

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Biotechnologie et Biothérapie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude de l'effet des bactéries lactiques sur le stress oxydant induit chez le rat
« Approche clinique et métabolique »

Présenté par : BELKHAIRI Chaïma

Le : 20/06/2022

AYACHE Nour El Houda

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr. MOSBAH A. (MCA_UFM Constantine 1).

Examineur 1 : Dr. KARA ALI M. (MCA_UFM Constantine 1).

Examineur 2 : Dr. BENHAMDI A. (MCA_UFM Constantine 1).

Année universitaire
2021 – 2022

Remerciements

*En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH** qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

❖ ***A Madame MOSBAH ASMA Maître de conférences A à UFC.***

Je remercie chaleureusement pour avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse, ainsi que pour le temps que vous avez consacré à la lecture de mon manuscrit. Je vous suis également reconnaissante pour vos encouragements durant la période de rédaction.

Merci pour ta patience, ton dévouement, et ta gentillesse.

❖ ***Monsieur le doctorant MAHROUK ABD EL KADER à UFC.***

On tient tout particulièrement à remercier, qui n'a pas ménagé le moindre effort pour nous assister dans notre expérience, l'expression de notre profonde gratitude quant à sa patience, le temps et l'attention qu'il nous a consacrée. Tu as toujours été là pour me guider.

❖ *Mes remerciements sont adressés aussi à **Mme KARA ALI MOUNIA** Maîtres de conférences A à UFC accepté d'examiner ma thèse et **Mme BENHAMDI ASMA** qui avait attribué le mérite de nous pour l'organisation de notre mémoire pour nous comprendre d'une manière convenable la méthodologie de rédaction scientifique et pour aussi d'avoir accepté d'évaluer notre mémoire*

❖ ***A Monsieur BAHRI EL AID maître assistant à UFC.***

Les travaux de cette thèse ont été réalisés en grand partie au niveau du laboratoire animalerie chaab el rssas université frères Mentouri Constantine, Merci beaucoup pour ses conseils et son aide au gavage gastrique pour les rats.

❖ ***Je tiens aussi à adresser mes remerciements à tout l'équipe du :***

- *Laboratoire de biochimie applique spécialement chef laboratoire **Mr BENSEGNI** et l'ingénieur **Mr BOUDARSA YASSER** pour nous offrir un locale pour la discussion*
- *Laboratoire de biologie applique spécialement à **Mme MOUNIA** l'ingénieur du laboratoire.*
- *Laboratoire biochimie de **CHU** Constantine pour les analyses biochimique sérique*

*On remercie aussi tous les enseignants du Master « **Biotechnologie et Biothérapie** ».*

Enfin, Toute notre gratitude pour ceux et celles qui ont contribué de près

Ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A ma chère mère

*A la femme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, qui s'est toujours sacrifiée pour me voir, je vous souhaite un prompt rétablissement..... Je t'aime **Mama***

À mon cher père

*la lumière de mes jours, la source de mes efforts, de ma vie et de mon bonheur, que Dieu le que Dieu la préserve..je t'aime **papa***

A mes chers frères et A mes chères sœurs

Merci pour m'encourager et m'aider que dieu vous portage pour moi.

A mon cher marie

Qui m'a encouragé durant mon parcours et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitude.

A ma tante Nawal, A ma grande mère décédée, A ma belle-famille et à ma meilleure copine Hadil A toutes mes tantes, oncles et à toutes mes cousines et cousins.

À mon binôme Nour el Houda

À toute ma famille

A tous mes amis

À tous ceux que j'aime.

A ma meilleure enseignante Mme Mosbah Asma

Vous êtes le model de la femme parfaite, vous méritez tout le respect du monde.

Chaima

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Tu as été toujours présente à mes côtés et m'a soutenu et encouragé durant toutes mes études. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

À mon cher père

Qui est toujours disponible pour nous, et prête à nous aider, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. Je lui confirme mon attachement et mon profond respect

À mes chers frères, ma chère sœur,

Merci pour vos encouragements pour vos soutiens.

À mon binôme Houda

À toute ma famille

A tous mes amis

À tous ceux que j'aime.

A ma meilleure enseignante Mme Mosbah Asma

Vous êtes le model de la femme parfaite, vous méritez tout le respect du monde.

Nour el houda

Liste des abréviations

- ADN :** Acide Désoxyribonucléique
- APAP :** Acétaminophène
- ARN :** Acide Ribonucléique
- ASC :** Acide Ascorbique
- BL :** Bactérie Lactique
- CAT :** Catalase
- DHA :** déhydroascorbate
- ER :** Espèce réactif
- ERA :** Espèce réactive d'Azote
- ERO :** espèce réactif d'Oxygéné
- FAO :** Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- GRAS:** Generally Regarded as Safe
- GSH:** Glutathion
- MDHA :** monodéhydroascorbate
- NAC :** N acetylcysteine
- OMS :** L'Organisation Mondiale de la Santé
- SII :** syndrome du l'Intestin Irritable
- SO :** Stress Oxydant
- SOD :** Superoxyde dismutase
- TD :** Tractus Digestif
- UFC :** Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 01	Mécanismes d'action possibles des bactéries probiotiques.	08
Figure 02	Principaux dommages cellulaires induits par le ERO.	15
Figure 03	Systèmes de défense contre les radicaux libres.	18
Figure 04	Réparation des rats durant l'expérience.	22
Figure 05	Gavage gastrique des rats.	23
Figure 06	Perte de poids.	24
Figure 07	Dissection d'un rat et récupération de ses organes.	25
Figure 08	Ponction cardiaque et prélèvements de sang .	25
Figure 09	Perte de fer chez les rats après l'induction de stress	27
Figure 10	récupération et amélioration de la structure de fer après le traitement par les bactéries et le NAC.	29
Figure 11	Pourcentage d'augmentation du poids des rats	31
Figure 12	Poids relatif des organes des rats en g	32

Liste des tableaux

Tableau 01	Exemple de souches probiotiques disponibles sur le marché international.	02
Tableau 02	Principales espèces utilisées probiotiques.	03
Tableau 03	Paramètres à respecter lors de la production de produits probiotiques.	06
Tableau 04	Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.	13
Tableau 05	Different types des antioxydants.	16
Tableau 06	Different groupes expérimentaux.	23
Tableau 07	Signes cliniques des rats pendant la phase d'induction de stress	26
Tableau 08	Signes cliniques des rats pendant la phase de traitement par les bactéries et le NAC	28
Tableau 09	Consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage (%)	30
Tableau 10	taux sérique d'Alat, de cholestérol, d'urée chez les rats de différents groupes	32

Liste des matières :

Remerciements et dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des matières

Introduction 1

Partie I : Etude bibliographique

1. Probiotique.....	2
1.1. Définition	2
1.2. Classification de probiotique	3
1.3. Critère sélectionner une souche probiotique.....	4
1.3.1. Quelle souche bactérie sélectionné?.....	4
1.3.2. Tests in vitro à effectuer sur la souche.....	5
1.3.3. Tests in vivo à effectuer sur la souche	5
1.4. Mécanisme d'action des bactéries probiotique.....	6
1.5. Intérêt pour la santé.....	8
1.5.1. Diarrhées.....	8
1.5.2. Obésité et flore intestinale.....	9
1. 5.3. Syndrome de l'intestin irritable	9
1.5.4. Cancer du côlon	9
1.6. Risque pour la sante	10
1.7. Contres indications aux probiotiques.....	11
2. Stress oxidant	12
2.1. Définition.....	12
2.2. Radicaux libres.....	13

2.3. Sources de production d'ERO.....	13
2.3.1. Sources exogène.....	13
2.3.2. Sources endogènes.....	14
2.4. Types des Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	14
2.5. Rôle physiologique des espèces réactives de l'oxygène	15
3. Antioxydants.....	16
3.1. Définition.....	16
3.2. Systèmes de défenses.....	16
3.2.1. Systèmes de défenses enzymatiques (endogènes).....	16
3.2.1.1. <i>Superoxydes dismutases (SOD)</i>	17
3.2.1.2. <i>Catalase (CAT)</i>	17
3.2.1.3. <i>Glutathion peroxydase (GPx)</i>	17
3.2.1.4. <i>Glutathion réductase (GRx)</i>	17
3.2.2. Systèmes de défenses non enzymatiques (exogènes).....	17
3.2.2.1. <i>Ascorbate ou vitamine C</i>	18
3.2.2.2. <i>Vitamine E</i>	18
3.2.2.3. <i>Composées phénoliques</i>	19
3.3. Utilisations des antioxydants.....	19
3.4. Mécanismes d'action des antioxydants.....	19
4. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant.....	20
5. Effet de probiotiques sur le stress oxydatif.....	20

Partie II : Etude expérimentales

Matériel et Méthodes

1. Matériel.....	22
1.1. Les souches bactériennes.....	22
1.2. Animaux.....	22
2. Méthodes.....	22
2.1. Traitement des animaux.....	22

2.1.1. Induction de stress oxydant par acétaminophène.....	23
2.1.2. Traitement par les souches bactériennes (BL1, BL2) et N-acétyl-L-cystéine...	23
2.2. Évaluation clinique.....	24
2.3. Sacrifice des animaux et le prélèvement des organes (dissection).....	24
2.4. Dosage des paramètres sanguins.....	25

Résultats et discussion

1..Evaluation des signes cliniques	26
2. Consommation alimentaire des rats	30
3. Evaluation du poids corporelle	31
4. Index organe	32
5. Evaluation des paramètres biochimiques	34

Conclusion et perspectives.....	36
--	-----------

Références bibliographiques.....	37
---	-----------

Résumé



Introduction

Le stress oxydatif, ou stress oxydant, est à l'origine d'un bon nombre de nos problèmes de santé. De nombreuses pathologies telles que le vieillissement, le diabète, le cancer et les maladies inflammatoires sont, directement ou indirectement, dues à un déséquilibre de balance existant au niveau physiologique, entre les radicaux oxygénés et le système antioxydant (enzymatique ou non enzymatique) suite à un stress tif (Sarr et *al.*, 2015).

Ce déséquilibre peut engendrer des altérations importantes sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles, notamment : les protéines, les lipides et les acides nucléiques, qui se traduisent par des pathologies pouvant être létales (Favier, 2003). L'application du traitement chimique (médicament), pour lutter contre toutes ces pathologies, peut engendrer des effets néfastes par rapport à la santé humaine. Plusieurs études sont menées afin de découvrir de nouvelles molécules d'origine naturelles pour éliminer ou réduire les effets indésirables du stress oxydant. Parmi les traitements proposer l'utilisation des probiotiques issues de bactéries lactiques comme un traitement pour soulager le stress oxydant. Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la santé humaine en dominant et en équilibrant la microflore intestinale (Akbar et *al.*, 2019)

La présente étude a pour but l'utilisation des bactéries lactiques BL1 et BL2 pour traiter le stress oxydatif induit par l'acétaminophène chez un modèle animal (le rat). L'approche curative a été adoptée dans cette étude. Notre travail est divisé en deux grandes parties comme suit :

- Une partie théorique composée de deux chapitres :

Le premier chapitre comprend des généralités sur les probiotiques et les critères de sélection de souches bactériennes bénéfique pour la sante. Par la suite, le deuxième chapitre est consacré sur la bibliographie du stress oxydant et le système antioxydants.

- Une partie pratique englobe deux chapitres :

Le premiers chapitre, Matériel et Méthodes, dont lequel nous présentons le matériel et les différentes méthodes utilisés dans cette étude. Le deuxième chapitre expose l'essentiel de nos résultats avec une discussions.

À la fin, nous avons terminé avec une conclusion.



**Partie I : Etude
bibliographique**

1. Probiotique

1.1. Définition

Le terme « probiotique » issu des termes grecs « pros » et « bios », signifie « pour la vie » (Bernier, 2010).

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui sont consommés par un être humain pour traiter une variété de pathologies, y compris les maladies inflammatoires de l'intestin, constipation, syndrome du côlon irritable, diarrhée (aiguë et liée aux antibiotiques), affections liées aux allergies, diabète et hypertension (Hill et *al.*, 2014).

Lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte (FAO /WHO,2001).

La majorité des bactéries probiotiques disponibles aujourd'hui sur le marché international (Tableau01), sont majoritairement des bactéries lactiques (BL) et plus particulièrement des *bifidobactéries* ou des *lactobacilles* (Forsythe, 2010 ; Bron et *al.*, 2011).

Mais d'autres souches bactériennes sont commercialisées comme mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Exemple de souches pro biotiques disponibles sur le marché international (Kechaou, 2012).


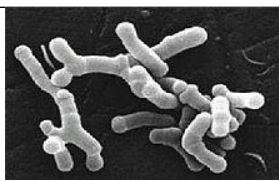
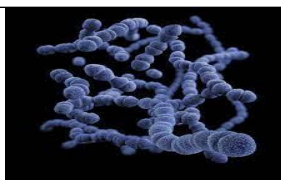
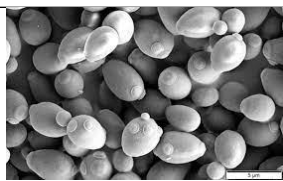
	Dénomination	Exploitant
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus johnsonii La1</i>	Nestlé, Suisse
	<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Valio Dairy, Finlande
	<i>Lactobacillus casei DN 114-001</i>	Danone, France
	<i>Lactobacillus plantarum 299v</i>	Probi, Suède
	<i>Lactobacillus acidophilus NCFM</i>	Rhodia, USA
	<i>Lactobacillus casei Shirota</i>	Yakult, Japon
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium breve Yakult</i>	Yakult, Japon
	<i>Bifidobacterium animalis</i>	Danone, France
	<i>Bifidobacterium lactis BB12</i>	Chr Hansen, USA
	<i>DN 173-010</i>	
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli Nissle 1917</i>	Herdecke, Allemagne
<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Biocodex, France

Comme montre dans (Tableau 01), il n'existe pas que des produits probiotiques à base de bactéries. En effet, *Saccharomyces boulardii* est une levure non pathogène qui a beaucoup été étudiée pour ses effets probiotiques. Elle est naturellement résistante à l'acidité gastrique, n'adhère pas aux cellules épithéliales et ne colonise pas l'intestin. Son activité clinique est essentiellement dirigée contre les diarrhées associées à la prise d'antibiotiques et les infections intestinales causées par *Clostridium difficile* (Czerucka et al., 2007 ; Wu et al., 2008 ; McFarland,2010).

1.2. Classification

La classification de probiotiques dépend de la classification des souches bactériennes. Les méthodes conventionnelles d'identification des probiotiques sont basées sur l'analyse phénotypique. Cependant, la caractérisation phénotypique de bactéries telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* n'est pas suffisante pour décrire ou différencier complètement. Il existe de nombreuses méthodes moléculaires pour identifier les probiotiques. Les méthodes les plus prometteuses pour identifier les probiotiques sont des outils moléculaires tels que l'analyse des peptides, d'acide désoxyribonucléique (ADN) et d'acide ribonucléique (ARN) (Syromyatnikov et al., 2022). Il existe quatre grands types de classifications de probiotiques (Tableau 02) :

Tableau 02 : Principales espèces probiotiques utilisées (Scimat et al., 2001).

Espèce lactobacilles	Espèce bifidobactéries	Autre bactéries lactique	Microorganismes non lactique
			
<i>lactobacillus bulgaricus</i>	<i>bifidobacterium breve</i>	<i>streptococcus</i>	<i>saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L acidophilus</i> <i>L casei</i> Shirota <i>L casei</i> <i>L reuteri</i> ATCC 55730 <i>L delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>L gasseri</i> <i>L paracasei</i>	<i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. lactis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. Infantis</i>	<i>S. thermophilus</i> <i>E. faecalis</i> Symbioflor <i>E. faecium</i> SF68 <i>P. acidilactici</i> Bactocell	<i>S. boulardii</i> Utra-levure <i>S. cerevisiae</i> <i>E. coli</i> Nissle 1917 <i>B. subtilis</i> <i>B. cereus</i>

Lactobacillus est une grande espèce de bactéries anaérobies facultatives à Gram positif en forme de bâtonnet qui fait partie du microbiote humain normal, appartenant au groupe des bactéries lactiques. Les lactobacilles ont été reconnus comme une flore normale qui inhibe les bactéries pathogènes en produisant des substances antimicrobiennes. *Lactobacillus* se trouve généralement dans diverses parties du corps humain, par exemple, le tube digestif, le système urinaire et le système génital. De plus, *Lactobacillus* peut se trouver dans certains aliments fermentés tels que les fromages, les yaourts et le vin, ainsi que dans des compléments alimentaires ou aliments contenant des bactéries vivantes. *Lactobacillus* a été reconnu comme un traitement efficace pour prévenir les problèmes de digestion. Les lactobacilles ont été signalés comme étant bénéfiques pour plusieurs pathologies telles que : le syndrome de l'intestin irritable (SII), la constipation idiopathique chronique, les nourrissons allaités souffrant de coliques, l'inflammation intestinale, la constipation, l'inflammation du côlon et le contrôle de la progression du cancer en retardant le processus de métastase (Jaiturong et al., 2020).

1.3. Critère de sélection d'une souche bactérienne probiotique

Pour qu'un produit, contenant un ou plusieurs microorganismes probiotiques, puisse être commercialisé, il doit respecter les critères de recommandation des autorités compétentes. En 2002, l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ont établi les lignes directrices à suivre pour commercialiser un produit contenant des probiotiques. La sélection de souches probiotiques peut donc être divisée en trois catégories distinctes (Lemetais, 2012).

- Bénéfice santé
- Production industrielle
- Résistance aux stress du Tractus digestif (TD)

1.3.1. Quelle souche bactérienne sélectionnée

Premièrement on doit se baser sur la quantité efficace, pour une souche donnée et un effet donné, est la quantité qui a pu démontrer ses effets en étude clinique. Cependant, il a déjà été démontré que l'effet des souches était dépendant de la dose de bactérie (Ghadimi et al., 2008).

Pour qu'un micro-organisme soit classé comme probiotique, il doit remplir les critères suivants (Dunne et al., 2001) :

- avoir un effet bénéfique démontré sur l'hôte
- être non pathogène et sans effets indésirables
- survivre aux acides gastriques et biliaires pour persister dans l'intestin
- adhérer aux cellules intestinales
- réduire l'adhésion des pathogènes en produisant des peptides antimicrobiens
- avoir un effet sur le système immunitaire
- survivre et rester stable suite aux procédés de production

1.3.2. Tests *in vitro* à effectuer sur la souche

Un produit probiotique doit être capable de survivre dans le produit final (humide ou sèche) ainsi que dans TD de sorte à délivrer son effet bénéfique dans l'intestin grêle et dans le côlon. Pour faciliter sa production en vue d'une commercialisation dans un produit final, la souche devrait présenter une bonne activité et viabilité ainsi qu'une bonne résistance à la congélation et à la lyophilisation. Il est aussi important de considérer les aspects fonctionnels de la souche tels que ses activités antimicrobiennes et métaboliques. Les études *in vitro* sont d'autant plus importantes car elles permettent de prévoir dans certains cas les effets des souches *in vivo*. Les études menées *in vivo* sont généralement réalisées chez les rongeurs (souris et rats). Ces études ont l'avantage entre autres d'étudier la survie des bactéries ainsi que leurs activités dans l'environnement dynamique du TD. Lorsque l'effet bénéfique des souches est observé chez l'animal, il est alors possible de passer à l'étude de la souche chez l'homme (Kechaou, 2012).

1.3.3. Tests *in vivo* à effectuer sur la souche

À la suite de tests *in vitro* encourageants, des études sont menées sur des animaux de laboratoires (les rats), on parle d'études *in vivo*.

Pour arriver à la production des produits à bases de souches probiotiques, les industriels doivent tenir compte de trois paramètres différents mentionnés dans (Tableau 03) ,Les paramètres relatifs au produit comme les conditions de croissance de la souche probiotique, Les paramètres liés à la production industrielle et qui sont de type technologique tels que les conditions de fermentation, Les paramètres en rapport avec les conditions de survie de la souche dans le TD du consommateur (Klein et *al.*, 2010).

Tableau 03: Paramètres à respecter lors de la production de produits probiotiques (Klein et al., 2010).

Paramètre de produit	paramètre de production	Paramètre de l'hôte
• Composition	• condition de	• Survie dans les sites
• Oxygène	fermentation	d'action microbiote
• PH	• concentration	• Production de bile
• Acides organiques	• Préservation	d'acides et d'enzymes
• Température		pancréatique
• Autres bactéries		
• packaging		

La physiologie de probiotiques qui influence la fonctionnalité et la stabilité du produit lorsqu'il est consommé. Un autre critère dont il faut tenir compte est la dose de bactéries à ajouter dans le produit pour observer l'effet santé recherché. En effet, les doses nécessaires varient selon la souche et le produit. Les doses requises pour obtenir des effets bénéfiques sont couramment rapportées pour être de l'ordre de $1-10 \cdot 10^9$ unité formatrice de colonie (UFC)/jour. Cependant, les doses efficaces sont parfois moins importantes. Il suffit dans certains cas d'administrer seulement $1 \cdot 10^8$ UFC/jour pour observer un effet bénéfique des produits probiotiques. Établir un dosage général pour tous les probiotiques n'est pas possible, il faudrait plutôt s'appuyer sur des études menées chez l'homme et ayant déterminée la dose appropriée pour observer un bénéfice pour la santé. Ce paramètre doit aussi être compatible avec une prise quotidienne par le consommateur (Klein et *al.*, 2010).

1.4. Mécanisme d'action des bactéries probiotique

Les mécanismes par lesquels les probiotiques exercent des effets bénéfiques sur l'hôte sont complexes, souvent multiples et souches-dépendantes. En effet, ces bactéries sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie du microbiote. L'une de leurs caractéristiques est la stabilisation ou le remodelage du microbiote en réponse à des stress spécifiques en favorisant, par exemple, un retour à la communauté microbienne essentielle après des événements perturbateurs tels qu'un traitement antibiotique (Preidis, 2009).

Les mécanismes généralement complexes ne sont souvent pas entièrement élucidés. Ces effets sont en raison de la présence de souches ou d'interactions avec la flore/les systèmes indigènes immunité. On pense généralement que les probiotiques aident à l'homéostasie. L'intestin fonctionne selon quatre modes principaux (Lemetais, 2012) :

- Améliorer la fonction digestive
- Exclure ou supprimer les agents pathogènes
- Renforcer la fonction barrière intestinale
- Régule le système immunitaire

La diversité des situations cliniques dans lesquelles une efficacité des probiotiques a été démontrée suggère qu'un mécanisme d'action unique est improbable, et qu'au contraire, ce sont de multiples mécanismes qui sont impliqués.

Les bactéries probiotiques ont le potentiel d'améliorer la santé gastro-intestinale de l'hôte et d'atténuer les symptômes de certaines maladies. Les effets santé des probiotiques peuvent être classés selon trois modes d'action généraux (Kechaou, 2012).

Tout d'abord, ces bactéries peuvent bloquer l'entrée des pathogènes dans les cellules épithéliales en créant une barrière physiologique bactérienne (Figure 01a). Elles ont aussi la capacité d'induire la sécrétion de mucus par les cellules caliciformes pour créer une barrière de mucus qui empêche l'adhésion des bactéries pathogènes (Figure 01b). D'autres part, ces bactéries participent au maintien de la perméabilité intestinale en augmentant l'intégrité intracellulaire des jonctions apicales serrées (Figure 01c) et permettent la production de composés antimicrobiens (bactériocines) pour lutter contre la présence de bactéries pathogènes (Figure 01d).

Elles peuvent aussi stimuler le système immunitaire inné et adaptatif en induisant la production de cytokines anti-inflammatoires (Figure 01e). Aussi elles favorisent le déclenchement par les bactéries ou leurs composés bactériens produits d'une réponse immunitaire innée en induisant la production de cytokines par les cellules épithéliales (Figure 01f).

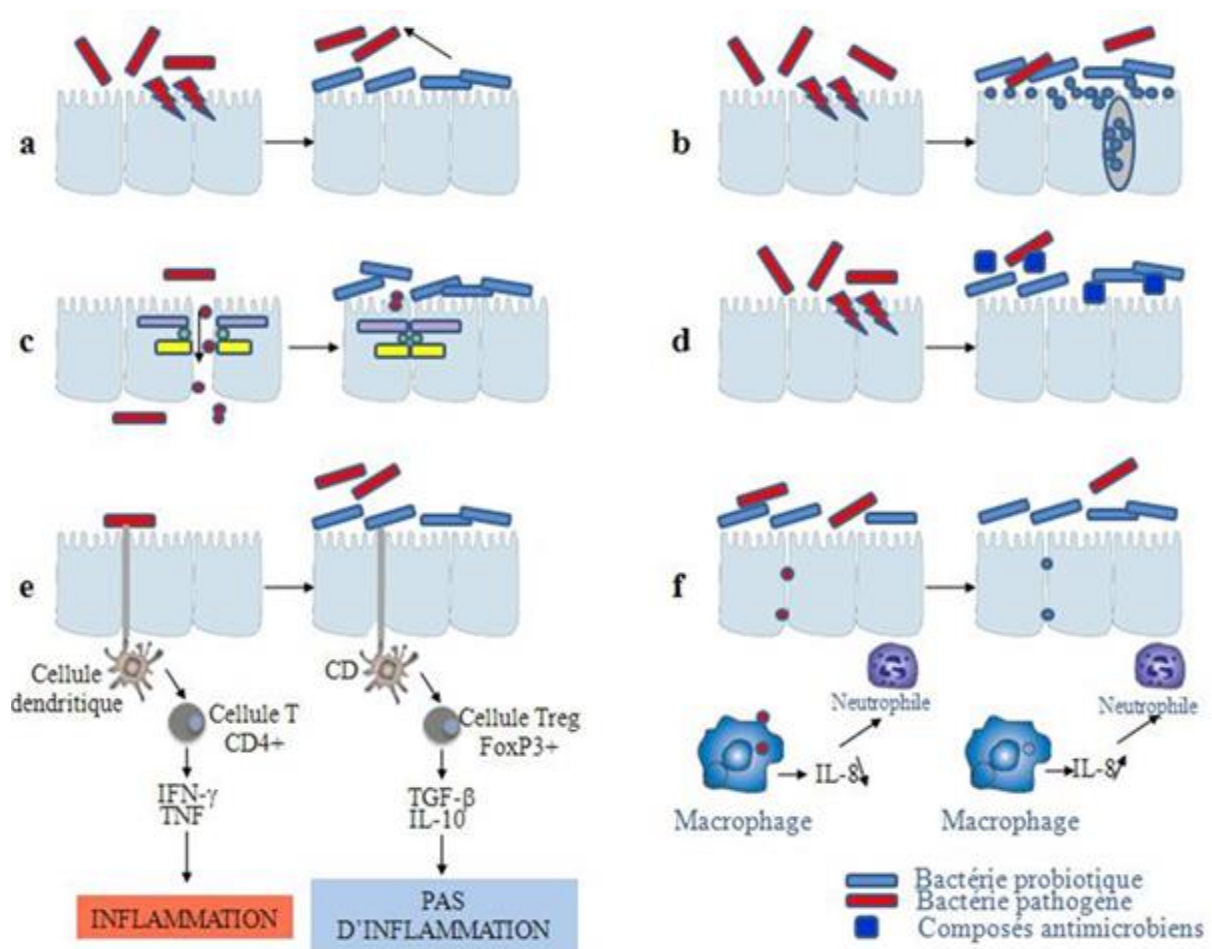


Figure01: Mécanismes d'action possibles des bactéries probiotiques(Kechaou,2012).

1.5. Intérêt pour la sante

Les aliments contenant des probiotiques, microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantités suffisantes, ont un effet positif sur la santé qui va au-delà des effets nutritionnels conventionnels (Schneider, 2008). Il y'a beaucoup Intérêt des probiotiques pour la santé nous en citons quelques-uns:

1.5.1. Diarrhées

La diarrhée aiguë est généralement le symptôme d'une infection TD, qui peut être due à divers microorganismes (bactéries, virus ou parasites). Elle peut aussi avoir une origine médicamenteuse et est notamment souvent associée à la prise d'antibiotiques (Isolauret al., 1991 ; Allen et al.,2010).

Différents probiotiques ont montré un effet préventif ou curatif sur des diarrhées de différentes étiologies. Ils permettent de rétablir l'équilibre du microbiote intestinal qui est altéré lors des épisodes diarrhéiques. L'ultra levure est notamment un médicament probiotique reconnu pour son intérêt dans le traitement de la diarrhée, mais de nombreuses autres souches montrent une efficacité attestée par plusieurs études (Huang *al.*,2002).

1.5.2. Obésité et flore intestinale

Les bactéries qui résident normalement dans l'intestin jouent un rôle dans l'assimilation de nutriments et le métabolisme énergétique. Chez l'homme, la flore des sujets obèses présente une moins grande diversité (avec diminution des *Bifidobactéries*) que chez les sujets minces. Il a été montré qu'un régime déséquilibré induit un changement de la flore chez les sujets obèses et que cette flore, riche en lipopolysaccharides bactériens, favorise l'inflammation et la perméabilité intestinales. (A.F.M.O ,2010).

1.5.3. Syndrome de l'intestin irritable

En modulant le microbiote intestinal et en régulant la réponse immunitaire, les probiotiques pourraient avoir une efficacité au cours des SII. Plusieurs études ont démontré des gains thérapeutiques significatifs avec les probiotiques par rapport aux placebos. Une réduction des ballonnements intestinaux et des flatulences (la production de gaz intestinaux) est signalée comme résultats des traitements par probiotiques. Une constatation constante dans les études publiées indique que quelques souches peuvent en outre soulager la douleur et fournir un soulagement global (*Bifidobacterium infantis*). *Lactobacillus reuteri* peut améliorer les symptômes de coliques en une semaine du traitement (Quigley et *al.*, 2007 ; Khan et *al.*,2010).

1.5.4. Cancer du côlon

L'effet bénéfique de certains probiotiques pourrait reposer sur leur capacité à inhiber la production des enzymes pro carcinogènes engendrées par le métabolisme bactérien du microbiote intestinal (glycosidases, β -glucuronidases, azoréductases et nitroréductases). Ainsi, plusieurs études chez l'animal suggèrent que certains probiotiques pourraient être efficaces en prévention du cancer colorectal. En effet, sur des modèles animaux chez lesquels des foyers de cryptes aberrantes (c'est-à-dire des lésions néoplasiques à partir desquelles des adénomes peuvent se développer) ont été chimiquement induits, il a clairement été montré que des

souches de BL (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* et *Bifidobacterium breve*) exerçaient un effet protecteur (Rowland, 2004).

Chez l'Homme, la consommation de laits fermentés avec différentes souches de BL était susceptible de réduire les activités enzymatiques impliquées dans la transformation de pré-carcinogènes en carcinogènes. L'ensemble des études cliniques suggère donc que certains probiotiques auraient un effet bénéfique dans la réduction du risque du cancer colorectal. Mais en tout état de cause, les mécanismes par lesquels les BL pourraient réduire ce risque restent, à l'heure actuelle, inconnus. Il est probable que selon les souches de probiotiques, les effets s'exercent à différentes étapes de la carcinogénèse (Piquepaille, 2013).

1.6. Risque pour la sante

Un point important concerne l'aspect sécuritaire de l'utilisation des probiotiques. Peu d'études focalisent sur ce point, cependant l'utilisation très large de nombreuses souches probiotiques depuis plusieurs décennies est une preuve indirecte de l'innocuité de ces souches. En outre, la majorité des souches probiotiques appartiennent aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* qui sont classés dans la catégorie des organismes dénués de pathogénicité (statut GRAS, pour Generally Regarded as Safe). Cependant, quatre types d'effets indésirables potentiels méritent d'être envisagés : infections, activités métaboliques délétères, immunomodulation excessive et transfert de gènes (Liong, 2008 ; Snyderman, 2008).

Les probiotiques ne sont pas sélectionnés parmi des agents pathogènes. Par conséquent, le risque d'infections est quasiment nul. Cependant, le risque de leur passage dans le sang par translocation existe. On définit la translocation bactérienne par le passage de microorganismes du tractus gastro intestinal aux sites « extra-intestinaux » comme les ganglions lymphatiques mésentériques, le foie, la rate ou le système sanguin. Normalement, les bactéries indigènes sont continuellement en translocation, mais rapidement détruites par les organes lymphoïdes. Mais, chez les patients atteints de traumatismes graves ou immunodéficients, la translocation est une des causes principales des infections systémiques. Trois mécanismes sont incriminés (Panel, 2012 ; EFSA, 2008) :

- L'augmentation de la perméabilité intestinale, ou la création de nombreuses lésions sur la muqueuse intestinale
- L'augmentation de la croissance bactérienne,
- L'immunodéficience

La contamination de l'air, de l'environnement, du personnel soignant constituent de véritable facteur de risque. Il est donc recommandé aux patients hospitalisés consommant des probiotiques de les ingérer hors de leur chambre et, si le personnel soignant doit aider à l'ingestion, de mettre des gants pour la prise de probiotique et de changer les gants si un geste médical doit être effectué pour éviter tout risque de passage systémique. Bien que les probiotiques induisent des réactions métaboliques positives dans le tractus digestif, ils peuvent promouvoir des réactions métaboliques délétères chez l'hôte. Pendant la colonisation bactérienne de l'intestin grêle, les microorganismes présents en surnombre peuvent induire des diarrhées et des lésions intestinales *via* les voies de déconjugaison et de deshydroxylation des sels biliaires (Marteau, 2003 ; Bouchefra,2012).

Certains gènes microbiens, particulièrement des gènes de résistance aux antibiotiques codés par des plasmides, peuvent être transférés entre microorganismes. La probabilité de transfert de gènes dépend de la nature du matériel génétique à transférer (plasmides, transposons...), de la nature des souches donneuses et receveuses, de leurs concentrations respectives et de la pression de sélection dans le milieu (tout particulièrement la présence d'antibiotiques) favorisant la pousse des transconjugants. Il est difficile de mesurer *in vitro* ou *in vivo* le risque du transfert de gènes, et encore plus difficile de choisir à quel niveau la résistance des probiotiques aux antibiotiques n'est pas en elle-même un risque, sauf si elle rend le probiotique intraitable en cas d'infection systémique par celui-ci ou si elle peut être transmise à des pathogènes chez lesquels la résistance thérapeutique pourrait avoir des conséquences cliniques néfastes (Aires et *al.*,2007; Van et *al* ,2011) .

1.7. Contres indications des probiotiques

Dans certaines situations physiopathologiques, un avis médical s'avère nécessaire en cas (Luquet et *al.*, 2005 ; Luquet *al.*, 2013).

- déficit immunitaire (virus de l'immunodéficience humaine, lymphome).
- immunodépression iatrogène (corticothérapie, chimiothérapie, radiothérapie).
- fièvre, nausées, vomissements.
- diarrhées sanglantes ou douleurs abdominales importantes dont les causes sont inconnues.
- pancréatites aiguës (risque infectieux).

2. Stress oxydant

2.1. Définition

Au sein de l'organisme, il existe un équilibre entre d'une part les espèces réactives (ER) qui sont présentes à l'état basal en faible concentration et d'autre part le système antioxydant qui contient notamment des enzymes, des vitamines, des oligoéléments et le glutathion. Ce système est un moyen de défense en cas de production excessive ER. Le stress oxydant(SO) se définit donc comme un déséquilibre entre la production d'ER et les systèmes de défense. Cette régulation, appelée équilibre redox, se fait en permanence. Dans le cas d'une faible concentration d'ER, le système antioxydant la compense et le déséquilibre est de courte durée, donc l'équilibre redox est maintenu. A l'inverse, s'il est prolongé ou permanent comme dans certaines pathologies chroniques, la concentration en ER est augmentée de façon constante, et la réponse antioxydant n'est plus suffisante pour la contenir. Une perte de l'homéostasie redox apparait conduisant à l'apparition d'un déséquilibre avec une production d'ER forte, c'est le SO (Delattre et *al.*, 2007).

L'induction du SO est effectuée en utilisant plusieurs molécules parmi lesquelles on trouve l'acétaminophène (paracétamol);c'est un médicament antipyrétique, qui permet de soulager de nombreuses manifestations douloureuses (maux de tête, douleurs dentaires ou articulaires, états grippaux, règles douloureuses...etc.). Mais un surdosage susceptible de provoquer des lésions graves pour le foie.

La toxicité de l'acétaminophène (APAP) ne provient pas du médicament lui-même mais de l'un de ses métabolites, N-acétyl-p-benzoquinonimine, la biotransformation de l'acétaminophène implique une conjugaison avec le glucuronide et le sulfate. En cas de surdosage, de grandes quantités d'acétaminophène sont métabolisées par oxydation en raison de la saturation de la conjugaison sulfate, mais une fois que les réserves intracellulaires protectrices de glutathion sont épuisées, des lésions hépatiques et rénales peuvent s'ensuivre.

La toxicité de l'acétaminophène est la première cause d'insuffisance hépatique aiguë, alors que les effets rénaux d'un surdosage d'acétaminophène sont moins fréquents que les effets hépatiques de (Pachaiyappan et *al.*, 2014).

2.2. Radicaux libres

Les espèces pro-oxydantes ou encore radicaux libres sont des molécules possédant au moins un électron célibataire (non apparié) sur leur orbitale externe. De manière conventionnelle, cet électron célibataire est représenté par « ° » (Tableau 04). Ces radicaux sont très réactifs et instables, car ils cherchent à « ré-apparier » leur électron à partir des molécules Environnantes. En effet, ils participent à des réactions en chaîne pour former de nouveaux radicaux libres. La durée de vie d'un radical est d'autant plus courte et le radical d'autant plus réactif, qu'il a la possibilité de délocaliser son électron célibataire sur une autre molécule. Les espèces radicalaires jouent un rôle essentiel dans un grand nombre de fonctions physiologiques, comme la phagocytose ou la régulation de la croissance et la signalisation cellulaire. Cependant, lorsqu'elles sont en quantité trop importante, elles peuvent devenir cytotoxiques pour les cellules et entraîner l'oxydation des protéines, des lipides membranaires et/ou de l'ADN (Dalle-Donne et *al.*, 2006 ; Danielsen et *al.*, 2009).

Tableau 04 : Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (sun,2009)

Espèces réactives d'oxygène		Espèces réactives de nitrogène	
Forme radicalaire	Forme non radicalaire	Forme radicalaire	Forme non radicalaire
Superoxide ($O_2^{\circ-}$)	Hydrogen peroxide(H_2O_2)	Nitric oxide (NO°)	Nitrous acid (HNO_2)
Hydroxyl (OH°)	Hypochlorous	Nitrogen dioxide (NO_2°)	peroxynitrite($ROONO$)
Peroxyl(RO_2°)	acide($HOCl$)		nitryl chloride(NO_2Cl)
Alkoxy(RO°)	Ozone(O_3)		
Hydroperoxyl(HO_2°)	Singlet oxygen(O_2)		
	Peroxynitrite($ONOO^{\circ}$)		

2.3. Sources des Espèces Réactive de l'oxygène

2.3.1. Sources exogènes

La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule Contraceptive, l'exposition excessive au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont, par exemple, autant de Sources de production Espèces réactives de l'oxygène (ERO). Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydant. Si un stress

oxydants n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses (Magder, 2006).

2.3.2. Sources endogènes

La production des ERO dans les cellules est essentiellement d'origine enzymatique et découle de plusieurs sources possibles. Il s'agit principalement de la NAD(P) H oxydase Membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire. Il existe aussi d'autres sources, cytosoliques et au sein de différents organites cellulaires. La xanthine oxydase, enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipo-oxygénases, cyclo-oxygénases) et les enzymes du réticulum endoplasmique lisse cytochrome P450 et peroxysomes représentent des sources espèce réactif d'Azote (ERA), elles sont à l'origine de la synthèse du radical NO[•] mais qui peuvent aussi dans certaines conditions (faible concentration en L-arginine) produire des O₂^{•-} (Delattre et *al.*, 2005).

2.4. Types des Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La famille des ERO et ERA inclue l'anion superoxyde et l'hydroxyle radical, deux radicaux libres possédant un électron non-apparié réactif (Boonstra, 2004). Elle inclue aussi le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le peroxydinitrite même s'ils n'ont pas d'électron libre, car ils peuvent facilement générer des radicaux libres (Pham-Huy et *al.*, 2008).

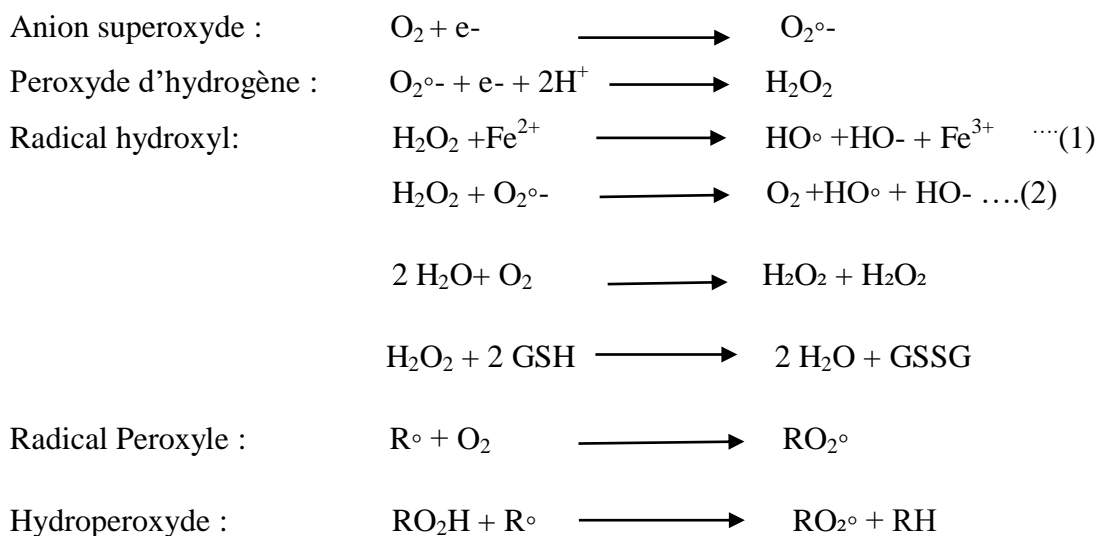
Les ERO sont formés par réduction de l'oxygène en anion superoxyde (Turrens, 2003). En conditions physiologiques, cette réduction se fait *via* le cytochrome P450 dans le réticulum endoplasmique et par des oxydoréductases dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Wojtala et *al.*, 2014).

Dans les cellules saines, l'anion superoxyde est détoxifié en H₂O₂ par l'enzyme superoxydedismutase (SOD). L'H₂O₂ est à son tour réduit en eau par l'enzyme catalase (CAT) quand il est en concentrations faibles, ou encore *via* le glutathion peroxydase (GPx) quand les concentrations augmentent (Poprac et *al.*, 2017).

Par contre, l'H₂O₂ peut être partiellement réduit en radical hydroxyle, soit l'un des plus puissants ERO, par une réaction avec le fer (Ayala et *al.*, 2014).

la réaction de Fenton et prend place quand les enzymes ne parviennent pas à détoxifier l'H₂O₂ en excès (Kalyanaraman, 2013; Pham-Huy et *al.*, 2008). D'un autre côté, la réaction de l'anion superoxyde en excès avec l'oxyde nitrique produit du peroxydinitrite, un ERA fortement oxydant (Turrens, 2003).

La production des espèces réactives de l’oxygène est effectuée selon les réactions suivantes (Migdal, 2011) :



2.5. Rôle physiologique des espèces réactives de l’oxygène

La production excessive des ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques (Figure 02) (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier,2003) .

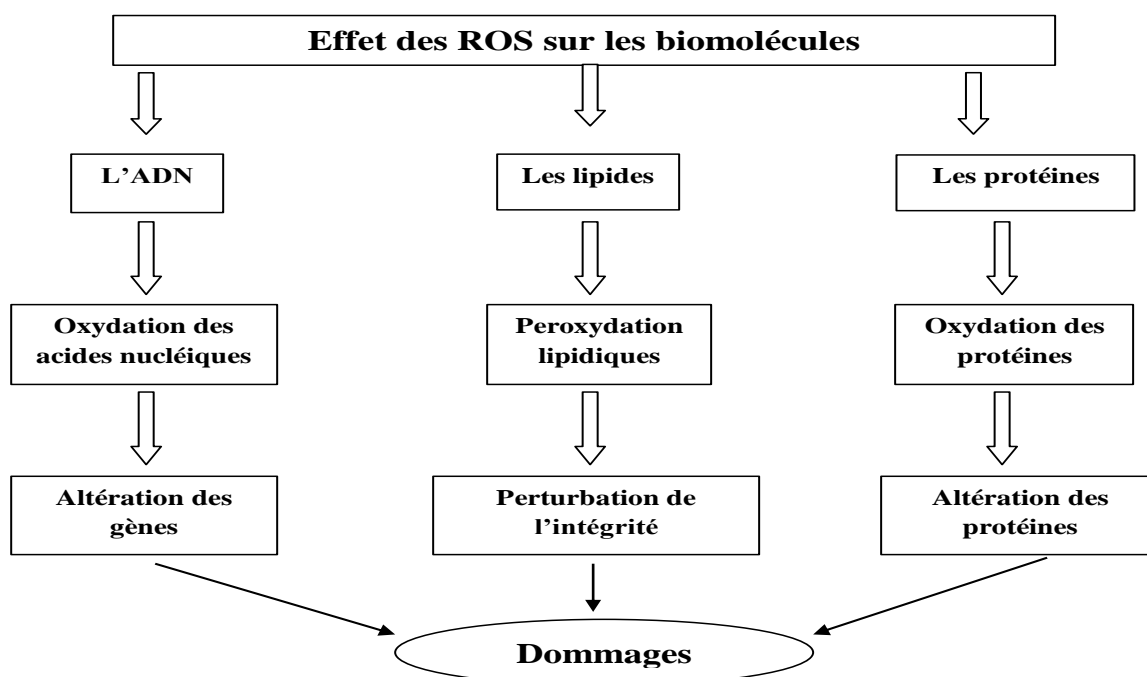


Figure 02 : principaux dommages cellulaire induis par les ERO (Monteil, 2004).

3. Antioxydants

3.1. Définition

Toute substance qui retarde, empêche ou répare les dégâts oxydatifs d'une molécule cible est appelée antioxydant. Elles sont aussi des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du SO (Halliwell et Gutteridge, 2008).

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de longévité et non alliés et lutter contre les maladies modernes, Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme, ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (Bartosz et *al.*, 2003). Ces radicaux libres deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certain dommage au niveau de la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques, en entraînant un SO qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines tels que les maladies cardiovasculaire et les cancers (Pourrut ,2008). Il existe deux types d'antioxydants (Tableau 05) :

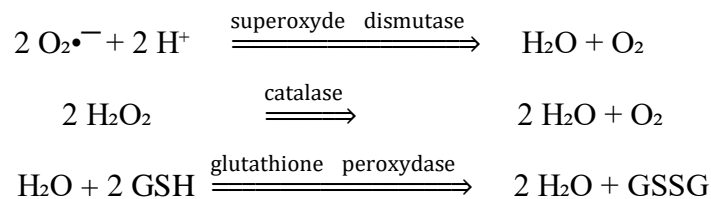
Tableau 05 : Différent types des antioxydants (Haleng et *al* 2007).

Antioxydants endogènes (enzymatiques)	Antioxydants exogènes (non enzymatiques)
Catalase (CAT)	Vitamine C
Superoxyde dismutase (SOD)	Vitamine E
Glutathione peroxydase (GPx)	Caroténoïdes
Glutathione réductase (GRx)	Composes phénoliques

3.2. Systèmes de défenses

3.2.1. Systèmes de défenses enzymatiques (endogènes)

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



3.2.1.1. Superoxydes dismutases (SOD)

SOD est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$. Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc, du Manganèse et/ou du Fer (Russo, 1998).

3.2.1.2. Catalase (CAT)

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein de peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Cette enzyme est constituée de quatre chaînes polypeptidiques, comportant chacune un atome de Fer sous forme ferrique (Fe^{3+}) (Valko, 2007).

3.2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme à sélénium ayant la propriété de pouvoir catalyser la réduction des hydroxyperoxydes. Elle se retrouve dans le liquide extracellulaire ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries. Elle est constituée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium. (Frei, 1988).

3.2.1.4. Glutathion réductase (GRx)

Le glutathion consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du SO sur les acides gras polyinsaturés (Halenge, 2007).

3.2.2. Systèmes de défenses non enzymatiques (exogènes)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Figure 03) (Dacosta, 2003). Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposées, elles incluent: la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (Kohen et Nyska, 2002).

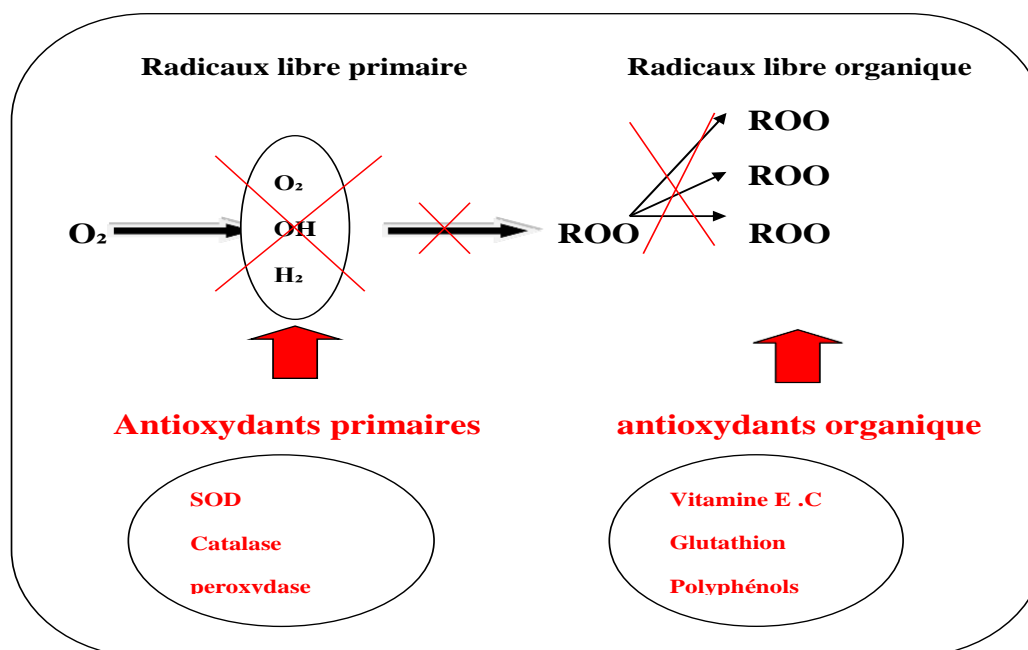


Figure 03 : Systèmes de défense contre les radicaux libres.

3.2.2.1. Ascorbate ou vitamine C

L'acide ascorbique (ASC) est l'un des principaux acides faibles de la cellule végétale. Aux pH physiologiques, il se dissocie en anion ascorbate. L'ascorbate est essentiellement utilisé au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons. Le premier produit de la réaction d'oxydation de l'ascorbate est le radical monodéhydroascorbate (MDHA). Du fait de son électron libre très excentré, le MDHA n'est pas très réactif avec les autres molécules biologiques (Navas et *al.*, 1994). De plus, étant relativement instable, il se transforme spontanément en ASC et déhydroascorbate (DHA) (Heber et *al.*, 1996). Le DHA est également une molécule instable et subit rapidement une hydrolyse conduisant à la formation d'acide 2,3dikétogulonique (Deutsch, 2000).

3.2.2.2. Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant liposoluble majeur (Groussard, 2003) sous forme d' α -tocophérol, se localise surtout dans la membrane externe des mitochondries et dans celle de la réticuline endoplasmique. Elle est présente dans tous les organes, à l'exception du cerveau; dans le foie, le cœur, les reins, les pommons, la rate, les muscle squelettiques et le tissu adipeux que son activité est la plus forte connu notamment pour empêcher la réaction de peroxydation lipidique (Benhamou, 2012).

3.2.2.3. Composées phénoliques

Les composés phénoliques et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydants réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes du transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Schroeter et *al.*, 2002 ; Leopoldini et *al.*, 2011).

3.3. Utilisations des antioxydants

Les antioxydants peuvent être utilisés dans plusieurs domaines, parmi lesquels:

- **Industrie pharmaceutique** : pour minimiser les dommages oxydatifs dues à certaines maladies et réduire les effets secondaires dans le traitement du cancer notamment par la chimiothérapie ; en effet les antioxydants sont connus pour être efficaces dans la neutralisation des radicaux libres du sang et d'autres cellules (Uzma et *al.*, 2017).
- **Industrie chimique** : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- **Industrie agro-alimentaire** : pour éviter le rancissement des corps gras.
- **Industrie teinturerie** : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lourde lors de la teinture (Ibrahim, 2013).

3.4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006). L'activité antioxydant des polyphénols se résume en trois actions principales :

- **Piégeage des radicaux libres**: les polyphénols, sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants en capturant directement les électrons non appariés, générant ainsi des espèces moins réactifs. Les flavonoïdes piègent les radicaux libre pour générer la radicale flavine, qui est beaucoup moins réactif (Ibrahim, 2013).
- **Chélation des métaux de transition** : les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation des métaux de transition tels que le fer (Fe^{3+}) et le cuivre (Cu^+). Les flavonoïdes présentent une capacité antioxydant très élevée

dans la peroxydation induite par les ions métalliques que dans la peroxydation induite par le radical peroxyde (Ibrahim, 2013).

- **Modulation des enzymes** : les polyphénols peuvent stimuler les enzymes antioxydants telles que la glutathion peroxydase, la catalase et SOD, et inhiber l'expression des enzymes impliquées dans la génération des radicaux libres telle que la xanthine oxydase (Xu et *al.*, 2009).

4. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ERO ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydants sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydants (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal et *al.*, 2002).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

5. Effet de probiotiques sur le stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies comme l'inflammation gastro-intestinale, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, le diabète de type II. De nombreuses publications ont montré que la prise d'antioxydants peut diminuer l'impact du stress oxydant sur le corps humain. Des études plus récentes proposent l'utilisation de bactéries probiotiques pour diminuer le stress oxydant (Mikelsaar et *al.*, 2009 ; Banday et *al.*, 2011).

Un probiotique peut démontrer des activités antioxydantes de différentes manières ; ils peuvent renforcer la défense cellulaire antioxydante en sécrétant des enzymes comme la (SOD, aussi bien, ils libèrent et favorisent la production du glutathion antioxydant non enzymatique majeur et piègeur de radicaux libres. De plus, les probiotiques favorisent la production de certaines biomolécules antioxydants, comme les exopolysaccharides. Toutes ces données suggèrent que les probiotiques pourraient avoir un rôle thérapeutique potentiel dans l'élimination des ERO et dans la lutte contre les troubles gastro-intestinaux (Spyropoulos et *al.*, 2011 ; Kesen et *al.*, 2018).



**Partie II : Etude
expérimentales**



Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Souches bactériennes

Les deux souches bactériennes lactiques utilisées dans notre étude du genre *Lactobacillus* sp (BL 1, BL 2) ont été fournies par le laboratoire de Biochimie Appliquée.

1.2. Animaux

Des rats mâles adultes de souche Wistar Albinos, pesant entre 63-167g, issus d'élevage au niveau de l'animalerie de l'Université Frères Mentouri, Constantine 1, sont utilisés au cours des différentes expérimentations. Les rats ont un accès libre à l'eau et à l'aliment standard fourni par l'Office National des Aliments Ouled Hamla Ain-Mlila, Wilaya d'Oum El- Bouaghi, Algérie (Figure 04).



Figure 04 : répartition des rats durant l'expérience

2. Méthodes

2.1. Traitement des animaux

Après une période d'adaptation de 15 jours, les animaux sont répartis en cinq lots expérimentaux de cinq rats pour chacun. Les traitements sont administrés par voie orale gavage gastrique (*per os*) (Figure 05) à l'aide d'une sonde spécifique. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture (100g) chaque jour et à l'eau, ils sont maintenus dans

une animalerie à température constante (22 ± 2 °C) et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.



Figure 05 : gavage gastrique des rats

2.1.1. Induction du stress oxydant par Acétaminophène

Le stress oxydant chez les rats est induit en utilisant l'Acétaminophène (APAP) pendant une période de quatre semaines. Les rats reçoivent une dose quotidienne de 500mg/Kg pendant toute la période d'induction (Pachaiyappan et *al.*, 2014).

2.1.2. Traitement par les souches bactériennes (BL1, BL2) et N-acétyl-L-cystéine

Après l'induction du stress oxydant par l'APAP, les rats (5 rats par groupe) ont été soumis à des traitements avec les souches bactériennes (BL1, BL2) et le contrôle positif N-Acetylcysteine (NAC) pendant quatre semaines (Tableau 06) (Darryl et *al.*, 2004).

Tableau 06 : Différents groupes expérimentaux

Groupes expérimentaux	Traitements
Stress oxydant	APAP 500mg/kg/j 4 semaine
Souche bactérienne 1(BL1)	APAP 500mg/kg/j 4 semaine+BL1 1.10^9 UFC/ml 4 semaine
Souche bactérienne 2(BL2)	APAP 500mg/kg/j 4 semaine+ BL2 1.10^9 UFC/ml 4 semaine
NAC	APAP 500mg/kg/j 4 semaine+NAC 600mg/kg/j 4 semaine
Témoin	Accès libre au aliments et l'eau

2.2. Évaluation clinique

Les rats ont été observés chaque jour afin d'enregistrer les différents signes cliniques, particulièrement :

- Signes physiques du stress (mouvement, comportement),
- Structure de fourrure des rats,
- Perte de poils (figure 06)
- Amincissement du corps,
- Mortalité après la durée de laissé.



Figure 06 : perte de poils.

Ces critères ont été suivis quotidiennement pendant toute la période de l'expérience ; adaptation, induction de la pathologie et traitement bactérien. Le poids et la consommation alimentaire ont été enregistrés quotidiennement.

2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes (dissection)

Le jour de la dissection, les rats de chaque groupe sont soumis à une anesthésie en utilisant le chloroforme. Après la dissection, les organes internes (foie, reins) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de PBS (tampon phosphate salin) et nettoyés de la matière lipidique, avant d'être pesés et conservés à -80 °C.



Figure 07 : dissection d'un rat et récupération de ses organes.

2.4. Dosage des paramètres sanguins

Des prélèvements sanguins sont réalisés à partir de la ponction cardiaque. Le sang récupéré est immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes.

Des dosages biochimiques sont réalisés sur les sérums obtenus, ces dosages concernent les marqueurs : hépatique (ASAT), rénaux (urée) et lipidiques (triglycérides), ils ont été réalisés en utilisant des kits de diagnostic Sprinreact avec un analyseur automatique (Bechman), dans le laboratoire de Biochimie de CHU-Constantine, Algérie.



Figure 08 : Ponction cardiaque et prélèvements de sang.



Résultats et discussion

1 .Evaluation des signes cliniques

Le tableau 07 représente les signes cliniques des rats durant la période d'induction de stress par l'acétaminophène.

Tableau 07 : Signes cliniques des rats pendant la phase d'induction de stress

Induction par Acetaminophene						
caractères	semaine	BL1	BL2	APAP	ANC	témoin
mouvement	1	+++	+++	+++	+++	+++
	2	++	+++	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++	+++	+++
	4	++	++	++	++	+++
perte fourrure	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	-	+	+/_
	3	+/_	+/_	-	+	+/_
	4	+/_	+/_	+/_	+	+/_
structure	1	+	+	+	+	+
	2	+/_	+	+	+	+/_
	3	-	-	+	+	+
	4	+	+/_	+	+/_	+
amincissement	1	+	+	+/_	+/_	-
	2	+/_	-	+/_	+/_	-
	3	-	-	+/_	+/_	+
	4	-	+	+/_	+/_	-
mortalité	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-

Clé (Stress : +++ : Bon mouvement, ++ : moyen mouvement, + : mouvement faible

Perte de ferrure : + : il n'y a pas perte de ferrure, - : perte de ferrure, ± : moitié des rats représente perte de ferrure.)

Structure de ferrure : + : structure normal, - : ferrure frisé et pas nettoyé, ± : la moitié des rats ont une ferrure frisé

Amincissement du corps : - : pas de perte de poids, + : perte de poids, ± : la moitié des rats représente perte de poids).

D'après le tableau 07 , les rats de groupe SO, NAC et BL2 restent en bonne état de santé dans les trois premiers semaine de la phase d'induction du stress, sauf le groupe BL1, où leur mouvement est perturbé pendant la deuxième semaine, Cependant, dans la dernière semaine, le mouvement des rats de groupe SO, NAC, BL1 et BL2 est diminué par rapport au groupe témoin dont son mouvement n'est pas affecté tout au long de cette phase. Cela indique que le stress oxydant affecte le comportement des rats en diminuant leur mouvement.

En ce qui concerne la perte de ferrure, les rats de groupe BL1 et BL2 ont commencé à montrer des signes de perte de ferrure di la troisième semaine jusqu'à la dernière semaine où il y a une aggravité de perte de ferrure, par contre les rats de groupe témoin et groupe SO commencer à montré la perte de ferrure à partir de la deuxième semaine jusqu'a à la fin de cette phase, cela est du à l'installation de stress après l'ingestion d'acétaminophène pour les groupe SO, BL1 et BL2 pendant 29 jours. Pour le contrôle positif, groupe NAC, les résultats n'ont pas montré aucun signe de perte de ferrure au cours de cette phase.



Figure 09 : Perte de ferrure chez les rats après l'induction de stress

Pour la structure de ferrure, nous avons remarqué que les groupe NAC et SO pourraient garder un bon structure de leur ferrure tout au long de période d'induction de stress, par contre, on remarque que la ferrure des rats de groupe BL1, BL2 est frisé pendant la deuxième et la quatrième semaine. (Figure 09) Cela peut être du à la faiblesse des rats causé par le stress.

Au cours de cette période, nous n'avons enregistré aucune mortalité chez les rats de tous les groupes, malgré l'enregistrement d'une diminution significative du poids à partir de la

première semaine pour tous les groupes par rapport au groupe témoin, cette diminution à été prouvée pour les groupes SO, NAC et BL2 tout au long de la période d'induction du stress. Contrairement au groupe BL1 où une très forte diminution de poids a été enregistrée au cours de la troisième semaine, de même le groupe témoin a enregistré une diminution temporaire avec un rétablissement rapide vers le cas normale durant la dernière semaine d'induction du stress avec la poursuite de cette baisse pour le groupe BL1 pendant cette semaine.

Tableau 08 : Signes cliniques des rats pendant la phase de traitement par les bactéries et le NAC

caractères	semaine	traitement ANC /bactérie lactique BL1,BL2		
		BL1	BL2	ANC
mouvement	1	++	++	++
	2	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++
	4	+++	+++	+++
perte fourrure	1	+/_	+/_	+/_
	2	+/_	+	+
	3	+	+	+
	4	+	+	+
structure	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	4	+	+	+
aminissement	1	+	+	+
	2	+/_	+/_	-
	3	-	+/_	-
	4	-	+/_	-
mortalite	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-

Clé (Stress : +++ : Bon mouvement, ++ : moyen mouvement, + : mouvement faible

Perte de ferrure : + : il n'y a pas perte de ferrure, - : perte de ferrure, ± : moitié des rats représente perte de ferrure.)

Structure de ferrure : + : structure normal, - : ferrure frisé et pas nettoyé, ± : la moitié des rats ont une ferrure frisé

Amincissement du corps : - : pas de perte de poids, + : perte de poids, ± : la moitié des rats représente perte de poids).

Après le traitement par les bactéries et le NAC on a observé une amélioration significative de mouvement des rats à partir de la deuxième semaine pour les groupe BL1, BL2 et le groupe NAC, mais aussi les signes de perte de ferrure qui disparaissent durant la deuxième semaine du traitement pour le groupe BL2 et NAC et la troisième semaine pour le groupe BL1. Dans la dernière semaine, tous les rats ont été récupéré leur ferrure. (Tableau08).Figure 10. Cela indique que les bactéries administrés ont un effet positif sur le comportement des rats *vis-à-vis* le stress oxydant.



Figure 10 : récupération et amélioration de structure de ferrure après le traitement par les bactéries et le NAC.

On remarque une perte de poids significatif pour les rats de groupe NAC, BL1 et BL2 durant la première semaine du traitement, car les rats au premier temps ne s'adaptent pas avec ce traitement, et pendant la deuxième semaine quelque rats stabilisent leur poids mais la perte a continué jusqu'à la dernière semaine pour les autres rats. D'après ce résultat on peut constater que les lactobacilles peuvent agir sur le poids des rats.

Pendant toute la période expérimentale, il n'y a aucune mortalité chez rats enregistré. Ce résultat est comparable à celui qui a été démontré par d'autres travaux de recherches (Arfsten et al., 2004 ; Shokryazdan et al., 2016) par rapport à la mortalité des rats au cours d'injection de NAC et les lactobacilles.

2. Consommation alimentaire des rat

Tableau 09 : Consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage (%)

Consommation alimentaire des rats (%/RAT/semaine)										
	Adaptation		Induction stress oxydant				Traitements			
	1 S	2 S	1 S	2 S	3 S	4 S	1 S	2 S	3 S	4 S
Témoin	93.61	95.41	99.57	99.98	100	100	/	/	/	/
APAP	80.74	83.51	92.01	93.36	99.68	95.86	/	/	/	/
NAC	86.94	90.45	95.71	96.63	98.94	94.05	86.61	97.50	89.57	92.17
BL1	91.12	83.88	95.44	94.18	93.27	93.62	91.70	84.57	73.26	48.77
BL2	74.08	66.47	65.88	69.83	79.67	71.15	66.76	73.39	68.71	59.66

Le tableau 09 représente la consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage pour les différents groupes (témoin, SO, NAC, BL1, BL2). Selon le tableau 09 la consommation des groupes SO et NAC augmente au fur et à mesure à partir du phase d'adaptation jusqu'à la troisième semaine de la phase d'induction du stress, cette augmentation est similaire avec celui du groupe témoin (témoin 100% vs SO 99,68%), pas de changement significatif chez les rats témoins et les rats traités par l'acétaminophène. De plus, pendant la dernière semaine de la phase d'induction du stress la consommation est diminuée, cela peut être dû à l'installation de la maladie.

Par contre chez le groupe BL1, la consommation d'aliment diminue dans les deux premières semaines de la phase d'induction du stress tableau 09, cela indique que les rats sont influencés par le stress oxydant. Cependant, dans les deux dernières semaines la consommation est stable. Cela indique que le stress oxydant peut affecter l'appétit des rats.

Dans la phase du traitement par les bactéries et le NAC, on a observé que la consommation alimentaire chez le groupe NAC est perturbée, elle diminue pendant la première et la troisième semaine et augmente pendant la deuxième et la quatrième semaine pendant cette phase.

Pour le groupe BL1 leur consommation alimentaire est diminuée pendant les quatre semaines de traitement, mais pour le groupe BL2 leur consommation d'aliment augmente pendant la deuxième semaine et revient diminuée durant la troisième et quatrième semaine.

Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par Shokryazdan et ses collaborateurs (Shokryazdan et al., 2016) qui indiquent que le traitement par les lactobacilles

n'affecte pas la consommation alimentaire. Sur la base de résultats obtenus, on peut constater que les lactobacilles peuvent diminuer la consommation alimentaire.

3. Evaluation du poids corporelle

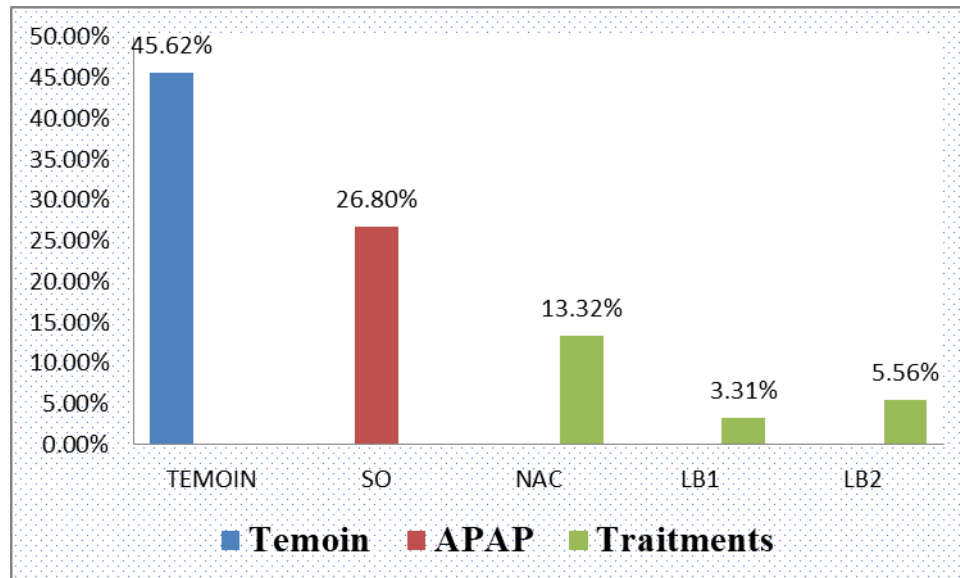


Figure 11 : Pourcentage d'augmentation du poids des rats

La figure 11 représente le pourcentage de croissance des rats de groupe témoin, SO, NAC, BL1 et BL2. Le pourcentage de croissance de groupe SO est diminué par rapport au groupe témoin et cela est dû à la diminution de la consommation alimentaire des rats vers la fin de la phase d'induction du stress, le même constat a été signalé pour les groupes NAC et BL2, il y a une diminution de pourcentage de croissance par rapport au groupe témoin et groupe SO. Cependant on a remarqué une diminution significative de pourcentage de croissance pour le groupe BL1. Cet abaissement du pourcentage d'augmentation du poids est causé par la perturbation dans la consommation d'aliment chez les groupes NAC, BL1 et BL2

4. Index organe

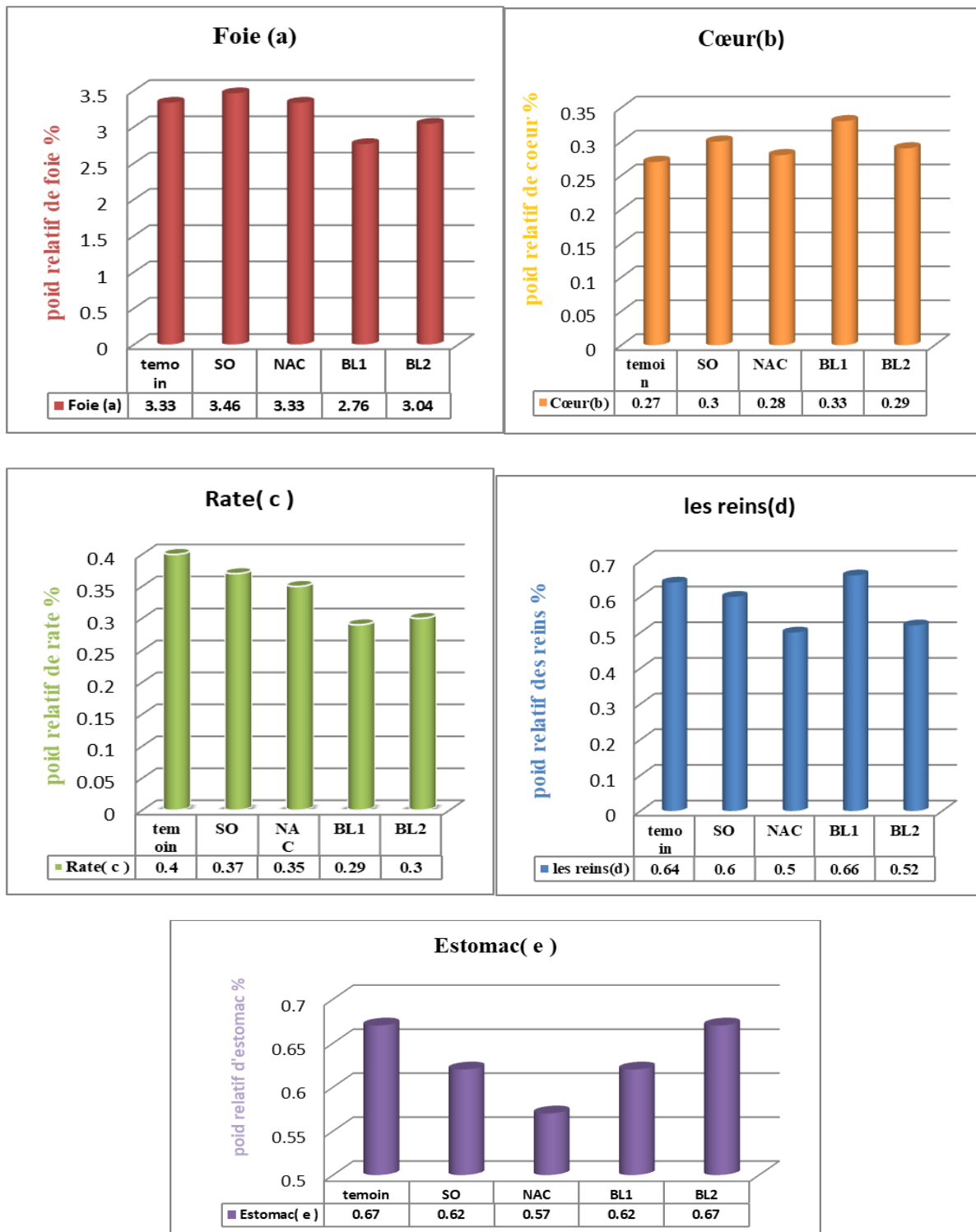


Figure 12: Poids relatif des organes des rats en g

Après le sacrifice des rats, les organes internes; foie, reins, cœur, rate et estomac, ont été récupérés et pesés pour suivre de leur poids par rapport au poids corporel.

Les résultats du poids relatif des organes internes, exprimés en pourcentage (%),

Foie : les résultats ont montré que le poids relatif du foie lors de l'induction du stress oxydatif était 3.46% , (Figures 12a) ce poids est élevé par rapport au groupe témoin et le groupe traité avec le NAC (0,33% pour les deux groupes), cela peut être lié à la consommation alimentaire élevée pendant cette période. A l'opposé de cette augmentation, les groupes traités avec les bactéries ont montré une diminution du poids relatif de cet organe, en particulier le groupe BL1 (2.76) peut être de la perte d'appétit dernier période de traitements.

Cœur : les résultats du poids relatif de cœur montrent un peu d'hypertrophie cardiaque chez SO (0.3%) et BL1(0.33%),(Figures 12b) que dans les groupes normaux, NAC et BL2. Qui était le rapport proche entre eux respectivement (0.27%;0.28%;0.29%). Ceci peut être expliqué par l'exposition du corps à un état de stress courte durée.

Rate : les résultats de l'étude du poids relatif de la rate ont montré que les rats des groupes; contrôle négatif (SO), contrôle positif (NAC) et deux bactéries lactiques BL1 et BL2 ont diminué par rapport au groupe control (témoin)0. 4% (Figures 12c) et surtout BL1(0.29%). Cela indique qu'il existe une possibilité carence l'immunité et dans le renouvellement des cellules sanguines.

Reins : les résultats de l'étude du poids relatif des reins ont montré une diminution du poids relatif des reins chez les groupes traités par bactérie BL2 (0.52%) (Figures 12d) pendant 4 semaine, et le groupe de control positive NAC (0.50%), alors que les autres groupes témoin et groupe de l'induction acétaménophen (SO) et le bactérie BL1 avaient des proportion similaire respectivement (0.64% ; 0.6% ; 0.66)%

Estomac: nos résultats indiquent que le groupes de rat normaux et le groupe alimenté quotidiennement pendant quatre semaine par bactérie BL2 sont même pourcentage (0.67%). Par ailleurs, le poids relatif de l'estomac de les autres groupes (BL1, SO) ont diminué de taux de 0.05%, et aussi après l'application du traitement NAC, nous avons observé une diminution significative 0.57% (Figures 12e) .

5. Evaluation des paramètres biochimiques

Les variations dans les concentrations sériques des paramètres biochimiques (ALAT : paramètre hépatique, Cholestérol : paramètre lipidique, Urée : Paramètre rénal) chez les rats traités et les rats de groupe témoin sont présentées dans le tableau 10

Tableau 10 : taux sérique d'Alat, de cholestérol, d'urée chez les rats de différents groupes

Traitements	ALAT (U/L)	cholestérol (g/L)	urée (g/L)
Témoin	42.22	0.75	0.58
SO(APAP)	53.14	0.76	0.67
NAC	30.05	0.59	0.55
BL1	29.19	0.54	0.61
BL2	25.45	0.56	0.54

(ALAT : alanine aminotransférase)

D'après les résultats trouvés, nous avons remarqué une augmentation significative des concentrations sanguines d'ALAT chez les rats du groupe SO que dans le groupe témoin, lesquels ont été estimés respectivement à (53,14 U/l, 42,22U/l). Ce résultat est similaire à celui qui a obtenu par Venkatesan et ses collègues (Venkatesan et al., 2014), cette augmentation c'est un signal important du stress oxydant qui a été installé après l'introduction d'acétaminophène. Pour les rats traités avec lactobacillus BL3 BL4 et le NAC, il y a eu une diminution importante par rapport aux rats traités avec l'acétaminophène qui ont été estimés respectivement (28,36U/l, 27,52U/l). Cette diminution montre un effet hépatoprotecteur des lactobacillus et le NAC contre le stress oxydant *via* la capacité de maintenir le taux d'ALAT au niveau physiologique.

Nos résultats indiquent la présence d'une augmentation du taux de cholestérol chez les rats traités avec l'acétaminophène (0.76 g/l) par rapport aux rats témoins (0,75 g/l), cette augmentation est due au stress oxydant induit avec l'administration quotidienne d'acétaminophène. Après le traitement avec le NAC, BL3 et BL4, on a remarqué une diminution du taux de cholestérol par rapport au groupe SO, (NAC : 0,59, BL3 : 0,58), Cependant on a signalé une diminution très importante du taux de cholestérol chez les rats traités par les bactéries BL4 (0,66g/l). A partir de cette évaluation, on a constaté que la bactérie BL4 a un effet antioxydant plus important que BL3 et le NAC.

Les résultats obtenus représentés dans le tableau 10 montrent une augmentation significative de la teneur en urée sanguine chez les rats du groupe SO (0,67 g/l) par rapport aux rats du groupe témoin (0,58 g/l). Pour les rats traités avec les lactobacillus et le NAC on a observé une diminution significative par rapport à celui des rats traités avec l'acétaminophène qui ont été estimés respectivement à (0.57g/l ,0.54g/l ,0.55g/l).L'augmentation du taux d'urée dans le sang est un marqueur de stress oxydant, cependant, la diminution de son taux après le traitement avec les bactéries BL3, BL4 et le NAC indique que ces lactobacilles et le NAC ont un effet bénéfique antioxydant.

L'objectif de l'étude développée dans le présent travail est la détermination de l'effet antioxydant des souches bactériennes du genre *lactobacillus, sp* (BL1, BL2) contre la toxicité induite par l'Acétaminophène (APAP). L'étude est mise en œuvre par un test *in vivo* sur des rats Albinos Wistar.

Dans une première étape, nous avons procédé à l'installation d'un stress oxydatif chez les rats *in vivo* par l'application d'une dose de 500mg/kg de l'acétaminophène pendant quatre semaines, suivie par l'application du traitement avec les deux souches bactériennes (BL1, BL2), pendant quatre semaines.

Les résultats des signes cliniques sur les rats après traitement avec BL1 et BL2 montrent une amélioration de mouvement, structure de fourrure et roucoule des poils. Ce qui indique l'effet bénéfique de ces souches sur la santé des rats. De plus, les bactéries montrent un effet sur le poids des rats en empêchant l'obésité liée à la consommation alimentaire excessive.

Les résultats montrent une amélioration considérable de l'activité de l'enzyme hépatique ALAT pour les bactéries BL1 et BL2, et une diminution du taux de cholestérol associé avec une amélioration de l'activité rénale surtout pour les rats traités avec les bactéries. Les résultats obtenus montrent que ces souches peuvent présenter de bons candidats pour une utilisation en tant que Probiotiques.

L'étude de la toxicité réalisée *in vivo* dans les conditions expérimentales, en termes de quantités administrées et de durée du test, utilisés dans ce travail montre que les deux souches utilisées ont un effet bénéfique. Au vu des effets obtenus chez l'animal, les perspectives sont donc très prometteuses. Cette étude pourrait être complétée par des études cliniques afin de développer des approches appropriées dans le but d'une éventuelle application chez l'homme.



Références bibliographiques.

A

A.F.M.O.(2010).(Association Française de Médecine Orthomoléculaire),l'écosystème intestinal de la naissance a l'âge adulte, évolution, équilibre et perturbation, 31,France.

Aires, J.,Doucet-Populaire, F et ButelM,J.(2007). Tetracycline resistance mediated by tet(W), tet(M), and tet(O) genes of Bifidobacterium isolates from humans. *Appl Environ Microbiol*,73, 2751—4.

Akbar, A., Sadiq, M. B., Ali, I., Anwar, M., Muhammad, N., Muhammad, J., Shafee, M., Ullah, S., Gul, Z., Qasim, S., Ahmad, S et Anal, A. (2019). Lactococcuslactis subsp. lactis isolated from fermented milk products and its antimicrobial potential.CyTA-Journal of Food, 17(1), 214-220.

Allen, SJ., Martinez, EG., Gregorio, GV et DansL,F.(2010).Probiotics for treating acute infectious diarrhoea.*CochraneDatabaseSystRev* ;CD480030.

Ayala A, Munoz MF & Arguelles S (2014) Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2014:1-30.

B

Banday,A et Lokhandwala ,M.(2011). "Oxidative Stress Causes Renal Angiotensin II Type 1 Receptor Upregulation, Na⁺/H⁺ Exchanger 3 Overstimulation, and Hypertension." *Hypertension*, 57(3): 452-459.

Bartosz, G., Kędziora-Kornatowska, K., Szram, S., Kornatowski, T.,Szadujkis-Szadurski, L et Kędziora .(2003). Effect of Vitamin E and Vitamin C Supplementation on Antioxidative State and Renal Glomerular Basement Membrane Thickness in Diabetic Kidney.*Journal of NephronexperimentalNephrology* , 95,134–143 .

Bernier, L.(2010).Les probiotiques en 2010 . *Thèse Pharm* : Université d'Angers. 2010 ; 166.

Benhamou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse Université Aboubakr Belkaïd ,Tlemcen , Algérie.

Bouchefra ,A.(2012). Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage.[Thèse]. Biotechnologie Alimentaire. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro- Alimentaires (INATAA).135.

Bron,P.A et vanBaarlen,P .(2011). "Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa." *Nat RevMicrobiol* 10(1), 66-78.

C

Czerucka, D et Piche,T .(2007). "Review article: yeast as probiotics *Saccharomyces boulardii*." *Aliment PharmacolTher* ,26(6),767-78.

D

Dacosta ,Y.(2003) .Les phytonutriments bioactifs, Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317

Dalle-Donne., Isabella., Ranieri Rossi., Roberto Colombo., Daniela Giustarini et Aldo Milzani. (2006). « Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease ». *Clinical Chemistry*, 52 (4),601--23. disponible à :10.1373/clinchem.2005.061408. [Consulter le 17/04/2022].

Danielsen., PernilleHøgh.,Steffen Loft., AnetteKocbach, Per E.,Schwarze et Peter Møller. (2009). « Oxidative Damage to DNA and Repair Induced by Norwegian Wood Smoke Particles in Human A549 and THP-1 Cell Lines ». *Mutation Research* ,674 (1-2),116-22. disponible à :10.1016/j.mrgentox.2008.10.014.[Consulter le17/04/2022].

Darryl P. , Arfsten, Eric W. Johnson, Angie R. Thitoff, Anne E. Jung Erin R. Wilfong, Scott M. Lohrke, Tim A. Bausman, Jeffrey S. Eggers et Andrew J. Bobb1.(2004).Impact du dosage oral de 30 jours avec la N-acétyl-L-cystéine sur la physiologie du rat Sprague-Dawley. ,2-3.

Delattre, J., Beaudeau, J., Bonnefont,L et Rousselot D.(2005). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier : 45-80.

Delattre, J., Beaudoux, J et Bonnefont-Rousselot, D. (2007). Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques.

Deutsch ,JC .(2000). "Dehydroascorbic acid." *Journal of Chromatography* , 881(1-2),299-307.

Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G. C., Shanahan, F et Collins, J. K. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin : Correlation with in vivo findings. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 386-392.disponible a: <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.386s>. [consulter le:29/03 /2022].

E

EFSAJ.(2008). Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from EFSA on the maintenance of the QPS list of microorganisms intentionally added to food or feed.*EFSA*,923, 1—48.

F

Fao/Who.(2001).Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. 1-4.

Favier,A.(2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'act. chim* ,108-115.

Favier ,A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualitéchimique* ,108-117.

Favier A .(2006). -Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64, 390-396.

Forsythe, P. et Bienenstock, J.(2010)."Immunomodulation by commensal and probiotic bacteria."*Immunol Invest* ,39(4-5), 429-48.

Frei, B., Stocker, R et Ames, BN .(1988). « Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma», *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(25),9748-52.

G

Ghadimi, D. *et al.*(2008) ‘Effects of probiotic bacteria and their genomic DNA on TH1/TH2-cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy and allergic subjects’,*Immunobiology*, 213(8), pp. 677–692. doi:10.1016/j.imbio.2008.02.001.

Groussard, C.,Machefer, G., Rannou, F., Faure, H., Cillard, J et Gratas-Delamarche ,A.(2003). Effet d’un exercice de sprint de 30 s sur le statut antioxydant plasmatique Effect of a 30s sprint exercise on plasma nonenzymatic antioxidant status. *Science & Sports* ,18 ,108–110.

H

Haleng , J. (2007). « Les stressoxidant ». *Rev Med Liege*, 62, 628-638.

Halliwell, B., et Gutteridge,J.M.C. (2008). *Free Radicals in Biology and Medicine*.Fourth Edition.Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlete : revue bibliographique, 44-61.

Heber, U., Miyake, J., Mano, C., Ohno et Asada,K.(1996). "Monodehydroascorbate Radical Detected by Electron Paramagnetic Resonance Spectrometry Is a Sensitive Probe of Oxidative Stress in Intact Leaves." *Plant Cell and Physiology* ,37(8),1066-1072.

Hill,C. (2014).‘The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic’. *Nature Reviews Gastroenterology&Hepatology*,11(8),506–514.disponible à:10.1038/nrgastro.2014.66 .[consulter le 25/03/2022].

Huang ,JS.(2002). Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2002,47, 2625—34.

I

Ibrahim. (2013). « Antioxydant activity and phenolic content of Steblusasper », *Antioxydant (Basel)*, 2(3), 2156_66.

Isolauri, E., Juntunen, M., Rautanen, T., Sillanaukee, P et Koivula, T.(1991). « A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus caseisp* strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children ». *Pediatrics*, 88(1), 90-97.

J

Jaiturong, Pl. (2020). 'Potential of *Musa sapientum* Linn. for digestive function promotion by supporting *Lactobacillus* sp.', *Heliyon*, 6(10), 47-52. disponible à : [10.1016/j.heliyon.2020.e05247](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05247). [consulter le 30/03/2022].

K

Kalyanaraman B (2013) Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol* 1:244-257.

Kechaou, N. (2012). Identification de nouvelles souches probiotiques à propriétés immuno-modulatrices et anti-oxydantes. these doctorant, L'Université Paris Sud .france.

Kesen, M et Aiyegoro, O. A. (2018). Beneficial Characteristics and Evaluation Criteria of Probiotics. *International Journal of Food and Bioscience*, 1(1), 25-33.

Khan, S . (2010). Diagnosis and management of IBS *Nat. Gastroenterol. Hepato.* disponible à : [10.1038/nrgastro.2010.137](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.137). [consulter le 06/04/2022].

Klein. (2010). Probiotics: From Bench to Market - *Annals of the New York Academy of Science* Wiley Online Library. Disponible à : <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1749-6632.2010.05839.x> . [consulter le : 01/04/ 2022].

Kohen, R et NYSKA ,A.(2002). -Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path*, 30, 620-650.

L

Lemetais, G. (2012). Sélection et intégration d'une souche probiotique fonctionnelle dans une matrice sèche. phdthesis. Université de Bourgogne. disponible a :: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00993268> .[consulter le : 01/04/2022]

Leopoldini, M., Russo, N et Toscano, M.(2011). "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry* ,125(2),288-306

Liong,MT.(2008). Safety of probiotics: translocation and infection, 66, 192 202.

Luquet ,FM et Corrieu, G.(2005).Probiotiques et alicament. In: Bactéries lactiques et probiotiques. Paris: Tec & Doc Lavoiser.

Luquet, F.,Pubert, C.,Rabiller,J .,Taillez, J et Yvain A-L.(2013). Les probiotiques en pratique à l'officine. *Elsevier Masson SAS.Actualités pharmaceutiques* ,528 .

M

Marteau, P et SHANAHAN, F.(2003). « Basic aspects and pharmacology of probiotics : an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects ». *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*,17(5),725-740.

Magder ,S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Crit Care*, 10, 208-216.

McFarland, L. V. (2010). "Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients." *World J Gastroenterol* ,16(18),2202-22.

Migdal, C et Serres, M. (2011)."[Reactive oxygen species and oxidative stress]." *Med Sci (Paris)* ,27(4),405-412.

Mikelsaar ,M et Zilmer ,M. (2009).Lactobacillus fermentum ME-3—an antimicrobial and antioxidative probiotic. *MicrobEcol Health Dis*, 21(1),1–27.

Monteil ,C., Mulder, P et Thuillez,C. (2004).Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une ciblethérapeutique utopique ? *Inserm U644*, 2(2), 79.

P

Pachaiyappan.,Sampath.,Venkatesan,un.,Munuswamy.,Deecaraman,un.,Melanathuru., Vijayalakshmi, a .,Masilamani et Sakthivelanb . (2014).Études de toxicité subaiguë de l'acétaminophène chez les rats SpragueDawleyBiol. Pharm. Taureau, 37(7) ,1184–1190.

Panel on biological hazards EFSA (BIOHAZ).(2012). Scientific opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and EFSA ,10, 30—84.

Pham-Huy LA, He H & Pham-Huy C (2008) Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. Int J Biomed Sci 4(2):89-96.

Piquepaille,C.(2013). Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales [Thèse].Pharmacie .Limoge.183p.

Pourrut,B.(2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, Vicia faba.Thèse de Doctorat . Institut National Polytechnique Toulouse.

Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ & Valko M (2017) Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. Trends Pharmacol Sci 38(7):592-607.

Preidis,G et Versalovic,J.(2009). "Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era." *Gastroenterology* ,136(6),20-31.

Q

Quigley ,E .(2007). Probiotics and irritable bowel syndrome: a rationale for their use and an assessment of the evidence to date. *NeurogastroenterolMotil* ,19,166-72.

R

Robin,JM et Rouchy,A.(2001).Centre d'étude de développement et de la nutrihérapie des probiotique, 1.

Rowland ,I.(2004). Probiotics and colorectal cancer risk. *Br J Nutr*,91(6),805-807.

Russo-Marie, F. (1998). « L'inflammation»,*JohnLibbey Eurotext*, 580.

S

Sarr.(2015).« Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex doniana (Verbenacea)»,*Int J BiolChemSci*, 9,1263-1269.

Schneider, S.M. (2008).‘Probiotiques’, *Médecine des Maladies Métaboliques*, 2(4), 363–367. disponible à :10.1016/S1957-2557(08)74034-3.[consulter le :03/04/2022].

Schroeter, H., Boyd, J. P. E., Spencer, R., Williams, E., Cadenas et Rice-Evans, C. (2002). "MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide." *Neurobiology of Aging* ,23(5), 861-880.

Shokryazdan P, Faseleh Jahromi M, Liang JB, Kalavathy R, Sieo CC, Ho YW (2016) Safety Assessment of Two New Lactobacillus Strains as Probiotic for Human Using a Rat Model. PLoS ONE 11(7): e0159851. doi:10.1371/journal.pone.0159851.

Snydman,D.(2008). The safety of probiotics.*Clin Infect Dis*;46(Suppl. 2):S104—11.

Spyropoulos, B. G., Misiakos, E. P., Fotiadis, C et Stoidis, C. N. (2011).Antioxidant properties of probiotics and their protective effects in the pathogenesis of radiation-induced enteritis and colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(2), 285-294.

Sohal,S., Mockett ,R et Orr W. C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med.* 33,575-586.

Sun, Y.,Jie, C, et Basil ,R.(2009). « Chemopreventive Agents Induce Oxidative Stress in Cancer Cells Leading to COX-2 Overexpression and COX-2-Independent Cell Death ». *Carcinogenesis* ,30 (1),93- 100. disponible à :10.1093/carcin/bgn242.[consulter le01/05/2022].

Syromyatnikov, M. (2022) ‘Probiotics analysis by high-throughput sequencing revealed multiple mismatches at bacteria genus level with the declared and actual composition’.*LWT*, 156, 113055. Disponible à: 10.1016/j.lwt.2021.113055.[consulter le 26/03/2022].

T

Turrens JF (2003) Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology* 552(Partie 2):335-344.

U

Uzma, F., Fatema, A et Magda, M. (2017). «Protective role of tocopherol and ascorbic acid in taxol-treated human erythrocytes in vitro», *Toxicology Research and Application*, 1- 7.

V

Valko, M. (2007). « Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease », *In Biochem Cell Biol*, 39, 44-84.

Van Reenen, C., Dicks, L. (2011). Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities?. *Arch Microbiol*, 193, 157—68.

Vincent, M., Russell, J., Low, P et Feldman, E. (2004). "Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy." *Endocrine reviews*, 25(4), 612-628.

W

Wojtala A, Bonora M, Malinska D, Pinton P, Duszynski J & Wieckowski MR (2014) Methods to monitor ROS production by fluorescence microscopy and fluorometry. *Methods in enzymology* 542:243-262.

Wu, X et Vallance, B. (2008). "Saccharomyces boulardii ameliorates Citrobacter rodentium induced colitis through actions on bacterial virulence factors." *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 294(1), 295-306.

X

Xu, X., Shao, S., Zhang, W et Lü, J. (2009). The effect of feeding meat rabbit with potato waste with three fungus fermented feed. *J. Sci. Teachers, Coll. Univ.*, 3.



Résumé

Résumé

Le stress oxydatif est l'ensemble des agressions, causées par des molécules dérivant d'oxygène, qui cible les cellules de notre corps par la surexposition au soleil, le tabac, la pollution, et même certains médicaments. Le traitement du stress oxydatif se fait par des molécules chimiques (médicament), ou biologiques à savoir les probiotiques.

Ce travail de recherche a été consacré à l'étude *in vivo* sur un modèle animal (rat) de deux souches de bactéries lactiques BL1 et BL2 isolées préalablement. Les souches ont été utilisées pour tester leur activité antioxydante *vis-à-vis* un stress oxydatif induit par l'acétamenophen (APAP). Les résultats ont montré que les deux souches bactériennes ont été bien tolérées et aucun effet indésirable grave n'a été observé sur la croissance, la consommation des aliments, le métabolisme général et les organes vitaux des animaux traités. Les souches de notre étude ont également été capables de réduire les effets nocifs qui peuvent affecter le métabolisme en diminuant le taux du cholestérol, l'activité de l'ALAT et l'urée.

Sur la base des résultats obtenus, on peut constater que les souches bactériennes étudiées sont sûres et pourraient être proposées comme des probiotiques potentiels pour la santé de l'homme.

Mots clés : Probiotiques, Bactéries lactiques, Activité antioxydante, *in vivo*, signes clinique.

Abstract

Oxidative stress is the set of aggressions, caused by molecules deriving from oxygen, which targets the cells of our body by overexposure to the sun, tobacco, pollution, and even certain drugs. The treatment of oxidative stress is done by chemical molecules (medication), or biological molecules, namely probiotics.

This research work was devoted to the *in vivo* study on an animal model (rat) of two strains of lactic acid bacteria BL1 and BL2 previously isolated. The strains were used to test their antioxidant activity against oxidative stress induced by acetamenophen (APAP). The results showed that the two bacterial strains were well tolerated and no serious adverse effects were observed on the growth, food consumption, general metabolism and vital organs of the treated animals. The strains in our study were also able to reduce harmful effects that can affect metabolism by lowering cholesterol levels, ALAT activity and urea.

Based on the results obtained, it can be seen that the studied bacterial strains are safe and could be proposed as potential probiotics for human health.

Keywords: Probiotics, Lactic acid bacteria, Antioxidant activity, *in vivo*, Acetamenophen.

الملخص

الإجهاد التأكسدي هو مجموعة من الاعتداءات التي تسببها الجزيئات المشتقة من الأكسجين ، والتي تستهدف خلايا الجسم عن طريق التعرض المفرط للشمس والتلوث وحتى بعض الأدوية. يتم علاج الإجهاد التأكسدي عن طريق الجزيئات الكيميائية (الأدوية) ، أو الجزيئات البيولوجية ، وهي البروبيوتيك.

تم تخصيص هذا العمل البحثي للدراسة في الجسم الحي على نموذج حيواني (جرذ) من سلالتين من بكتيريا حمض اللاكتيك BL1 و BL2 المعزولة سابقاً. تم استخدام السلالات لاختبار نشاطها المضاد للأكسدة ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن الأسيتامينوفين (APAP). أظهرت النتائج أن السلالتين البكتيرية تحملان بشكل جيد ولم يلاحظ أي آثار سلبية خطيرة على النمو واستهلاك الغذاء والتمثيل الغذائي العام والأعضاء الحيوية للحيوانات المعالجة. كانت السلالات في دراستنا أيضاً قادرة على تقليل الآثار الضارة التي يمكن أن تؤثر على التمثيل الغذائي عن طريق خفض مستويات الكوليسترول في الدم ونشاط ALAT واليوريا.

بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها ، يمكن ملاحظة أن السلالات البكتيرية المدروسة آمنة ويمكن اقتراحها على أنها بروبيوتيك محتملة لصحة الإنسان.

الكلمات المفتاحية: البروبيوتيك ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، النشاط المضاد للأكسدة ، في الجسم الحي ، الأسيتامينوفين.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par :BELKHAIRI Chaima

AYACHE Nour El Houda

**Etude de l'effet des bactéries lactiques sur le stress oxydant induit chez le rat
« Approche clinique et métabolique »**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie

Le stress oxydatif est l'ensemble des agressions, causées par des molécules dérivant d'oxygène, qui cible les cellules de notre corps par la surexposition au soleil, le tabac, la pollution, et même certains médicaments. Le traitement du stress oxydatif se fait par des molécules chimiques (médicament), ou biologiques à savoir les probiotiques.

Ce travail de recherche a été consacré à l'étude *in vivo* sur un modèle animal (rat) de deux souches de bactéries lactiques BL1 et BL2 isolées préalablement. Les souches ont été utilisées pour tester leur activité antioxydante *vis-à-vis* un stress oxydatif induit par l'acétamenophen (APAP). Les résultats ont montré que les deux souches bactériennes ont été bien tolérées et aucun effet indésirable grave n'a été observé sur la croissance, la consommation des aliments, le métabolisme général et les organes vitaux des animaux traités. Les souches de notre étude ont également été capables de réduire les effets nocifs qui peuvent affecter le métabolisme en diminuant le taux du cholestérol, l'activité de l'ALAT et l'urée.

Sur la base des résultats obtenus, on peut constater que les souches bactériennes étudiées sont sûres et pourraient être proposées comme des probiotiques potentiels pour la santé de l'homme.

Mots clés : Probiotiques, Bactéries lactiques, Activité antioxydant, *in vivo*, signes clinique.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biochimie Appliqué (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr. MOSBAH A. (MCA_UFM Constantine 1).

Examineur 1 : Dr. KARA ALI M. (MCA_UFM Constantine 1).

Examineur 2 : Dr. BENHAMDI A. (MCA_UFM Constantine 1).