

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة 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 Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Etude de l'effet des bactéries lactiques sur le stress oxydant  
induit chez le rat**

---

Présenté par : BELKHIR Hassiba  
TEBBANI Ikram

Le 27/06/2022

Jury d'évaluation :

**Encadreur :** MOSBAH Asma (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 1 :** MAAMERI Zineb (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 2 :** MADI Aicha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire  
2021 – 2022

## *Remerciement*

*Je remercie en premier lieu Allah le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette mémoire, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.*

*Nous remercions les plus sincères s'adressent à notre encadreur **MADAME MOSBAH.A** qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer notre travail*

*On tient tout particulièrement à remercier, Monsieur le doctorant **MAHROUK ABD EL KADER** 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 nous guider.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements au A Monsieur **BAHRI EL AID** maitre assistant à UFC. Nous ne saurions jamais oublier son aide et ses conseils pour nous tout au long de l'expérience et les efforts qu'il a fait pour nous.*

*Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel du laboratoire de Biochimie appliquée 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.*

*Nos remerciements vont également à tous nos enseignants de **la faculté de sciences de la nature et la vie** Notamment toute l'équipe du département **Biochimie et Biologie Cellulaire Et Moléculaire**.*

*A toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. On vous présente respect et gratitude.*

# *Dédicace*

*Avant de dédier ce travail on tient d'abord à remercier ALLAH le tout puissant qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail*

## ***A ma chère mère Djamilia***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement 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, tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.*

## ***A mon cher père Mouloud***

*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.*

## ***A mon cher mari Adel***

*Celui qui m'a soutenu tout au long de mes études, et m'a encouragé à poursuivre mon chemin jusqu'au bout. Je le remercie infiniment pour sa gentillesse et lui dédie cette réussite.*

*A mon cher frère Mehdi Amine et mes chères sœurs : nousseiba, Nour Elyakine, Fatima Alzahra, soujoud Lirahmane Merci pour votre soutien et vos encouragements à mon égard.*

*A toutes mes amies de ma promotion, je cite à part ma chère collègue **HASSIBA** qui partagé avec moi tous les moments de ce travail. Merci je t'aime chérie.*

## ***A toute ma famille***

***A tous ceux que j'ai connus durant mon cycle d'étude***



♥ *Je vous aime* ♥

***Ikram Tebbani***

## *Dédicace*

*Je remercie, en premier lieu, ALLAH pour m'avoir donnée la force et la résolution pour réaliser ce travail*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents*

*A celui qui m'a donné le goût du vié et le sens de la responsabilité .....merci mère*

*A celui qui a été toujours la source de courage .....merci père*

*A mes sœurs et mes frère : Avec tous mes vœux de réussite et de bonheur*

*A toute la famille*

*Mes chers amis : ikram, Nour alhouda, aya, hiyam*

*A tout le groupe de ma promotion*

*A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens*

*A tous ceux que j'ai connus durant mon cycle d'étude*



♥ *Je vous aime* ♥

*Hassiba Belkhir*

## Liste d'abréviation :

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**MICI** : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

**DAA** : Diarrhée associée aux antibiotiques.

**HDL** : Lipoprotéine de haute densité.

**LDL** : Lipoprotéine de faible densité.

**IgE** : Immunoglobulines E.

**BAL** : Bactérie de l'acide lactique.

**SCORAD**: Scoring atopic dermatitis.

**LB**: Lactobacillus.

**MDA**: Malondialdéhyde.

**DAO**: Dérivés actifs oxygénés.

**TD** : Tractus digestif.

**IgA** : Immunoglobulines A.

**IgG** : Immunoglobulines G.

**PAMPS**: Pathogen-associated molecular pattern.

**PRRS**: Pattern- recognition receptor.

**CD4**: Cluster de différentiation 4.

**CD8**: Cluster de différentiation 8.

**EOA** : Espèces oxygénées activées.

**ADP** : Adénosine diphosphate.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**NO** : Monoxyde d'azote.

**SOD** : Superoxyde dismutase

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**SLA** : Sclérose latérale.

**IDM** : Infarctus du myocarde.

**GSH** : Glutathion réduit.

**GSSG** : Glutathion oxydé.

**MRS** : Man regosa shape.

**SO**: Stress oxidant.

**NAC** : N-acétyl -L-cystéine.

**BL** : Bactérie lactique.

**PBS** : Tompon phosphaté salin.

**ALAT** : Alanine aminotransférase.

### Liste des Figures:

<b>Figure 01</b>	Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine.	9
<b>Figure 02</b>	Balance entre le stress oxydant et les systèmes de défenses antioxydants.	19
<b>Figure 03</b>	Source endogène et exogène de stress oxydant.	20
<b>Figure 04</b>	Etapes de réduction de l'oxygène moléculaire et les EOA générés.	24
<b>Figure 05</b>	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire de la matière génétique de la cellule.	28
<b>Figure 06</b>	Euthanasie des rats par chloroforme sous cloche et prélèvement du sang par ponction cardiaque.	40
<b>Figure 07</b>	Extraction et rinçage des organes par PBS.	40
<b>Figure 08</b>	Perte de ferrure chez les rats après l'induction du stress	43
<b>Figure 09</b>	Récupération et amélioration de structure de ferrure après le traitement par les bactéries et le NAC.	45
<b>Figure 10</b>	Pourcentage d'augmentation du poids des rats.	47
<b>Figure 11</b>	Poids relatif des organes des rats.	48

### Liste des Tableaux :

<b>Tableau 01</b>	Principaux microorganismes utilisés comme probiotique chez l'homme.	<b>6</b>
<b>Tableau 02</b>	Principales EOA radicalaires et non radicalaires.	<b>23</b>
<b>Tableau 03</b>	Répartition des rats en fonction de leur traitement	<b>38</b>
<b>Tableau 04</b>	Signes cliniques des rats pendant la phase d'induction de stress	<b>42</b>
<b>Tableau 05</b>	Signes cliniques des rats pendant la phase de traitement par les bactéries et le NAC.	<b>44</b>
<b>Tableau 06</b>	Consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage.	<b>46</b>
<b>Tableau 07</b>	<b>Taux</b> sérique d'ALAT, de cholestérol, d'urée chez les rats de différents groupes.	<b>49</b>

## Liste des matières

Liste des abréviations .....	I
Liste des figures .....	III
Liste des tableaux.....	III
Liste des matières.....	IV
Introduction.....	1
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>1. Définition de macrobiote intestinal.....</b>	4
<b>2. Probiotiques .....</b>	4
2.1. Historique et définition.....	4
2.2. Relation Probiotique prébiotique symbiotique et métabiotique.....	5
2.2.1. Probiotique et prébiotique .....	5
2.2.2. Symbiotique et probiotique.....	5
2.2.3. Probiotique et métabiotique.....	6
2.3. Classification des probiotiques .....	6
2.4. Comment sélectionner une souche probiotique ?.....	7
2.4.1. Critères de sécurité.....	7
2.4.2. Critères fonctionnels .....	8
2.4.3. Critères technologiques .....	9
2.5. Effets bénéfiques des probiotiques .....	9
2.5.1. Effets sur les fonctions intestinales .....	10
2.5.2. Réduction du risque de diarrhées .....	10
2.5.3. Réduction du taux de cholestérol sanguin .....	10
2.5.4. Diminution des allergies alimentaires .....	11
2.5.5. Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin.....	11
2.5.6. Prévention du cancer du colon .....	12
2.5.7. Effet des probiotiques sur le stress oxydatif.....	12
2.6. Mécanisme d'action .....	14
2.7. Réglementation : médicament et aliment .....	15



2.7.1. Utilisation des probiotiques dans le domaine alimentaire.....	16
2.7.2. Utilisation des probiotiques dans le domaine médical.....	16
2.8. Effets indésirables de probiotiques.....	17
<b>3. Stress oxydant</b> .....	18
3.1. Définition .....	18
3.2. Espèces oxygénées activées.....	19
3.2.1. Origine des radicaux libres .....	19
3.2.2. Différents types de radicaux libres.....	23
3.2.2.1. Espèces oxygénées activées radicalaires.....	24
3.2.2.2. Espèces oxygénées activées non radicalaires.....	25
3.3. Les radicaux libres sont ils indispensable à la vie ?.....	26
3.4. Principales cibles biologiques des EOA.....	26
3.4.1. Peroxydation lipidique.....	26
3.4.2. Oxydation des protéines.....	27
3.4.3. Acide désoxyribonucléique.....	27
3.5. Stress oxydant et pathologies.....	28
3.5.1. Stress oxydant et le phénomène de vieillissement.....	28
3.5.2. Maladies neurodégénératives.....	29
3.5.3. Maladies d'Alzheimer.....	29
3.5.4. Sclérose latérale latéral amyotrophique.....	29
3.5.5. Phénomène de cancérisation.....	30
3.5.6. Maladies cardiovasculaires.....	30
3.6. Marqueurs biologiques du stress oxydant.....	31
3.6.1. Malondialdéhyde .....	31
3.6.2. Glutathion réduit.....	31
3.7. Moyens de défense anti radicalaire.....	31
3.7.1. Systèmes antioxydants endogènes.....	32
3.7.1.1. Superoxyde dismutase .....	32
3.7.1.2. Catalase.....	32

3.7.1.3. Glutathion peroxydase.....	32
3.7.2. Systèmes antioxydants exogènes .....	33
3.7.2.1. Glutathion .....	33
3.7.2.2. Acide ascorbique.....	33
3.7.2.3. Vitamine E.....	33
3.7.2.4. Caroténoïdes.....	34
<b>Partie II: Etude expérimentale</b>	
<b>Matériel et méthode</b>	
<b>1. Matériel.....</b>	<b>37</b>
1.1. Souches bactériennes.....	37
1.2. Animaux.....	37
<b>2. Méthode.....</b>	<b>37</b>
2.1. Groupes expérimentaux.....	37
2.2. Induction de stress oxydant par acétaminophène.....	38
2.3. Traitement avec les bactéries lactiques et le N-acétyl-L-cystéine.....	38
2.4. Evaluation clinique.....	39
2.5. Sacrifice des animaux et le prélèvement des organes.....	39
2.6. Analyses biochimiques.....	40
<b>Résultat et discussion</b>	
1. Evaluation des signes cliniques .....	42
2. Evaluation de la consommation alimentaire.....	45
3. Evaluation de poids corporelle.....	47
4. Evaluation de l'index organe.....	47
5. Evaluation des paramètres biochimiques.....	49
<b>Conclusion et perspective .....</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
<b>Résumé</b>	

# *Introduction*

## Introduction

L'oxygène une molécule indispensable à la vie des êtres vivants, mais si la concentration de l'oxygène dépasse le seuil physiologique, cette molécule peut provoquer un stress oxydatif *via* la production d'espèces oxygénée activées. Il s'agit notamment des radicaux libres comme l'anion superoxyde ou le radical hydroxyle, aussi bien, d'autres éléments d'oxygène non libres peuvent être produits telles que l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ou l'oxygène singulet (O<sub>2</sub>). En raison de leur nature instable ou oxydante les espèces oxygénées activées interagiront avec divers substrats biologiques dans l'environnement où elles sont produites (Haleng et al., 2007; Pincemail, 2001).

Ces espèces oxygénées réactives peuvent causer des effets délétère sur les protéines, les glucides, les acides nucléiques, et les lipides membranaires conduisant à une altération profonde du métabolisme cellulaire et par la suite à la mort cellulaire (Bennamara, 2017).

Le stress oxydatif sera à l'origine de nombreuses maladies : Cancer, sclérose latérale amyotrophique, et vieillissement accéléré. Il est également l'un des facteurs qui potentialise l'apparition de maladies multifactorielles comme le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Bennamara, 2017).

La mise en œuvre de traitements chimiques pour lutter contre toutes ces pathologies peut entraîner des effets nocifs pour la santé humaine. Plusieurs recherches sont réalisées pour découvrir de nouvelles molécules d'origine naturelle à éliminer ou à réduire les effets néfastes de ce traitement, parmi les traitements proposer l'usage de bactéries lactiques à caractères probiotiques appartenant au genre *Lactobacillus* sp, ces micro-organismes ont la capacité de renforcer la flore intestinale dont la présence aide à lutter contre la multiplication des bactéries pathogènes (Ezzariga, 2015).

L'objectif du présent travail de recherche est de démontrer que les bactéries lactiques ont un effet probiotique sur le stress oxydatif induit avec l'acétaminophène sur un modèle animal (rat).

À cette fin, notre travail se divise en deux parties :

la première partie porte sur une synthèse bibliographique divisée en deux chapitres comme suite : le premier chapitre, traite des généralités concernant les probiotiques, le deuxième chapitre a pour but de connaître les différentes espèces réactives d'oxygène,

l'origine de leur fabrication, et leur effets physiopathologiques sur les substrats biologiques, Définir les divers bio marqueurs nécessaires à l'évaluation du stress oxydatif et finalement déterminer l'effet des espèces réactives de l'oxygène sur la pathologie humaine et le rôle des antioxydants en prévention et en thérapie.

La deuxième partie comprend deux chapitres : le premier chapitre matériaux et méthodes dont nous présentons le matériel et les diverses méthodes employées dans notre travail. Le deuxième chapitre présente les principaux résultats de notre travail avec une explication simplifiée. Enfin, une conclusion générale récapitulera les principaux axes de cette étude.

Partie I :

*Synthèse*

*bibliographique*

## 1. Définition de microbiote intestinal

Le microbiote que l'on appelle flore, désigne les communautés de microorganismes qui vivent et colonisent le tube digestif (Marteau et Doré, 2017).

Le microbiote intestinal est considéré comme un organe acquis après la naissance, Il est unique pour chaque individu et stable dans le temps, Il est composé de  $10^{14}$  bactéries ainsi que d'autres microorganismes comme les virus, les champignons et les archées (Bäckhed et al., 2004 ; Landman et Quévrain, 2016).

Cette microflore représente environ 10 fois le nombre total de cellules du corps humain, Les variations importantes quantitatives et qualitatives le long du tube digestif atteignent leurs valeurs maximales dans le côlon (Bäckhed et al., 2004 ; Campotto et al., 2007).

Le microbiote intestinal contribue à la maturation du système immunitaire et assure une barrière directe contre la colonisation par des agents pathogènes. Le microbiote intestinal est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques comme la fermentation des sucres et des protéines, elle permet aussi la déconjugaison des selles biliaires, et la production de nutriments essentiels dans le corps comme les vitamines B9 et K (Doré et Corthier, 2010 ; Moroni, 2007 ; Landman et Quévrain, 2016).

Le déséquilibre de sa population ou la dysbiose peut entraîner diverses pathologies digestives (maladies inflammatoires chroniques intestinales, cancer colorectal...etc ) mais aussi dans l'obésité et l'autisme (Landman et Quévrain, 2016).

## 2. Probiotiques

### 2.1. Historique et définition

Le concept de probiotiques a été développé principalement grâce aux travaux de Elie Metchnikoff le lauréat du prix Nobel, au début des années 1900, il a suggéré que la consommation régulière de produits laitiers fermentés comme le yaourt par des ruraux bulgares augmente sa longévité, Il pensait que les lactobacilles pouvaient résister aux effets putréfiants du métabolisme gastro-intestinal (Martirosyan et Leem., 2019).

En 1965, une des premières définitions de probiotiques a été proposée par Lilly et Stilwell comme : facteurs promoteurs de croissance issue des micro-organismes (Muller-Marin, 2004).

En 1989, Fuller redéfinissait les probiotiques comme des « Compléments nutritionnel ayant des effets bienfaits sur l'animal hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal » (Burns et Rowland., 2000).

En 2002, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) officialisaient la définition du probiotique comme des organismes vivants qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (Markowiak et Slizewska., 2017).

Au cours des dernières décennies, plusieurs définitions ont été développées, parmi lesquelles : les probiotiques sont des préparations contenant des micro-organismes et leurs métabolites utilisés comme additifs alimentaires et affectant l'organisme hôte de manière bénéfique. Dans la plupart des cas, les probiotiques comprennent des micro-organismes capables de se développer et/ou de fonctionner dans l'intestin d'un animal (Smoragiewicz et al., 1993).

## **2.2. Relation probiotique-prébiotique symbiotique et métabiotique**

### **2.2.1. Probiotique et prébiotique**

Les prébiotiques sont différents des probiotiques car ce ne sont pas des micro-organismes. Ce sont des composants alimentaires non digestibles qui stimulent sélectivement la croissance et l'activité d'un nombre limité d'espèces bactériennes dans le côlon capables d'améliorer la physiologie et donc la santé de l'hôte (Gibson et Roberfroid, 1995).

Les prébiotiques peuvent être des sucres non digestibles, des protéines ou des peptides et même des lipides qui en raison de leur structure ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle (Favre, 2004).

### **2.2.2. Synbiotique et probiotique**

Un composé synbiotique est un produit qui contient à la fois un (des) probiotique(s) et un (des) prébiotique(s). Les synbiotiques sont ajoutés afin de favoriser la survie et l'activité des souches probiotiques. Par conséquent, il est nécessaire d'adapter les prébiotiques aux probiotiques utilisés pour lui fournir les conditions les plus favorables possibles (Rousseau, 2004 ; Tredez, 2008).



### 2.2.3. Probiotique et métabiotique

C'est un métabolite produit par les bactéries probiotiques. Par exemple:

La bactérie probiotique *Bacillus subtilis* produit un antibiotique l'amicoumacin A qui inhibe de la prolifération de *Helicobacter pylori* (Ezzariga, 2015 ; Halpern et al., 1996).

### 2.3. Classification des probiotiques

Les probiotiques sont constitués de bactéries lactiques ou de levures et naturellement présent chez l'homme, notamment au niveau de la flore digestive. D'autres bactéries, les bactéries non lactiques dont le métabolisme est différent des précédentes, font également preuve d'intérêt en tant que probiotiques. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 et de bactéries sporulées dont *Bacillus subtilis* et *Bifidobacterium cereus* (Ezzariga, 2015).

Les probiotiques sont introduits dans l'alimentation sous forme de produits lactés fermentés ou de suppléments alimentaires (Ezzariga, 2015).

Tableau 1 représente les principaux probiotiques utilisés chez l'homme.

**Tableau 01 :** Principaux microorganismes utilisés comme probiotique chez l'homme (Piquepaillie, 2013).

Bactéries lactiques			Bactéries non lactique Et levure
Espèces de <i>Lactobacillus</i>	Espèces de <i>Bifidobacterium</i>	Autres	
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. animalis</i>	<i>faecium</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>		
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>		
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>E. faecalis</i>	
<i>subsp. bulgaris</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>	<i>lactis</i>	1917
<i>L. gasseri</i>			
<i>L. helveticus</i>			
<i>L. johnsonii</i>		<i>S.</i>	
<i>L. lactis</i>		<i>thermophilus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. paracasei</i>		<i>Lactococcus</i>	<i>boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>		<i>lactis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			
<i>L. salivarius</i>			

## 2.4. Comment sélectionner une souche probiotique ??

Plusieurs espèces bactériennes sont utilisées depuis dizaines d'années dans la production alimentaire ou directement dans leur fabrication, soit en tant que source d'additifs alimentaires, Mais le choix d'une bactérie à ajouter à un produit probiotique doit prendre en considération de nombreux critères que nous décrirons aux paragraphes suivants (Kechaou, 2012) :

### 2.4.1. Critères de sécurité

#### ➤ Identification de la souche

Pour la sélection d'une souche probiotique il faut déterminer sa classification taxonomique qui peut indiquer son origine, son habitat et la physiologie de la souche. L'identification des souches probiotiques qui se fait grâce à des méthodes phénotypiques et génotypiques fiables est importante pour déterminer les risques associés à l'utilisation d'une bactérie donnée, ainsi que pour assurer un suivi précis et des études épidémiologiques (Wedajo, 2015).

#### ➤ Innocuité total pour l'homme

Les souches probiotiques ne doivent présenter aucun danger pour le consommateur, c'est à dire être non toxiques et exempt de tout pouvoir pathogénique par conséquent il est important d'étudier tout effet nocif possible (activité antibiorésistance, activité métabolique nocive et production de toxines, activité hémolytique) (PIQUEPAILLE, 2013).

#### • Activité antibiorésistance

Pour pouvoir utiliser une souche probiotique, il faut s'assurer qu'elle ne résiste pas aux antibiotiques. Autrement dit, les gènes de résistance aux antibiotiques soient stables et ne soient pas transmis aux agents pathogènes de l'intestin grêle (Hotel et Cordoba, 2001 ; Butel, 2014).

#### • Activités métaboliques

Certaines souches produisent des métabolites tel que le D-lactate et l'ammoniac, ou une déconjugaison des sels biliaires, susceptibles de provoquer des problèmes physiologiques chez l'humain. par conséquent, ils ne doivent pas être utilisés en tant que probiotique (Ezzariga, 2015).

- **Activité hémolytique**

L'hémolysine est un des facteurs de virulence les plus courants, l'activité non hémolytique est considérée comme une condition d'innocuité pour la sélection d'une souche de probiotiques. En effet, ces bactéries ne sont pas virulentes, et l'absence d'hémolysine assure qu'aucune virulence n'apparaîtra chez les souches (Kesen et Aiyegoro, 2018 ; Asan-Ozusaglam et Gunyakti, 2019 ; Casarotti et al., 2017).

#### 2.4.2. Critères fonctionnels

➤ **Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif**

Les probiotiques pour être efficace doivent résister aux mécanismes de défense de l'hôte, et donc parvenir vivantes à leur site d'action (Midolo et al., 1995).

La survie des probiotiques tout au long du transit digestif varie selon la souche et leur résistance intrinsèque, et aussi en fonction de la dose administrée (Ezzariga, 2015).

Les bactéries étant administrées oralement, il est nécessaire qu'elles traversent les principaux obstacles du passage digestif, il faut donc résister aux lysozymes présents dans la cavité buccale, au PH gastrique bas, aux sucs pancréatiques et à la concentration biliaire dans l'intestin grêle(Midolo et al., 1995).

➤ **Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales**

La capacité d'adhérence à la muqueuse gastro intestinale est importante car elle augmente la persistance des probiotiques dans le tractus digestif et donc la colonisation de ce dernier. Ce qui participe à l'exclusion des pathogènes par la compétition et blocage de leurs sites de fixation aux muqueuses(Tortora et Derrickson , 2007 ; Novik et al., 2014).

➤ **Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne *vis-à-vis* les germes pathogènes est l'un des critères fréquemment utilisés pour la sélection des souches probiotiques.Ces organismes peuvent fonctionner comme des barrières microbiennes contre les pathogènes gastro-intestinaux grâce à l'exclusion compétitive de la liaison des pathogènes, la modulation du système immunitaire de l'hôte et la production des substances antimicrobiennes (Marianelliet al., 2010).

### 2.4.3. Critères technologiques

En plus des propriétés de sécurité et propriétés fonctionnelles, des critères technologiques sont également pris en compte dans la sélection des souches probiotiques. (Samedi et Charles, 2019).

#### ➤ Viabilité et stabilités des microorganismes

Il est largement admis que pour avoir un effet positif sur la santé, il faut déterminer l'efficacité de la souche probiotique, cette efficacité concerne la stabilité à la fois physique et génétique, taux de croissance élevé, bonnes propriétés de la viabilité de la souche tout au long des étapes de transformation, de stockage et de conservation et la survie après le passage dans le tractus gastro-intestinal (Gupta et al., 2018).

#### ➤ Résistance aux phages

Les activités bénéfiques des probiotiques peuvent être fortement affectées en cas de contamination phagique, cette contamination peut notamment conduire à des pertes économiques significatives, produits de mauvaise qualité, une prolifération d'agents pathogènes bactériennes, une diminution totale de la production (Nagarajan et al, 2019).

## 2.5. Effets bénéfiques des probiotiques

Figure 01 représente les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine

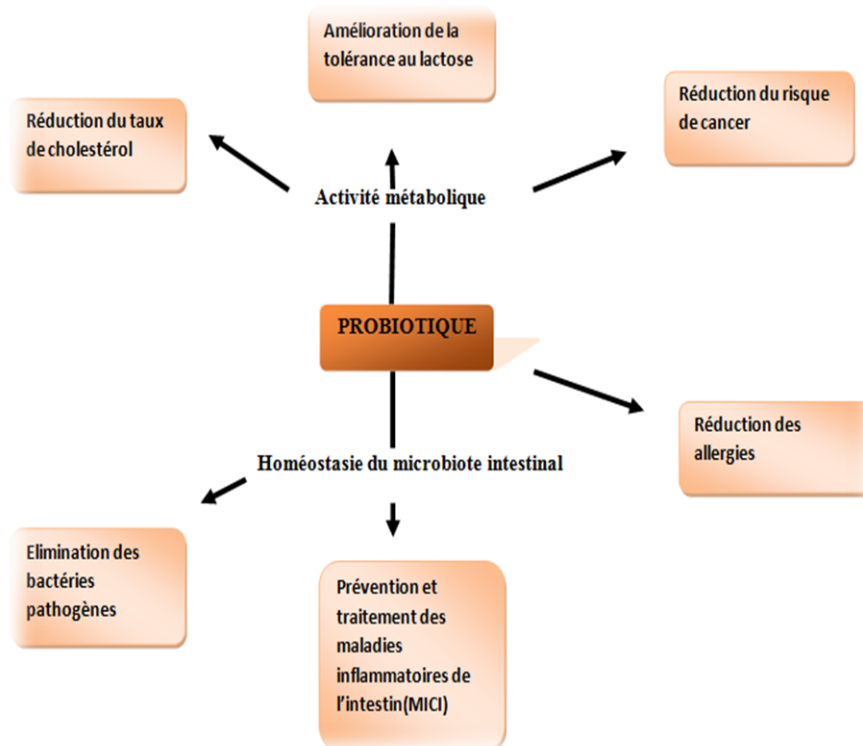


Figure 01 : Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine (Parvez et al., 2006).

### 2.5.1. Effets sur les fonctions intestinales

#### ➤ Digestion intestinale

Les probiotiques peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration de la digestion et de l'absorption intestinale en produisant et en accroissant l'activité de plusieurs enzymes digestives surtout chez les sujets présentant un déficit enzymatique. A titre d'exemple, la lactase dans les bactéries du yogourt *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaris* et *Streptococcus thermophilus* améliore la digestion du lactose dans l'intestin à la comparaison à un lait standard, même chez les sujets hypolactasiques (Burgain et al., 2012).

Ainsi, une étude a montré que l'ingestion de *Saccharomyces cerevisiae*, qui est riche en saccharase aidait à la digestion du saccharose et supprimait les signes cliniques d'intolérance chez les enfants ayant une carence congénitale en saccharase isomaltase (Marteau, 2004).

#### ➤ Motricité intestinale et transit

Certaines souches probiotiques accélèrent le transit colique total et/ou segmentaire. A ce sujet, une étude menée chez des volontaires sains âgés de 21 à 42 ans, a montré que la consommation quotidienne de trois pots de yaourt contenant *Bifidobacterium animalis* DN-173010 (108 UFC par gramme) pendant onze jours raccourcissait d'environ 20 % le temps de transit colique par rapport à une même période de consommation de yaourt sans supplémentation du probiotique (Flourié et Nancey, 2007 ; Adem, 2010).

### 2.5.2. Réduction du risque de diarrhées

Nombreux types de diarrhées sont dus à des infections microbiennes, des études montrent que certaines souches de probiotiques ont des effets protecteurs contre certaines infections intestinales sur des modèles animaux (Gill, 2003).

En effet, De nombreuses études ont été entreprises pour évaluer l'efficacité des probiotiques dans le traitement de la diarrhée associée aux antibiotiques (DAA), parmi les quelles *Saccharomyces boulardii* qui à été le mieux étudié. Les probiotiques sont administrés pour prévenir ou améliorer la DDA, en diminuant sa durée et/ou sa sévérité (Ezzariga, 2015).

### 2.5.3. Réduction du taux de cholestérol sanguin

Certains chercheurs ont montré que les taux de cholestérol sanguin sont considérablement réduits après avoir consommé du yogourt ou lait fermenté par *Lactobacillus acidophilus* et du lait non fermenté supplémenté avec cellules vivantes de *Lactobacillus spp* à des animaux

expérimentaux ( Grunewald, 1982 ; Kiyosawa et al., 1984; Pulusani et Rao, 1983 ; Thakur et Jha, 1981 ; Todd, 1989 ; Thompson et al.,1982).

Selon Gilliland et al. La capacité des *Lactobacilles* à dégrader les acides biliaires impliqués dans la synthèse du cholestérol confirme leur rôle bénéfique dans la régulation du métabolisme chez l'homme et l'animal. La diminution du cholestérol dans le sang peut être attribuée à l'absorption du cholestérol par les bactéries lactiques et la modulation du rapport lipoprotéines de haute densité - lipoprotéines de faible densité (HDL-LDL) (Smoragiewicz et al., 1993).

#### **2.5.4. Diminution des allergies alimentaires**

Les bactéries probiotiques régulent les réactions immunitaires aux antigènes alimentaires lors de processus d'inflammation à différents niveaux telle que l'augmentation de l'activité phagocytaire sanguine, régulation de la sécrétion de cytokines aboutissant à la réduction d'immunoglobulines E (IgE) et une diminution de l'inflammation, dégradation des antigènes alimentaires ainsi que la diminution de la translocation bactérienne (Merck, 2009 ; Marteau, 2009).

L'allergie alimentaire chez l'enfant prend souvent la forme d'eczéma atopique. Des traitements curatifs et préventifs contre cette maladie avec la bactérie de l'acide lactique (BAL) ont été évalués au cours d'une étude clinique de 27 enfants allaités souffrant d'eczéma atopique (Isolauri et al., 2000).

En 2021, Dans une autre étude clinique, des chercheurs ont complété avec un probiotique contenant 3 souches de *Lactobacillus* (*L. plantarum* PBS067, *L. reuteri* PBS072 et *L. rhamnosus* LRH020) des adultes présentant une dermatite atopique, une sécheresse cutanée, une desquamation, Les patients qui ont reçu ce complément pendant 56 jours ont montré une diminution de l'indice SCORAD (Scoring atopic dermatitis) score pour évaluer la dermatite atopique, amélioration de la douceur et de l'hydratation de la peau (Michelotti et al., 2021).

#### **2.5.5. Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin**

Les formes les plus connues de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique et la pochite. A ce titre, les probiotiques

pourraient apporter une solution intéressante comme agent thérapeutique( Marteau et al, 2003 ; Girardin et Frassard, 2012).

L'ingestion de lactobacilles probiotiques peut modifier la composition et l'activité métabolique de la flore intestinale en produisant des acides gras à chaînes courtes et de gaz, En plus, ils influent sur la mobilité intestinale et ont un effet anti-inflammatoire qui diminue les symptômes de ce syndrome (Jonkers et Stockbrügger, 2007).

Des études obtenus à l'aide de *Lactobacillus plantarum* en addition avec *Lb. rhamnosus GG* et *Lb. reuterion* ont montré des résultats prometteurs concernant les symptômes de cette irritabilité (Kajander et al., 2007).

### **2.5.6. Prévention du cancer du colon**

Le rôle bénéfique de certains probiotiques dans la prévention du cancer du colon dépend de leur aptitude à inhiber la production des enzymes pro-carcinogènes engendrés par le métabolisme du microbiote intestinal (glycosidases,  $\beta$ -glucuronidases, azoréductases et nitroréductases) (Rawland, 2004).

L'activité anti cancérogène est attribuée à plusieurs bactéries probiotiques utilisées dans l'industrie laitière, Plusieurs études sur des sujets humains ont démontrés des effets importants de lactobacilles sur le contrôle du cancer du colon. *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* Shirota et *Lb. rhamnosus GG* ont montrés dans différentes études des capacités à réduire l'activité enzymatique cancérogène de la flore intestinal. Ce phénomène peut avoir un effet bienfaisant sur le colon, la vessie et le tractus urinaire (Gilliand, 2004 ; Gill et Rowland, 2003 ; Sliminen et al., 2003).

### **2.5.7. Effet des probiotiques sur le stress oxydatif**

Plusieurs publications indiquent que la prise d'antioxydants peut réduire l'effet du stress oxydatif sur l'organisme humain. Des études plus récentes suggèrent l'utilisation de bactéries probiotiques pour diminuer le stress oxydant (Ebel, 2012).

Plusieurs études in vitro et in vivo montrent que les lactobacilles et les bifidobactéries et leurs constituants cellulaires possèdent un excellent pouvoir antioxydant où elles fournissent une protection de l'organisme vis-à-vis des maladies associées au stress oxydatif, en effet, les lactobacilles et les bifidobactéries sont considérées comme une nouvelle source d'antioxydants naturels (Averina et al., 2021).

En effets, Une nouvelle étude contrôlée randomisée a démontré que la supplémentation en lactobacillus augmente les niveaux d'antioxydants dans le lait maternel. Les chercheurs de l'Université de Sciences Médicales de Tabriz en Iran ont réalisé une étude sur 50 femmes en lactation pendant deux mois, divisées en deux groupes de façon équivalente. L'un d'eux recevait une supplémentation journalière en *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus* PXN 35, *Lactobacillus casei* PXN 37, *Lactobacillus bulgaricus* PXN 39, *Lactobacillus rhamnosus* PXN 54), l'autre un placebo. Ils ont observé une augmentation considérable de la capacité antioxydante totale du lait maternel des femmes recevant des suppléments de lactobacillus. Les concentrations en malondialdéhyde (MDA), ont également progressivement diminué. Par ailleurs, le groupe placebo a montré des niveaux d'antioxydants inférieurs et des concentrations de MDA supérieures dans le lait maternel (Mahdavi et al., 2017).

Une autre étude menée chez un modèle humain (24 volontaires), visant à évaluer les effets antioxydants des bactéries lactiques chez les athlètes, pendant 4 semaines d'activité physique vigoureuse. Les sujets sont répartis en deux groupes de 12 sujets chacun, L'un des deux groupes a reçu une supplémentation quotidienne avec un mélange des deux souches pendant 4 semaines, alors que l'autre groupe n'a consommé aucun supplément. Des tests sanguins ont été établis avant et après l'ingestion des souches, et le taux plasmatiques des espèces oxygénées activées et le potentiel antioxydant ont été déterminés. Les résultats obtenus suggèrent qu'une activité physique intense induit le stress oxydatif et que la consommation de probiotiques augmente le taux d'antioxydants dans le plasma neutralisant les espèces oxygénées activées. Les deux souches *L. rhamnosus* IMC 501 et *L. paracasei* IMC 502, exercent une forte action anti-activité oxydante (Martarelli et al., 2011).

Selon une étude faite chez un modèle animal, les bactéries probiotiques peuvent jouer un rôle antioxydant dans le traitement des maladies inflammatoires de l'intestin lorsqu'un excès de dérivés actifs oxygénés (DAO) a été observé au niveau du tractus digestif (TD). Ces bactéries pourraient résister au stress oxydant et survivre au transit pour exercer leurs effets bénéfiques, limiter les dommages causés par l'inflammation en éliminant les DAO produits dans le TD (Larguèche, 2012).

En effet, L'ajout des probiotiques aux rats est capable d'induire la transcription des gènes impliqués dans la biosynthèse du glutathion dans la muqueuse intestinale et d'augmenter la synthèse du glutathion dans les cellules pancréatiques (Lutgendorff et al., 2009; Lutgendorff et al., 2008).



## 2.6. Mécanisme d'action

Les mécanismes d'action par lesquels les probiotiques exercent leur effet antagonisme *vis-à-vis* plusieurs bactéries pathogènes au cours des infections entériques sont :

### ➤ **Compétition spécifique et non spécifique pour l'adhésion**

Les probiotiques peuvent réduire l'adhésion des bactéries pathogènes aux cellules intestinales épithéliales en se liant à ces mêmes récepteurs. En effet, les mécanismes de compétition de fixation se font généralement de deux façons, la première est dite spécifique par l'intermédiaire des adhésines, la deuxième est non spécifique qui implique des interactions électrostatiques ou hydrophobes, des forces passives et stériques (Ezzariga, 2015 ; Servin et Coconnier, 2003).

### ➤ **Production de substances antimicrobiennes**

Le troisième mécanisme d'action avec laquelle les probiotiques empêchent la croissance des bactéries nuisibles est représentée par la sécrétion des composés antimicrobiens principalement les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène et les défensines (Yan et Polk, 2009).

La bactériocine peut être divisée en deux catégories : les composés peptidiques et les Composés non peptidiques. Elles sont actives sur la majorité des bactéries à Gram positif mais elles ont un effet sur les bactéries à Gram négatif souvent retrouvées en infectiologie digestive. (Oelschlaeger, 2010).

Les Lactobacilles sécrètent généralement la bactériocine, par exemple *Lactobacillus salivarius* produit une bactériocine dirigée contre *Listeria monocytogenes* (Dortu et Thonart, 2009).

### ➤ **Compétition au niveau de l'utilisation des nutriments**

Autre mécanisme impliqué par les probiotiques dont le but est l'empêchement de la prolifération des entéropathogènes, c'est la restriction des nutriments. En effet, les probiotiques entre en compétition avec les pathogènes en utilisant les mêmes éléments nutritionnels présents dans la lumière intestinale. La réduction des substrats disponibles rend l'environnement défavorable à la croissance des agents pathogène (Wealleans et Litten, 2010 ; Delcenserie et al., 2008).

➤ **Amélioration de l'effet barrière**

Les probiotiques participent à l'effet barrière des cellules épithéliales en diminuant la perméabilité de l'épithélium et en augmentant la résistance électrique transépithéliale par le maintien structural des protéines du cytosquelette et des jonctions serrées intercellulaires (Oelschlaeger, 2010 ; Bocle et Thomann, 2005).

➤ **Stimulation des mécanismes de défense immunitaire**

Le dernier mécanisme porte sur l'interaction des probiotiques avec le système immunitaire pour accroître la réponse immune de l'hôte contre des entéropathogènes. Parmi les effets observés, on trouve la stimulation de l'immunité adaptative (IgA, IgG) et innée par les probiotiques (Fooks et Gibson, 2002; Gill, 2003).

La stimulation de l'immunité innée est commencée avec la création d'un complexe membranaire entre les motifs bactériens PAMPS ( pathogen-associated molecular pattern) et les récepteurs PRRS ( Pattern-recognition receptor) des cellules épithéliales immunitaire de l'hôte ce qui active les facteurs de transcription (NF-kappaB), Une fois libérés, ils se dirigent vers le noyau, c'est la translocation nucléaire, et vont permettre la transcription de nouveaux gènes impliqués dans la réponse immunitaire et la sécrétion de messagers moléculaires (cytokines et/ou chimiokines). C'est la même procédure que les probiotiques appliquent pour favoriser l'immunité innée. Les probiotiques peuvent aussi passer à travers la couche épithéliale et migrer vers les ganglions mésentériques, c'est la translocation et à partir de là, ils activent directement l'immunité de l'hôte (Calmettes, 2020).

L'immunité adaptative répond par une production d'anticorps protecteurs (IgG, IgA) et une activation des cellules T CD4 ou CD8. Plusieurs études ont montré que certains probiotiques activent et renforcent cette immunité sécrétoire (Heyman, 2007 ; Heyman et Heuvelin, 2006).

## **2.7. Réglementation : médicament et aliment**

Les conditions de mise sur le marché des probiotiques sont définies en fonction de leur application médicamenteuse ou alimentaire. En majorité, les probiotiques sont des aliments fonctionnels ou sont utilisés sous forme de compléments alimentaires. Ces aliments santé se situent à la frontière entre le médicament et l'aliment traditionnel et sont régis par la législation alimentaire (Ministre de la Santé de Canada 2017).

Actuellement, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes (Patterson, 2008):

- Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, des fruits et de céréales.
- Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation.
- Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

### **2.7. 1.utilisation des probiotiques dans le domaine alimentaire**

Les produits contenant des bactéries probiotiques se trouvent généralement sous deux formes :

#### ➤ **Complément alimentaire**

Ils sont commercialisés sous forme de doses (gélules, pastilles, comprimés, sachets de poudre, ampoules...) (Derbre, 2010).

#### ➤ **Aliment fonctionnel (produits alimentaires)**

Des progrès importants ont été réalisés au cours des dernières décennies dans le développement de produits laitiers contenant des probiotiques, telles que les laits fermentés, crème glacée, divers types de fromages, formules pour bébés, lait en poudre, les desserts laitiers glacés, boissons à base de lactosérum, la crème sure, le babeurre, le lait liquide normal et aromatisé (Belhamra, 2017).

### **2.7.2. Utilisation des probiotiques dans le domaine médical**

Les probiotiques sont plus en plus répandant depuis ces dernier années et se classent au sein des médicaments, les souches qui sont considérés comme probiotique ils doivent être répandant aux critères biens déterminées spécifiées par l'organisation mondiale de la santé en 2002 : la résistance de la souche pendant leur ingestion, un bénéfice clinique et l'absence d'effet indésirable. Les pharmaciens semblent impliqués dans la délivrance de probiotiques puisqu'ils peuvent être une alternative thérapeutique intéressante (Fanny, 2016).

En France, il y a peu de médicaments probiotiques. Certains les nomment "agents bio thérapeutiques" pour les différencier des autres formes. Il y a ultra-levure©, bacilor©, carbolevure©, trophigil© et florgynal©. A noter que lactéol© ne fait pas partie de cette classe

car il contient des souches de *Lactobacillus* inactivées (Vidal, 2015 ; Bendjedi et Barkati, 2021).

Ils ont été mis sur le marché après une évaluation rigoureuse de leur sécurité, de leur efficacité et de leur qualité, sur la base des résultats d'essais pharmaceutiques, précliniques et cliniques (Rambaud, 2004).

## **2.8. Effets indésirables de probiotiques**

La plupart des souches probiotiques appartiennent aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* sont considérées comme des organismes dépourvus de pouvoir pathogène. Toutefois, il faut tenir compte de quatre types d'effets néfastes (McHeyzer, 2005 ; Madsen, 2006).

### **➤ Infections**

Le risque d'infections probiotiques est presque nul. Cependant, le risque qu'ils traversent le sang par translocation existe. Les bactéries indigènes sont continuellement transférées mais rapidement détruites par les organes lymphoïdes. Chez les patients présentant un traumatisme ou immunodéficients, ou des lésions sévères sur la muqueuse intestinale, la translocation est l'une des principales causes d'infections systémiques (Ezzariga, 2015).

### **➤ Activités métaboliques délétères**

Alors que les probiotiques provoquent des réactions métaboliques positives dans l'appareil digestif, ils peuvent favoriser des réactions métaboliques délétères chez l'hôte. Pendant la colonisation bactérienne, les microorganismes présents en surnombre peuvent induire des lésions intestinales et des diarrhées viales, voies de déconjugaison et de hydroxylation des selles biliaires. Pour éviter les réactions de déconjugaison il est primordial de réaliser de bons tests *in vitro* (Bouchebra, 2012 ; MARTEAU et SHANAHAN, 2003).

### **➤ Immunomodulation excessive**

L'administration parentérale de composants de parois bactériennes tels que les peptidoglycanes peut induire de la fièvre, des arthrites et des maladies auto-immunes. Ces effets secondaires sont médiés par les cytokines et il est désormais bien établi que la sécrétion de cytokines est induite par de nombreux probiotiques (Marteau, 2005).

### ➤ Transfert de gènes

Certains gènes microbiens, en particulier les gènes de résistance aux antibiotiques, peuvent être transférés d'un microorganisme à l'autre. La résistance des probiotiques aux antibiotiques n'est pas en elle-même un risque. Sauf si le probiotique devient intraitable en cas d'infection systémique par celui-ci. Où si elle peut être transmise à des agents pathogènes dans lesquels une résistance thérapeutique peut avoir des conséquences cliniques indésirables (Aires et al., 2007 ; van Reenen et Dicks, 2011).

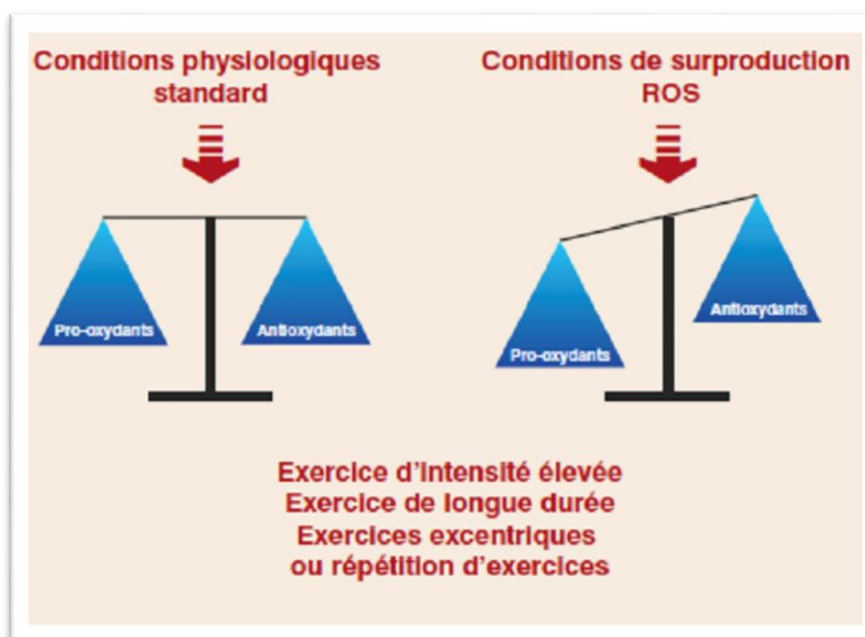
## 3. Stress oxydant

### 3.1. Définition

L'oxygène est une molécule nécessaire à la vie, il est indispensable à la production d'énergie. Cette production d'énergie appelée phosphorylation oxydative, elle se fait notamment par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries mais elle est susceptible d'entraîner des altérations de notre organisme par la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (Mazat et Ransac, 2010 ; Haleng et al., 2007).

Le stress oxydant défini comme une perturbation de l'équilibre entre la production d'espèces radicalaires et les capacités cellulaires anti oxydantes. Cette déséquilibre est produit soit par la production excessive des oxydants (comme le cas de vieillissement) soit par une diminution des capacités anti oxydantes (chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs) ( Migdal et Serres, 2011)(figure 02).

Les EOA ont longtemps été reconnus comme des sous produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies, en effet, depuis plusieurs années, la production contrôlée de radicaux libres est considérée comme un mécanisme indispensable de signalisation cellulaire qui contribue au maintien de l'homéostasie cellulaire ( Migdal et Serres, 2011).



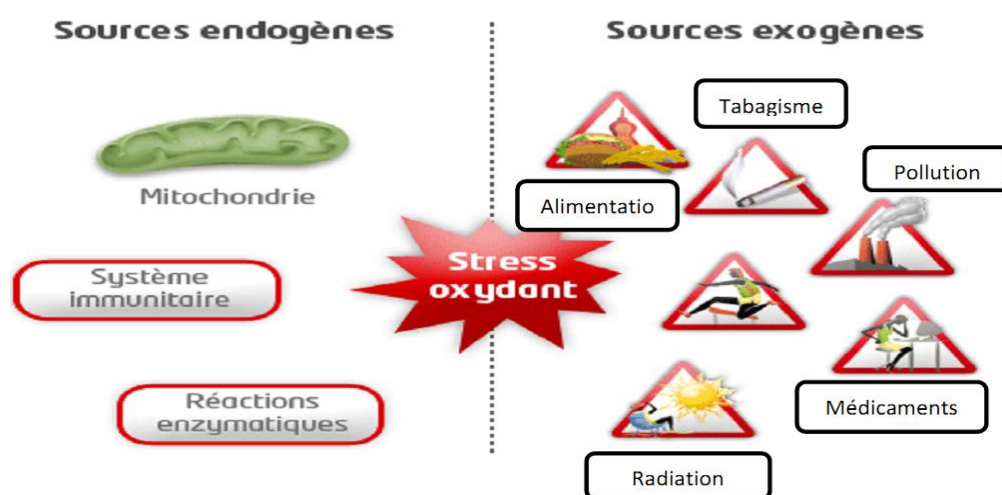
**Figure 02 :** Balance entre le stress oxydant et les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail et al., 1999)

### 3.2. Espèces oxygénées activées (radicaux libres)

Les radicaux libres peuvent être définis comme toute espèce chimique neutre ou chargée qui a la particularité de porter un électron célibataire (non apparié) sur sa couche périphérique, ce qui le rend instable et capable de réagir plus ou moins rapidement avec d'autres molécules chimiques. Les EOA, considérées comme les seules substances nocives dans l'organisme vivant, ont également joué un rôle positif (Carrière et al., 2006 ; Lushchak, 2014).

#### 3.2.1. Origine des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène à travers différents processus physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène causée par de multiples sources chimiques et physiques (Barouki, 2006 ; Betteirdge, 2000 ; Hininger-Favier, 2003) (figure 03).



**Figure 03 :** source endogène et exogène de stress oxydant (Parc, 2016)

### ➤ Origine endogène

#### • Chaîne respiratoire

La chaîne respiratoire mitochondriale au sein de laquelle les êtres aérobies puisent acquérir leur énergie joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogènes ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP en ATP. Dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des EOA. Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde, ou le radical hydroxyle, soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène ou l'oxygène singlet. Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le  $\text{Fe}^{2+}$  et le  $\text{Cu}^{2+}$ , agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle (Delattre et al., 2005).

#### • Réaction immunitaire

L'inflammation est également une source importante de radicaux libres d'oxygène produits directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées. Cette enzyme est capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grande quantité d'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire, ce mécanisme permet la phagocytose des corps étrangers. De plus les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF-alpha qui est capable de faire produire des radicaux libres par les mitochondries des cellules cible (Hininger-Favier, 2003).

- **Peroxisomes**

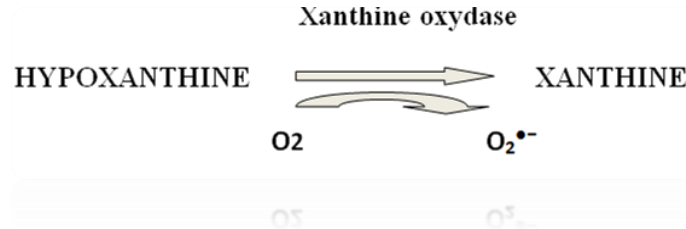
Les peroxysomes sont l'un des principaux sites de la cellule où les radicaux libres sont à la fois générés et piégés, Le peroxysome joue un rôle important dans la production cellulaire de peroxyde d'hydrogène formé par les oxydases qui transfèrent l'hydrogène des métabolites à l'oxygène moléculaire. Dans le foie, environ un cinquième de la consommation totale d'oxygène est imputable à l'activité paroxysmale oxydase (Dansen et Wirtz, 2001 ;Reddy, 1994).

- **Cytosol**

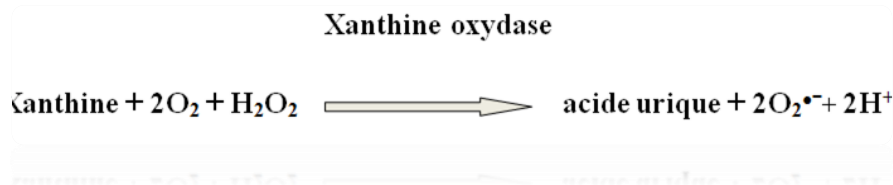
Dans ce site, diverses réactions enzymatiques peuvent produire des radicaux libres comme l'anion superoxyde et l'eau oxygénée (Wilson et Salamatian, 2003).

- ❖ **Xanthine oxydase**

La xanthine oxydase (responsable de la transformation de l'hypoxanthine en xanthine), l'aldéhyde oxydase, les galactoses oxydases sont à l'origine de la formation de radicaux superoxydes  $O_2^{\bullet-}$  (Wilson et Salamatian, 2003).



La xanthine oxydase peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique générant ainsi des EOA (Harrison, 2002).



- ❖ **NO-synthase**

Une autre espèce radicalaire, le monoxyde d'azote est également produit par des systèmes enzymatiques tels que la NO synthase a fins de médiation cellulaires, la production simultanée dans un même site de NO et de l'anion superoxyde s'avère dangereuse donnant naissance au radical peroxydinitrite (Hininger-Favier, 2003).



- **Auto –oxydation de petites molécules**

L'oxydation de plusieurs molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones constituent une source importante d'espèces oxygénées activées, le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'anion superoxyde (Servais, 2004).

- **Origine exogène**

- **Rayonnements et Métaux**

Les rayonnements peuvent être une source de radicaux libres *via* différents mécanismes, il s'agit des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets. Ils sont capables de générer l'anion superoxyde ou l'oxygène singlet après activation de photosensibilisation (Hininger-Favier, 2003).

Le dioxygène est une molécule bi-radicalaire, il est susceptible de récupérer quatre électrons, mais ses capacités oxydantes sont limitées par une barrière cinétique importante. En présence de rayonnements, il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , qui est un radical réactif. De plus, l'oxygène peut être transformé en oxygène singlet sous l'influence de rayonnements UV (Barouki, 2006).

Les métaux toxiques tels que le chrome, le vanadium, le cuivre et le fer libre génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton (Hininger-Favier, 2003).

- **Médicaments**

Il existe des preuves montrant que les médicaments peuvent induire le stress oxydatif, qui représente un mécanisme de toxicité dans de nombreux tissus et système d'organes; le foie, les reins, les oreilles et les systèmes cardiovasculaires et nerveux. Plusieurs médicaments anticancéreux, anti-inflammatoires non stéroïdiens, agents antitétroviraux peuvent être associés à des événements indésirables auxquels le stress oxydatif peut contribuer (Deavall et al., 2012).

- **Tabagisme**

Le tabagisme contribue au déséquilibre de la balance oxydant-antioxydants, car il est associé à une production accrue d'espèces oxygénées activées qui contribuent largement au

développement de plusieurs pathologies telles que l'athérosclérose, le cancer du poumon et de la broncho-pneumopathie chronique obstructive (Koechlin, 2006).

Une étude menée dont le but est l'évolution du stress oxydatif chez les fumeurs, il est démontré qu'il y a une augmentation significative de la concentration du malondialdéhyde (MDA), qui constitue un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs, ils ont été constaté que le risque d'une augmentation du MDA s'accroît avec le nombre de cigarettes fumées par jour et avec l'ancienneté de l'exposition (Mouhamed et al., 2012).

### 3.2.2. Différents types de radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules on peut distinguer :

- **Les radicaux primaires** : ce type de radicaux dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle ou de l'azote tel le monoxyde d'azote  $\text{NO}^\bullet$
- **Les radicaux secondaires** : se forment par réactions des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.
- ❖ **Espèces activés de l'oxygène** : ces espèces sont dérivées de l'oxygène tels que l'oxygène singlet, le peroxyde d'hydrogène ou le nitroperoxyde ( $\text{ONOOH}$ ), ils ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

Tableau 02 représente les Principales espèces oxygénées activées (EOA) radicalaires et non-radicalaires.

**Tableau 02** : principales EOA radicalaires et non radicalaires (Halliwell et Whiteman, 2004).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde: $\text{O}_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène: $\text{H}_2\text{O}_2$
Radical hydroxyle: $\text{OH}^\bullet$	Ion hypochlorite: $\text{ClO}^\bullet$
Peroxyde: $\text{RO}_2^\bullet$	Ozone: $\text{O}_3$
Alkoxyde: $\text{RO}^\bullet$	Oxygène singlet: $^1\text{O}_2$
Hydroperoxyde: $\text{HO}_2^\bullet$	Peroxynitrite: $\text{ONOO}^\bullet$

### 3.2.2.1. Espèces oxygénées activées radicalaires

#### ❖ Anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Le radical anionsuperoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) provient formellement de l'addition d'un seul électron sur le dioxygène selon la réaction suivante (Dwassy, 2014).



Le radical superoxyde est peu réactif, il est rapidement transformé en peroxyde d'hydrogène selon une réaction catalysée par l'un des membres de la famille des superoxydes dismutases SOD (Réd. B et al., 2005).



L'anion superoxyde constitue le précurseur de la plupart des EOA et induit les réactions oxydatives en chaîne (Abele et al., 2002) figure 04.

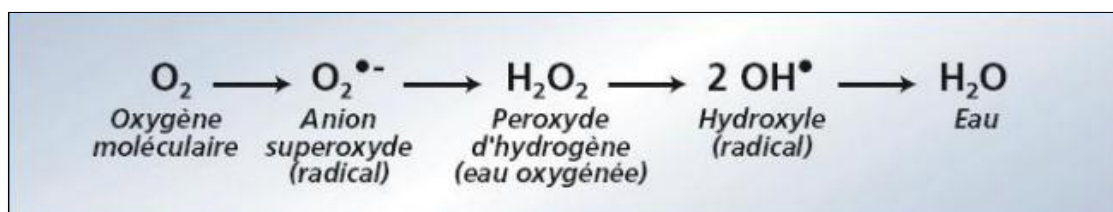


Figure 04 : étapes de réduction de l'oxygène moléculaire et les EOA générés (Vamecq et al., 2004).

#### ❖ Radical hydroxyle $OH^{\bullet}$

Le radical hydroxyle est le radical le plus réactif parmi les espèces activées de l'oxygène, expliquant sa nature hautement toxique. Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  peut générer le radical hydroxyle en présence d'ions ferreux, selon la réaction de Fenton suivante (Vamecq et al., 2004).



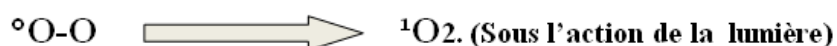
Le radical hydroxyle peut être produit aussi par une réaction appelée réaction de Haber –Weiss (Vamecq et al., 2004) :



### 3.2.2.2. Espèces oxygénées activées non-radicalaires

#### ❖ Oxygène singlet ( $^1\text{O}_2$ )

L'oxygène singlet correspond à un état excité de l'oxygène moléculaire, c'est une espèce réactive non radicalaire. Lorsque l'énergie est apporté à l'oxygène, il passe à l'état singlet représente la forme activée, une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (Vamecq et al., 2004 ; Albert et al., 2003 ; Pastre, 2005).



L'oxygène singlet est un agent oxydant très puissant, capable d'oxydé diverses molécules talque l'ADN et les lipides. (Halliwell, 2006).

#### ❖ Peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$

Le peroxyde d'hydrogène ne possède pas une structure radicalaire, mais il est considéré comme un espèce oxygéné activé, car il est capable de propager des dommages oxydatives ( Pastre, 2005).

Le peroxyde d'hydrogène peut être produit par l'association de deux radicaux hydroxyles selon la réaction suivante (DWASSY, 2014) :



A partir d' $\text{O}_2^{\bullet-}$ , le peroxyde d'hydrogène est formé par dismutation spontané catalysé par superoxyde dismutase (SOD) (Deby et al., 2002).

#### ❖ Peroxynitrite $\text{ONOO}^-$

Le peroxynitrite est très oxydant et forme de nouvelles espèces activées dont certaines sont radicalaires ( $\text{OH}^\bullet$  et  $\text{NO}_2^\bullet$ ). Il résulte de réaction de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) avec le monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$  radicalaire). La concentration de chacun de ces radicaux libres est tributaire de réactions enzymatiques : NO synthase pour la formation de  $\text{NO}^\bullet$  et superoxyde

dismutases pour la dégradation de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$  (Deby-Dupont et Lamy, 1999 ; Vamecq et al., 2004).

Le peroxy-nitrite existe physiologiquement à l'état d'anion ( $\text{OONO}^-$ ), une proportion de peroxy-nitrite peut exister sous la forme acide ( $\text{HOONO}$ ). Le peroxy-nitrite est une espèce oxydante importante, car sa réactivité est assez proche de celle du radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ), la plus réactive des espèces oxygénées activées (Vamecq et al., 2004).

### 3.3. Radicaux libres sont-ils indispensables à la vie ?

Malgré leur mauvaise réputation, les radicaux libres sont utiles et vitaux pour l'organisme à la dose raisonnable évidemment ils sont impliqués dans des mécanismes différentes (Favier, 2003).

Les EOA vont jouer un rôle important dans l'activation des facteurs de transcription et en particulier dans la régulation de l'apoptose, à la transduction de signal et la différenciation cellulaires, à la régulation de la dilatation des vaisseaux sanguins, l'immunité contre les agents pathogènes, ainsi que le fonctionnement de certains neurones, à la fécondation de l'ovule et à la régulation des gènes. (Huet et Duranteau, 2008 ; Favier, 2003).

### 3.4. Principales cibles biologiques des EOA

#### 3.4.1. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement les acides gras poly-insaturés en raison de leurs doubles liaisons sont la cible préférée d'EOA (Esterbauer et al., 1992 ; St-Louis, 2011).

Le radical hydroxyle est capable d'extraire l'hydrogène des carbones localisés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés c'est la phase initiale. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxylique ( $\text{ROO}^\bullet$ ) qui est assez réactif pour enlever un  $\text{H}^+$  d'un acide gras polyinsaturé à proximité, propageant ainsi la réaction (Haleng, 2007).

La peroxydation des acides gras polyinsaturés les rend plus hydrophiles ce qui a pour effet de modifier la structure des membranes cellulaires et de perturber leur fonctionnement, particulièrement leur rôle de transport, de récepteur et de barrière (St-Louis, 2011).

### 3.4.2. Oxydation des protéines

Les acides aminés ont différentes susceptibilités envers EOA. Toute attaque radicale d'un acide aminé entraînera l'oxydation de certains résidus ce qui aura comme conséquence l'apparition de groupes carbonylés, de clivages peptidiques, et des ponts bi-tyrosine intra et inter-chaînes (Haleng, 2007).

Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases en particulier les protéasomes et les protéines oxydées, ils deviennent aussi très hydrophobes. Quelques protéines oxydées et constituent des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et les compartiments extracellulaires (Favier, 2003 ; Haleng, 2007).

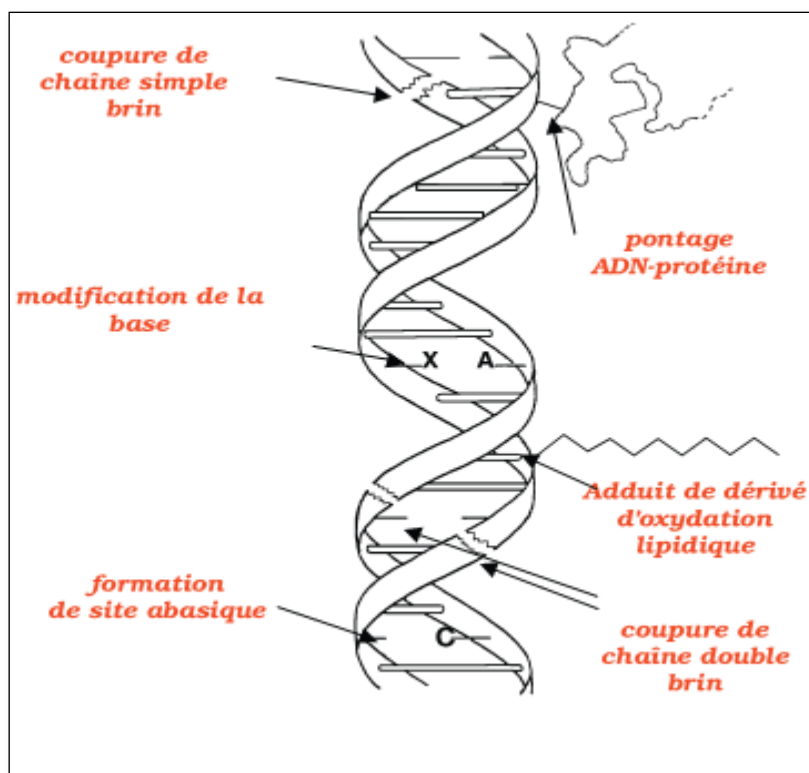
### 3.4.3. Acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN est très susceptible d'être attaqué par les radicaux libres et souffre donc de diverses lésions oxydatives (Favier, 2006 ; Matés et Sánchez –Jimenez , 1999).

La guanine peut réagir avec le radical hydroxyle pour donner la 8-hydroxy-2-déoxyguanosine qui au lieu de lier avec la cytosine s'associera avec l'adénine (Haleng, 2007).

Le stress oxydant peut également attaquer le lien entre la base et le désoxyribose en créant un site abasique ou attaquer le sucre lui même créant une rupture de chaîne, ce qui provoque des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou doubles brins) et altérer le message génétique (Favier, 2003 ; Valko et al., 2007 ; Haleng, 2007) (figure 05).

Par conséquent, ces changements perturberont la transcription et la traduction ce qui donnera lieu à la formation d'une protéine non fonctionnelle, associée au déclenchement du cancer et au vieillissement (Valko et al., 2007).



**Figure 05** : lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire de la matière génétique de la cellule (Favier, 2003).

### 3.5. Stress oxydant et photologies

Une quantité excessive des EOA provoque des endommagements pour nos cellules entraînant des maladies graves, notamment celle liées au vieillissement, aux cancers, aux maladies neurodégénératives et aux pathologies oculaires. La sclérose latérale amyotrophique familiale est l'exemple le plus démonstratif, car cette maladie est due à un défaut sur le gène de l'enzyme antioxydant superoxyde dismutase (Favier, 2006).

#### 3.5.1. Stress oxydant et le phénomène de vieillissement

Le processus de vieillissement cellulaire est étroitement lié à un déséquilibre de balance pro /antioxydant, qui apparaît progressivement avec l'âge et il est associé à une superproduction mitochondriale d'espèces oxygénées activées et à une baisse des défenses antioxydants (Roussel et Ferry 2002).

Les EOA peut entrainent des lésions des macromolécules cellulaires par réactions avec les lipides surtout membranaire, les protéines et les ADN, ce qui peut entrainer des dégâts cellulaires pouvant conduire à la mort cellulaire. En plus, ils provoquent des attaques des

cibles cellulaires induisant des dommages oxydatifs moléculaires responsables du vieillissement (Harman, 2002 ; de Jaeger et Cherin, 201).

A titre d'exemple, le stress oxydatif peut provoquer le vieillissement du follicule pileux, ce qui va déclencher prématurément la phase anagène et altérer les cellules endothéliales des micros vaisseaux pérébulbaires conduisant au vieillissement des follicules pileux (Blume-Peytavi, 2009).

### **3.5.2. Maladies neurodégénératives**

Le stress oxydant est joué un rôle important dans les mécanismes de la mort cellulaire. Les maladies neurodégénératives sont considérées parmi les pathologies les plus fréquents dont lesquels on trouve : les maladies d'Alzheimer, la maladie de parkinson idiopathique et la sclérose latérale amyotrophique. Le stress oxydatif est impliqué dans ces pathologies et provoque une augmentation des produits d'oxydation de base d'ADN et d'ARN ainsi que des dommages oxydatifs des protéines dans des régions spécifiques du cerveau (Desport et Couratier, 2002 ; Pimentel et., 2012).

### **3.5.3. Maladie d'Alzheimer**

Le stress oxydatif est l'un des agents principaux responsables de cette maladie. Il induit le dépôt amyloïde de peptide A $\beta$ . En effet, il a été décrit que la toxicité de peptide A $\beta$  est liée à la capacité de ce dernier de former du peroxyde d'hydrogène et des radicaux libres (Pimentel et., 2012).

De nombreuses hypothèses physiopathologiques suggèrent que plusieurs radicaux libres ou certains composés réactifs interviennent dans la maladie d'Alzheimer, les principaux sont le radical hydroxyle, le composé réactif peroxyde d'azote ainsi que ses précurseurs le monoxyde d'azote et l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (Christen, 2000).

### **3.5.4. Sclérose latérale amyotrophique**

La sclérose latérale amyotrophique est une affection neurodégénératives de l'adulte, qui est définie chimiquement comme une perte progressive et irréversible de motoneurones centraux et périphériques. Le stress oxydatif est impliqué dans la pathogénèse de la sclérose latérale (SLA). Une étude récente a montré que la CU/ZN superoxyde dismutase (SOD1) est une cible principale d'oxydation dans le cadre de maladies neurodégénératives (Brunaud-Danel et al., 2016 ; Abou Ezzi, 2007).



Une hypothèse a été proposée suggère que la mutation de la SOD1 provoque un changement du métabolisme des EOA. En effet, la SOD1 mutante peut faire des réactions avec son propre produit ( $H_2O_2$ ) ou avec le peroxy-nitrite. Ces réactions peuvent endommager des produits essentiels pour la survie de la cellule *via* les radicaux hydroxyles. Cette altération peut affecter la SOD1 elle-même et l'inactiver, ce qui est très toxique pour la cellule (Valentine et al., 2004).

### 3.5.5. Phénomène de cancérisation

La relations entre le stress oxydant et le cancer s'avère très étroite et est considérée comme l'un des mécanismes les plus importants de régulation des cellules cancéreuses. En effet, le stress oxydatif chronique peut causer la cancérogénicité en altérant l'expression des gènes cancéreux, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53 (Hininger-Favier, 2003).

Les dommages causés par le stress lors du processus apoptotique ne tuent pas directement les cellules, mais déclenchent plutôt un programme de signalisation apoptotique qui conduit à la mort cellulaire. Ainsi, les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote ont été impliquées dans le développement et la progression de plusieurs cancers humains comme les cancers : du sein, de prostate, de peau, de col, d'utérus et d'estomac (Gabai et., 1998; Kruk et Aboul-Enein, 2017).

### 3.5.6. Maladies cardiovasculaires

#### ❖ Stress oxydant et infarctus du myocarde (IDM)

Le stress oxydant est l'un des facteurs qui sont impliqués dans l'apparition des maladies plurifactorielles, notamment les maladies cardiovasculaires. En effet, l'infarctus du myocarde constitue l'un des principales causes de morbi-mortalité dans les pays développés. Cette maladie est connue par la nécrose ischémique du muscle cardiaque. Des preuves biochimiques ont montré qu'il existe un lien entre les lésions des tissus myocardiques et l'élévation des marqueurs de peroxydation lipidique, suggérant l'implication des EOA dans l'altération de la fonction contractile du myocarde (Favier, 2003 ; Eggers et al., 2009 ; Wattanapitayakul et Bauer, 2001).

En plus, Les acteurs du stress oxydant peuvent avoir des effets délétères sur de nombreux constituants des cellules, ils peuvent évoluer vers l'induction de la mort cellulaire

soit par nécrose, soit par apoptose aboutissant à l'altération de la fonction contractile de myocarde (Noichri, 2016).

### **3.6. Marqueurs biologiques du stress oxydant**

La difficulté de quantifier un stress oxydant d'une manière directe réside dans le fait que les espèces radicales sont instables et ont une demi-vie extrêmement courte. Il est donc nécessaire de considérer la détermination de molécules biologiquement stables produites par l'action de ces espèces radicalaires (Mohinder et Naveen, 2014 ; Levine et Stadtman, 2001).

#### **3.6.1. Malondialdéhyde (MDA)**

C'est un dialdéhyde aliphatique issu principalement de la décomposition des acides gras polyinsaturés en cas d'un stress oxydatif. Il est présent au niveau cellulaire et aussi dans les systèmes biologiques comme l'urine et le plasma (Niedernhofer et al., 2003 ; Dennis et Shibamoto, 1989).

Leur dosage permet d'estimer la peroxydation lipidique au niveau membranaire et dans les milieux biologiques. Le MDA possède une demi vie très longue, pour cela elle diffuse facilement jusqu'à l'arrivée aux noyaux des cellules où il forme des liaisons avec les bases guanine et cytosine de l'ADN, ce qui créant des ponts entre les deux brins d'ADN, ces liaisons peuvent provoquer l'arrêt du processus de réplication ou peut aussi déclencher des effets mutagènes (Rousselot et al., 2003 ; Hiltenbrand, 1999).

#### **3.6.2. Glutathion réduit (GSH)**

Le rapport glutathion réduit GSH/ glutathion oxydé GSSG est un bon marqueur lors d'une modulation du statut redox. Ainsi le GSH réagit très vite avec la EOA pour former le GSH, plus la valeur de ce rapport est basse plus la contrainte oxydante est élevée. (Haleng, 2007).

### **3.7. Moyens de défense anti radicalaires (antioxydants)**

Les antioxydants ou ce qu'on appelle "piégeurs de radicaux libres " sont toutes les molécules capables d'empêcher ou de réduire l'effet oxydant des autres substances chimiques, en distingue les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Deby et Pincemail, 1986 ; Hocine et Gorine, 2017).

### 3.7.1. Systèmes antioxydants endogènes (enzymatiques)

#### 3.7.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Il s'agit de la principale enzyme antioxydante dans toutes les cellules vasculaires parce qu'elle catalyse la transformation des radicaux superoxydes ( $O_2^{\bullet-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) selon la réaction suivante (Afonso et al., 2007 ; St-Louis, 2011) :



Le peroxyde d'hydrogène produit étant beaucoup moins réactif et sera alors détecté par la catalase. Chez l'humain on trouve trois iso-enzymes : la (Cu/Zn-SOD1) cytosolique, et la (Cu/Zn-SOD3) extracellulaires, et la (Mn-SOD2) mitochondriale (St-Louis, 2011 ; Haleng et al., 2007).

#### 3.7.1.2. Catalase

Cette enzyme retrouvée principalement dans les érythrocytes et les peroxysomes, il lutte contre la formation de radicaux hydroxyles par le catabolisme de ce dernier en eau et en oxygène moléculaire (Ko et al., 2000 ; Matés et al., 1999).



La catalase est un homotétramère à quatre sous-unités de protéine, chaque sous-unité à un groupement hémique avec  $Fe^{3+}$ , qui lui est lié au site actif. La dissociation des sous-unités aboutit à une perte d'activité catalase (St-Louis, 2011).

La catalase peut également inactiver à des concentrations supérieures à 100 UM de  $H_2O_2$  (Bennamara, 2017).

#### 3.7.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPX est une sélénoprotéine (cinq iso-formes), catalyse la dismutation du  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$  couplant sa réduction en  $H_2O$  avec l'oxydation des deux molécules de Glutathion réduit (GSH) en bisulfure de Glutathion (GSSG) (Haleng et al., 2007 ; Matés et al., 1999).



Son rôle principal consiste à éliminer les peroxydes lipidiques qui résultent de l'action des contraintes oxydatives sur les acides gras polyinsaturés. Les Glutathion peroxydases sont inhibées d'une manière irréversible par l'intermédiaire des cyanures lorsque le GSH est absent dans le milieu, et par l'iodoacétate, elle peut également être inhibée par les ions superoxydes (Haleng et al., 2007 ; St-Louis, 2011).

### **3.7.2. Systèmes antioxydants exogènes (non enzymatiques)**

#### **3.7.2.1. Glutathion (GSH)**

Le glutathion c'est le tri peptide majoritaire au niveau intracellulaire, où il est présent principalement sous forme réduite. Le GSH joue son rôle en tant qu'antioxydant comme substrat d'enzymes antioxydantes telles que les Glutathion peroxydases (Haleng et al., 2007 ; Couto, 2013).

Il participe à de nombreux processus métaboliques dont le maintien des communications intercellulaires, la prévention de l'oxydation des groupements thiol par sa puissance réductrice, aussi bien dans la régénération de certains composés ayant des propriétés antioxydantes. Deux molécules de GSH se lient formant un pont disulfurique par oxydation du groupe SH de chacune des cystéines de cette réaction, aboutissant à la formation de GSSG (Barhoumi et al., 1993 ; Droge, 2002 ; Tessier et Marconnet, 1995).

#### **3.7.2.2. Acide ascorbique (vitamine C)**

L'acide L-ascorbique ou vitamine C, il est considéré comme l'un des antioxydants hydrosolubles les plus puissants, elle piègeant directement l'EOA. Elle peut également réduire le radical alpha tocophérol et prévenir contre la peroxydation des lipides (Vertuani et al., 2004).

#### **3.7.2.3. vitamine E**

La vitamine E ou alpha tocophérol fait partie des vitamines liposolubles, leur caractère hydrophobe permet de l'insérer à l'intérieur des membranes riches en acides gras polyinsaturés où ils jouent un rôle protecteur contre les radicaux libres par la production de radical tocophérol avec les radicaux peroxydes ( $\text{ROO}^\cdot$ ) et empêchant à partir de cette réaction la propagation de la peroxydation des lipides (Tessier et Marconnet, 1995, Haleng et al., 2007).

#### 3.7.2.4. Caroténoïdes

Représenté principalement par le béta carotène également appelé "provitamine A". à cause de leur structure qui contient plusieurs doubles liaisons, il assure la désactivation de l'oxygène ( $O_2$  singulet) et piège les radicaux peroxy ( $ROO^\cdot$ ) et alkyles ( $R^\cdot$ ) (Krinsky , 2014 ; Badouard,2006).

**Partie II :**



*Etude*

*expérimentale*

*Matériel*  
*Et*  
*Méthode*

## 1. Matériel

### 1.1. Souches bactériennes

Les deux souches bactériennes lactiques utilisées dans notre étude appartiennent au genre *Lactobacillus sp* (BL3, BL4), elles ont été fournies par le laboratoire de Biochimie Appliquée.

Ces bactéries ont été préparées séparément par culture dans un milieu MRS liquide (Man Regosa Shape) et incubées pendant 48h et à 37°. Après centrifugation, les surnageants ont été éliminés et le culot a été récupéré et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (Shokryazdan et al., 2016).

### 1.2. Animaux

L'étude *in vivo* est effectuée sur des rats appartenant à la race Wister Albinos, ils sont fournis par l'animalerie de l'Université Frère Mentouri. Constantine 1. Ils sont amenés à une phase d'adaptation pendant 15 jours. Le nombre de 25 rats males adultes d'un poids compris entre 60 et 150g ont été utilisés, les rats ont un accès libre à l'eau *ad Libitum* et à un régime standard d'aliment solide (20 g/jour / rat), fourni par Ouled-Hamla Ain M'Lila de la wilaya d'Oum-EL-Bouaghi (Venkatesan et al., 2014).

## 2. Méthode

### 2.1. Groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis en 5 lots comprenant chacun cinq rats (N= 5), pesés chaque jour durant le protocole expérimental afin de suivre la cinétique pondérale. Les animaux sont maintenus dans une animalerie à température constante (20-22°C) soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h. Les rats sont ensuite traités conformément aux principes et directives énoncées dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

Les cinq lots reçoivent différents traitements comme suit :



**Tableau 03:** Répartition des rats en fonction de leur traitement.

<b>Groupe T(Témoin)</b>	Ne reçoit aucun traitement.
<b>Groupe SO (Stress oxydant)</b>	Reçoit une dose d'Acétaminophène 500mg/Kg pendant 29 jours.
<b>Groupe NAC (Control positif)</b>	Reçoit quotidiennement pendant 29 jours une dose d'Acétaminophène 500mg/Kg + traitement avec N-acétyl-L-cystéine (NAC) 600mg/Kg pendant 28 jours.
<b>Groupe BL3</b>	Reçoit quotidiennement pendant 29 jours une dose d'Acétaminophène 500 mg/Kg + traitement avec bactérie lactique BL3 ( $1.10^9$ UFC / rat / jour) pendant 28 jours.
<b>Groupe BL4</b>	Reçoit quotidiennement pendant 29 jours une dose d'Acétaminophène 500 mg/K +traitement avec bactérie lactique BL4 ( $1.10^9$ UFC / rat / jour) pendant 28.

## 2.2. Induction du stress oxydant par Acétaminophène

Après une période d'adaptation de deux semaines, le stress oxydant est induit en utilisant l'Acétaminophène pour une période de 29 jours (tableaux 03), suivant le protocole de Venkatesan et ses collaborateurs (Venkatesan et al., 2014). Une dose journalière de 500mg/kg a été administrée par voie orale (*per os*) à l'aide d'une sonde spécifique.

## 2.3. Traitement avec les bactéries lactiques et le N-acétyl-L-cystéine

Après l'induction du stress oxydant pendant quatre semaines, les rats (5 rats par groupe) ont été soumis à des traitements avec les bactéries lactiques (BL3.BL4) et le contrôle positif N- Acetylcysteine (NAC) pendant quatre semaines. Les différents traitements ont été administrés quotidiennement par voie orale à travers une sonde du gavage spécifique (Tableau 03).

Une solution de bactéries lactiques BL3, BL4 avec une concentration de  $1.10^9$  UFC a été préparée dans de l'eau physiologique, et une dose journalière de 10ml/kg a été administrée pendant 28 jours pour les rats des groupes (BL3, BL4) (Amaretti et al., 2013)

(Tableau 03).

Le contrôle positif NAC a été administré avec une dose de 600mg/kg quotidiennement pendant 28 jours (le groupe NAC) (Arfsten et al., 2004). (Tableau 03).

#### **2.4. Évaluation clinique**

Les rats ont été observés chaque jour pendant la période du traitement afin d'enregistrer les éventuels signes cliniques qui peuvent apparaître, à savoir:

- signes physiques du stress (mouvement, comportement),
- structure de fourrure des rats,
- perte de cheveux (poils),
- amaigrissement du corps,
- mortalité après la durée de laissé.

#### **2.5. Sacrifice des animaux et le prélèvement des organes**

Les différents groupes des rats traités et non traités sont soumis à un sacrifice après la fin de la période du traitement comme suit:

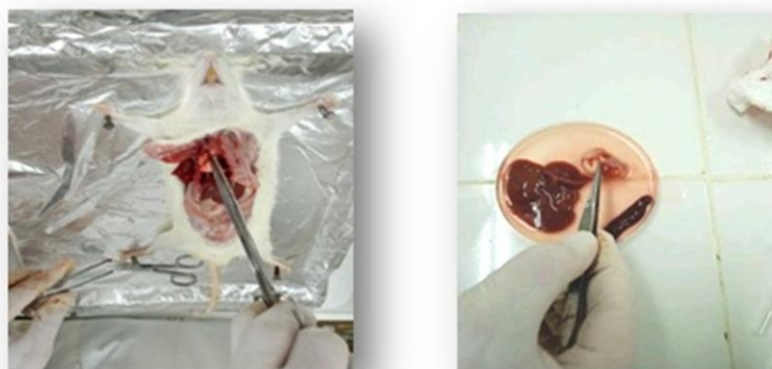
- Groupes BL3, BL4, NAC : Dissection après 57 jours (29 jours du traitement avec acétaminophène et 28 jours du traitement avec le NAC et les bactéries lactique BL3, BL4).
- Groupe SO : Dissection après 29 jours d'induction du stress oxydant avec l'acétaminophène.
- Groupe T : Dissection après 29 jours.

L'anesthésie des rats est effectuée en utilisant le chloroforme et le prélèvement sanguin a été réalisé avec ponction cardiaque. Le sang récupéré est immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 (Amaretti et al., 2013)(figure 06).



**Figure 06** : Euthanasie des rats par chloroforme sous cloche et prélèvement du sang par ponction cardiaque.

Les organes internes (foie, reins, cœur et estomac) 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  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  5 (Lin et al., 2018) (figure 07).



**Figure 07** : Extraction et rinçage des organes par PBS

## 2.6. Analyses biochimiques

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

*Résultats*

*Et*

*Discussion*

## 1 .Evaluation des signes cliniques

Après quatre semaines d'induction du stress oxydant avec l'acétaminophène et quatre semaines dutraitement avec les deux souches bactériennes BL3, BL4 et le NAC de multiples signes cliniques ; mouvement, perte fourrure, structure, amaigrissement et mortalité, a été suivie et évaluée pour les rats de chaque groupe expérimental.

Le tableau 04 représente les signes cliniques des rats durant la période d'induction de stress par l'acétaminophène.

**Tableau 04** : Signes cliniques des rats pendant la phase d'induction de stress

Phase d'induction de stress						
Caractère	Semaine	Témoin	SO	NAC	BL3	BL4
<b>STRESS DES RATS</b>	1ère	+++	+++	+++	+++	+++
	2ème	+++	+++	+++	++	+++
	3ème	+++	+++	+++	+++	+++
	4ème	+++	++	++	++	+
<b>Perte de fourrure</b>	1ère	+	+	+	+	±
	2ème	±	-	+	+	±
	3ème	±	-	+	±	-
	4ème	±	±	+	+	-
<b>structure de fourrure</b>	1ère	+	+	+	+	+
	2ème	+	+	+	±	±
	3ème	+	+	+	+	+
	4ème	+	+	+	+	±
<b>Amaigrissement du corps</b>	1ère	+	±	±	±	±
	2ème	+	±	±	±	±
	3ème	-	±	±	-	±
	4ème	+	±	±	-	±

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

Perte de ferrure : + : il n'y a pas perte de ferrure, - : perte de ferrure,  $\pm$  : moitié des rats représente perte de ferrure.

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

Amincissement du corps : + : pas de perte de poids, - : perte de poids,  $\pm$  : la moitié des rats représente perte de poids.

D'après le tableau 04, les rats de groupe SO, NAC et BL4 ont gardé un bon état de santé dans les trois premières semaines de la phase d'induction du stress, sauf le groupe BL3, où leur mouvement est perturbé pendant la deuxième semaine. Cependant, pendant la dernière semaine, le mouvement des rats des groupes SO, NAC, BL3 et BL4 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 (Tableau 04).

En ce qui concerne la perte de ferrure, les rats de groupe BL4 ont montré des signes de perte de ferrure dès la première semaine jusqu'à la dernière semaine où il y a une aggravation de la perte de ferrure, par contre les rats de groupe témoin et groupe SO ont commencé à montrer la perte de ferrure à partir de la deuxième semaine jusqu'à à la fin de cette phase, cela est dû à l'installation de stress après l'ingestion d'acétaminophène. Pour les groupes NAC et BL3, les rats ne présentent aucun signe de perte de ferrure au cours de cette phase (tableau 04).



**Figure 08:** Perte de ferrure chez les rats après l'induction du 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 la période d'induction du stress oxydatif, par contre, on remarque que la ferrure des rats de groupe BL3, BL4, est frisée

pendant la deuxième et la quatrième semaine. Cela peut être dû à la faiblesse des rats causé par le stress et un effet probable causé par les souches bactériennes. (Figure 08, Tableau 04).

Pour le critère de la mortalité, au cours de la période expérimentale, nous n'avons enregistré aucune mortalité des rats pour 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, où cette diminution a été prouvée pour les groupes SO, NAC et BL4 tout au long de la période d'induction du stress. Contrairement au groupe BL3 où une très forte diminution de poids a été enregistrée au cours de la troisième semaine, de même le groupe témoin qui a enregistré une diminution mais, ils sont rapidement revenus à la normale durant la dernière semaine d'induction du stress avec la poursuite de cette baisse pour le groupe BL3 pendant cette semaine et (Tableau 04).

Ce résultat est comparable à celui qui a été démontré par les études de plusieurs groupes de recherches (Arfsten et al., 2004 ; Shokryazdan et al., 2016).

**Tableau 05** : Signes cliniques des rats pendant la phase de traitement par les bactéries et le NAC

Phase de traitement par les bactéries et le NAC				
Caractère	Semaine	NAC	BL3	BL4
STRESS DES RATS	1ère	++	+++	+++
	2ème	+++	+++	+++
	3ème	+++	+++	+++
	4ème	+++	+++	+++
Perte de ferrure	1ère	+	±	±
	2ème	+	+	±
	3ème	+	+	+
	4ème	+	+	+
structure de ferrure	1ère	+	+	±
	2ème	+	+	+
	3ème	+	+	+
	4ème	+	+	+
Amincissement du corps	1ère	-	-	-
	2ème	±	±	±
	3ème	±	±	-
	4ème	±	±	±

Après le traitement par les bactéries et le NAC on a observé une amélioration significative de mouvement des rats à partir de la première semaine pour les groupe BL3 et BL4, et à partir de deuxième semaine pour le groupe NAC. De plus, les signes de perte de ferrure qui disparaissent durant la deuxième semaine du traitement pour le groupe BL3 et la troisième semaine pour le groupe BL4, ils ont été disparus et les rats ont pu récupérer leur ferrure. (Tableau 05, figure9). D'après ces résultats, on peut signaler que l'administration des bactéries a un effet positif sur le comportement des rats *vis-à-vis* le stress oxydant.



**Figure 09:** Récupération et amélioration de structure de ferrure après le traitement par les bactéries et le NAC.

Pour le critère de la perte du poids, les résultats ont montré une perte significative pour les rats des groupes NAC, BL3 et BL4 durant la première semaine du traitement, car les rats au premier temps ne pas pu s'adapter avec ce traitement, et pendant la deuxième semaine, on a remarqué que le poids de quelque rats est devenu stable mais il y a toujours une perte du poids pour les autres rats. Les résultats enregistrés ont indiqué que les lactobacilles peuvent diminuer le poids des rats.

## 2. Evaluation de la consommation alimentaire

La consommation alimentaire des rats a été suivie et enregistrée pour tous les groupes pendant toute la période expérimentale. Le tableau représente la consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage de différents groupes témoin, SO, NAC, BL3, BL4.



**Tableau 06** : Consommation alimentaire des rats par semaine en pourcentage (%)

Phase	JOURS	Témoin	SO	NAC	BL3	BL4
Adaptation	J 1 à J7	93,61	83,95	86,93	86,95	87,48
	J8 à J14	95,4	86,26	90,44	100	90,06
Induction	J1 à J7	99,56	92	95,7	87,24	84,35
	J8 à J14	99,98	93,36	96,62	83,12	79,4
	J14 à J21	100	99,67	98,93	93,82	81,26
	J22 à J29	100	95,85	94,04	97,49	89,14
Traitement	J1 à J7	/	/	86,61	86	81,32
	J8 à J14	/	/	97,5	76,21	83,5
	J14 à J21	/	/	89,56	83,94	82,59
	J22 à J28	/	/	92,17	74,16	68,32

Selon le tableau 06, la consommation alimentaire des groupes SO et NAC augmente au fur et à mesure avec le temps à partir de la phase d'adaptation jusqu'à la troisième semaine de la phase d'induction du stress oxydant, cette augmentation est similaire à celle du groupe témoin (témoin 100% vs SO 99,67%). Par contre, on a signalé une diminution de la consommation alimentaire pendant la dernière semaine de phase d'induction du stress oxydatif. Cette diminution peut être due à l'installation de la maladie; le stress qui a été induit par l'ingestion quotidiennement d'acétaminophène 500mg/Kg pendant 29 jours.

Par contre, les groupes BL3 et BL4, ont montré une diminution de la consommation d'aliment pendant les deux premières semaines de la phase d'induction du stress, cela indique que les rats sont influencés par le stress oxydant. Cependant, dans les deux dernières semaines leur consommation est augmentée de façon naturelle. Cela indique que le stress oxydant peut affecter l'appétit chez les rats. Ce résultat ne concorde pas avec celui trouvé par Venkatesan et ses collaborateurs (Venkatesan et al., 2014).

Dans la phase du traitement avec les bactéries et le NAC, on a observé que la consommation alimentaire chez le groupe NAC est perturbée, elle a diminué pendant la première et la troisième semaine et augmentée pendant la deuxième et la quatrième semaine de la même phase.

Contrairement au résultat obtenu par Shokryazdan et ses collaborateurs (Shokryazdan et al., 2016), ils ont indiqué que le traitement avec les lactobacilles n'affecte pas la consommation alimentaire. Sur la base des résultats trouvés, on a remarqué une perturbation de la consommation alimentaire pour le groupe BL3 et une diminution pour le groupe BL4 (tableau 06). De ce fait, on peut constater que les lactobacilles peuvent diminuer la consommation alimentaire.

### 3. Evaluation du poids corporel

Le poids corporel est un critère que nous avons suivi pendant toute la période expérimentale (figure 10) représente le pourcentage de croissance des rats de groupe témoin, SO, NAC, BL3 et BL4. Le pourcentage de croissance de groupe SO est diminué par rapport au groupe témoin et cela pourrait être expliqué par la diminution de la consommation alimentaire des rats vers la fin de la phase d'induction du stress. Le même est signalé pour les groupes NAC, BL3 et BL4, il y a une diminution du pourcentage de croissance par rapport au groupe témoin et groupe SO. Cette diminution de pourcentage d'augmentation du poids est liée à la perturbation de consommation d'aliment pour les rats.

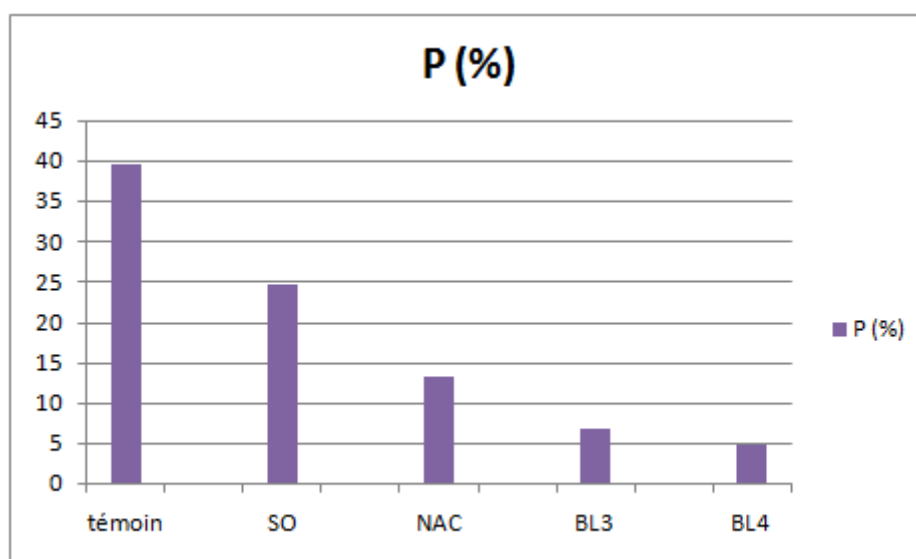
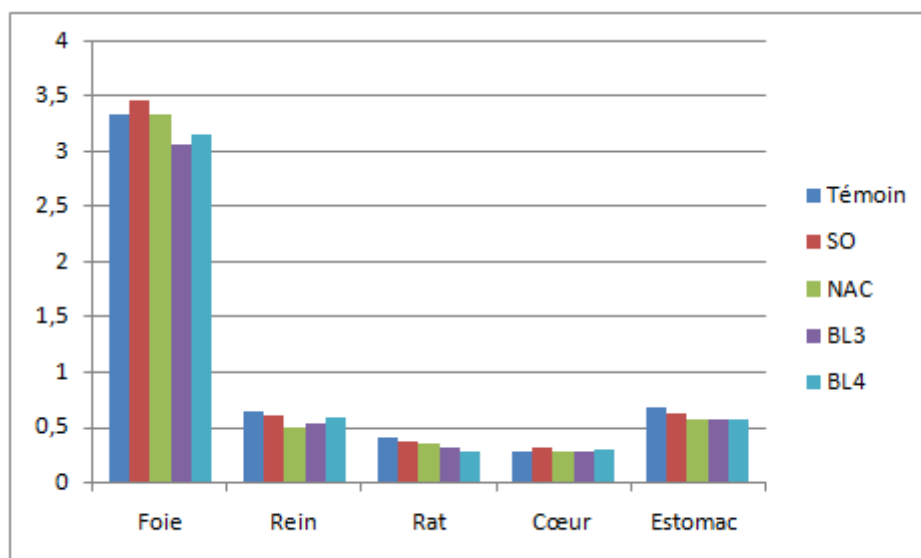


Figure 10 : Pourcentage d'augmentation du poids des rats

### 4. Evaluation de l'Index organe

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 (%) (Figure 11).



**Figure 11** : Poids relatif des organes des rats

### Foie

D'après la figure 11, Les résultats ont révélé un changement significatif du poids relatif du foie chez les rats traités avec l'acétaminophène (groupe SO) a été estimé à (3,46%) comparativement aux groupes témoin et NAC estimés à (0,33% pour ces deux groupes ) cela peut s'expliquer par une consommation accrue d'aliments durant la période d'induction du stress. par contre, les deux groupes traités avec les deux souches bactériennes ont présente une réduction significative du poids relatif du foie et particulièrement me groupe traité par la bactérie BL3 (3,05%) cela peut être due à une perte d'appétit pendant cette période.

### Rein

Nos résultats indiquent une baisse du poids rénal relatif dans les groupes ayant reçu les deux bactéries BL3, BL4 estimés respectivement à (0,52%, 0,58%), et le groupe NAC estimé à (0,50%), alors que les deux groupes témoin et groupe SO, les proportions étaient similaires respectivement (0,64%, 0,60%).

### Rat

Les résultats de l'étude sur le poids relatif de la rate ont démontré que les rats de groupe SO, de NAC et les deux groupes traités avec les deux bactéries (BL3, BL4) ont diminuées comparativement au groupe témoin (0,40%).

## Cœur

Les résultats montrent concernant le poids relatif de cœur un peu de gonflement cardiaque chez le groupe contrôle négatif estimé à ( 0,30%) par rapport aux rats des groupes témoin , NAC , BL3,BL4 qui était un pourcentage similaire entre eux estimés respectivement à (0,27%, 0,28%,0,28%, 0,29%), cela peut être due à l'exposition prolongée du corps au stress.

## Estomac

Nos résultat indique que le poids relatif de l'estomac de groupe SO est diminué par rapport au groupe témoin estimées respectivement (0,62%, 0,67%) tandis que les deux groupes traitées par les bactéries BL3, BL4 et le groupe traité par le NAC qui à était un pourcentage du poids similaire entre eux estimé respectivement à (0,56 % , 0,56%, 0,57%) et diminué par rapport au groupe témoin et groupe SO.

## 5. Evaluation des paramètres biochimiques

Après le sacrifice des rats, le bilan biochimique est effectué sue le sérum du sang prélevé. Ce bilan consiste en un paramètre hépatique (ALAT), un paramètre rénal (Urée) et unparamètre lipidique (Cholestérol).

Les variations dans les concentrations sériques des paramètres biochimiques ALAT, Cholestérol et Urée chez les rats traités et les rats de groupe témoin, sont présentées dans le tableau 07.

**Tableau 07** : Taux sérique d'AlAT, de cholestérol, d'urée chez les rats de différents groupes

Groupe	ALAT (U/L)	Cholestérol	
		(g/L)	Urée (g/L)
témoin	42,22	0,75	0,58
SO	53,14	0,76	0,67
NAC	30,05	0,59	0,55
BL3	28,36	0,58	0,54
BL4	27,52	0,66	0,57

(ALAT: alanine aminotransférase)

D'après les résultats trouvés, nous avons remarqué une augmentation significative des concentrations sanguines d'ALAT chez les rats de groupe SO par rapport au 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 est un signal important du stress oxydant qui été installé après l'induction avec l'acétaminophène. Pour les rats traités aux lactobacillus BL3, BL4 et au NAC, il ya eu une diminution importante comparativement aux rats traités à l'acétaminophène qui ont été estimés respectivement (28,36U/l, 27,52U/l). Cette diminution montre un effet hépatoprotecteur des lactobacillus et de NAC contre le stress oxydant.

Pour le cholestérol. Nos résultats montrent une augmentation du taux de cholestérol chez les rats traités par l'acétaminophène (0.76 g/l) par rapport aux rats témoins (0,75 g/l), cette augmentation est causée par le stress oxydant induit par l'administration d'acétaminophène quotidiennement. Après le traitement avec le NAC, BL3 et BL4, on remarque une diminution du taux de cholestérol par rapport au groupe SO, (NAC : 0,59, BL3 : 0,58), Cependant on remarque une diminution très importante du cholestérol chez les rats traités avec les bactéries BL4 (0,66g/l). D'après cette évaluation, on constate que la bactérie BL4 possède un effet antioxydant plus important que BL3 et le NA (tableau 07).

Les résultats de l'urée, paramètre rénal, ont montré une augmentation significative de la teneur en urée sanguine chez les rats du groupe SO, qui ont traité par l'acétaminophène (0,67 g/l) par rapport aux rats du groupe témoin qui a été estimée à (0,58 g/l). Pour les rats traités avec les lactobacillus et le NAC, on a observé une diminution significative de l'urée par rapport à ceux 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 du stress oxydant, cependant, la diminution de ce taux après le traitement par les bactéries BL3, BL4 et le NAC indique que les lactobacilles et le NAC ont un effet antioxydant ( tableau 07).

*Conclusion*

*Et*

*Perspectives*

## Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail de recherche est l'investigation de l'effet protecteur de *lactobacillus sp* LB3 LB4 *in vivo* contre le stress oxyda induit par l'administration oral d'acétaminophène.

L'étude expérimentale est répartie en deux phases, la première consiste à l'induction du stress oxydant chez des rats males Wistar Albinos pendant 29 jours, suivi d'une deuxième phase où les rats sont traités avec deux souches de *lactobacillus sp* LB3 BL4 pendant 28 jours.

Les conséquences de stress oxydant qui ont été enregistré chez les rats pendant cette étude sont les suivants :

- Perte du poids avec une diminution de mouvement des rats.
- Perte significatif de ferrure.
- Augmentation du taux sérique d'ALAT, d'urée et cholestérol

Le traitement par les bactéries BL3 et BL4 provoque des effets bénéfiques pour la santé des rats *vis-à-vis* le stress oxydant par :

- L'amélioration du mouvement des rats.
- Récupération de ferrure et amélioration de leur structure.
- Régulation du taux sérique des paramètres hépatiques, lipidiques et rénal (ALAT, Cholestérol, Urée) et leur maintien aux taux physiologique.

L'administration des bactéries lactiques cause aussi une perte de poids résulte d'une perturbation de consommation alimentaire.

Ce résultat confirme le rôle efficace et bénéfique des bactéries LB3 LB4 contre le stress oxydant mieux que le NAC.

Cette étude *in vivo* reste insuffisance pour l'utilisation humaine de ces souches bactérienne afin d'explorer leurs effets antioxydant et anti obésité. Pour cela il est nécessaire de réaliser d'autres études cliniques pour confirmé l'efficacité anti oxydante et anti obésité chez l'être humain.

*Références  
bibliographiques*



## Références bibliographiques

### A

Adams, C. A. (2010). The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition research reviews*, 23(1), 37-46.

Aires, J., Doucet-Populaire, F., & Butel, M. J. (2007). Tetracycline resistance mediated by tet (W), tet (M), and tet (O) genes of *Bifidobacterium* isolates from humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8), 2751-2754.

Averina, O. V., Poluektova, E. U., Marsova, M. V., & Danilenko, V. N. (2021). Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* as representatives of the human gut microbiota. *Biomedicines*, 9(10), Merck, L. Données scientifiques : association exclusive de probiotiques. Dijon: Merck Médication Familiale. 2009. 340.

Asan-Ozusaglam, M., & Gunyakti, A. (2019). *Lactobacillus fermentum* strains from human breast milk with probiotic properties and cholesterol-lowering effects. *Food science and biotechnology*, 28(2), 501-509.

Abele, D., Heise, K., Portner, H. O., & Puntarulo, S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *Journal of Experimental Biology*, 205(13), 1831-1841.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

Albert, M. G., Rousselot, D. B., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'Actualité Chimique*, 11, 91-96.

Abou Ezzi, S. (2007). Les effets du stress oxydatif sur la superoxyde dismutase et ses implications dans la pathogenèse de la sclérose latérale amyotrophique. *Library and Archives Canada= Bibliothèque et Archives Canada*, Ottawa.

Amaretti, A., Di Nunzio, M., Pompei, A., Raimondi, S., Rossi, M., & Bordini, A. (2013). Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(2), 809-817.

Arfsten, D. P., Johnson, E. W., Thitoff, A. R., Jung, A. E., Wilfong, E. R., Lohrke, S. M., ... & Bobb, A. J. (2004). Impact of 30-day oral dosing with N-acetyl-L-cysteine on Sprague-Dawley rat physiology. *International journal of toxicology*, 23(4), 239-247.

### **B**

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., ... & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the national academy of sciences*, 101(44), 15718-15723.

Burgain, J., Gaiani, C., Jeandel, C., Cailliez-Grimal, C., Revol, A. M., & Scher, J. (2012). Maldigestion du lactose: formes cliniques et solutions thérapeutiques. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 47(4), 201-209

Burns, A. J., & Rowland, I. R. (2000). Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. *Current issues in intestinal microbiology*, 1(1), 13-24.

Butel, M. J. (2014). Probiotics and their medical use. *J Anti Infect*, 16, 33-43.

Bouchefra A. 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).2012.135p

Bocle J.-C., Thomann C. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. Nancy : AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2005.

Belhamra, Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires, thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 147p

Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2), 3-8.

Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M. C., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *médecine/sciences*, 22(1), 47-53.

Badouard, C. (2006). Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

Barhoumi, R., Bowen, J. A., Stein, L. S., Echols, J., & Burghardt, R. C. (1993). Concurrent analysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellular communication. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 14(7), 747-756.

BENAMARA, F-Z. (2017). Stress oxydant et pathologies humains (thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie). Université MOHAMMED V-RABAT.

Bonnefont-Rousselot, D., Raji, B., Walrand, S., Gardes-Albert, M., Jore, D., Legrand, A., ... & Vasson, M. P. (2003). An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52(5), 586-589.

Brot, N., & Weissbach, H. (2000). Peptide methionine sulfoxide reductase: biochemistry and physiological role. *Peptide Science*, 55(4), 288-296.

Blume-Peytavi, U. (2009, May). Cheveu, vieillissement et environnement: aspects fondamentaux. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 136, pp. S25-S28). Elsevier Masson.

Brunaud-Danel, V., Moreau, C., Devos, D., & Defebvre, L. (2016). Les nouvelles voies de recherche thérapeutique dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA). *Pratique neurologique-FMC*, 7(1), 9-15.

### C

Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., & Butel, M. J. (2007). Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 31(5), 533-542.

Calmettes, C. (2020). Stimuler son système immunitaire: approche nutritionnelle et complémentaire (Doctoral dissertation).

Casarotti, S. N., Carneiro, B. M., Todorov, S. D., Nero, L. A., Rahal, P., & Penna, A. L. B. (2017). In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from water buffalo mozzarella cheese. *Annals of microbiology*, 67(4), 289-301.

Couto, N., Malys, N., Gaskell, S. J., & Barber, J. (2013). Partition and turnover of glutathione reductase from *Saccharomyces cerevisiae*: a proteomic approach. *Journal of proteome research*, 12(6), 2885-2894.

Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *The American journal of clinical nutrition*, 71(2), 621S-629S.

### D

Doré, J., & Corthier, G. (2010). Le microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 34(4), 7-16.

Delcenserie, V., Martel, D., Lamoureux, M., Amiot, J., Boutin, Y., & Roy, D. (2008). Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current issues in molecular biology*, 10(1-2), 37-54.

Derbre, S. (2010). Médicaments, compléments alimentaires, alicaments ou nutraceutiques, comment y voir clair?. *Actualités pharmaceutiques*, 49(496), 14-19.

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 143-154.

Dansen, T. B., & Wirtz, K. W. (2001). The peroxisome in oxidative stress. *IUBMB life*, 51(4), 223-230.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant(aspects biologiques et pathologiques).

Deavall, D. G., Martin, E. A., Horner, J. M., & Roberts, R. (2012). Drug-induced oxidative stress and toxicity. *Journal of toxicology*, 2012.

DWASSY, A. (2014). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques (Doctoral dissertation).

Deby-Dupont, G., Deby, C., & Lamy, M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11(1), 28-39.

Dennis, K. J., & Shibamoto, T. (1989). Production of malonaldehyde from squalene, a major skin surface lipid, during UV-irradiation. *Photochemistry and Photobiology*, 49(5), 711-716.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

De Fin d'Etude, P. ÉVALUATION DE L'EXPOSITION AU PLOMB ET CADMIUM ET IMPACT SUR QUELQUES PARAMETRES DU STATUT OXYDANT/ANTI OXYDANT CHEZ LES OUVRIERS EXPOSES AUX FUMÉES DE SOUDAGE.

Deby, C., & Pincemail, J. (1986). Toxicité de l'oxygène, radicaux libres et moyens de défense. *Presse Méd*, 15, 1468-1474.

Deby-Dupont, G., Deby, C., & Lamy, M. (1999). Neutrophil myeloperoxidase revisited: it's role in health and disease. *Intensivmedizin und Notfallmedizin*, 36(6), 500-513.

de Jaeger, C., & Cherin, P. (2011). Les théories du vieillissement. *Médecine & longévité*, 3(4), 155-174.

Desport, J. C., & Couratier, P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives Oxydative stress in neurodegenerative diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 253-259.

Djamila, B. E. N. D. J. E. D. I., & Nesrine, B. A. R. K. A. T. I. (2021). Intérêt et importance biotechnologiques des probiotiques (Doctoral dissertation).

## E

EZZARIGA, N. (2015). PROBIOTIQUES: Applications thérapeutiques et Effets secondaires (Doctoral dissertation).

Ebel, B. (2012). Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz (Doctoral dissertation, Dijon).

E., Timmerman, H. M., ... & Söderholm, J. D. (2009). Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PloS one*, 4(2), e4512.

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341-390.

Eggers, K. M., Lind, L., Venge, P., & Lindahl, B. (2009). Will the universal definition of myocardial infarction criteria result in an overdiagnosis of myocardial infarction?. *The American journal of cardiology*, 103(5), 588-591.

EZZARIGA, N. (2015). PROBIOTIQUES: Applications thérapeutiques et Effets secondaires (Doctoral dissertation).

### F

Favre, G. (2004). Prébiotiques et probiotiques, ont-ils un réel intérêt pour la santé? Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine.

Flourié, B., & Nancey, S. (2007). Propriétés fonctionnelles des probiotiques. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42, 38-44.

Fanny Lorot. La place des probiotiques dans l'arsenal thérapeutique. Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine. *Sciences pharmaceutiques*. 2016. ffdumas-01410423ff

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

F Tessier, P Marconnet .(1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice *Science & Sports* 10.1-13 C Elsevier, Paris

Favier, A. (2003). Mécanismes biochimiques-Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 11(11-12), 108-117.

Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

**G**

- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gill, C. I. R., & Rowland, I. R. (2002). Diet and cancer: assessing the risk. *British journal of nutrition*, 88(S1), s73-s87.
- Gill, H. S. (2003). Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 755-773.
- Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). 'Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)'. Rahul Gupta, Kadirvelu Jeevaratnam, Amrin Fatima. *Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)*, *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (www. jetir. org)*, 5(10).
- Gilliland, S. E. (2001). Probiotics and prebiotics. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 327-344.
- Girardin, M., & Frossard, J. L. (2012). Place des probiotiques dans le traitement des maladies inflammatoires intestinales. *Revue médicale suisse*, (352), 1674
- Grunewald, K. K. (1982). Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Science*, 47(6), 2078-2079.
- Gabai, V. L., Meriin, A. B., Yaglom, J. A., Volloch, V. Z., & Sherman, M. Y. (1998). Role of Hsp70 in regulation of stress-kinase JNK: implications in apoptosis and aging. *FEBS letters*, 438(1-2), 1-4.

**H**

- Halpern, G. M., Prindiville, T., Blankenburg, M., Hsia, T., & Gershwin, M. E. (1996). Treatment of irritable bowel syndrome with Lacteol Fort: a randomized, double-blind, cross-over trial. *American Journal of Gastroenterology (Springer Nature)*, 91(8).
- Hotel, A. C. P., & Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Prevention*, 5(1), 1-10.

Heyman, M. (2007). Effets des probiotiques sur le système immunitaire: Mécanismes d'action potentiels. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42, 69-75.

Heyman, M., & Heuvelin, É. (2006). Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique: le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(2), 85-94.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.

Harrison, R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(6), 774-797.

Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of neurochemistry*, 97(6), 1634-1658.

Hiltenbrand, V. (1999). Place de la peroxydation lipidique dans les effets délétères des UV-A: mise en évidence des haptènes amino-imino-propène: intérêts potentiels des antioxydants lipophiles en cosmétologie (Doctoral dissertation).

Huet, O., & Duranteau, J. (2008). Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17(4), 387-392.

Harman, D. (2002). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Science of Aging Knowledge Environment*, 2002(37), cp14-cp14.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).

### I

Isolauri, E. T. Y. E. S., Arvola, T., Sütas, Y., Moilanen, E., & Salminen, S. (2000). Probiotics in the management of atopic eczema. *Clinical & Experimental Allergy*, 30(11), 1605-1610.



**J**

Jonkers, D. et Stockbrügger, R., 2007: Probiotics in gastrointestinal and liver diseases. *Rev. Art. Alim. Pharm. Ther*

**K**

Kajander, K., Krogius-Kurikka, L., Rinttilä, T., Karjalainen, H., Palva, A., & Korpela, R. (2007). Effects of multispecies probiotic supplementation on intestinal microbiota in irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 26(3), 463-473.

Kechaou, N. (2012). Identification de nouvelles souches probiotiques à propriétés (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat. L'Université Paris Sud, 193p).

Kiyosawa, H., Sugawara, C., Sugawara, N., & Miyake, H. (1984). Effect of skim milk and yogurt on serum lipids and development of sudanophilic lesions in cholesterol-fed rabbits. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40(3), 479-484.

Kesen, M. A., & Aiyegoro, O. A. (2018). Beneficial characteristics and evaluation criteria of probiotics. *Int. J. Food Biosci*, 1, 25-33.

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165.

Ko, H. J., Chen, Y. F., Hong, S. K., Wenisch, H., Yao, T., & Look, D. C. (2000). Ga-doped ZnO films grown on GaN templates by plasma-assisted molecular-beam epitaxy. *Applied Physics Letters*, 77(23), 3761-3763.

Krinsky, N. I. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014; 7(6): 617-635.

Kruk, J., & Y Aboul-Enein, H. (2017). Reactive oxygen and nitrogen species in carcinogenesis: implications of oxidative stress on the progression and development of several cancer types. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 17(11), 904-919.

**L**

Landman, C., & Quévrain, E. (2016). Le microbiote intestinal: description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de médecine interne*, 37(6), 418-423.

Larguèche, N. (2012). Identification de nouvelles souches probiotiques à propriétés immuno-modulatrices et anti-oxydantes (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Lutgendorff, F., Akkermans, L., & Soderholm, J. D. (2008). The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastrointestinal damage. *Current molecular medicine*, 8(4), 282-298

Lutgendorff, F., Nijmeijer, R. M., Sandström, P. A., Trulsson, L. M., Magnusson, K.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.

Levine, R. L., & Stadtman, E. R. (2001). Oxidative modification of proteins during aging. *Experimental gerontology*, 36(9), 1495-1502.

Lin, X., Xia, Y., Wang, G., Yang, Y., Xiong, Z., Lv, F.,...& Ai, L. (2018). Lactic acid bacteria with antioxidant activities alleviating oxidized oil induced hepatic injury in mice. *Frontiers in microbiology*, 2684.

### M

Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.

Marteau, P. (2004). Facteurs de contrôle de la flore. Définitions et modes d'action des probiotiques et prébiotiques. *Flore microbienne intestinale, Physiologie et pathologie digestive*. Paris: John Libbey Eurotext, 38-59.

Marteau, P., & Doré, J. (2017). Le microbiote intestinal. *EMC-Gastro-entérologie*, 12, 1-8.

Martirosyan, D. M., & Leem, C. (2019). The bioactive compounds of probiotic foods/supplements and their application in managing mental disorders. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 2(10), 206-220.

Moroni, O. (2007). Contribution à l'étude du rôle des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections entériques à *Listeria monocytogenes*: analyse in vitro et étude in vivo des mécanismes d'action antimicrobien.

Muller-Marin K., 2004. Probiotiques: bilan et perspectives. Dossier de presse, 3ème convention internationale. Paris, 1-15.

Mahdavi, R., Nikniaz, L., Ostadrahimi, A., Nikniaz, Z., & Khamnian, Z. (2017). Lactobacillus intake for 60 days favors antioxidant status of human breast milk: an RCT. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 26(4), 619-623.

Marianelli, C., Cifani, N., & Pasquali, P. (2010). Evaluation of antimicrobial activity of probiotic bacteria against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar typhimurium 1344 in a common medium under different environmental conditions. *Research in microbiology*, 161(8), 673-680.

Martarelli, D., Verdenelli, M. C., Scuri, S., Cocchioni, M., Silvi, S., Cecchini, C., & Pompei, P. (2011). Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Current microbiology*, 62(6), 1689-1696.

Marteau, P., P. Seksik, and F. Shanahan. 2003. Manipulation of the bacterial flora in inflammatory bowel disease. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology* 17:47-61.

Michelotti, A., Cestone, E., De Ponti, I., Giardina, S., Pisati, M., Spartà, E., &

Madsen, K. 2006. Probiotics and the immune response. *Journal of Clinical Gastroenterology* 40:232-234.

MARTEAU P., SHANAHAN F. « Basic aspects and pharmacology of probiotics : an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects ». *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. octobre 2003. Vol. 17, n°5, p. 725-740.

Marteau, P., Seksik, P., Luquet, F. M., & Corrieu, G. (2005). Probiotiques et alicaments. *Bactéries lactiques et probiotiques*. Lavoisier. Londres-Paris-New York, 254-289.

McHeyzer-Williams, L. J., & McHeyzer-Williams, M. G. (2005). Antigen-specific memory B cell development. *Annual review of immunology*, 23, 487.

Midolo, P. D., Lambert, J. R., Hull, R., Luo, F., & Grayson, M. L. (1995). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(4), 475-479.

Marteau, P. *Lactobacillus plantarum* 299v, données scientifiques. Paris: Merck Santé Familiale. 2009.

Ministre de la Santé de Canada 2017. Classification des produits situés à la frontière entre les aliments et les produits de santé naturels : Produits sous forme d'aliments [www.hc-sc.gc.ca/dhpmpps/prodnatur/bulletins/food\\_nhp\\_aliments\\_psn-2009-fra.php](http://www.hc-sc.gc.ca/dhpmpps/prodnatur/bulletins/food_nhp_aliments_psn-2009-fra.php)

Mazat, J. P., & Ransac, S. (2010). Le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell-La preuve par une approche stochastique?. *médecine/sciences*, 26(12), 1079-1086.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Mouhamed, D. H., Ezzaher, A., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L., & Najjar, M. F. (2012). Étude d'un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs: le malondialdéhyde. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 27(4), 153-158.

Matés, J. M., & Sánchez-Jiménez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 4(4), 339-345.

Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.

Mohinder, B., & Naveen, K. (2014). Physiological markers of oxidative stress. *Oxidative stress mechanisms and their modulation*, Springer India, 8-12.

## N

Novik, G., Sidarenka, A., Kiseleva, E., Kolomiets, E., & Dey, E. S. (2014). Probiotics. In: Brar, S. K., Dhillon, G. S., & Soccol, C. R. (Eds.). *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals* (pp. 199-205). London, New York: Springer.

Nagarajan, V., Peng, M., Tabashsum, Z., Salaheen, S., Padilla, J., & Biswas, D. (2019). Antimicrobial effect and probiotic potential of phage resistant *Lactobacillus plantarum* and its interactions with zoonotic bacterial pathogens. *Foods*, 8(6), 194.

Niedernhofer, L. J., Daniels, J. S., Rouzer, C. A., Greene, R. E., & Marnett, L. J. (2003). Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(33), 31426-31433.

Nitroxyde, N. O. O., & Peroxynitrite, O. N. O. O. *Le Stress oxydant* (2003).

Noichri, Y. (2016). Stress oxydant et infarctus du Myocarde (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay; Université de Monastir (Tunisie)).

### O

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—a review. *International journal of medical microbiology*, 300(1), 57-62.

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—a review. *International journal of medical microbiology*, 300(1), 57-62.

### P

Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of applied microbiology*, 100(6), 1171-1185.

PIQUEPAILLE, C. (2013). Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales 183p. Th. D: Pharmacie: Limoges.

Pulusani, S. R., & Rao, D. R. (1983). Whole body, liver and plasma cholesterol levels in rats fed thermophilus, bulgaricus and acidophilus milks. *Journal of food science*, 48(1), 280-281.

Patterson. « Probiotiques : bien faits au- delà des fonctions nutritionnelles de base». 2008. AAFC.1-4.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.

Pastre, J. (2005). Intérêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Doctoral dissertation).

Pimentel, C., Batista-Nascimento, L., Rodrigues-Pousada, C., & Menezes, R. A. (2012). Oxidative stress in Alzheimer's and Parkinson's diseases: insights from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., & Defraigne, J. O. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Actualité Médicale Internationale. Métabolismes-Hormones-Nutrition*, 5(4), 158-164.

### R

Rousseau, V. (2004). Evaluation d'oligosaccharides à effet prébiotique vis-à-vis de la microflore vaginale (Doctoral dissertation, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse).

Rowland, I. (2004). Probiotics and colorectal cancer risk. *British journal of nutrition*, 91(6), 805-807.

Rambaud, J. C. (2004). Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives. John Libbey Eurotext.

Ré, D. B., Nafia, I., Nieoullon, A., Le Goff, L. K., & Had-Aissouni, L. (2005, May). Stress oxydatif cérébral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implications sur la survie neuronale. In *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* (Vol. 24, No. 5, pp. 502-509). Elsevier Masson.

Reddy, I. (1994). JK and Mannaerts, GP Peroxisomal lipid metabolism. *Annu. Rev. Nutr*, 14, 343-370.

Roussel, A. M., & Ferry, M. (2002). Stress oxydant et vieillissement. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 285-291.

### S

Smoragiewicz, Wanda, Maria Bielecka, Andrzej Babuchowski, Armel Boutard, and Héléne Dubeau. 1993. 'Les probiotiques', *Canadian Journal of Microbiology*, 39: 1089-95.

Salminen, S., Playne, M. et Lee, Y. K., 2003: Successful probiotic lactobacilli: human studies on probiotic efficacy. Shortt. C et O'Brien. J. *Handbook. Function. Dairy. Prod.* 2, 13-21

Samedi, L., & Charles, A. L. (2019). Evaluation of technological and probiotic abilities of local lactic acid bacteria. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 7(1), 9-19.

Servin, A. L., & Coconnier, M. H. (2003). Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 741-754.

Smoragiewicz, W., Bielecka, M., Babuchowski, A., Boutard, A., & Dubeau, H. (1993). Les probiotiques. *Canadian Journal of Microbiology*, 39(12), 1089-1095.

Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3 (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).

St-Louis, R. (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

Shokryazdan, P., FaselehJahromi, M., Liang, J. B., Kalavathy, R., Sieo, C. C., & Ho, Y. W. (2016). Safety assessment of two new Lactobacillus strains as probiotic for human using a rat model. PLoS One, 11(7), e0159851.

Sub-acute toxicity studies of acetaminophen in Sprague Dawley rats. Biological and Pharmaceutical Bulletin, b14-00066.

### T

Tredez, M. (2008). Méta-analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs (Doctoral dissertation).

Tursi, F. (2021). Efficacy of a probiotic supplement in patients with atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. European Journal of Dermatology, 31(2), 225-232.

T.Parc (2016) m2c2 biothecnologies végétales

Thakur, C. P., & Jha, A. N. (1981). Influence of milk, yoghurt and calcium on cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis, 39(2), 211-215.

Thompson, L. U., Jenkins, D. J., Amer, M. V., Reichert, R., Jenkins, A., & Kamulsky, J. (1982). The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol. The American journal of clinical nutrition, 36(6), 1106-1111.

Todd, E. C. (1989). Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. Journal of Food Protection, 52(8), 595-601.

Tortora G., Derrickson B. Principes d'anatomie et de physiologie. Edition duRenouveau Pédagogique.Paris : De Boeck, 2007. XXX-1246 p.

Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & sports, 10(1), 1-13.

Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M. È., & Thorin, É. (2010). Âge et stress oxydant. *Médecine/Sciences*, 26, 875-80.

### V

van Reenen, C. A., & Dicks, L. M. (2011). Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. *Archives of microbiology*, 193(3), 157-168.

Vidal.fr « La base de données médicamenteuse des médecins libéraux ». [s.l.] : [s.n.], [s.d.]. Disponible sur : < <http://www.vidal.fr/> > (consulter en Janvier 2015)

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue (Boulogne)*, 18(1), 16-23.

Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14), 1677-1694.

Valentine, J. S., Doucette, P. A., and Potter, S. Z. (2004). Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annu Rev Biochem*.

Venkatesan, P. S., Deecaraman, M., Vijayalakshmi, M., & Sakthivelan, S. M. (2014).

### W

Wealleans, A. L., & Litten-Brown, J. C. (2010). The potential of probiotics as in-feed growth enhancers for swine. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 7(5), 65-75.

Wedajo, B. (2015). Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. *J Probiotics Health* 3: 129–138.

Wattanapitayakul, S. K., & Bauer, J. A. (2001). Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications. *Pharmacology & therapeutics*, 89(2), 187-206.



Wilson, A., & Salamatian, L. (2003). Les Radicaux Libres: Une question d'équilibre. Université de.

**Y**

Yan, F., & Polk, D. B. (2009). Mechanisms of Probiotic Regulation of Host Homeostasis. In Probiotics in Pediatric Medicine (pp. 53-68). Humana Press.

# *Résumé*

## Résumé

Plusieurs études *in vitro* ont été réalisées indiquent que les lactobacilles ont un effet bénéfique contre le stress oxydant. En effet, notre étude a été effectuée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des bactéries lactobacilles appartiennent à la souche *lactobacillus sp* BL3 et BL4, *in vivo*, sur un modèle animal (rats).

Pour cela, un stress oxydant a été induit chez des rats males par l'injection quotidienne de 500mg /kg d'acétaminophène par gavage gastrique pendant 29 jours.

Quand le stress oxydant a été installé, deux souches de *lactobacillus sp* BL3et BL4 ont été administrées aux rats avec une dose de 10ml /kg pendant 28 jours. Nos résultats montre que ces bactéries ont un effet antioxydant bénéfique contre le stress oxydant en maintien les paramètres biochimique presque aux taux physiologiques; ALAT, Cholestérol et l'Urée.

Mais aussi on a signalé l'amélioration de mouvement et comportement des rats affectés par le stress oxydant. De plus ces lactobacilles n'induit aucun effet indésirable grave sur la santé des rats. Ce qui nous a permis de confirmer le rôle bienfaisant de bactéries à caractère probiotique contre le stress oxydant.

**Mots clés** : lactobacilles, stress oxydant, *lactobacillus sp*, NAC, Acétaminophène, *in vivo*.

## Abstract

Several studies in vitro have been carried out indicating that lactobacillis have a beneficial effect to overcome oxidative stress. This study has been conducted to evaluate the antioxidant activity of lactobacillis bacterium belonging to the strain “*lactobacillus sp* BL3 and BL4, *in vivo*”, on an animal model (rats).

Subsequently, oxidative stress has been induced in male rats by injecting 500mg/kg of acetaminophen through a gastric gavage for 29 days. When the oxidative stress has been established, two strains of *lactobacillus sp* BL3 and BL4 have been given to the rats with a dose of 10ml/kg for 28 days. The results show that these bacterium have a beneficial antioxidant impact to overcome oxidative stress by maintaining biochemical parameters at physiological levels: ALT, Cholesterol, and Urea.

The improvement of movement and behavior of rats affected by oxidative stress has been also reported. In addition, these lactobacillis do not have any serious adverse effects on rats' health. Therefore, the beneficial role of probiotic bacterium against oxidative stress is confirmed.

**Key words:** lactobacillis, oxidative stress, *lactobacillus sp*, NAC, Acetaminophen, *in vivo*.

## ملخص

تم إجراء العديد من الدراسات المخبرية التي تشير إلى أن العصيات اللبنية لها تأثير مفيد ضد الإجهاد التأكسدي. دراستنا أجريت لتقييم النشاط المضاد للأكسدة للعصيات اللبنية التي تنتمي إلى سلالة *BL4 BL3 lactobacillus sp* على نموذج حيواني (الجرذان) ،

و لهذا تم حث إجهاد تأكسدي عند ذكور الجرذان عن طريق الحقن اليومي ل 500 مجم /كغ من الأسيتامينوفان عن طريق التزقيم المعدي لمدة 29 يوم، و بعد خلق إجهاد تأكسدي عند الجرذان تم اعطاء سلالتين من *lactobacillus sp* BL3 BL4 للجرذان بجرعة 10مل /كجم لمدة 28 يوم.نتائجنا أظهرت أن هذه البكتيريا لها تأثير مفيد كمضاد للأكسدة من خلال الحفاظ على تركيز المقاييس البيوكيميائية، ALAT الكوليسترول و اليوريا في مستوياتها الفزيولوجية ، وأيضاً تحسين عضوية و حركة الجرذان المتأثرة بالأكسدة.

علاوة على ذلك فإن هذه العصيات ليس لها أي آثار جانبية خطيرة على صحة الفئران. سمح لنا هذا بتأكيد الدور الفعال للبروبيوتيك ضد الإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية :** العصيات اللبنية، الإجهاد التأكسدي، *BL4 BL3 lactobacillus sp* ،NAC، أسيتامينوفان.*in vivo*.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : TEBBANI Ikram  
BELKHIR Hassiba

**Intitulé : Etude de l'effet des bactéries lactiques sur le stress oxydant induit chez le rat**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en  
Biochimie Appliquée**

### Résumé

Plusieurs études in vitro ont été réalisées indiquent que les lactobacilles ont un effet bénéfique contre le stress oxydant. En effet, notre étude a été effectuée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des bactéries lactobacilles appartiennent à la souche lactobacillus sp BL3 et BL4, in vivo, sur un modèle animal (rats).

Pour cela, un stress oxydant a été induit chez des rats males par l'injection quotidienne de 500mg /kg d'acétaminophène par gavage gastrique pendant 29 jours.

Quand le stress oxydant a été installé, deux souches de lactobacillus sp BL3et BL4 ont été administrées aux rats avec une dose de 10ml /kg pendant 28 jours. Nos résultats montre que ces bactéries ont un effet antioxydant bénéfique contre le stress oxydant en maintien les paramètres biochimique presque aux taux physiologiques; ALAT, Cholestérol et l'Urée.

Mais aussi on a signalé l'amélioration de mouvement et comportement des rats affectés par le stress oxydant. De plus ces lactobacilles n'induit aucun effet indésirable grave sur la santé des rats. Ce qui nous a permis de confirmer le rôle bienfaisant de bactéries à caractère probiotique contre le stress oxydant.

**Mots-clefs :** *Punica granatum*, DMH, lésions précancéreuses, écorces de grenade, cancer colique

Laboratoires de recherche :  
Laboratoires biochimie Appliquée.

<b>Encadreur :</b>	MOSBAH Asma	(MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).
<b>Examineur 1 :</b>	MAAMERI Zineb	(MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
<b>Examineur 2 :</b>	MADI Aicha	(MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).