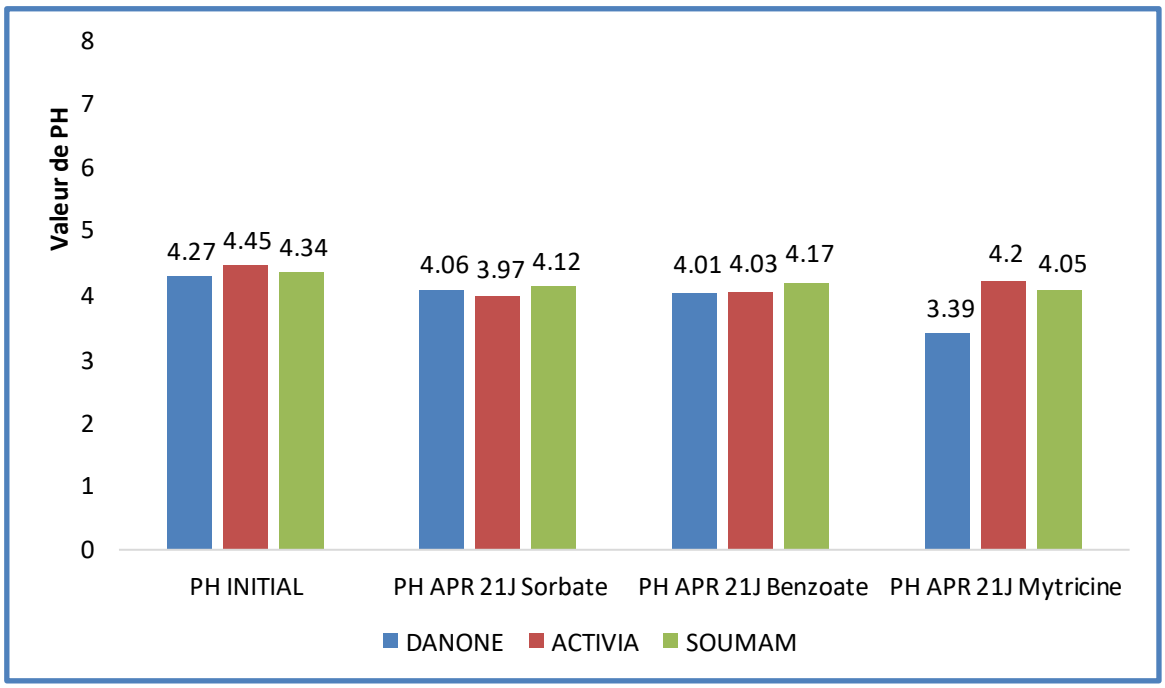


Figure 27 : Variation du pH des échantillons de yaourt traités par des additifs chimiques après 21jour de conservation.

2.2. La viscosité :

Avant l'incorporation de tout agent texturant ou biomolécule, le yaourt démontre une viscosité assez considérable due à sa structure gélifiée, formée directement dans l'emballage au cours de la fermentation. Cette consistance est l'une des caractéristiques physiques les plus notables de ce produit est sa consistance épaisse, qui contribue à sa texture crémeuse et à sa stabilité générale.

- **Le produit Activia :**

Les tests de viscosité (**Tableau 14**) ont montré une diminution de la viscosité des échantillons de la marque Activia traitée par la gomme d'amande par rapport aux échantillons traités avec des substances chimiques.

Conservateur	Viscosité
Gomme arabe	-
Gomme amande	--
Sorbate	+
Benzoate	+
Mytricine	+

Tableau 14 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Activia traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).

- **Le produit Soummam :**

Selon les résultats présentés dans le **Tableau 15**, la gomme d'amande peut diminuer la viscosité de ce produit par rapport aux aures traitements appliqués

Conservateur	Viscosité
Gomme arabe	-
Gomme amande	--
Sorbate	+
Benzoate	+
Mytricine	+

Tableau 15 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Soummam traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).

- **Le produit Danone :**

Nos résultats indiquent aussi une très faible viscosité des échantillons traités avec la résine d'amande (**Tableau 16**) et ce qui est satisfaisant par rapport aux traitements avec des substances chimiques.

Conservateur	Viscosité
Gomme arabe	-
Gomme amande	--
Sorbate	+
Benzoate	+
Mytricine	+

Tableau 16 : Variation de la viscosité des échantillons de yaourt Danone traités par des additifs après 21jour de conservation (++ : très visqueux ; + : visqueux ; -- : très faible viscosité ; - : viscosité faible).

3. Discussion :

Les résultats microbiologiques obtenus ont révélé une diminution significative de la charge en bactéries lactiques (UFC/ml) après 21 jours de conservation à 4°C, en fonction du type de conservateur utilisé. Les échantillons traités avec des conservateurs chimiques tels que le benzoate de sodium ou le sorbate ont montré une réduction drastique, voire une élimination complète de la flore lactique. Ces observations sont en accord avec les travaux de Mohammed A et *al*. (2024) et Hamdane Y et *al*. (1971), qui ont démontré une diminution notable de la charge microbienne dans les yaourts enrichis en benzoate de sodium et en sorbate .

À l'inverse, les yaourts formulés avec des conservateurs d'origine végétale tels que la gomme d'amande et la gomme arabique ont maintenu une viabilité bactérienne modérée, ce qui suggère un effet protecteur plus doux et favorable à la survie des bactéries probiotiques. Cela rejoint les résultats de Azhari S.S et *al*. (2020) et Kareem N.A et *al* . (2016), qui ont constaté une meilleure stabilité microbiologique avec la gomme arabique par rapport à d'autres gommes végétales.

De plus, l'étude menée par Park Y.W et *al*. (2019) a mis en évidence que certains polysaccharides naturels, peuvent préserver la viabilité des probiotiques tout en améliorant la texture du yaourt pendant le stockage.

Le suivi du pH a montré une légère diminution dans les échantillons témoins, indiquant une acidification progressive durant le stockage. Cependant, les yaourts enrichis en gomme

d'amande ou gomme arabique ont maintenu un pH plus stable (~4.1–4.3), ce qui suggère une modulation favorable du métabolisme lactique (Kareem N.A et *al* .,2016 ; Park Y.W et *al*.,2019).

Cependant, avec l'utilisation des agents conservateurs tels que le benzoate de sodium ou le sorbate dans le yaourt, nous avons observé l'effet inverse , le pH a considérablement diminué, atteignant des valeurs comprises entre 3,93 et 4,20, les résultats trouvés sont similaire à ce qui a été rapporté dans les travaux de Mohammed A et *al*. (2024) et Hamdane Y et *al*. (1971).

Concernant la viscosité, les résultats indiquent une augmentation sensible dans les échantillons contenant le benzoate de sodium et le sorbate de potassium, et au contraire les conservateurs végétaux ont diminué cette viscosité.

Conclusion

Conclusion

L'analyse effectuée a permis d'examiner l'efficacité comparative de divers agents conservateur ; chimiques :sorbate, benzoate de sodium, et la mytricine ; et végétales : la gomme arabique et la résine d'amande, sur la viabilité des souches probiotiques dans des yaourts fermes commerciaux Soummam, Danone, et Activia, stockés à 4°C durant 21 jours. Les données microbiologiques montrent que les conservateurs chimiques entrainent une décroissance significative de la population bactérienne constituant ainsi un danger pour la survie des souches probiotiques. En revanche, les biomolécules à source végétale, notamment la gomme arabique et la gomme d'amande a permis de conserver une viabilité bactérienne non négligeable, ce qui montre qu'ils peuvent être utilisés comme conservateurs bénins et bénéfiques à la flore utile. Sur le plan physicochimique, l'ajout de gommes végétales a contribué à stabiliser le pH des échantillons et a permis la conservation de la texture souhaitée, bien que la viscosité soit réduite par rapport aux composés chimiques.

Ainsi, ce travail aborde l'un des principaux sujets de préoccupation moderne, à savoir: en raison de l'ensemble croissant de besoins des consommateurs pour des produits plus sains et moins transformés et des tendances dans l'industrie alimentaire pour y répondre. Il s'avère que la gomme arabique et la gomme d'amande peuvent constituer une solution pour prolonger la durée de vie du produit laitier fermenté sans endommager l'efficacité ou la teneur en nutriments des probiotiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

-Abee T, Krockel.Le, Hill C- 1995-Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning- Food Microbiology.169-185.

-Aso Y, Akaza H, Kotake T, Tsukamoto T, Imai K, Naito S- 1995- Preventiveeffect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficialbladder cancer in a double blindtrial.The BLP Study Group- Europeanurology. 104-109.

-Alakomi H L, Skyttä E, Saarela M, Mattila-SandholmT, Latva-Kala K, Helander I M-2000- Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane-Applied and environmental microbiology. 2001-2005.

-AiqianYe, SheelaghH , Steve T -2001- Characteristics of rennet–casein-based model processed cheese containing maizestarch: Rheological properties, meltabilities and microstructures- Food Hydrocolloids.1220- 1227.

-Afssa -2005 -Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte- Coordination scientifique : Jean-Christophe Boclé, Coordination éditoriale : Jean-Christophe Boclé & Carole Thomann- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.128

-Amrouche T- 2005- Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués-Thèse de doctorat. Université Laval.155.

-Atyabi F, Majzoob S, Iman M, Salehi M, Dorkoosh F-2005- In vitro evaluation and modification of pectinate gel beads containing trimethyl chitosan, as a multiparticulate system for delivery of water-soluble macromolecules to colon- Carbohyd. Polym.39-51.

-Allem R, Elkebir FZ, Guetarni H -2007- Effet des bactéries lactiques sur Helicobacterpylori in vitro- Médecine et nutrition.121-127.

-Anal A. K , Singh H-2007-"Recent advances in microencapsulation of pro bio tics for industrial applications and targeted delivery-" Trends in Food Science &Technology . 240-251.

-Arltoft D, Madsen F, Ipsen R-2008- Relating the microstructure of pectin and carrageenan in dairy desserts to rheological and sensory characteristics- Food Hydrocolloid.660-673.

- ALEGRE I.E-2009 -les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique- Thèse de doctorat, Strasbourg. 230.

-**Abe F ,Miyauchi H ,Uchijima A ,Yaeshima T ,Iwatsuki K -2009**- Effects of storage temperature and water activity on the survival of bifidobacterial in powderform-Int- J. Dairy Technol.234–239.

-**Allwyn Sundar Raj A, Rubila S, Jayabalan R, Ranganathan T.V-2012**- A review on pectin: Chemistry due to general properties of pectin and its pharmaceutical. 1-4.

-**Azhari Siddeeg S, Ammar Al-FargaZ ,Rasha M. A, Mousa S. A. Husam and A. S, Al Zubai-2020**- Physicochemical, Microbial and Sensory Characteristics of Yoghurt Processed by Adding Various Formulations of Gum Arabic and Guar Gum- Annual Research & Review in Biology. 33-44.

-**Alobaidi S -2024**- Therapeutic Potential of Gum Arabic (Acacia senegal) in Chronic Kidney Disease Management: A Narrative Review- Journal of Clinical Medicine. 13

-**Barlett J.G-1992**- Antibiotic-associated diarrhea- Clinical Infectious Diseases . 573-581.

-**Buydens P, Debeuckelaere S** -1996- Efficacy of SF 68 in the treatment of acute diarrhea.A placebo-controlled trial- Scandinavian Journal of Gastroenterology.887-891.

-**Bertolini A. C, Siani A. C et C. R. F. Grosso-2001**-"Stability of monoterpenesen capsulated in gum Arabie by spray-drying." Journal of Agricultural and Food Chemistry .780-785.

-**Blennow A, Nielsen T. H, Baunsgaard L, Mikkelsen R et Engelsen S. B- 2002**-"Starch phosphorylation:a new front line in starch research."- Trends in plant science. 445-450.

-**Boudouhi R, Ferreira C, Morel E, Szymanski A, Tizaoui S-2005** -Aliments fonctionnels : « réalité et/ou allégation »- Université Lille 1 Sciences et Technologies. 202

-**Buck BL, Altermann E, Svingerud T, Klaenhammer TR- 2005**- Functional analysis of putative adhesion factors in Lactobacillus acidophilus NCNCFM- Applied and Environmental Microbiology. 8344–8351.

-**Begley M, Hill H , Gahan1 CG -2006**-Bile Salt Hydrolase Activity in probiotics -Appl Environ Microbiol . 1729-1738

-**Bernard F, Stéphane N -2007**- PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES DES PROBIOTIQUES-Probiotique et intestin . 2s38-2s44.

-**Bédié G.K, Turgeon S.L, Makhlouf J-2008**- Formation of native whey proteinisolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods- Food Hydrocolloid . 836-844.

-**BourliouxP ,Véronique B ,Denis D.G. Mater -2011**- Yaourts et autres laits fermentés- Cahiers de nutrition et de diététique. 305—314.

-Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C, Gil A- 2012- Probiotic mechanisms of action - Annals of Nutrition and Metabolism. 160-174.

-Bernaola Aponte G, Bada Mancilla CA, Carreazo NY, Rojas Galarza RA-2013- Probiotics for treating persistent diarrhoea in children- Cochrane DatabaseSystRev .18.

-Bottacini F, Ventura M, van SinderenD ,O'Connell M-2014- Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria- Microbial Cell Factories. 15.

-Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J-2015- Towards a more comprehensive concept for prebiotics- NATURE REVIEWS | GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY.8.

-Belhamra Z-2017-Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires- Thése de doctorat Université Ferhat Abbas Sétif 1.106.

-BEY M.L-2020- Situations de délivrance de probiotiques en pharmacie dans la patientèle de médecine générale en Corrèze- [Thèse de Médecine]- Université de Limoges.122.

-BEROIGUI Y -2023 - Probiotiques et prebiotiques : impact sur le microbiote intestinal et sante humaine- Thèse doctorat, ROYAUME DU MAROC UNIVERSITÉ MOHAMMED V DE RABAT FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE RABAT. 166

-Camarri E, BelvisiA ,Guidoni G , Marini G , Frigerio GA -1981-double-blind comparison of twodifferenttreatments for acute enteritis in adults- Chemotherapy . 466-470.

-Cross M.L , Gill H.S -2001 - Can immunoregulatory lactic acid bacteria beused as dietary supplements to limit allergies? -Int. Arch. Allergy. Immunol. 9.

-Collado MC, Gueimonde M, Hernández M, Sanz Y, Salminen S-2005- Adhesion of selected Bifidobacterium strains to human intestinal mucus and the role of adhesion in entéropathogène exclusion- Journal of Food Protection. 2672–2678.

-Crittenden R, Weerakkody R, Sanguansri L et Augustin M-2006- "Synbiotic microcapsules thatenhance microbial viability during non rfrigerated storage and gastrointestinal transit-" Applied and Environmental Microbiology .2280-2282.

-COLARELLI M-2010-LES PROBIOTIQUES, DU CONSEIL OFFICINAL A LAPRISE EN CHARGE MICRONUTRITIONELLE-FACULTE DE PHARMACIE. 218

-Coudeyras S , Forestier Ch-2010- Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine- Canadian Journal of Microbiology. 611–650 .

-Collado M C, Gueimonde M, Salminen S- 2010- Probiotics in adhesion of pathogens:mechanisms of action- Bioactive Foods in PromotingHealth- 353-370.

- **Carmona B -2016**- Les probiotiques (bactéries et levures) : où en est-on aujourd'hui ?- UNIVERSITE DE MONTPELLIER UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques . 1-104

-DE LLAGLIO F , H. de Roissard, S. Torriani, M. C. Curk , D. Janssens- 1994- Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques- Bactéries lactiques 25-116.

-Dunne, C , L. Murphy, S. Flynn, L. O'Mahony , S. O'Halloran , M. Feeney ,D. Morrissey ,G. Thornton , G. Fitzgerald , C. Daly , B. Kiely , E. M. M. Quigley , G. C. O'Sullivan , F. Shanahan , and J. K. Collins- 1999- Probiotics:Frommyth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in humanclinical trials. Antonie van Leeuwenhoek- International Journal of General and MolecularMicrobiology.279-292.

-DROUAULT S , CORTHIER G -2000- Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laitsfermentés sur la santé- Unité d'Écologie et de Physiologie du Système Digestif- Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France. 101-117.

-deVreseM ,Stegelmann A , Richter B , Fenselau S , Laue C, Schrezenmeir J -2001- compensation for lactase insufficiency -American Society for Clinical Nutrition. 421s-429s.

-Del Piano M, Carmagnola S, Anderloni A, Andorno S, Ballare M, Balzarini M, et al - 2010 -The use of probiotics in healthy volunteers with evacuation disorders and hard stools:a double-blind, randomized, placebo-controlledstudy- J Clin Gastroenterol. s30-s34.

-Demers V-2015- Viabilité, propriétés technologiques et effets antiinflammatoires et anti-obésité de nouvelles souches probiotiques dans les produits laitiers-Universitié Laval.308

-FeketyR , Shah A.B -1993-Diagnosis and treatment of Clostridium difficile colitis- J. Am. Med. Assoc. 71-75.

-Fox P , Timothy P, Guinee Timothy M, Cogan • Paul L. H.McSweeney.2000. Fundamentals of Cheese Science. Springer Science & Business Media. 771.

-Fotiadis C I, Stoidis C N, Spyropoulos B G, Zografos E D- 2008- Role of probiotics, prebiotics and synbiotics in chemo prevention for colorectal cancer- World journal of gastroenterology, 1). 6453-6457.

-GuarinoA ,Canani R.B , Spagnuolo M.I , Albano F , Benedetto L-1997- Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea- Journal of PediatricGastroenterology and Nutrition. 516-519.

-Grangette C-2007- PROBIOTIQUES ET RÉGULATION DE LA RÉPONSE IMMUNE ALLERGIQUE ET INFLAMMATOIRE- Probiotiques et immunité. 2S76. 2S85.

-Goulet O-2009- Un probiotique pas comme les autres : d'une histoire tropicale à des propriétés biologiques et des effets cliniques prouvés Journal de Pédiatrie et de Puériculture. 269-272

-Gómez L C, Muñoz S, Gil A- 2010-Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics-Proceedings of the Nutrition Society .381- 389

-Gaudreau H-2015-Amélioration de la croissance et de la survie en conditions gastrointestinales de bactéries probiotiques sensibles à l'oxygène, microencapsulées ou non, en présence d'un extrait de thé vert- Doctorat en Sciences et technologie des aliments-Université LAVAL-Canada .1/163

-GuarnerF ,Sanders M. E ,Eliakim R, Fedorak R, Gangl A , James G, Pedro K, Karakan T ,G. Khan , Kim Nayoung , Andrés De Paula , Ramakrishna B, Shanahan F, Szajewska H, Thomson A , Le Mair A , Jacques Gonvers J -2017-Probiotiques et prébiotiques- World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. 2-32.

-Guillemin L-2018- Probiotiques: la représentation des médecins généralistes du Puy de Dôme- [Thèse de Médecine]- Clermont-Ferrand: Université de Clermont Auvergne.130.

-Grattepanche A-2022- Probiotiques gynécologiques en officine- [Thèse de Pharmacie]. [Bordeaux]: Université de Bordeaux.70.

-HAMDAN .Y, DEANE D.D, KUNSMAN JD , JR-1971- EFFECT OF POTASSIUM SORBATE ON YOGURT CULTURES- Milk Food Technol. 307.311.

-Holt P.G ,Sly P.D , Bjorksten B-1997- Atopic versus infectious diseases in childhood: a question of balance? Pediatr.Allergy- Immunol. 53-58.

-HessleC , Andersson B , Wold A.E- 2000– Gram-positive bacteria are potentinducers of monocytic interleukin-12 (IL-12) while gram-negative bacteria preferentially stimulate IL-10 production - Infection and Immunity. 3581-3586.

-Husebye E, Hellström PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T-2001- Influence of microbialspecies on small intestinal myoelectricactivity and transit in germ-free rats-American Journal of Physiology-Gastrointestinal and LiverPhysiology. G368-G380.

-Huckle B. D, Zhang Z- 2011- Maintenance and protection of probiotics. In:Probiotics-Springer Berlin Heidelberg. 87-108

-Hummel S, Veltman K, Cichon C, Sonnenborn U, Schmidt M A- 2012- Differential targeting of the E-cadherin/β-catenincomplex by Gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function- Applied and environmentalmicrobiology. 1140- 1147

-Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B, et al-2013-Microbial characterization of probiotics–Advisory report of the Working Group « 8651

Probiotics » of the Belgian Superior Health Council (SHC)- Molec ular Nutrition and Food Research. 1479-1504

-Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC -2014- The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the termprobiotic- Nature reviews gastroenterology & hepatology. 506–514.

-IsolauriE ,Juntunen M , Rautanen T , Sillanaukee P , Koivula T.A-1991- A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children- Pediatrics .90-97

-lyer C et Kailasapathy K -2005- "Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt." -Journal of Food Science .70(1): Ml8-M23.

-Jenkins D.J, Gassull M.A, Leeds A.R, Metz G, Dilawari J.B, Slavin B, Blendis L.M-1977- Effect of dietaryfiber on complications of gastric surgery :prevention of postprandial hypoglycemia by pectin- Gastroenterology .215–217.

-Jankowski T, Zielinska M et Wysakowska A- 1997- "Encapsulation of lactic acid bacteria with alginate/starch capsules-" Biotechnology techniques. 31-34.

-Jijon H, Backer J, Diaz H, Yeung H, Thiel D, McKaigney C, De Simone C, Madsen K-2004- DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. Gastroenterology. 26: 1358-1373

Joffin J-N, Leyral G-2006- Microbiologie technique. 1, Dictionnaire des techniques. 368

-Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G- 1998- Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria- Int. J. Food. Microbiol- 103-125.

-Klaenhammer, T.R-2000-ProbioticBacteria : Today and Tomorrow- Journal of Nutrition .415S-416S.

-Kawakami K- 2003- Promising immuno therapies with Th1-related cytokines against infectious diseases- Journal of Infections and Chemotherapy. 201-209 .

-Kidd P- 2003- Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease- Alternative MedicineReview. 223-246.

-Khalif IL, Quigley EMM, Konovitch EA, Maximova ID-2005-Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation-Digestive and LiverDisease. 838 49.

-**Kailasapathy K-2008-** Encapsulation and controlled release of folicacid-Dans: Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals- N. Garti (ed.), CRC Press, Boca Raton, FL. 331-343

-**Korbekandi H, Mortazavian AM, Iravani S -2011**- Technology and stability of probiotic in fermented milks containing probiotics and prebiotics In:Probiotic and prebiotic foods: technology, stability and benefits to the human health- Nova Science Publisher.131-167

-**Kelesidis T, Pothoulakis C-2012**- Efficacy and safety of the probiotic Saccharomyces boulardiifor the prevention and therapy of gastrointestinal disorders- Therapeutic Advances in Gastroenterology. 111-125.

-**Khalié M A-2013**-Microencapsulation de probiotiques pour la fabrication d'un fromage Cheddar fonctionnel -Université du Québec .1-102.

-**Kandylis P, Katerina P ,Argyro B , Kanellaki M, et Koutinas A- 2016**- « Dairy and Non-Dairy Probiotic Beverages »- Current Opinion in FoodScience .58-63.

-**KareemNA, ThyabGddoa Al-Sahlany S , Al-Manhel AJ- 2016**- GumArabic Uses as Prebiotic in Yogurt Production and Study Effects on Physical, Chemical Properties and Survivability of Probiotic BacteriaDuring Cold Storage- World Applied Sciences Journal .1190-1196.

-**Kimmel R-2018-**Intérêt des probioiques dans le traitement de l'infecion à Helico bacterpylori- Revue de la litérature Présentée et soutenue publiquement dans le cadre du troisième cycle de Médecine Générale.16.123

-**Lee W, Shin J G, Kim E H, Kang H E, Yim I B, Kim J Y, Joo H G, Woo H J- 2004-** Immuno modulatory and antitumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of Lactobacillus caseiand Bifidobacterium longum-Journal of Veterinary Sciences. 41- 48

-**Luquet F .M, Corrieu G-2005**- Bacteries lactiques et probiotiques - Sciences et techniques agroalimentaires (STAA).307.

-**Li T, Lu X, Yang X-2013**-Stachyose-Enriched α-Galacto-oligosaccharides Regulate Gut Microbiota and Relieve Constipation in Mice- Journal of Agricultural and Food Chemistry .11825 11831.

-**Lamari F-2014**- Utilisation de bactéries lactiques probiotiques pour prémunir les poissons d'élevage contre des vibrions pathogènes Biologie animale- Thésedoctorat , Université de Bretagne occidentale - Brest; Université de Monastir (Tunisie). 143.

-**Man, J.C ,Rogosa, M, Sharpe, M.E- 1960**- A Medium for the Cultivation of Lactobacilli- Journal of Applied Bacteriology.130–135.

-**Marteau P, Flourié B, Pochart P, Chastang C, Desjeux J.F, Rambaud J.C- 1990**– Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans- Brifish Journal of Nutrition. 71-79.

-**Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T-1995-** Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis- Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 333-338

-**Meurman J.H, Antila H, Korhonen A, Salminen S -1995-** Effect of Lactobacillus rhamnosusstrain GG (ATCC 51303) on the growth of Streptococcus dobrinus in vitro- European Journal of Oral Sciences. 253-258.

-**Moll G.N, Konings W.N, Driessen A.J.M-1999**- Bacteriocins:mechanism of membrane insertion and pore formation, Antonie van Leeuwenhoek: International Journal of General and MolecularMicrobiology .185-198.

-**Mastrandrea F, Coradduzza G, Serio G, Minardi A, Manelli M, Ardito S, Muratore L-2004-**Probioticsreduce the CD34 + hemopoietic precursor cell increased traffic in allergicsubjects- Allergy and Immunology. 118-122

-**Makras L, Triantafyllou V, Fayol-Messaoudi D, Adriany T, Zoumpopoulou G, Tsakalidou E, Servin A, De Vuyst L- 2006**-Kinetic analysis of the antibacterial activity of probiotic lactobacilli towards Salmonella entericserovar Typhimurium reveals a role for lactic acid and other inhibitory compounds- Research in Microbiology. 241-247.

-**Mortazavian, A, Razavi S. H, Ehsani M. R et Sohrabvandi S-2007**- "Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms."- lranian Journal of Biotechnology (IJB). 5(1).

-**Millette M – 2007**-Étude de bactéries lactiques à potentiel probiotique et de leurs métabolites -l'INRS-Institut Armand-Frappier. 256

- **Meng X *et al*-2008**-Anhydrobiotics : The challenges of drying probiotic cultures. Food Chemistry - FOOD CHEM. 1406-1416.

-**Moslehi-Jenabian S, Pedersen L, Jespersen L-2010**- Beneficial Effects of Probiotic and Food Borne Yeasts on Human Health- Nutrients. 449-473.

-**Mazlyn MM, Nagarajah LH-L, Fatimah A, Norimah AK, Goh K-L-2013-**Effects of a probiotic fermented milk on functional constipation: A randomized, double-blind, placebo controlled study: Probiotics for functional constipation- Journal of Gastroenterology and Hepatology.1141 7.

-**Mohammed, A. Inusa S. K., Salihu, A-2024-** EFFECTS OF SODIUM BENZOATE ON PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITIES OF YOGHURT IN

KANO METROPOLIS. Proc-49thConf., Nig. Soc. for Anim. Prod. 24 –27 March, 2024, Univ. of Ibadan, Nigeria.810.813

-**NETTLES C G. et Barefoot S F- 1993-** Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lacticacid bacteria- Journal of Food Protection.338-356.

-**Naidu A.S, Bidlack W.R, Clemens R.A-1999-** Probiotic spectra of lactic acid bacteria- Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 13-126.

-**Ninane V, Berben G, Mukandayambaje R- 2015-** Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation règlementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir- Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 459-466

-**Niamah A.K, ThyabGddoa Al-SahlanySh , Al-Manhel A.J-2016-** Gum Arabic Uses as Prebiotic in Yogurt Production and Study Effects on Physical, Chemical Properties and Survivability of Probiotic Bacteria During Cold Storage- World Applied Sciences Journa.:1190.1196.

-**Oakenfull D.G-1991**- The chemistry of high-methoxylpectins- Dans: The chemistry and technology of pectin, R.H. Walter (ed.)- Academic Press- New York- pp. 87-108.

-**Ouwehand A .C - 1998**- Antimicrobial components from lactic acid bacteria, in:Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects Salminen S, von Wright A (eds).New York, Dekker-.139–159

-**Ouwehand AC, Salminen S, Tolkko S, Roberts P, Ovaska J, Salminen E- 2002-**Resected human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acide bacteria- Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 184–186.

-**Pant A.R , Graham S.M , Allen S.J-1996**- Lactobacillus GG and acute diarrhoea in young children in the tropics- J. Trop. Pediatr. 162- 165.

-**Pochard P , Gosset P , Grangette C , Andre C , Tonnel A.B , Pestel J , -Mercenier A-2002-**Lacticacidbacteriainhibit Th2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients- J. Allergy Clin. Immunol.617-623.

-**PRESCOTT L M , Harley J. P , Klein D. A- 2003**- Les bactéries: les Gram-positives pauvres en G- Microbiologie.517-535.

-**Pochard P ,Hammad H , Ratajczak C , Charbonnier-Hatzfeld A.S , Just N , Tonnel A.B , Pestel J-2005** - Direct regulatory immune activity of lactic acid bacteria on Der p 1-pulsed dendritic cells from allergic patients- J. Allergy Clin. Immunol.198-204.

-**Park Y.W, Oglesby J, Hayek S.A , Aljaloud S.O , Gyawali R , Ibrahim S.A-2019-** Impact of Different Gums on Textural and Microbial Properties of Goat Milk Yogurts during Refrigerated Storage- *Foods*. 169.

-**Poli J-2020**-Les probiotiques :leurs mécanismes d'action et leur place dans l'arsenal thérapeutique du conseil officinal associés dans les troubles digestifs. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, thése de dactorat.69

-**Roberfroid M-1993-**Dietaryfiber, inulin, and oligo fructose: are view comparing their physiological effects- Crit. Rev. Food Sci. Nutr.103–148.

-**RazaS , Graham S.M , Allen S.J , Sultana S , Cuevas L , Hart C.A- 1995**- Lactobacillus GG promotes recovery from acute non bloody diarrhea in Pakistan- J.Pediatr. Infect. Dis. 107-111.

-**Russell J B, Diez-Gonzalez F- 1997**- The effects of fermentation acids on bacterial growth- Advances in microbial physiology.205-234.

-**RepaA , Grangette C , Daniel C , Hochreiter R , HoffmannSommergruber K , Thalhamer J , Kraft D , Breiteneder H , Mercenier A , Wiedermann U- 2003** - Mucosalco-application of lactic acid bacteria and allergen induces counter-regulatory immune responses in a murine model of birch pollen allergy- Vaccine.87-95.

-**RokkaS ,Rantamaki P-2010**- "Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications-" European Food Research and Technology . 1-12.

-**Riezzo G, Orlando A, D'Attoma B, Guerra V, Valerio F, Lavermicocca P, et al- 2013**- Randomised clinical trial:efficacy of Lactobacillus paracasei-enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation - a double-blind, controlled, crossover study- Aliment Pharmacol Ther.441 450.

-**Reid G, Gadir AA, Dhir R- 2019**- Probiotics: Reiterating What They Are and What They Are Not- Frontiers in Microbiology. 424.

-**SAKAMI W, HARRINGTON H-1963**-AMINO ACID METABOLISM. AnnuRev Biochem.355-98.

-**Smith J-1976**- The Molecular Weight of Pectin, Ph. D. Thesis, University of Leeds,England.

-**Spiller G.A, Chernoff M.C, Hill R.A, Gates J.E, Nassar J.J, Shipley E.A-1980**- Effect of purified cellulose, pectin and a low residue diet on fecal volatile fatty acids, transit time, and fecal weight in humans-Am. J. Clin. Nutr.754–759.

-**SavaianoD.A ,AbouElAnouar A , Smith D.E , Levitt M.D- 1984** - Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. Am- J. Clin. Nutr. 1219-1223.

-**Silva M , Jacobus N.V , Deneke C , Gorbach S.L-1987**- Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain- Antimicrob- Agents Chemother. 1231-1233.

-Smoragiewicz W, Bielecka M, Babuchowski A, Boutard A, Dubeau H;1993. Les probiotiques. Canadian Journal of Microbiology.1089-1094.

-Saavedra J.M ,Bauman N.A , Oung I , Perman J.A , Yolken R.H-1994-Feeding of Bifidobacteriumlongum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus- Lancet 344 . 1046-1049.

-ShornikovaA.V , Casas I.A , Mykkanen H , Salo E , Vesikari T-1997- Bacteriotherapywith Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis- Pediatr. Infect. Dis. J. 1103-1107 .

-Shah NP -1997- Bifidobacteria: Characteristics and potential for application in fermented milk products- Milchwissen.16-21.

-ShidaK ,Makino K , Morishita A , Takamizawa K , Hachimura S , Ametani A , Sato T , Kumagai K , Habu S , Kaminogawa S-1998 - Lactobacillus casei inhibits antigen-induced IgE secretion through regulation of cytokine production in murine splenocyte cultures- Int. Arch. AllergyImmunol. 278-87.

-Sriamornsak P-1998-Investigation of pectin as a carrier for oral delivery of proteins using calcium pectinate gel beads- Int. J. Pharm.213-220.

-Stanton C, Gardiner G, Meehan H, Collins K, Fitzgerald G, Lynch PB, Ross RP -2001- Market potential for probiotics- Am. J. Clin. Nutr. 476-483.

-ServinA L, Coconnier M H- 2003- Adhesion of probioticstrains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens- Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 741-754.

-Servin AL- 2004-Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens- FEMS microbiology reviews. 405–440.

-Senok A C, Ismaeel A Y, Botta G A- 2005- Probiotics:Facts and myths- Clinical

Microbiology and Infection. 958-966.

-SashiharaT ,Sueki N , Ikegami S-2006 – An analysis of the effectiveness of heat-killed lactic acid bacteria in alleviating allergic diseases- J. DairySci, 89. 2846-2855.

-Sharma B.R, Naresh L, Dhuldhoya N.C, Merchant S.U, Merchant U.C-2006- An overview on pectins.TFPJ-June-July. pp.44-51.

-ShidaK , Suzuki T , Kiyoshima-Shibata J , Shimada S , Nanno M-2006 - Essential roles of monocytes in stimulating human peripheral blood mononuclear cells with Lactobacillus casei to produce cytokines and augment natural killer cellactivity- Clin. Vaccine Immunol. 997-1003

-Shah N P- 2007- Functional cultures and health benefits- International Dairy Journal. 1262-1277.

-Schulz C, Schüte K, Koch N, Vilchez-Vargas R, Wos-Oxley ML, Oxley APA et al-2008- The acivebacterial assemblages of the upper GI tract in individuals with and without Helicobacter infecion- Gut. Feb. 216-222

- Saint-Eve A , Lévy C , Le Moigne M , DucrueV, Souchon I-2008- Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials- Food Chemistry. 285–293.

- Saccaro D. M, Tamime A. Y. Pilleggi Ana Lúcia O. P. S., Oliveir M. N-2009- The Viability of Three Probiotic Organisms Grown with Yoghurt Starter Cultures during Storage- International Journal of Dairy Technology. 397–404

-Shukla S, Jain D, Verma K, Verma S- 2011- Pectin-based colon-specific drug delivery- Chron. Young Sci.83-89.

-Sriamornsak P-2011 -Application of pectin in oral drug delivery. Expert Opin- Drug Deliv-8(8):1009- 1023.

-Serafini M, Stanzione A, et Foddai S- 2012-« Functional Foods:Traditional -Use and European Legislation »- International Journal of Food Sciences and Nutrition .7-9

-Steensels J, Snoek T, Meersman E, Nicolino M, Voordeckers K, Verstrepen K-2014- Improving industrial yeast strains:exploiting natural and artificial diversity - Fems MicrobiologyReviews. 947-995.

-Tarzaghi, B.E, Sandine, W.E- 1975- Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages- Applied Microbiology.807–813.

-Tamime AY, Marshall VME, Robinson RK -1995-Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria - J. DairyRes- 151-187.

-Thakur B.R, Singh R.K, Handa A.K-1997- Chemistry and uses of pectin-A review. Crit Rev Food Sci Nutr.47–73.

-Takeda K., Suzuki T, Shimada S.I, Shida K., Nanno M, Okumura K-2006 – Interleukin-12 isinvolved in the enhancement of human natural killer cellactivity by Lactobacillus casei Shirota-Clin. Exp. Immunol.109-15.

-Vergin F-1954- Antibiotics and probiotics. Hippokrates. 16-119.

-Vanderhoof J.A, Whitney D.B ,Antonson D.L , Hanner T.L , Lupo J.V, Young R.J-1999-Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children - J. Pediatr. 564-568.

-VenkatesanR , Surya Sekar , ChaitanyJayprakashRaorane , Vinit Raj and Seong-Cheol Kim -2022- Hydrophilic Composites of Chitosan with Almond Gum: Characterization and Mechanical, and Antimicrobial Activity for Compostable Food Packaging- Antibiotics. 114.

-Wellner N, Kačuráková M, Malovíková A, Wilson R.H, Belton P.S- 1998- FT-IR study of pectate and pectinate gels formed by divalent cations- Carbohyd. Res .123-131.

-WELMAN, A. D, I. S. Maddox- 2003- Exopolysaccharides from lactic acid bacteria : perspectives and challenges- Trends in Biotechnology. 269-274.

-Y. HAMDAN, D. D. DEANE, J. E. KUNSMAN, JR-1971- EFFECT OF POTASSIUM SORBATE ON YOGURT CULTURES- Milk Food Technol.307-311-

-Yoon H, Benamouzig R, Little J, Francois-Collange M, Tome D- 2000- Systematic review of epidemiological studies on meat, dairy products, and egg consumption and risk of colorectal adenomas- European Journal of Cancer Prevention. 151–164.

-Young W. P ,Jolethia O , Saeed A. H , Sulaiman O. Aljaloud , Rabin G, Salam A. I - 2019- Impact of Different Gums on Textural and Microbial Properties of Goat Milk Yogurts during Refrigerated Storage- Foods.7.

-Zaylaa M- 2018- Probiotique et autophagie : exploration de l'impact possible sur la maladie de Crohn- Doctorat Université Libanaise , THESE de doctorat. 223.

Bibionet :

(1): https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/15020/bacterie-lactique

(2): https://www.biorender.com/template/mechanism-of-action-of-probiotics

(3): https://fr.freepik.com/vecteurs-premium/microorganismes-probiotiques-bacteries-benefiques-pour-sante-humaine_16808828.htm

(4): https://phys.org/news/2011-05-bacterial-guests-bodyguards.html

(5): https://fr.dreamstime.com/levure-saccharomyces-cerevisiae-image126324751

(6):https://www.pharmashopi.com/quels-sont-les-fromages-qui-contiennent-des-probiotiques-pxl-1450_3706.html?utm_source.

(7) :https://www.symbiose-kefir.fr/recette-kefir-de-fruits/

(8):. https://nicrunicuit.com/actu/aidez-la-science-en-cultivant-du-kefir-de-fruits

(9):https://revolutionfermentation.com/blogs/kefir-de-lait/activation-de-grains-de-kefir-de-lait-deshydrate

(10)
:https://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/dgccrf/securite/produits_alimentaires/Complement_alimentaire/colloque14oct2011/Expo_Brigitte_Thimoleon.pdf

(11):WorldGastroenterology Organisation. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Probiotiques et prébiotiques [Internet]. WGO. 2017 [cité 20 aout 2022]. Disponible sur : Global Guidelines 2017

(12) :WorldHealthOrganization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Probiotics in food:health and nutritionalproperties and guidelines for evaluation [Internet]. FAO 2006 [cité 18 juillet 2022]. https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf

(13) :Définition d'un médicament [En ligne]. [Cité le 11 décembre 2015]. Disponible sur: http://www.sante.gouv.fr/definition-d-un-medicament.html

(14) :Vidal [En ligne]. [Cité le 14 novembre 2015]. Disponible sur: www.vidal.fr

(15) :Autorisation de mise sur le marché d'un médicament [En ligne]. [Cité le 14 novembre 2015]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr

(16) : https://www.dynveo.fr/blog/comment-bien-conserver-ses-probiotiques-n75

(17):https://www.passeportsante.net/nutrition/additifs-alimentaires?doc=phosphate-calcium-faut-savoir-sur-e341

(18):https://www.mon-droguiste.com/phosphate-calcium-monobasique.html

(19):https://www.passeportsante.net/nutrition/additifs-alimentaires?doc=cellulose-microcristalline-faut-savoir

(20):https://sercalia.com/fr/cmc-carboxy-methyl-cellulose/

(21) :https://www.passeportsante.net/nutrition/additifs-alimentaires?doc=dioxyde-silicium-faut-savoir-sur-cet-additif

(22):https://www.medecine-anti-age.com/actualites/bien-etre/les-bienfaits-du-collagene-sur-la-peau

(23):https://www.codeage.com/fr/blogs/education/harnessing-the-power-of-collagen-and-probiotics-a-dynamic-duo?srsltid=AfmBOoo3JamOSjQl2u69GG-aEYczFZYq0sA8E4dMb2AqfieiomKEjAx3

(24) https://www.ledvard-sport.com/fr/Blog/le-collagene/

(25) https://nutriandco.com/fr/pages/whey-proteine-danger

(26) https://www.toutelanutrition.com/wikifit/nutrition/complements/a-quoi-sert-la-whey-proteine

Annexes

Annexes :

1- Composition des principaux milieux de culture :

1.1. Gélose MRS (pH = 6,2 ± 0,2) (Man et al., 1960)

- Peptone..... 10,0 g
- Extrait de viande .....8,0 g
- Extrait de levure..... 4,0 g
- Glucose .....20,0 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
- Agar.....10 g
- Eau distillée..... 1000ml

1.2. Gélose M17 (pH = 6,2 ± 0,2) (Terzaghi B.E et Sandine W.E , 1975) :

- Tryptone..... 5,0 g
- Peptone de soja .....5,0 g
- Infusion de viande..... 5,0 g
- Extrait de levure..... 2,5 g
- Glycérohydrogénophosphate de sodium..... 19,0 g
- Lactose .....5,0 g - Acide ascorbique
….....0,5 g
- Sulfate de magnésium.....0,25 g
- Agar.....11 g
- Eau distillée..... 1000ml

1.3. Gélose TSA :

-TSB 3g
-Agar.....17 g
-Eau distillée..... 1000ml
Les milieux de culture ont été autoclavés 20 min à 120 °C.

2. Réactifs chimiques et autres produits

2.1. Réactifs de la coloration de Gram ;

- Solution de violet de gentiane :

-Violet de gentiane .....1g de
-d'alcool éthylique à 95%.....10ml-
phénol.....2g
Eau distillée.....100ml

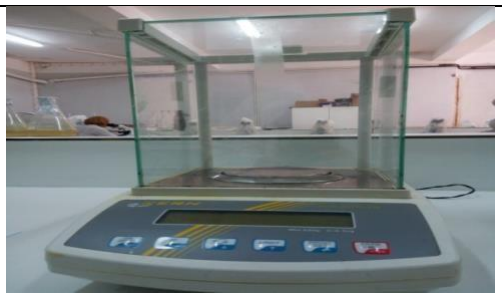
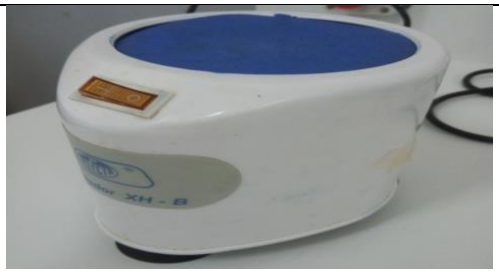
- **Solution de lugol**: Iodure de potassium 1g
Eau distillée.....300ml

- **Solution de fuschine de ziehl** : Fuschine.....1g
Alcool éthylique à 95%. 10ml

phénol.....10g
Eau distillée.....100ml

Liste du matériel utilisé durant les étapes du traitement:

Instruments	Utilisation	Type d'appareillage
1- Bec bensène	Pour assurer une stérilisation instantanée.	
2- Bain marie	pour la transfusion des milieux de culture	
3-Autoclave	stérilisation á la vapeur	
4-Réfrigérateur	conservation des souches et des réactifs	
5-Microscope optique	Observation des micro-organismes	

6-Balance de précision	Pèse les produit et les composantes des milieux	
7-Agitateur magnétique de type vortex	Agitation et homogénéisation des solutions	
8-Incubateur	Incubation des cultures de micro-organismes	
9-Centrifugeuse	Séparation des fractions des solutions	

2- Verrerie :

1-Pipettes Pasteur et en plastique	-pour l'inoculation et l'ensemencement -coloration de Gram	
2-Micropipette	pour une prise très précise	

3-Becher á différents volumes	Contenir les solutions, les suspensions	
4-Verre á pied (200cc, 60cc)	Utilisation pendant la filtration	
5-Lames et lamelles	Faciliter l'observation microscopique	
6-Tubes à essai	Préparation des dillutions des suspensions bactériennes	
7-Boites de Pétri	Mise en culture dans des milieux nutritifs	
8-Anse de platine	Ensemencement des colonie bactériennes	
9-Portoirs	Porte les tubes à essai	

10-Poires	Aspirer les solutions	