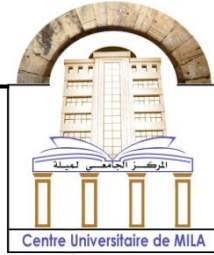


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

***Bifidobacterium* dans le tractus gastro-intestinal humain :
screening, caractéristiques et survie dans des conditions gastro-
intestinales simulées.**

Présenté par :

- Kriouet Ibtissam
- Zaoui Ahlam
- Cherafa Malak

Devant le jury :

Président :	M ^r Bousbia Sabri	Maître de conférences B
Examinatrice :	M ^{me} Amari Salima	Maître Assistante A
Promotrice:	M ^{elle} HadeF Sawsen	Maître Assistante A

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

En préambule de ce mémoire, on remercie ALLAH tout puissant de nous avoir guidé toutes les années d'étude et nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

On souhaitait adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce formidable cursus universitaire.

*On tient à remercier sincèrement madame **HADEF Sawsen** qui en étant directrice de ce mémoire s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements s'adressent vont à monsieur **BOUSBIA Sabri**, maitre de conférence B au centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, on remercie également madame **AMARI Salima**, maitre-assistant A au centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nos remerciements et notre reconnaissance à nos parents pour leur amour et leur soutien constant qu'ils ont témoigné tout au long de notre carrière.

Enfin on remercie nos amies pour leurs encouragements.

Merci à tous

Dédicaces

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

A l'âme pure de mon père Mouloud.

A ma chère mère Houria, que Dieu lui fasse miséricorde

Mes adorables sœurs : Nadjiba, Wafia, Hadjer et Dalal.

*Mes chers frères : Fares, Moussa et A. alalim et leurs femmes : Fatíha,
Ríma et Souhíla*

À toute les membres de ma famille, petits et grands sans exception

A mon cher binôme Malak et Ahlam

*À mes chers copines Chadia, Nesrine, Inas et Hadil et tous mes autres
amis.*

À ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments difficiles.

Et à tous ceux qui me sont chers.

Kricuet Ibtissam

Dédicaces

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

A l'âme pure de mon père

A ma mère pour ses encouragements et son sacrifice

Mes adorables sœurs : Meriem, Manar et Maroua

Ma chère frère: Mouhamed

A ma grand-mère et à mes tantes

À toute les membres de ma famille, petits et grands sans exception

A mes chers binôme : Ahlam et Ibtissem

À mes chers collègues et copines : Imane, Amani et Latifa et tous mes autres amis.

le plus grand merci dédicace à un perssone chère à mon coeur mon mari Moussa qui m'a beaucoup soutenue et ca depuis mon master merci et mille merci

À ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments difficiles.

Et à tous ceux qui me sont chers.

Therafa malak

Dédicaces

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

A l'âme pure de mon père A.momen.

A ma mère Fahima pour ses encouragements et son sacrifice.

Mes chers frères : Samir, mohammed, Alaeddine et Fouaz.

Ma adorable copine et sœur : Sahar

*A mon grand-père, grand-mère et à mes tantes
À toute les membres de ma famille, petits et grands sans exception*

A mon cher binôme IBTISSAM et MALAK

*À ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments difficiles.
Et à tous ceux qui me sont chers.*

Zaoui Ahlam

L'histoire des Bifidobactéries depuis leur découverte jusqu'à la nouvelle structure hiérarchique rassemble le genre *Bifidobacterium* dans la famille des *Bifidobacteriaceae* dans l'ordre des *Bifidobacteriales*. On les trouve chez les humains, les animaux et dans les habitats extracorporels. L'identification au niveau du genre, de l'espèce et de la souche repose sur des critères physiologiques et biochimiques tel que la température et le pH optimal, la sensibilité à l'oxygène, le métabolisme des hexoses, la structure de la paroi cellulaire, etc. *Bifidobacterium* se différencie des autres bactéries lactiques par son contenu élevé en G+C.

Le microbiote intestinal est l'ensemble des microorganismes peuplant le tube digestif. Constitué principalement de bactéries dont les bifidobactéries sont les plus intéressantes. On prétend que ces bactéries provoquent plusieurs effets bénéfiques sur la santé. Elles sont impliquées dans la mise en place du système immunitaire, dans la protection contre les agents pathogènes et dans diverses fonctions métaboliques. C'est grâce à cet effet qu'elles sont utilisées comme des probiotiques.

Le stress gastro-intestinal représente une condition physiologique cruciale rencontrée par les bactéries probiotiques durant le transit digestif. En effet, ces bactéries ingérées doivent survivre et exprimer leurs fonctions métaboliques spécifiques sous les conditions acides dans l'estomac, et en présence de bile dans l'intestin.

Mots clé : Les bactéries lactiques, *Bifidobacterium*, probiotique, microbiote, stress gastro-intestinal.

The history of Bifidobacteria from their discovery to the new hierarchical structure brings together the genus *Bifidobacterium* in the family *Bifidobacteriaceae* in the order *Bifidobacteriales*. They are commonly found in humans, animals and in extracorporeal habitats. Identification of genus, species and strain is based on physiological and biochemical criteria such as the temperature and the pH optimum, oxygen sensitivity, hexose metabolism, cell wall structure, etc. *Bifidobacterium* differs from other lactic acid bacteria by its high content of G+C.

The intestinal microbiota is the set of microorganisms populating the digestive tract. It is mainly composed of bacteria of which the most interesting are the bifidobacteria. It is claimed that these bacteria cause several health benefits. They are involved in the implementation of the immune system, in providing protection against pathogens and in various metabolic functions. This is why they are used as probiotics.

Gastrointestinal stress represents a crucial physiological condition encountered by probiotic bacteria during digestive transit. In fact, the ingested bacteria must survive and perform their specific metabolic functions under acidic conditions in the stomach, and in the presence of bile in the gut.

Key words: Lactic acid bacteria, *Bifidobacterium*, probiotic, microbiota, gastrointestinal stress.

ينسب تاريخ جنس *Bifidobacterie* منذ اكتشافه إلى غاية الهيكل الهرمي الجديد إلى عائلة *Bifidobacteriaceae* ضمن ترتيب *Bifidobacteriales*, ويستند تحديد الهوية على مستوى الجنس والأنواع والسلالات إلى معايير فسيولوجية وكيميائية حيوية مثل درجة الحرارة المثلى ودرجة الحموضة، وحساسية للأكسجين، واستقلاب السكريات السداسي، وبنية جدار الخلية، وما إلى ذلك. يختلف *Bifidobacterium* عن البكتيريا اللبنية الأخرى في محتواها العالي من G+C.

الميكروبيوتا المعوية هي مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في الجهاز الهضمي. تتكون بشكل أساسي من البكتيريا حيث ان اهمها بكتيريا البيفيدوس . يُزعم أن هذه البكتيريا لها العديد من الآثار الصحية المفيدة وتشارك في بناء جهاز المناعة، والحماية من مسببات الأمراض و تساهم في وظائف التمثيل الغذائي المختلفة. وبفضل هذا التأثير يتم استخدامها كبروبيوتيك.

الإجهاد المعدي المعوي هو حالة فسيولوجية حاسمة تواجهها بكتيريا البروبيوتيك أثناء عبور الجهاز الهضمي. في الواقع، يجب أن تعيش هذه البكتيريا المبتلعة وتعتبر عن وظائفها الأيضية المحددة في ظل الظروف الحمضية في المعدة، وفي وجود الاملاح الصفراوية في الأمعاء.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا اللبنية، *Bifidobacterium*، البروبيوتيك، الميكروبيوتا، الإجهاد المعدي المعوي.

Liste des tableaux**Liste des figures****Liste des abréviations**

Introduction	01
---------------------------	----

Chapitre I : Les Bactéries lactiques

I.1. Historique	03
I.2. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques	04
I.3. Habitat des bactéries lactiques	05
I.4. Génétique des bactéries lactiques	07
I.5. Taxonomie et caractères distinctifs des bactéries lactiques	07
I.5.1. Caractères morphologiques	08
I.5.2. Caractères physiologiques et biochimiques	09
I.5.3. Caractères immunologiques	09
I.5.4. Caractères structuraux	09
I.6. Principaux genres des bactéries lactiques	13
I.6.1. <i>Streptococcus</i> , <i>Lactococcus</i> et <i>Enterococcus</i>	13
I.6.2. Genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	14
I.6.3. <i>Lactobacillus</i>	16
I.6.4. Autre genres	17
I.6.4.1. Genre <i>Bifidobacterium</i>	17
I.6.4.2. Genre <i>Carnobacterium</i>	17
I.7. Métabolisme des bactéries lactiques	18
I.7.1. Métabolisme de sucre	19
I.7.1.1. Voie homofermentaire ou EMP	20
I.7.1.2. Voie hétérofermentaire	20
I.7.2. Métabolisme des protéines	21
I.7.3. Métabolisme des lipides	22
I.7.4. Métabolisme du citrate et d'autres substrats carbonés	23
I.8. Application industrielle des bactéries lactiques	23
I.8.1. Domaine alimentaire	24
I.8.2. Domaine de santé	24
I.8.3. En chimie	24

Chapitre II : Le tractus gastro-intestinal et *Bifidobacterium*

II.1. Ecosystème gastro-intestinal.....	25
II.1.1. Système digestif	25
II.1.1.1. Cavité buccale ou la bouche	25
II.1.1.2. Oesophage.....	26
II.1.1.3. Estomac.....	26
II.1.1.4. Intestins	26
II.1.1.4.1. Intestin grêle.....	27
II.1.1.4.2. Gros intestin ou côlon	27
II.2. Microbiote intestinal	28
II.2.1. Définition du microbiote.....	28
II.2.2. Composition de microbiote chez les adultes.....	29
II.2.3. Principales fonctions de microbiote intestinal	30
II.2.3.1. Fonction endocrine de microbiote intestinale	31
II.2.3.2. Effet barrière et fonctions immunitaires de microbiote intestinale.....	31
II.2.3.3. Fonctions métaboliques de microbiote intestinal.....	32
II.3. <i>Bifidobacterium</i>	32
II.4. Caractères généraux des <i>Bifidobacterium</i>	33
II.5. Ecologie de bifidobactéries.....	34
II.6. Propriétés phénotypiques des bifidobactéries	36
II.6.1. Morphologie.....	36
II.6.2. Paroi	37
II.7. Propriétés physiologiques des bifidobactéries	39
II.7.1. Température optimal.....	39
II.7.2. Sensibilité au pH.....	39
II.7.3. Anaérobiose	40
II.7.4. Sensibilité aux antibiotiques	40
II.8. Propriétés génotypiques des bifidobactéries	40
II.8.1. Composition en bases cytosine guanine de l'ADN.....	41
II.8.2. Plasmides	41
II.9. Classification des bifidobactéries	45
II.10. Quelques nouvelles espèces de <i>Bifidobacterium</i>	46
II.10.1. <i>Bifidobacterium Leontopithecii</i>	46

II.10.2. <i>Bifidobacterium Castoris</i>	46
II.10.3. <i>Bifidobacterium Callimiconis</i>	46
II.10.4. <i>Bifidobacterium Samirii</i>	46
II.10.5. <i>Bifidobacterium Goeldii</i>	46
II.10.6. <i>Bifidobacterium Cebidarum</i>	47
II.11. Métabolisme des bifidobactéries.....	47
II.11.1. Métabolisme des carbohydrates	47
II.11.2. Activité uréasique	48
II.11.3. Métabolisme des vitamines.....	48

Chapitre III : *Bifidobacterium* comme probiotique

III.1. Généralités sur les probiotiques.....	49
III.2. <i>Bifidobacterium</i> comme probiotique	49
III.3. Mécanisme d'action des bifidobactéries	51
III.4. Culture des bifidobactéries	53
III.4.1. Besoins nutritionnels des <i>Bifidobacterium</i>	53
III.4.1.1. Besoins en acides aminés	53
III.4.1.2. Besoins en minéraux.....	54
III.4.1.3. Besoins en vitamine.....	54
III.4.1.4. Besoins en composés azotés	55
III.4.2. Facteurs bifidigènes.....	55
III.4.2.1. Facteur BB	56
III.4.2.1.2. Facteur bifidus 2	57
III.4.3. Milieux sélectifs des bifidobactéries	58
III.4.4. Isolement des bifidobactéries	58
III.4.5. Dénombrement des bifidobactéries	59
III.4.6. Identification des bifidobactéries.....	61
III.4.6.1. Identification au niveau du genre	61
III.4.6.2. Identification au niveau de l'espèce	62
III.5. Critères de sélection des bifidobactéries en tant que probiotique	65
III.5.1. Pouvoir non pathogène des bifidobactéries	66
III.5.2. <i>Bifidobacterium</i> et tolérance au stress gastro-intestinal	67
III.5.2.1. Tolérance aux stress acide	67

III.5.2.2. Tolérance aux stress biliaire	68
III.5.2.3. Tolérance aux stress oxydant.....	69
III.6. Applications des bifidobactéries.....	70
Conclusion	74
Références bibliographiques	

Tableau 01 : Milieux d'isolement de bactéries lactiques	05
Tableau 02 : Principales caractéristiques biologiques et métaboliques des bactéries lactiques	10
Tableau 03 : Taxonomie et les clés de différenciation des bactéries lactiques.....	11
Tableau 04 : Distribution des différentes espèces de <i>Bifidobacterium</i> dans le tractus digestif de l'homme en fonction de l'âge	35
Tableau 05: La composition chimique de la paroi chez certain espèces de <i>Bifidobacterium</i>	38
Tableau 06: Projets de séquençage du génome bifidobactérie.....	43
Tableau 07: Effets de santé revendiqués de souches du genre	50
Tableau 08: Milieux populaires utilisés pour le dénombrement des bifidobactéries dans les fèces, les produits laitiers et produits pharmaceutiques, (Adapté de l'effet prébiotique sur les oligo- et polysaccharides non digestibles.....	60
Tableau 09: Clé pour la différenciation des <i>Bifidobacterium</i> de la génération apparentée	62
Tableau 10: Caractéristiques utilisées pour différencier les espèces et sous-espèces phénotypiques au sein du genre <i>Bifidobacterium</i>	64
Tableau 11: Principaux critères utilisés pour la sélection des souches probiotiques ...	65
Tableau 12: Attributs Biofunctionnels de différentes souches de <i>Bifidobacterium</i> récemment rapportés.....	71

Figure 01: Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques(B), bacilles arrondis (C).....	08
Figure 02: Schéma montrant l'arbre phylogénique basée sur la comparaison du gène de l'ARN 16S, en groupant les bactéries lactiques à faible pourcentage GC et la relation lointaine avec les germes à Gram positif de haut pourcentage GC du genre <i>Bifidobacterium</i> et <i>Propionibacterium</i>	12
Figure 03: Principales voies métaboliques et fermentation des bactéries lactiques.....	19
Figure 04: Schéma montrant les différents types de fermentation des bactéries lactiques	21
Figure 05: Système protéolytique des bactéries lactiques.....	22
Figure 06: principales voies de la lipolyse	22
Figure 07: Le microbiote associé au tractus gastro-intestinal humain	28
Figure 08: Arbre phylogénétique présentant les groupes bactériens principaux ayant des représentants dans la microflore fécale dominante de l'homme adulte en bonne santé.....	30
Figure 09: <i>Bifidobacterium sp</i>	33
Figure 10: Arbre phylogénétique et niches écologiques principales de 45 espèces de <i>Bifidobacterium</i>	36
Figure 11: Modèle paréitale d'une bactérie gram positive.....	38
Figure 12 : Les effets bénéfiques des souches probiotiques communes de <i>bifidobacterium</i>	71

✓ **Noms de genres bactériens**

Bf. : *Bifidobacterium*

Lb. : *Lactobacillus*

Lc. : *Lactococcus*

Ln. : *Leuconostoc*

Pc. : *Pediococcus*

W. : *Weissella*

S. : *Streptococcus*

✓ **Unités de mesures**

°C : Degré Celsius

g : gramme

UFC : unité formant colonie

% : pour cent

K Da: kilo dalton

µm ; cm ; m² : micromètre ; centimètre ;
mètre carré

UFC/ml : unité formant colonie par
millilitre

✓ **Autres abréviations**

A+T: alanine + thymine

ADN: l'acide désoxyribonucléique

ARNr: Acide Ribonucléique
Ribosomique

ARNt : Acide ribonucléique de transfert

ATP: Adénosine triphosphate

ATPase: l'enzyme adénosine
triphosphatase

ATR : Acide Tolérance Réponse

BF1 :Le facteur bifidus 1

BF2 :Le facteur bifidus 2

BL: Les bactéries lactiques

EMP :Voie homofermentaire

EPS: Exopolysaccharide

F6PPK : Enzyme fructose-6-phosphate
phosphocétolase

FBA : La fructose-1,6-bisphosphate
aldolase

G+C: Guanine + Cytosine

GF : Gel de filtration

GIT: Le tractus gastro-intestinal

GRAS: Generally Regarded As Safe

HPLC : Chromatographie Liquide à
Haute Performance

IgA : Immunoglobuline A

ITS :l'espaceur internetranscrit

L Ala: Liaison alanine

L Ser : Liaison serine

L Thr:Liaison thréonine

MI : microbiote intestinal

MRS : milieu de Man, Rogosa et Sharpe

NAD⁺ : Nicotinamide adénine
dinucléotide

NADH : la forme réduite de nicotinamide
adénine dinucléotide

NAG: N-acétylglucosamine

NAM: N-acétylmuramique

NCBI: The National Centerfor
Biotechnology Information

OMS : organisation mondiale de la santé

ORF: Open reading fram

pH: Potentiel d'Hydrogène

PSM : milieu sélectif de Pentuey

SOD: Superoxyde dismutase

TPY : gélose tryptone

La découverte de la relation symbiotique entre l'homme et les bactéries a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes ; l'un de ces bactéries les bactéries lactiques qui sont des microorganismes présentant des caractéristiques morphologiques, physiologiques, et métaboliques variées (**Drider et Prévost, 2006**). On les trouve essentiellement dans les produits laitiers (yaourt, fromage ...), mais aussi dans d'autres niches écologiques en étant seules ou en association avec d'autres microorganismes comme les levures. Elles sont utilisées de différentes manières : comme ferments ou starters de fermentation, agents de bioconservation, etc. (**Vermeiren et al. 2004**).

Les aliments fonctionnels dans lesquels sont incorporées des bactéries lactiques connaissent depuis une dizaine d'années un très gros essor commercial (**Mugula et al. 2003**). Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré, de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (**Mozzi et al., 2010**).

L'homme vit continuellement avec une population de microorganismes vivants (bactéries, levures, virus) que l'on retrouve au niveau de la peau, de la bouche, du tractus digestif, et de l'appareil uro-génital appelée microbiote. Tandis que le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé humaine tout au long de la vie, il contribue à la résistance aux agents pathogènes et interagit avec le système immunitaire (**Folié, 2018**).

Les bifidobactéries forment le plus important groupe du microbiote du tractus gastro-intestinal humain (GIT), où leur présence a été positivement corrélée avec l'état de santé de leur hôte. On prétend que les bifidobactéries provoquent plusieurs effets bénéfiques pour la santé. C'est grâce à cet effet qu'ils sont étudiés et utilisés comme des probiotiques (**O'Hara et Shanahan, 2007**).

Par convention les probiotiques ont été définies comme « des suppléments alimentaires avec des microorganismes vivants qui influencent favorablement l'organisme hôte par l'amélioration de son équilibre microbien intestinal ». Pour l'obtention de ces effets bénéfiques, les bactéries probiotiques doivent se retrouver avec une concentration

minimale de 10^6 UFC/g dans le produit au moment de la consommation, et la dose quotidienne recommandée est de 10^8 UFC (c'est-à-dire 100 g de produit avec 10^6 UFC/g) qui a été établie d'une manière qu'elle compensait les éventuelles pertes bactériennes pendant leur passage par l'estomac et l'intestin grêle (**Barascu,2006**).

De nombreuses souches de *Bifidobacterium* ont été reconnues comme probiotiques en raison de leurs divers avantages thérapeutiques pour la santé, notamment la résistance aux agents pathogènes entériques (*Clostridium* spp., *Salmonellaspp.*, *Candidaspp.*, *Escherichiacoli* et *Listeria monocytogenes*), l'aide à la digestion du lactose et/ou aider à réguler la digestion, l'effet anti-cancer du côlon, la modulation du système immunitaire, l'anti-allergie et l'encéphalopathie hépatique, et aussi pour avoir un effet protecteur contre la diarrhée aiguë (**Liepke et al., 2002 ; Jia et al., 2010**).

Pour être considéré comme potentiellement probiotique, une souche doit d'abord répondre à plusieurs critères qui lui confèrent une bonne stabilité aux conditions de survie dans le tractus gastro-intestinal. C'est pourquoi il est primordial de sélectionner des souches capables de tolérer l'acidité gastrique, les sels biliaires, le phénol, de produire des substances antimicrobiennes et avoir le pouvoir de s'adhérer aux cellules épithéliales.

A travers cette étude théorique, nous avons présenté dans un premier chapitre le groupe des bactéries lactiques : leur principales caractéristiques, leur classification, et leurs intérêts. Un deuxième chapitre a exposé le tractus gastro-intestinal et sonmicrobiote, ainsi les propriétés de sa bactérie principale: *Bifidobacterium*. Dans le dernier chapitre, nous avons abordé l'importance du *Bifidobacterium* comme probiotique, les critères de sélection, son rôle et son mode d'action.

I.1.Historique

Les bactéries lactiques sont de très anciens microorganismes dont les ancêtres auraient pu voir le jour il y a trois milliards d'années. Elles seraient donc apparues avant les cyanobactéries. Ils ont permis à l'homme de subvenir à ces besoins tant au niveau nutritionnel (fabrication, amélioration, conservation des aliments), qu'au niveau de santé et de bien-être. L'essor des bactéries lactiques a bénéficié de celui des grands mammifères, producteurs de lait, commencé il y a soixante-cinq (65) millions d'années. Il s'est accentué lorsque l'homme est passé du statut de chasseur-cueilleur à celui d'éleveur, il y a quelques huit-mille (8 000) ans avant J.-C. Trois-mille (3 000) ans avant J.-C, en Egypte, à Sumer ou en Macédoine, l'homme sait contrôler le phénomène de caillage du lait (**Chamba, 2009**).

En 1856, Pasteur découvre des microorganismes contaminants, responsables d'un accident de fermentation de jus de betteraves dans une distillerie du Nord de la France (**Chamba, 2009**).

Le terme bactéries lactiques (BL) a été progressivement acceptée au début du XXe siècle (**Carol et al., 2010**). Elie Metchnikoff remarque que la longévité et la bonne santé des paysans bulgares est liée à leur consommation de produits laitiers fermentés et suggère que certains microorganismes pourraient exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine (**Daoudi et al., 2018**).

La première culture bactérienne pure sera d'ailleurs une culture de *Lactococcuslactis* obtenue et décrite par Joseph Lister en 1873 (**Kathiriya et al., 2015**). Metchnikoff a isolé en 1904 le «bacille bulgare» (*Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus*) présent dans le yaourt. Il a étudié les propriétés acidifiantes des bactéries du yaourt et il a développé l'idée que les bactéries contenues dans les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé (**penaud, 2006**).

Historiquement, les premiers genres à êtres décrits sont *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ; les genres ci-après : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, et *Weissella* sont considérés comme les principaux bactéries lactiques du point de vue technologique (**Guiraud et al., 2003 ; Limsowtin et al., 2004**).

Les bactéries lactiques forment un groupe complexe et hétérogène, qui a subi de nombreux remaniements au cours de son existence, depuis les premières observations d'Orla-Jensen dans les années 1920, jusqu'aux méthodes moléculaires d'aujourd'hui. Les dernières modifications majeures remontent aux années 1990, et de nouvelles espèces sont identifiées régulièrement (**Matamoros, 2008**).

I.2. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, unicellulaire, procaryotes, hétérotrophes, et chimio-organotrophes. Elles sont auxotrophes à certains facteurs de croissance : acides aminés, vitamines et bases azotées (**Zergoug, 2017**).

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitats. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien. Une caractéristique commune permet cependant de les unifier en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique (**Dellaglio et al., 1994**).

Elles constituent des groupes de bacilles, coccobacilles ou des coques. Elles partagent en outre un certain nombre de caractéristiques communes, qui forment la base de leur classification. Ce sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%, généralement immobile, asporulées, anaérobies mais aéro-tolérantes, dépourvues de cytochromes-oxydase et de nitrate-réductase, ne possèdent pas la catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase) (**Klein, 1998 ; Carr et al., 2002 ; Axelsson, 2004**).

Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Lorsque l'acide lactique est le seul produit terminal, il s'agit des bactéries lactiques homofermentaires (certaines espèces peuvent produire au moins 18 mol de glucose fermenté). Parfois, en plus de l'acide lactique, d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits : c'est le cas des hétérofermentaires (produisent uniquement 1 mole d'acide lactique par mole de glucose fermenté) (**Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005**).

I.3. Habitat des bactéries lactiques

Ces bactéries sont ubiquistes et capables de survivre dans des milieux très acides en raison de leur production d'acide lactique. Elles occupent des niches écologiques extrêmement variées (**Baliarda., 2003 ; Ikeda et al., 2013**).

Le sol, les plantes et l'intestin des animaux herbivores, sont considérés comme premières niches hypothétiques des bactéries lactiques ancêtres (**Morelli et Capurso., 2012**) avant la transition au tractus gastro-intestinal des mammifères ainsi que l'appareil génital de la femme (**Ruiz et al., 2019**) et dans les tractus digestifs de différentes espèces de poissons et ont suggéré que l'intestin de poissons pouvait être un réservoir normal pour les bactéries lactiques. D'autres habitats marins peuvent être les autres animaux marins, les sédiments, et l'eau (**Ringo, 2004**). Se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain et se trouvent dans divers produits alimentaires les produits laitiers ; les fruits ; les légumes et la viande (**Hassan et Frank, 2001**).

Tableau 01 : milieux d'isolement de bactéries lactiques (**Hassaine, 2013**).

Bactéries lactiques	Habitat ou milieu d'isolement
<i>Lactobacillus</i>	
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i>	Végétaux
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	Yaourt, fromage
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>Lactis</i>	Lait, fromage
<i>Lb. acidophilus</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. gasseri</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. helveticus</i>	Fromage
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>Casei</i>	Rumen
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>Pseudoplantarum</i>	Fromage, fourrage
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>Tolerans</i>	Bouche
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i>	Tractus intestinal
<i>Lb. sake</i>	Végétaux, produits carnés
<i>Lb. curvatus</i>	Végétaux, produits carnés, lait
<i>Lb. bavaricus</i>	Végétaux
<i>Lb. plantarum</i>	Végétaux, fromage, produits carnés,
<i>Lb. bifementans</i>	bouche

<i>Lb. brevis</i>	Fromage
<i>Lb. buchneri</i>	Végétaux, lait, fromage, tractus intestinal
<i>Lb. kefir</i>	Végétaux, lait, fromage, bouche
<i>Lb. reuteri</i>	Kéfir
<i>Lb. fermentum</i>	Tractus intestinal, produits carnés
<i>Lb. confusus</i>	Végétaux, fromage, bouche
<i>Lb. viridescens</i>	Végétaux
<i>Lb. sanfrancisco</i>	Produits carnés
<i>Lactococcus</i>	Pain
<i>Lc. Lactissubsp. lactis</i>	
<i>Lc. Lactissubsp. Lactisbiovardiacetylactis</i>	Lait cru, laits fermentés, végétaux
<i>Lc. Lactissibsp. cremoris</i>	Végétaux, lait
<i>Lc. raffinolactis</i>	Lait
<i>Lc. Garviae</i>	Lait caillé
	Lait de mammité
<i>Leuconostoc</i>	
	Lait, produits laitiers, fruits, légumes, végétaux en fermentation (choucroute), produits de panification, solutions visqueuses de sucres
<i>Ln. Oenos</i>	Vin (absent dans le lait)
<i>Pediococcus</i>	
<i>Pc. pentosaceus, Pc. acidilactici</i>	Végétaux, boissons (bière cidre et vin)
<i>Pc. halophilus</i>	Matières végétales, lait et produits laitiers
	Produits de pêche, anchois salé
<i>Streptococcus thermophilus</i>	
	Lait, produit laitiers, yaourt, levains artisanaux

I.4. Génétique des bactéries lactiques

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures : le chromosome, long filament d'ADN très replié sur lui-même, et les plasmides, petites

molécules circulaires d'ADN indépendantes du chromosome, pouvant se répliquer de façon autonome. Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie dans les conditions de milieu défavorables (température élevée, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu certains gènes et donc certaines fonctions métaboliques. Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend les bactéries peu protéolytiques, et entraîne une croissance ralentie des germes et une acidification faible du lait. D'autres caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides : la capacité à utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la nisine chez certaines souches, des résistances aux bactériophages (**Kandler et Weiss, 1986 ; Stackebrandt et Teuber, 1988**).

Chez les bactéries la taille du génome est directement proportionnelle à la complexité métabolique des génomes puisque une grande majorité des séquences sont codantes. Le pourcentage du génome des bactéries lactiques occupé par les gènes est compris entre 73 et 90%. Les phases ouvertes de lecture (ORF) des génomes des bactéries lactiques présentent une taille moyenne de 0,9 Kb. Les gènes sont répartis de façon uniforme le long du chromosome (**Dridier et Prévost, 2009**).

Les gènes ribosomiques qui codent les ARNr 16S, 23S et 5S des bactéries sont généralement regroupés au sein d'opérons ; Le nombre d'opéron varie d'une souche à l'autre et semble être corrélé à la rapidité avec laquelle la bactérie peut synthétiser ses ribosomes et répondre aux changements de son environnement. Chez les BL, ce nombre varie de 4 à 9 en fonction de l'espèce considérée ; dans de nombreux cas. Des gènes codant des ARNt sont localisés au sein des opérons ribosomiques de nombre compris entre 57 et 95 (**Leblond-Bourget et Guedon, 2009**).

I.5. Taxonomie et caractères distinctifs des bactéries lactiques

Selon **Sneath et al., (1986)**, les bactéries lactiques sont regroupées suivant une taxonomie basée sur :

I.5.1. Caractères morphologiques

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. D'après les caractères morphologiques, on distingue :

- **La forme** : des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espace et du genre bactériens (coques ou bâtonnets).

Les coques (cocci) : en forme sphériques plus ou moins ovoïdes de 0,5 à 1,5 μ m de diamètre dont la division peut engendrer des paires, de tétrades, des chainettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles (**Koiche, 2011**).

Les bacilles : sont de petits bâtonnets, plus ou moins allongés de 0,5 à 2 μ m de diamètre et de 1,5 à 10 μ m de long, se présentent en paires ou en chainettes de longueur variable (**De Roissart, 1986**).



Figure 01 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques(B), bacilles arrondis(C) (**Fessard, 2017**).

- **Le diamètre cellulaire** : est un caractère plus stable que la longueur cellulaire.
- **La mobilité** : est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches.
- **La sporulation** : toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.

La présence d'inclusions cellulaires, corpuscules métachromatiques ou de veloutine, est un caractère distinctif de certaines espèces du genre *Lactobacillus* homofermentaires strict.

I.5.2. Caractères physiologiques et biochimiques

Ils regroupent la quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, production de gaz et d'arôme, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH (**Roissard et Luquet, 1994**).

I.5.3. Caractères immunologiques

La réaction immunologique se traduit par l'agglutination des cellules bactériennes ou par la précipitation à l'interface antigène-antisérum. La sérologie a été utilisée pour la classification et l'identification des Streptocoques, depuis que **Lancefield (1993)**, propose les premiers groupements. Les groupes sérologiques comme le cas des streptocoques lactiques qui sont rangés dans le groupe sérologique N (**Roissard et Luquet, 1994**).

I.5.4. Caractères structuraux

L'analyse de ces composés cellulaires est en train de devenir un instrument essentiel non seulement pour la classification mais aussi pour l'identification des bactéries. Les recherches chimiotaxonomiques réalisées sur les bactéries ont contribué de façon fondamentale à expliquer les relations génétiques intra et inter spécifiques (**Mami, 2013**).

Tableau 02 : Principales caractéristiques biologiques et métaboliques des bactéries lactiques (Axelsson, 2004).

	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weissella</i>
Morphologie	B	B	C	C	C	C	C	C	C	C
Tétrade	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Croissance à 10°C	+	+/-	+	+	+	+	+/-	+	-	+
Croissance à 45°C	-	+/-	-	+	-	-	+/-	+/-	-	-
Croissance à pH 4,4	nd	+/-	-	+	+/-	+/-	+	-	-	+/-
Croissance à pH 9,6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Croissance à 6,5% NaCl	Nd	+/-	+	+	-	+/-	+	-	+	+/-
Croissance à 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Production de CO ₂	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	+
Production d'acide lactique		D. L DL	L	L	L	D	L DL	L	L	+/-

B : bacilles ; **C** : coques ; +/- : variables selon les espèces

+ : positif ; - : négatif ; ± : réponse variable selon les espèces ; **nd** : non déterminé.

a) *Weissella* peuvent être également sous forme de bacille.

b) Type de fermentation du glucose : homofermentaire (-) ou hétérofermentaire (+).

c) faible quantité de CO₂ produite selon le milieu.

d) peuvent ne pas se développer dans 8% NaCl.

e) production d'acide lactique D, L, ou DL acide variable selon les espèces.

Orla-Jensen a utilisé quelques caractères comme base de classification, cette dernière repose sur les critères morphologiques, et biochimiques, mais aussi sur des critères phénotypiques permettant de différencier les espèces et de caractériser des variantes au sein d'une même espèce (Axelsson, 2004).

Une autre classification a été donnée par **Kandler et Weiss, (1986)**, en divisant les bactéries lactiques en trois groupes distincts : homo-fermentaires strictes, hétéro-fermentaires facultatives et hétéro-fermentaires strictes.

Tableau 03 : Taxonomie et les clés de différenciation des bactéries lactiques (**Leveau et Bouix, 1993 ; Holzapfel et al., 2001, Modifié**).

Genre	Forme	Catalase	Réduction Nitrate	Fermentation	Genre Type	ADN GC %
<i>Betabacterium</i>	Bacille	-	-	Homofermentaire	<i>Lactobacillus</i>	32-53
<i>Thermobacterium</i>	Bacille	-	-	Homofermentaire	<i>Lactobacillus</i>	32-53
<i>Streptobacterium</i>	Bacille	-	-	Homo et Hétérofermentaire	<i>Lactobacillus</i> <i>Cornobacterium</i>	32-53
<i>Streptococcus</i>	Coque	-	-	Homofermentaire	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i>	43-46
<i>Betacoccus</i>	Coque	-	-	Homofermentaire	<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i> <i>Weissell</i>	36-43
<i>Micobacterium</i>	Bacille	+	+	Homofermentaire	<i>Brochothrix</i>	
<i>Tetracoccus</i>	Coque	+	+	Homofermentaire	<i>Pedicoccus</i> <i>Tertragenococcus</i>	34-42

A partir de 1990, une classification qui se base sur le séquençage de l'ARNr 16S a été proposée, ce dernier a permis d'organiser les genres des bactéries lactiques dans un arbre phylogénétique (**figure 02**).

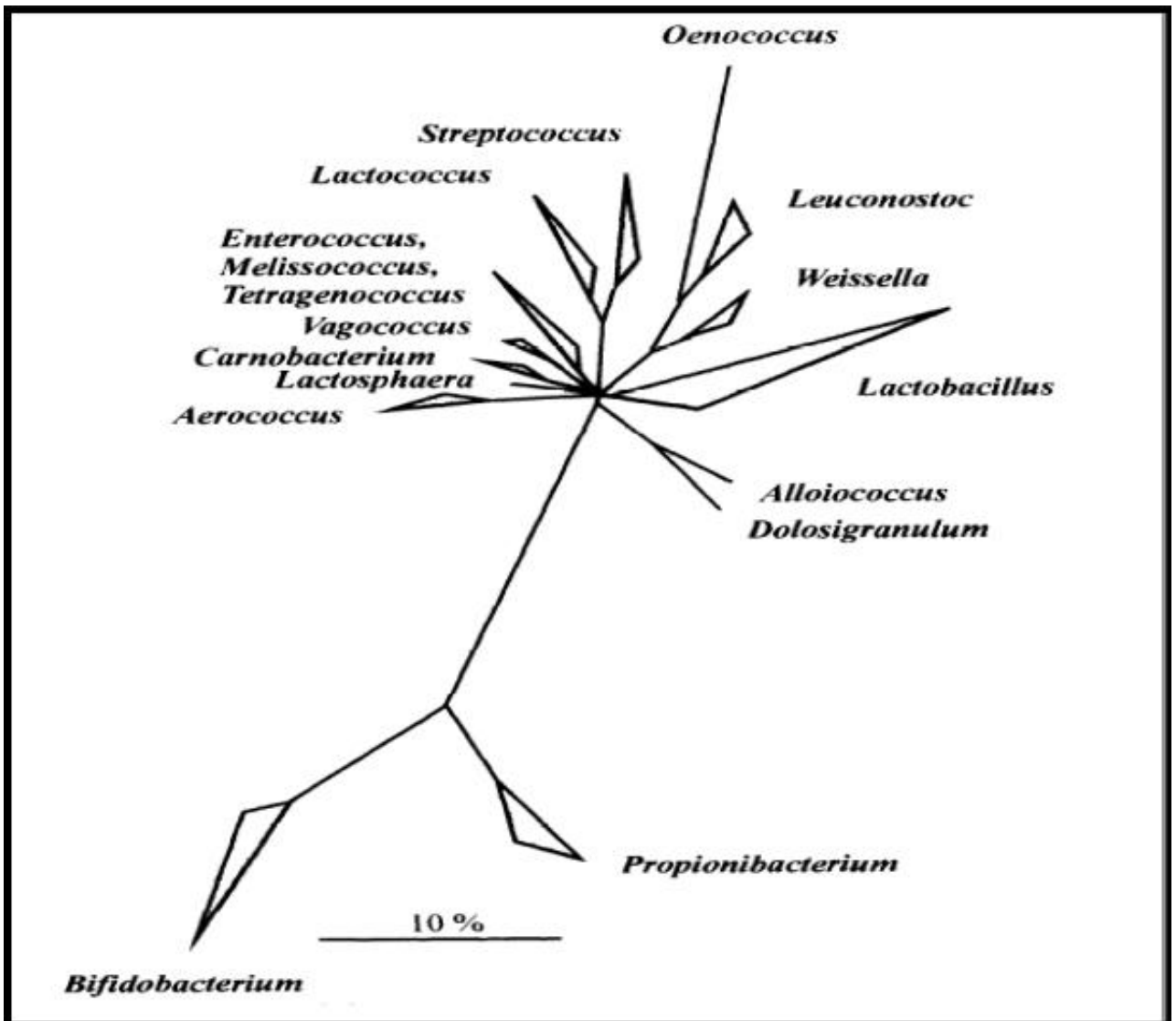


Figure 02 : Schéma montrant l'arbre phylogénique basée sur la comparaison du gène de l'ARN 16S, en groupant les bactéries lactiques à faible pourcentage GC et la relation lointaine avec les germes à Gram positif de haut pourcentage GC du genre *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*, (Holzapfel et al., 2001).

Les bactéries lactiques peuvent se diviser en deux groupes selon le pourcentage G+C dans leur génome :

- Les actinomycètes dont le G+C > 50%, ce groupe renferme les genres : *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, et *Propionibacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

- La branche des *clostridium*s, qui regroupe les bactéries dont G+C < 50%, ce groupe rassemble les principaux genres des bactéries lactiques : *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (Leveau et Bouix, 1993).

Selon la dernière édition de **Bergey's manual of systematic bacteriology (2009)**, les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum XIII des *Firmicutes*, la Classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacilles*. Il existe plus de 500 espèces de bactéries lactiques classées sous forme de genres répartis en six grandes familles (Fessard, 2017).

Il existe plus de 500 espèces de bactéries lactiques classées sous forme de genres répartis en six grandes familles (Fessard, 2017) :

Lactobacillaceae qui comprend les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*.

Aerococcaceae qui comprend les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.

Carnobacteriaceae qui comprend les genres, *Pisciglobus*, *Trichococcus*, *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granlucatella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium* et *Marinilactibacillus*.

Enterococcaceae qui comprend les genres *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.

Leuconostocaceae qui comprend les genres *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* et *Weissella*.

Streptococcaceae qui comprend les genres *Lactococcus*, *Lactovumet* *Streptococcus*.

I.6. Principaux genres des bactéries lactiques

I.6.1. *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*

Ils étaient anciennement groupés en un seul genre *Streptococcus* (Axellson, 2004). Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement micro-aérophiles et très exigeants au point de vue nutritionnel. Ils se développent bien à 37°C. La plupart des espèces ne sont pas en général capsulées. Leur fermentation est homolactique et donne de l'acide lactique sur tout dextrogyre. Ils sont très exigeants dans le plan nutritionnel. Ces espèces diffèrent

principalement entre elles par la présence d'un antigène de groupe dit antigène de Lancefield (Guiraud, 2012).

-Les Streptocoques ont été classés au départ en trois groupes d'espèces de *Streptococcus* selon les critères de Sherman. Bien qu'actuellement certain groupe et espèces aient été transformé en nouveaux genres, cette classification est encore parfois utilisée. On distingue :

- le groupe pyogenes : la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques (hémolyse β) et appartenant aux groupes sérologique de Lancifield A B C E F G H (Guiraud, 2012).

-Le groupe viridands : hémolyse α ou γ non groupable par la méthode de lancifield ou appartenant au groupe K. on trouve le groupe *Streptococcus* oraux tel que *S. saluvarius*, *S. mutus* . . . etc) (Guiraud, 2012).

-Les groupes lactiques : non hémolytique γ appartenant aux groupe sérologique N et contient des espèces très importantes en fromagerie tel que *S. Lactis*, *S. lactis var diacetylactiset S. cremoris* désormais appelées *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris* ... etc (Guiraud, 2012).

- Le groupe des entérocoques : regroupe les streptocoques fécaux qui présentent une hémolyse α , β et γ et qui qui appartiennent au groupe sérologique D. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *S. faecalis* et ses variétés *S. duranset S. bovis*. Ils sont maintenant classés comme *Enterococcus* (Guiraud, 2012).

I.6.2. Genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué avec production d'acide lactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'inuline, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et températures, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al., 1998, Ho et al., 2007).

Les *Leuconostoc* sont habituellement classés dans les anaérobies facultatifs, mais certains les considèrent comme des anaérobies aérotolérants ; contient des coques ovoïdes,

regroupées en paires ou en chaînes, non protéolytique, Nitrate réductase négative. Ils sont exigeants et présentent souvent un auxotrophe pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (**Dellaglio et al., 1994**).

Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ces sous espèces *mesenteroides* subsp. *cremoris*, *dextranicum*, *Ln. Lactis*, *Ln. Pseudomesenteroides* et *Ln. Paramesenteroides* (**Collins et al., 1993 ; Laease, 2005**).

Elles sont capables de démarrer la fermentation des produits végétaux (les choucroutes), et produisent une saveur agréable, et stimulent la croissance de *Lactococcus*. Cela explique pourquoi elles sont incluses dans les démarreurs de fermentation du beurre et du fromage. Le genre *Leuconostoc* peut aussi causer des détériorations de certains produits.

Actuellement le genre *Weissella* comprend dix-huit espèces qui sont : *W. thailandensis* ; *W. cibaria* ; *W. hellenica* ; *W. mineur* ; *W. viridescens* ; *W. paramesenteroides* ; *W. confusa* ; *W. soli* ; *W. koreensis* ; *W. kandleri* et *W. ghanensis* .*W. beninensis* ; *W. fabaria* ; *W. oryzae* ; *W. diestrammenae* ; *W. cetiet* *W. fabalis* (**Lahtinem et al., 2012**) ; ces espèces sont connues pour produire divers EPS . La température optimale de croissance est de 15 °C mais peuvent croître entre 42°C et 45°C (**Bjorkroth et Holzapfel, 2006**).

Les *Oenococcus* exigent un milieu riche en acides aminés et en facteurs de croissance. Leur température optimale est de 20°C à 30°C, acidophiles poussant à un pH initial de 4,8. Elles ont pour habitat le vin ; par conséquent, elles tolèrent l'éthanol et se développent dans des milieux contenant 10% d'éthanol (**Zhang et Cai, 2014**).

Les *Pediococcus* sont dépourvus de cytochromes et sont négatifs à la catalase. Ils ont besoin de composés azotés complexes et, par conséquent, contrairement à *Bacillus* spp , sont incapables d'utiliser les sels d'ammoniaque comme seule source d'azote ou de réduire les nitrates en nitrites. Ils sont aérobies à microaérophiles. *Pc. pentosaceus* et *Pc. Acidilactici* sont aérobies ; *Pc. dextranicus* est un anaérobie facultatif, tandis que d'autres sont microaérophile anaérobie facultatif, tandis que les autres sont microaérophiles (**Frank et al., 2002**).

I.6.3. *Lactobacillus*

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont caractérisées par des cellules en forme de bâtonnets souvent groupés en chaînes avec une forte exigence en facteurs de croissance. Ces espèces sont caractérisées par l'hétérogénéité de la composition de leur ADN : le GC% varie de 32 à 53% (Leveau et Bouix, 1993).

Le genre *Lactobacillus* comprend plus de 200 espèces qui sont largement utilisées dans la conservation des aliments fermentés et la biotechnologie ou qui sont explorés pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Nommer, classer et comparer les lactobacilles a été un défi en raison de la grande diversité phénotypique et génotypique qu'ils présentent et du degré incertain de parenté entre eux et les lactobacilles associés (Salvetti et al., 2018). D'un point de vue taxonomique, la principale distinction entre les membres du genre *Lactobacillus* a toujours été basée sur les caractéristiques physiologiques, jusqu'à la première proposition d'introduction de l'analyse de la séquence de l'ARNr 16S en 1991. Jusqu'à présent, l'analyse de la similarité du gène de l'ARNr 16S est combinée avec l'analyse du profil de fermentation des glucides, selon laquelle les lactobacilles sont divisés en homofermentatifs (utilisation de l'hexose et production d'acide lactique), hétérofermentatifs facultatifs (utilisation du pentose/hexose et production d'acide lactique et autres) (Leveau et Bouix, 1993).

Originellement elles ont été classées en trois groupes, des sous genres, par Orla-Jensen (1919) (Leveau et Bouix, 1993) :

-Groupe 1: (*thermobactérium*) homofermentaire et thermophile ; ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (Croissance à 45 °C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers, mais un grand nombre a été isolé chez l'homme et les animaux (tractus digestif, organes génitaux) et participe à l'équilibre de la microflore de l'organisme (Sutra et al., 1998).

- Groupe II: (*Streptobactérium*) homofermentaire et mésophile ; il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakeet*, *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles, ils sont isolés dans les fourrages, les produits laitiers et les produits carnés (Sutra et al., 1998).

- **Groupe III:** (*Betabacterium*) hétérofermentaire, soit mesophile soit thermophile. Il rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb brevis*, *Lb kefir*, *Lb san* (ransisco Outre leur présence dans les laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (Sutra et al., 1998).

I.6.4. Autre genres

I.6.4.1. Genre *Bifidobacterium*

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de leurs propriétés physiologiques et biochimiques et à leur présence dans le même habitat écologique, il est considéré pendant longtemps comme *Bacillus bifidus* puis comme *Lactobacillus bifidus*, ce groupe de bactérie lactique a été écarté des autres genres et spécifié sous le nom de *Bifidobacterium*, après l'analyse de son contenu G+C % (entre 55 et 67% beaucoup plus élevé que celui des lactobacilles, de ce faite il est classé dans le phylum d'*Actinobacteria* et donc phylogénétiquement éloigné des bactéries lactiques (Mermouri, 2018).

Ces bactéries sont des bâtonnets gram positif anaérobies et non sporulant, le genre se compose plus de 50 espèces dont seulement 10 se trouvent chez l'homme. Chez les nourrissons allaités, les bifidobactéries constituent plus de 80 % du microbiote intestinal.

La répartition des espèces est différente chez les nourrissons et les adultes ; *Bifidobacterium adolescentis* et *Bifidobacterium longum* subsp. sont les principales espèces de bifidobactéries dans les flores intestinales adultes et *Bf longum* subsp. *infantis* et *Bf breve* sont l'espèce prédominante dans le tractus intestinal des nourrissons (Esaïassen et al., 2017).

Certains genres de *Bifidobacterium* sont utilisés dans le commerce des produits probiotiques qui confèrent des effets bénéfiques à l'hôte en amélioration de l'équilibre microbien intestinal (Eshaghi, et al., 2017).

I.6.4.2. Genre *Carnobacterium*

Le genre *Carnobacterium* a été proposé en 1987 par Collins et ses collaborateurs pour classer les souches ressemblant à *Lactobacillus* (Carr et al., 2002). On retrouve cette bactérie essentiellement dans les produits carnés, les produits de la mer et dans les produits

laitiers (**Dalgaard et al., 2003**). Ce genre est constitué de bacilles minces, droits ou légèrement incurvés, se présentant de manière isolée ou groupée par deux (formant un V caractéristique) ou parfois en chaînettes, mobiles ou immobiles, et à métabolisme hétérofermentaire (**Carr et al., 2002**). Il est incapable de croître en présence de 8% (p/v) de NaCl et à 45°C, mais donne des colonies visibles à 10°C et parfois à 0°C. Sa température optimale de croissance varie de 23°C à 30°C et son pH optimum de 6,0 à 7,4. Son comportement vis-à-vis de l'oxygène est anaérobie ou aérotolérant (**Edima, 2007**).

I.7. Métabolisme des bactéries lactiques

L'utilisation des sucres et le métabolisme des sources azotées dans les produits alimentaires par les BL sont considérés comme étant des événements biochimiques très importants dans le développement des caractères organoleptiques et texturaux d'un aliment donné d'où leur implication en industrie agro-alimentaire. Par ailleurs, la production d'acides organiques dans les aliments assure ainsi un abaissement du pH et crée un milieu défavorable pour la majorité des bactéries pathogènes. La synthèse de composés volatiles et aromatiques avec élaboration de polymères de sucres déterminent elle aussi un certains nombres de caractères sensoriels et rhéologiques désirés dans les produits alimentaires. La figure 6 montre les principales voies métaboliques des BL (**Saidi, 2020**).

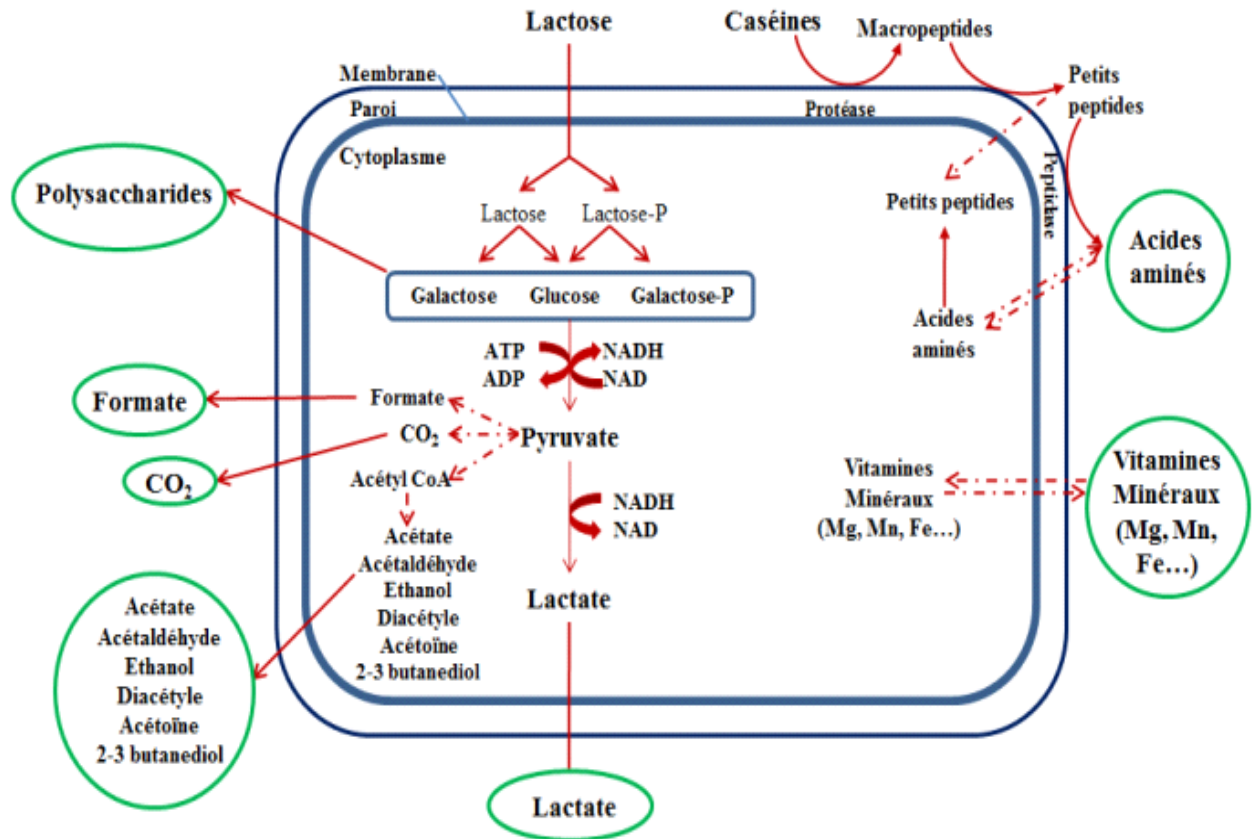


Figure 03 : Principales voies métaboliques et fermentations des bactéries lactiques
(Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

I.7.1. Métabolisme de sucre

Le catabolisme du sucre fournit l'énergie nécessaire à l'anabolisme sous forme d'ATP et génère des coenzymes réduits sous forme de NADH essentiellement. La fonction majeure de la production d'acide lactique réside dans la génération de ces coenzymes réduits, cependant la quantité d'acide lactique produite est variable en fonction des souches et de l'environnement, et d'autres métabolites tels que le formiate, l'acétate, l'éthanol et le CO₂ peuvent aussi s'accumuler au cours de la fermentation (Novak et Loubière, 2000), les sucres sont ensuite catabolisés suivant une des trois voies différentes : la voie homofermentaire, la voie hétérofermentaire et la voie bifide (figure 04) (Thompson et Gentry_Weeks, 1994).

I.7.1.1. Voie homofermentaire ou EMP

Utilise la glycolyse dans sa totalité, du glucose au pyruvate puis lactate. En conditions optimales de croissance, cette voie produit deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (**Mozzi et al., 2010**). Pour être qualifiée d'homolactique, cette voie doit convertir au moins 90 % du glucose consommé en lactate (**Atlan et al., 2008**). Mais dans des conditions de croissance non optimales (milieu appauvri, sur certains sucres, avec des souches mutées...), les bactéries lactiques homofermentaires peuvent présenter un métabolisme mixte, caractérisé par la production d'acide lactique, d'acide acétique, d'éthanol et d'acide formique et/ou de CO₂. La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA) est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).

I.7.1.2. Voie hétérofermentaire

La dégradation d'une molécule de glucose conduit à la formation d'une molécule de lactate, une molécule d'éthanol (CH₃CH₂OH), d'un CO₂ et d'un ATP. Une enzyme spécifique de cette voie (la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase) catalyse la dissociation du xylulose-5-phosphate en acétyl-P et glycéraldéhyde3-phosphate. L'acétyl-P est converti ensuite soit en éthanol soit en acétate selon les besoins en ATP ou NAD⁺. Le glycéraldéhyde-3-phosphate rejoint la glycolyse pour être converti en lactate. En général, les sucres à 5 atomes de carbones (ou pentoses) ne peuvent être métabolisés que par cette voie. Certaines bactéries *Leuconostoc* et *Lactobacillus* empruntent cette voie hétérofermentaire (**Cherrad et al, 2020**).

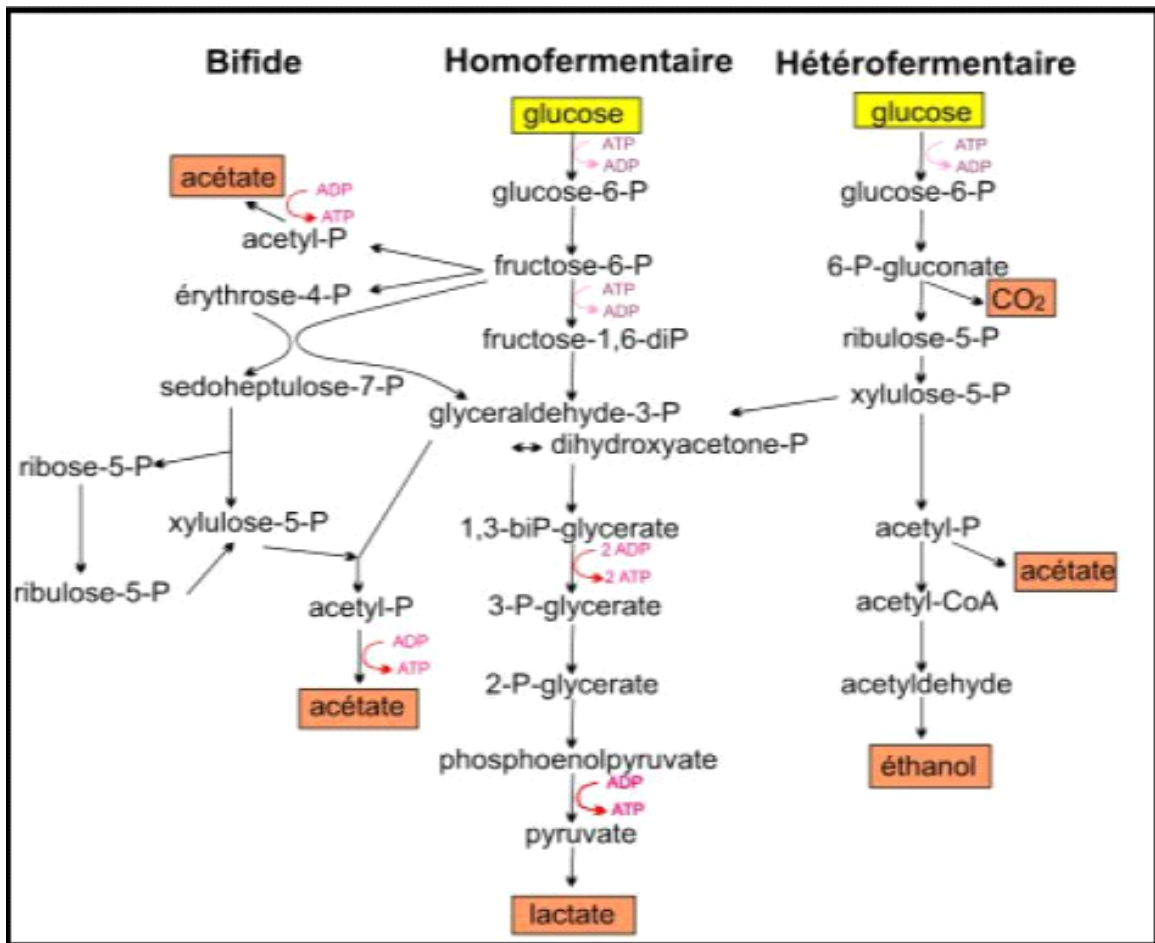


Figure 04 : Schéma montrant les différents types de fermentation des bactéries lactiques (Salminen et Von Wright, 2004).

I.7.2. Métabolisme des protéines

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote. Ce système est complexe de par le nombre et la nature des protéases et peptidases présentes, mais également par leur localisation cellulaire. Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse des protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés (Law et Haandrikman, 1997 ; Savijoki et al., 2006 ; Liu et al., 2010).

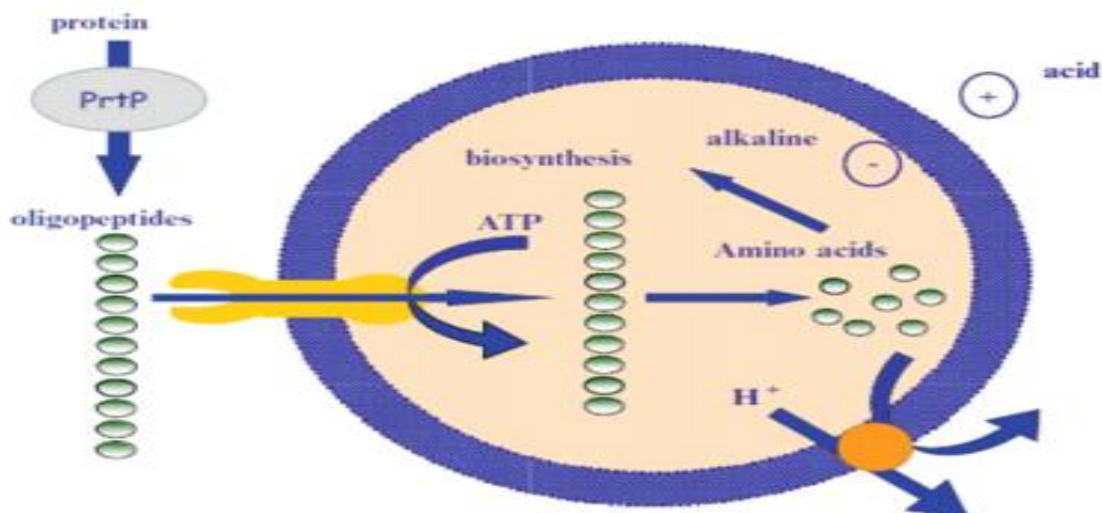


Figure 05 : Système protéolytique des bactéries lactiques (Kunji et al., 1996).

I.7.3. Métabolisme des lipides

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et di glycérides (coupent les liaisons ester des triglycérides), alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils. Ils sont également des précurseurs pour la formation de métylcétones, alcools, lactones et esters (McSweeney et Sousa, 2000).

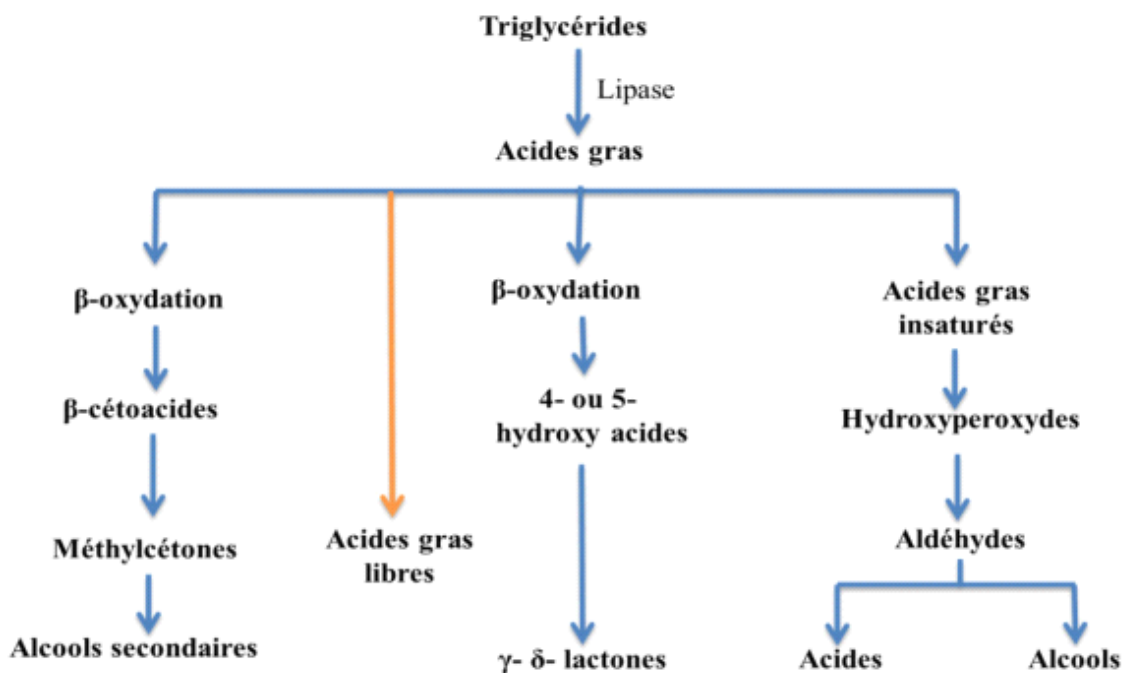


Figure 06 : principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt et al., 2000).

I.7.4. Métabolisme du citrate et d'autres substrats carbonés

Les bactéries lactiques, en dehors de leur pouvoir fondamental d'acidification et d'assainissement, sont aussi recherchées pour leur capacités aromatisante, les milieux naturels conduisant aux aliments _ renferment souvent de l'acide citrique, mais aussi, pour certains végétaux, de l'acide malique, tartrique ou du glycérol. L'acide citrique peut être utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostacet* *Lactobacillus*. Dans les produits laitiers fermentés, le co-métabolisme sucre fermenté cible/acide citrique est considéré comme le principal précurseur de l'arôme du beurre (le diacétyl). En œnologie, on attribue aussi la formation d'acétate, d'acétoïne et de diacétyl au catabolisme de l'acide citrique (**Hugenholtzj, 1996**).

Par ailleurs, le pyruvate peut aussi être hydrolysé par la pyruvate formiate lyase en acétate et formiate chez les *Bifidobacterium*, *pediococcus halophilus* produit uniquement de l'acide formique et de l'acide acétique à partir du pyruvate. L'acide citrique est aussi métabolisé par cette voie par *Lb. brevis*, *Lb. casei* et *Lb. plantarum* (**Talarico et al., 1988**).

Un petit nombre de bactéries lactiques fermentent le glycérol. C'est le cas de *Pediococcus halophilus*, *Lc. pentosus*, *Lc. helveticus* ou *Lactobacillus reuteri*. Ce dernier dégrade le glycérol en formant des quantités égales de triméthylène glycol et d'acide b-hydroxypropionique. Ce schéma métabolique, en présence d'une forte concentration de glycérol, peut conduire à la production d'une substance antimicrobienne, la reutéline, actuellement commercialisée pour lutter contre les bactéries pathogènes dans certains produits alimentaires (**Desmazeaud, 1998**).

I.8. Application industrielle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements (**Axelsson, 1998**). Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications à l'échelle industrielle (**Streit et al., 2007**).

L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donnée est déterminée pour leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activités acidifiante, propriétés enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lipolytique) production de métabolite d'intérêt tel que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines (**Belyagoubi, 2014**).

I.8.1 Domaine alimentaire

Les bactéries lactiques sont fréquemment associées de manière positive à l'alimentation humaine, à travers la fermentation d'une grande variété de produits (**Ross et al., 2002**). Elles sont présentes en tant que flore technologique dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les produits carnés (charcuteries), les produits végétaux (choucroute, pickles, olives fermentées), les levains de panification et les boissons alcoolisées (vins, bières blanches, saké) (**Leroy et De Vuyst, 2004**). Cependant leur rôle en tant qu'agents altérants est aussi reconnu dans une vaste gamme de produits.

I.8.2. Domaine de santé

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Bifidobacterium*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbrueckii subsbulgaricus* (**Salminen et al., 2004**).

Les souches lactiques sont également utilisées dans le traitement de certaines affections telles que les diarrhées, les allergies alimentaires. D'autres effets, comme la prévention des gastro-entérites nosocomiales chez le nourrisson, des propriétés anticancérigènes, anti-hypercholestérolémiques, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori*, prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. (**Salminen et al., 2004**).

I.8.3. En chimie

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique pour la production d'acide lactique. La transformation du sucre assimilable en acide lactique conduit à l'acidification du produit (**Frank et al., 1998**).

II.1. Ecosystème gastro-intestinal

Le tractus gastro-intestinal est un écosystème complexe et ouvert aux microorganismes exogènes. De par sa surface totale (muqueuse) estimée à 200300 m², il représente la plus grande surface du corps en contact avec l'environnement (**Holzapfel et al., 1998**). L'appareil digestif est responsable de la transformation de la nourriture et permet d'en extraire les nutriments et l'énergie. L'écosystème gastro-intestinal est généré par une alliance stable entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire et une importante flore microbienne. Ces trois composants sont continuellement liés entre eux et évoluent ensemble en assurant une fonction et une activité normales de l'écosystème. Si l'un des trois composants de l'écosystème est défaillant, l'alliance est altérée et par conséquent diverses pathologies s'y installent (**McCracken et Lorenz, 2001**). Les interactions de l'hôte avec les microorganismes peuvent être de trois types : symbiose, commensalisme et pathogénicité et il est protégé contre la microflore intestinale pathogène par les barrières chimiques et physiques formées par l'épithélium gastro-intestinal (**Hooper et Gordon, 2001**).

II.1.1. Système digestif

Le tractus gastro-intestinal (TGI) humain est le plus grand tube traversant le corps. Il se compose de divers éléments:

II.1.1.1. Cavité buccale ou la bouche

Le microbiote buccal est une partie importante du microbiote humain. La cavité buccale contient plusieurs niches significativement différentes avec des communautés microbiennes complexes qui influencent la santé bucco-dentaire et systémique, notamment des bactéries, des champignons, des virus, des archées et des protozoaires (**Yangheng et al., 2018**). Les principales espèces présentes dans la cavité buccale sont les bactéries lactiques des genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Dans la plaque dentaire et les infections buccales, de nombreuses espèces anaérobies ont été isolées, principalement les espèces *Prevotella* et *Porphyromonas*, ainsi que *Eubacterium*, *Actinomyces* et *Veillonella* (**Hartemink, 1999**).

II.1.1.2. Oesophage

L'œsophage est le tube creux qui relie la gorge (pharynx) à l'estomac. Leurs parois propulsent les aliments vers l'estomac grâce aux ondes rythmiques produites par les contractions musculaires (activité appelée péristaltisme) (Lee Lynch, 2020).

L'œsophage, comme les autres organes lumineux du système digestif, représente un environnement potentiel pour la colonisation bactérienne, car il possède une grande surface muqueuse en aval de l'oropharynx riche en espèces bactériennes. En l'absence de barrières anatomiques absolues ou physiologiques connues, des bactéries pourraient être introduites dans l'œsophage par déglutition ou par reflux d'un estomac colonisé. La caractérisation des populations bactériennes de l'œsophage n'est pas décrite dans les manuels de gastro-entérologie, de microbiologie ou de maladies infectieuses. Bien que l'œsophage puisse être infecté par *Candida*, *Herpesvirus*, *Cryptococcus* ou *Histoplasma*, à l'exception des espèces de *Mycobacterium*, les étiologies bactériennes de l'inflammation impliquant l'œsophage distal n'ont pas été explorées (Pei et al., 2004).

II.1.1.3. Estomac

L'estomac est une poche de 15 à 25 cm de long en forme de « J ». A jeun, le pH gastrique à une valeur médiane de 1,55 ; lors d'un repas le pH gastrique augmente suite à la présence des aliments pour atteindre une valeur comprise entre 5 et 6 lors des premières minutes post-ingestion, puis dans les deux heures post-ingestion, le pH gastrique diminue pour atteindre des valeurs inférieures à 2 (Malagelada et al., 1979; Van Wey et al., 2014).

La compréhension ultérieure des mécanismes par lesquels ces organismes s'adaptent à l'environnement gastrique l'existence d'une communauté bactérienne adaptée à cette niche humaine est devenue plus plausible (Bik et al., 2005). Ces bactéries résidents (10^3 unités formant des colonies (UFC)/g) composées d'espèces des genre *Lactobacillus* et *Entreococcus* ainsi que des levures) la flore est quasi inexistante en raison de son pH bas, autour de 2 (Marteau et al., 1993).

II.1.1.4. Intestins

L'intestin grêle et le gros intestin appartiennent au tube digestif. L'absorption des nutriments se déroule en grande partie dans l'intestin grêle, tandis que la formation et l'élimination des selles s'effectuent au niveau du gros intestin. Le fonctionnement de ces

deux structures est régulé par l'innervation du tube digestif mais aussi par de nombreuses hormones gastriques et intestinales (Bessaguet et al., 2021).

II.1.1.4.1. Intestin grêle

L'intestin grêle est la partie la plus longue du système digestif, il mesure 6 à 7 m (maintenue à 2 à 4 m avec le tonus musculaire). Il s'étend du pylore à la valvule iléocœcale et est divisé en trois parties (Fallingborget al., 1998) : Le duodénum se situe directement après l'estomac duquel il est séparé par le pylore, un sphincter dictant la vitesse de la vidange gastrique. Cette section mesure entre 20 et 30 cm et se termine vis-à-vis le ligament de treize qui supporte la portion distale du duodénum (Aulton, 2007).

L'intestin grêle représente 75 % de la longueur totale du tractus gastro-intestinal (GI) et plus de 90 % de la surface muqueuse (Kay Blanchard et al., 2000). Il remplit plusieurs fonctions physiologiques comprenant des fonctions liées à la digestion, la sécrétion, l'absorption et la motilité (Widmaier et al., 2009). Lorsque les aliments partiellement digérés pénètrent dans l'intestin grêle, ils sont mélangés aux sécrétions intestinales, telles que la bile, les enzymes pancréatiques et les bicarbonates (Hartemink, 1999).

II.1.1.4.2. Gros intestin ou côlon

Le côlon constitue la partie terminale du tube digestif. Il s'étend de la jonction iléo-cœcale à l'anus sur environ 100 cm et compte sept régions : le cœcum doté d'un prolongement, l'appendice, le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant, le côlon sigmoïde, le rectum et l'anus (Ganong, 2005). Il a pour fonction principale le stockage des déchets, l'absorption de l'eau, d'ions et des produits synthétisés par les bactéries (acides gras et vitamines). Il se finit par le rectum où le stockage des fèces se fait en vue de la défécation (Hallouët, 2010).

L'intestin grêle héberge des bactéries aérobies-anaérobies facultatives telles que les *Streptococcus*, les *Lactobacillus* et les *Enterobacteriaceae* auxquelles s'ajoutent des espèces anaérobies strictes du genre *Bacteroides* au niveau iléal (Rambaud et al., 2004). Les activités de la communauté microbienne qui habite le gros intestin sont jouant un rôle important dans le maintien de la santé intestinale et dans l'étiologie des maladies intestinales chez l'homme. On estime que moins de 25 % des maladies colorectales ont une

base génétique évidente, suggérant que la nutrition joue un rôle majeur, et on pense que cela passe en grande partie par ses effets sur le microbiote colique (Gill et Rowland 2002).

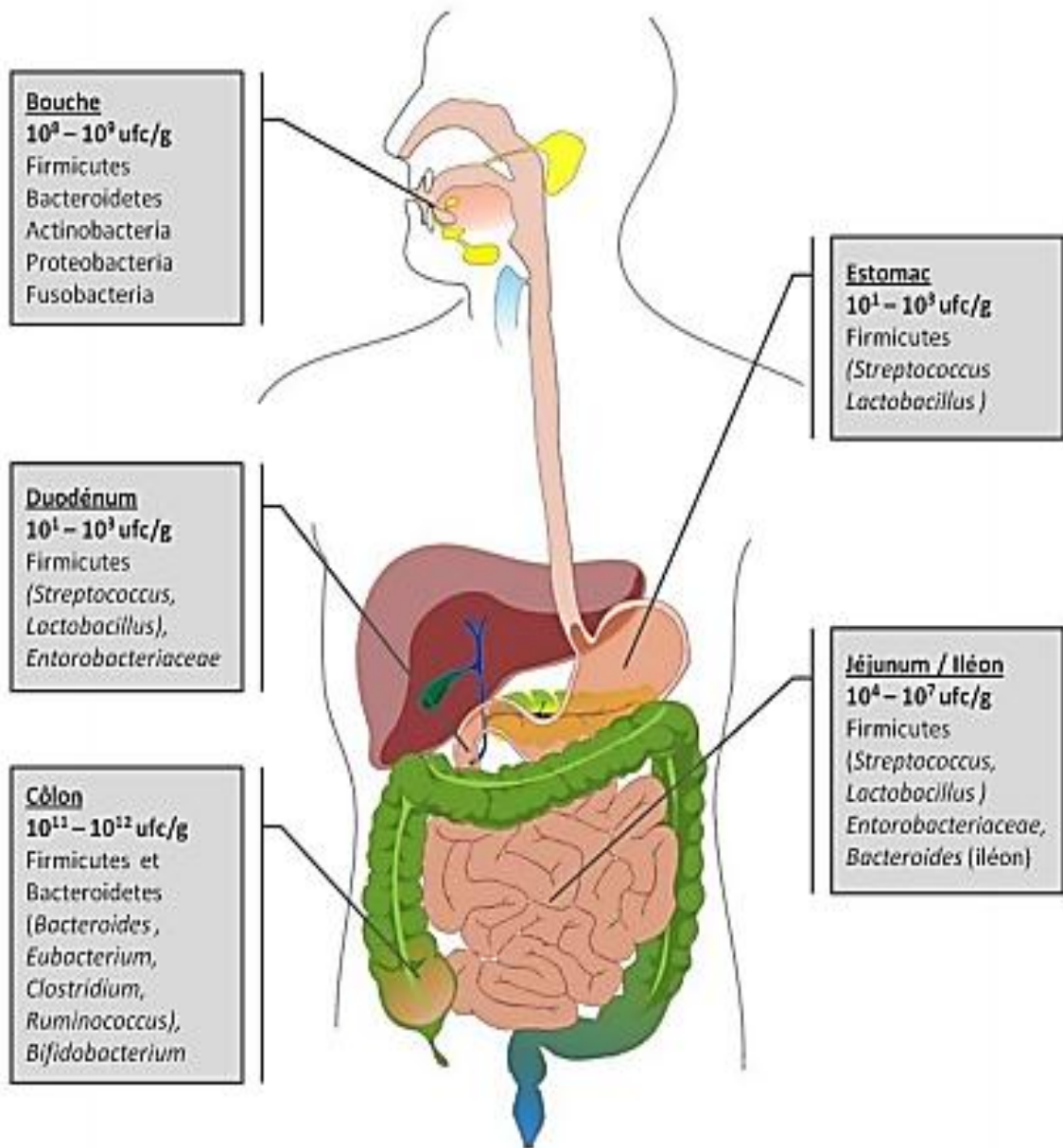


Figure 07 : Le microbiote associé au tractus gastro-intestinal humain (Coudeyras et Forestier, 2010).

II.2. Microbiote intestinal

II.2.1. Définition du microbiote

La flore intestinale humaine, ou microbiote, est un écosystème complexe qui comprend l'ensemble des micro-organismes vivants (des bactéries, des archées, des virus et

des champignons) (**Burcelin, et al., 2016**). Il se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal (**Dolié, 2018**). Elle est composée de 400 à 600 espèces bactériennes différentes. Celles-ci forment une biomasse hautement interactive constituée d'au moins 10^{14} bactéries et contenant 100 fois plus de gènes que le génome humain (**Seirafi et al., 2011**). Il est variable qualitativement et quantitativement le long du tube digestif avec des densités bactériennes de 10^3 dans le duodénum, 10^5 dans le jéjunum, 10^8 dans l'iléon et 10^{12} dans le colon (**Debré et Le Gall, 2014**).

Le tractus digestif du nouveau-né à la naissance est dépourvu de micro-organismes. Il est appelé axénique. La colonisation débute dès l'accouchement et le niveau de population bactérien atteint rapidement 10^{11} bactéries par gramme de selles (**Manus, 2011**).

La majorité des bactéries intestinales présentes chez l'homme sont des anaérobies et appartiennent à deux phyla dominants : les Gram⁺ *Firmicutes* et les Gram⁻ *Bacteroidetes* (**Bik et al. 2005**). On retrouve également d'autres grands phyla tels qu'Actinobacteria, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* et *Methanobacteriales* ainsi que plusieurs mineurs comme *Spirochaetes*, *Cyanobacteria*, *Fusobacteria* (**Farnworth et al., 2007**).

II.2.2. Composition de microbiote chez les adultes

Vers 2 ou 3 ans, le microbiote est considéré comme mature et est proche de celui du futur adulte. A cet âge-là, le rapport entre le nombre de bactéries anaérobies strictes et de bactéries aéro-anaérobies facultatives dans le côlon est très en faveur des bactéries anaérobies. La composition d'un MI mature sain fait preuve d'une grande stabilité au cours du temps, même si l'enfant pourra continuer à l'enrichir d'autres populations qui viendront compléter et affiner peu à peu le profil microbiologique jusqu'à l'âge adulte. Sa stabilité réside dans le phénomène dit derésilience, c'est-à-dire la possibilité de retour à un équilibre de composition après un événement perturbateur. Le MI sera néanmoins toujours très sensible aux modifications environnementales qu'elles soient physiologiques (croissance, diversification alimentaire...) ou pathologiques (affections digestives ou systémiques, prise de traitements antibiotiques) (**Fabiani, 2019**).

Déverses espèces de bifidobactéries sont des membres communs de la microflore intestinale humaine, représentant jusqu'à 3 % de la microflore fécale totale des adultes. Ils sont plus nombreux dans l'intestin du nourrisson, où ils forment jusqu'à 91 % de la

microflore totale chez les bébés allaités et jusqu'à 75 % chez les nourrissons formulés (Hossain et al., 2018).

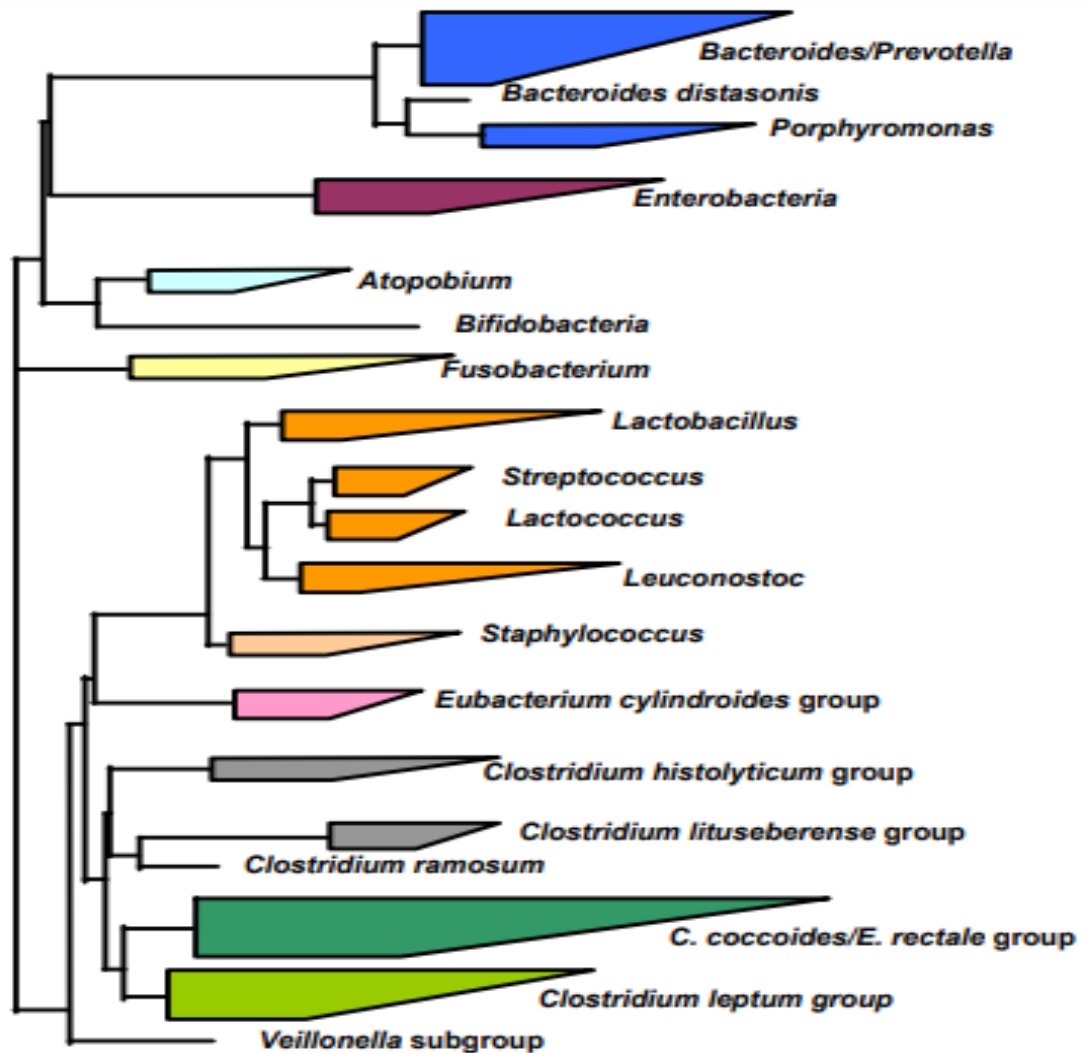


Figure 08 : Arbre phylogénétique présentant les groupes bactériens principaux ayant des représentants dans la microflore fécale dominante de l'homme adulte en bonne santé (Blaut et al., 2002).

II.2.3. Principales fonctions de microbiote intestinal

Dans les relations symbiotiques établies entre les micro-organismes résidents et l'hôte, les bactéries profitent d'un environnement stable (température, pH, nutriments) et les fonctions biologiques du microbiote apparaissent de plus en plus comme essentielles à la santé : mise en place et maturation du système immunitaire, rôles métaboliques et nutritionnels, protection contre les pathogènes (Włodarska et al., 2015).

Le microbiote intestinal exerce des fonctions fondamentales comme le maintien de la santé de l'hôte au niveau intestinal mais influence aussi la physiologie générale de l'hôte. Le microbiote intestinal intervient au niveau de nombreux processus physiologiques tels que le métabolisme des glucides et des protéines, la synthèse de vitamines B et K. Il est également impliqué de la déconjugaison des acides biliaires, stimule la motilité colique, contribue à l'entretien de la muqueuse colique et est également impliqué dans la maturation du système immunitaire et dans la protection contre les pathogènes (Wlodarska et al., 2015).

II.2.3.1. Fonction endocrine de microbiote intestinale

Le microbiote intestinal est un acteur clé dans la régulation du système endocrine de l'hôte au niveau de l'intestin mais également dans la modulation de la fonction endocrine d'autres organes situés à distance de l'intestin. Différents mécanismes sont impliqués dans ce dialogue entre le microbiote intestinale et l'hôte : la production de métabolites ou composants bactériens interagissant avec des récepteurs spécifiques de l'hôte, la production de facteurs endocrines ou encore en modulant l'inflammation ; le microbiote intestinale représente en conséquence une cible thérapeutique supplémentaire pour la prise en charge de différentes pathologies associées à une altération de la fonction endocrine (Everard, 2021).

II.2.3.2. Effet barrière et fonctions immunitaires de microbiote intestinale

Il existe dans la lumière intestinale une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre pathogènes et bactéries commensales. Par ailleurs, le microbiote produit des bactériocines et il est capable de stimuler la production de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales. Il induit également la production des IgA sécrétoires et favorise le bon fonctionnement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales, ce qui diminue l'invasion par des bactéries pathogènes (Hooper, 2004). Outre ses propriétés de barrière, le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement et la maturation du système immunitaire inné et adaptatif de l'hôte. Les nombreuses fonctions associées au microbiote intestinal font que tout déséquilibre, dysbiose, peut être à l'origine du développement de pathologies (Mitsuoka., 1992).

II.2.3.3 Fonctions métaboliques de microbiote intestinal

Les micro-organismes du microbiote peuvent exercer dans l'intestin de nombreuses fonctions de dégradation, transformation ou synthèse (Marteau, 2013). Un nombre toujours plus important de travaux atteste de l'impact considérable du métabolisme du microbiote sur celui de son hôte aussi bien dans l'intestin qu'à distance. Le butyrate produit par les bactéries coliques résidentes capables de digérer les fibres alimentaires, stimule la dégradation oxydative des acides gras, très consommatrice d'oxygène, favorisant le maintien de conditions anaérobies dans la lumière colique (Byndloss et al., 2018).

Au niveau systémique, le microbiote module notamment le métabolisme glucido-lipidique et le stockage de graisses dans le tissu adipeux. Le microbiote en favorisant aussi : la digestion des hydrates de carbone d'origine végétale, le transport de glucose dans l'entérocyte, l'angiogenèse intestinale et augmentait la concentration de glucose dans la veine porte. Il s'ensuivait une augmentation de la synthèse des triglycérides dans le foie, puis leur accumulation dans le tissu adipeux (Schnupf et al., 2018).

II.3. *Bifidobacterium*

Les bifidobactéries ont été découvertes au tournant des 18^e et 19^e siècles par Tissier dans les selles (matières fécales) des nourrissons allaités, Au début, la taxonomie reposant uniquement sur des critères morphologiques, Tissier (1900) nomme cette bactérie: *Bacillus bifidus* communies. En (1917) Winslow a proposé de classer *Bacillus bifidus* dans la famille des *Lactobacillaceae*, et Holland (1920) a nommé la souche *Lactobacillus bifidus* (Holland, 1920).

Orla-Jensen reconnaît l'existence du genre *Bifidobacterium* mais étant donné ses similitudes avec le genre *Lactobacillus*, les bifidobactéries resteront assimilées au genre *Lactobacillus* jusqu'en 1957 où la classification et l'identification des microorganismes prendront désormais en compte de nouveaux critères: la physiologie, les exigences nutritionnelles du métabolisme énergétique et surtout les caractères métaboliques et enzymatiques particuliers dans cette année, Dehnart a été le premier à constater l'existence de multiples biotypes de *Bifidobacterium* et a proposé un schéma de différenciation de ces bactéries sur la base de leur mode de fermentation des glucides .

Reuter en (1963) a identifié et nommé sept autres espèces de *Bifidobacterium*, en plus de *Bifidobacterium bifidum* (Delcenserie et al., 2002). Dans la 8^e édition du

Bergey's Manual of determinative Bacteriology, le genre *Bifidobacterium* comprenait 8 espèces et il a été inclus dans la famille des *Actinomycetaceae* dans l'ordre des *Actinomycetales* (Biavati et Mattarelli, 2015).

Ainsi, en 1967, De Vries et Stouthamer (1967) mettent en évidence chez ces bactéries ramifiées, d'une part la présence de fructose-6-phosphate phosphocétolase (F6PPK), enzyme absente chez les lactobacilles et d'autre part l'absence d'aldolase et de glucose-6-phosphate déshydrogénase, deux enzymes retrouvées chez les lactobacilles. Ils concluent alors que la classification des bifidobactéries dans le genre *Lactobacillus* n'est pas justifiée.

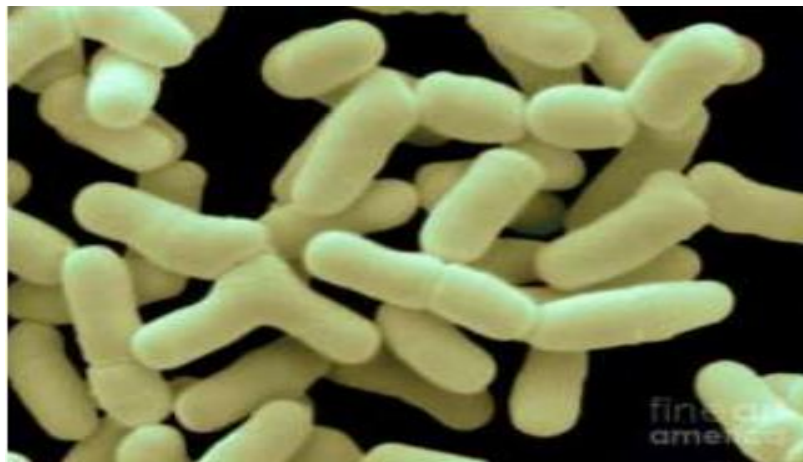


Figure 09 : *Bifidobacterium* sp. (Aiebeche et al., 2020).

II.4. Caractères généraux des *Bifidobacterium*

Les bifidobactéries sont des bâtonnets aux formes variées dont la plus caractéristique est une forme bifide en Y. Elles sont non sporulées, Gram positif, immobiles, hétérofermentaires produisent de l'acide lactique ou acétiques, anaérobies strictes et catalases négatives, non productrice de gaz, généralement des formes bacillaires. Ces bâtonnets, avec une paroi cellulaire irrégulière, sont normalement concaves et leurs extrémités sont généralement gonflées pour former des proéminences qui peuvent avoir certaines ramifications (Ballongue, 2004).

L'accumulation d'études détaillant l'hybridation de l'ADN, le contenu en G+C et le métabolisme spécifique, a permis de ressusciter le genre *Bifidobacterium*. Les bifidobactéries forment un genre phylogénétiquement cohérent au sein de l'embranchement des *Actinobacteria* (Ventura et al., 2004).

Cet embranchement comprend également les *Corynebacteria*, les *Mycobacteria* et les *treptomycetes* (Embley et Stackebrandt, 1994). Les bifidobactéries représentent aujourd'hui 34 espèces, isolées principalement du TGI d'hommes ou d'animaux. Leur génome a un contenu en G+C généralement élevé qui varie de 42 à 67% (Felis et Dellaglio, 2007). La teneur en G+C de *Bf. bifidum* vaut approximativement 62% (Turroni et al., 2010; Zhurina et al., 2011). Les bifidobactéries, ayant des effets probiotiques et utilisées commercialement, sont moins nombreuses que les lactobacilles. La souche la plus étudiée et la *Bifidobacterium lactis Bb12* (Prioult, 2003).

II.5. Ecologie de bifidobactéries

Les bifidobactéries ont été isolés à partir de six niches écologiques, Trois sont directement liées à la cavité orale et à l'environnement intestinal humain et animal, telles que les mammifères non humains, insectes et oiseaux (Ventura, 2015 ; Modesto et al., 2018), tandis que d'autres niches telles que le sang humain, les eaux usées , la cavité buccale et le lait fermenté sont probablement la conséquence d'une contamination par le tractus gastro-intestinal (Hoyle et al., 2002 ; Okamoto et al., 2008). Dans ce contexte, il a été démontré que la capacité des bifidobactéries à s'adapter à des environnements spécifiques dépend de l'espèce. Jusqu'à récemment, des études scientifiques ont révélé que *Bf. longum*, *Bf. adolescentis*, *Bf. pseudolongum* et *Bf. bifidum* ont un mode de vie cosmopolite (Alessandri et al., 2019).

Autres espèces bifidobactériennes semblent être adaptées au GIT d'animaux particuliers par exemple: *Bf. cuniculi* pour les lapins, *Bf. angulatum* pour les vaches et *Bf. gallinarum* pour les poulets (Turroni et al., 2011), ou intestin humain comprend principalement : *Bf. catenulatum*, *Bf. adolescentis*, . *Bf. longum*, *Bf. infantis*, *Bf. breve* , Cependant, des études écologiques récentes, basées sur le profilage de l'espaceur interne transcrit (ITS), ont révélé que la distribution des espèces de *Bifidobacterium* n'est pas spécifique à l'hôte (Milani et al., 2017). Par exemple, l'espèce *Bf. breve*, qui jusque-là n'était associée qu'à l'intestin humain, s'est avéré être également présent chez les animaux domestiques .En outre, espèces particulières, telles que *Bf. actinocoloniiforme*, *Bf. asteroides*, *Bf. bohemicum*, *Bf. bombi* et *Bf. indicum*, que l'on croyait auparavant hautement spécialisées pour coloniser l'intestin des insectes, se sont révélées largement distribuées parmi divers hôtes mammifères (Duranti et al., 2020).

A la naissance, le tractus gastro-intestinal stérile est rapidement colonisé par des microorganismes provenant de la mère et du milieu environnemental. Tout comme les *Lactobacillus*, les *Bifidobacterium* font parties des premières bactéries à s’implanter dans le tube digestif du nourrisson né par voie basse. Ainsi, le microbiote fécal des nourrissons est caractérisé par des taux élevés de bifidobactéries, mais le niveau d’abondance et la diversité dans l’intestin humain diminue avec l’âge. En effet, chez le nourrisson, *B. breve* est l’espèce dominante, suivie par *Bf. bifidum* et *Bf. longum* subsp. *Infantis* alors que chez l’adulte les espèces les plus détectées sont *Bf. adolescentis* et *Bf. catenulatum* suivie par *Bf. longum* (Carmona, 2016). La variation de la distribution des bifidobactéries dans le tractus gastro-intestinal de l’homme selon l’âge est indiquée dans le Tableau04 :

Tableau 04: Distribution des différentes espèces de *Bifidobacterium* dans le tractus digestif de l’homme en fonction de l’âge (Ballongne, 1993).

Population	Espèces mineures	Espèces majeures
Jeunes enfants nourris au sein		<i>Bf. longum</i> <i>Bf. infantis</i> <i>Bf. Breve</i>
Jeunes enfants nourris au biberon	<i>Bf. bifidum biovar. B</i>	<i>B.f adolescentis</i>
Enfants et adolescents		<i>Bf. infantis</i> <i>Bf. breve</i> <i>Bf. bifidum biovar. B</i> <i>Bf. Longum</i>
Adultes	<i>Bf. bifium biovar. A</i>	<i>Bf. adolescentis biovar. a et b</i>
Personnes âgées		<i>Bf. adolescentis biovar. B</i> <i>Bf. Longum</i>

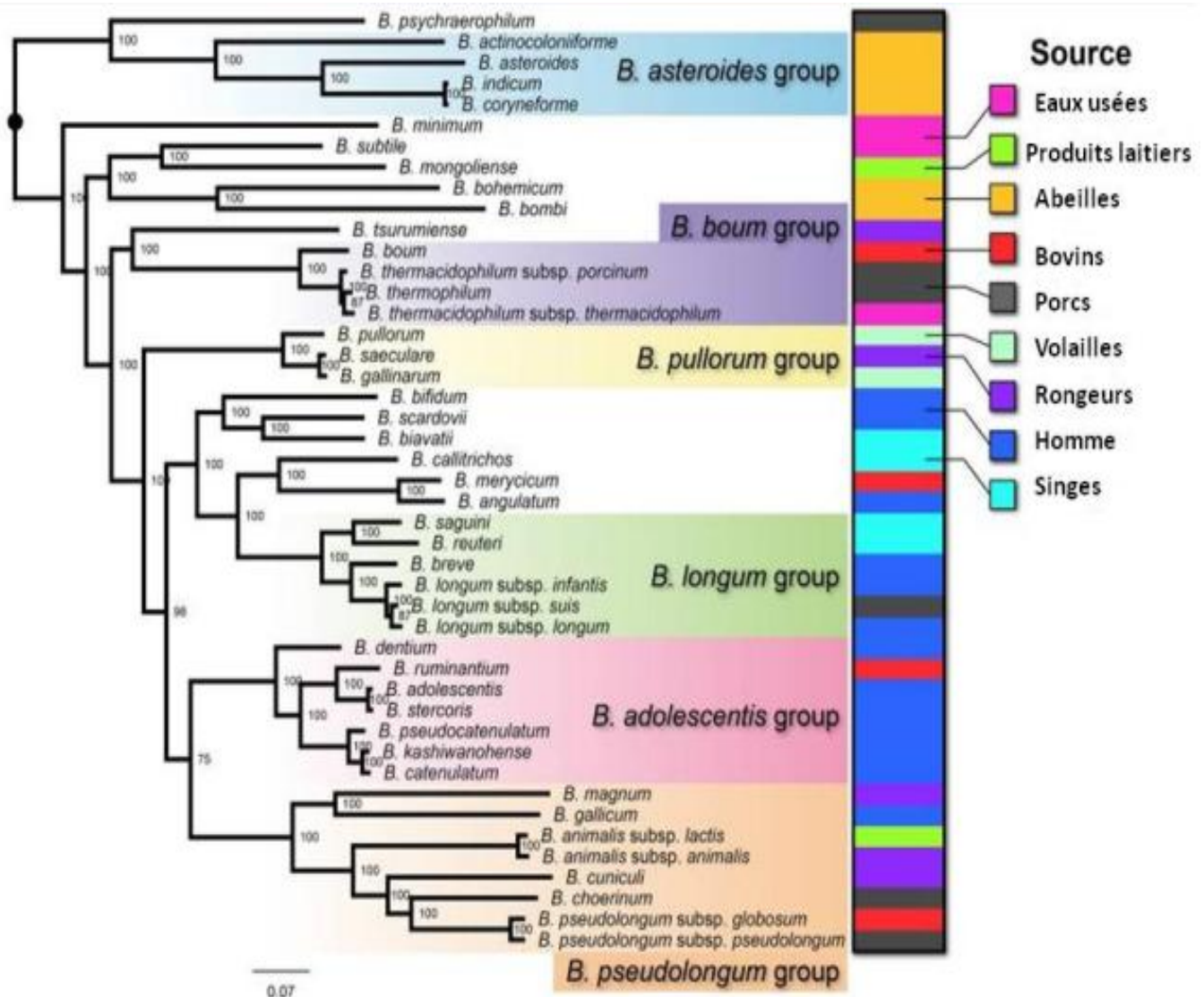


Figure 10: Arbre phylogénétique et niches écologiques principales de 45 espèces de *Bifidobacterium* (Sun et al., 2015).

II.6. Propriétés phénotypiques des bifidobactéries

II.6.1. Morphologie

Les bifidobactéries sont des bâtonnets à Gram positif, anaérobies immobiles, non sporulés, non capsulés (Biavati et Mattarelli, 2015), à morphologie variable, généralement un peu courbées et plissées, parfois ramifiées (Gomes and Malcata, 1999).

Elles sont souvent retrouvées sous forme bifide (Y, V), court bâtonnets à extrémité arrondis et ou en forme spatulées et parfois sous forme de petits bacilles réguliers ou sous forme coccoïde (Hadadji, 2007) ; Par exemple, la disposition en « V » ou en palissade est caractéristique chez *Bf. angulatum*, l'alignement d'éléments globulaires chez *Bf.*

catenulatum, de longues chaînes de cellules régulières chez *Bf. pullorum*, ... Mais, le plus souvent, la morphologie cellulaire ne permet pas une bonne différenciation du genre et de l'espèce (Lerpent, 1996 ; Prévot et al., 1967).

Les colonies des bifidobactéries sont lisses, convexe (Shah et Lankapntra, 2002), luisante de coloration blanchâtre et crème, de contour régulier et de diamètre variable (Mahdi, 2016). Cependant, leur polymorphisme dépend principalement du milieu de culture et des conditions de croissance. Car il influe qualitativement et quantitativement sur l'isolement des bifidobactéries à partir de flores complexes (Zerrouki, 2012).

II.6.2. Paroi

La paroi cellulaire des bifidobactéries a une structure spécifique aux bactéries Gram positives. Elle est constituée d'une épaisse couche de muréine (peptidoglycane) entremêlée de longues chaînes de polysaccharides et semblent importants pour l'adhésion cellulaire des bifidobactéries à la paroi intestinale, ainsi que de protéines et d'acides lipoteichoïques (figure 11) (Gomes et Malcata, 1999).

D'une souche à l'autre, les acides aminés peuvent être différents ou identiques mais dans ce cas, leur séquence dans le térapeptide et les types de leurs liaisons (cross-linkage) peuvent différer (Kandler et Lauer, 1974), c'est-à-dire être un résidu acide aminé simple, un dipeptide ou même un tripeptide. *B. longum*, par exemple, possède un térapeptide de type omithine et le peptide de liaison est: L Ser - L Ala - L Thr - L Ala. Ce macro peptide est relié par covalence à d'autres macromolécules telles que (Rasic et Kurmann, 1983):

- des polysides : glucose, galactose et rhamnose composent la partie polysaccharidique de la paroi;
- des acides teichoïques qui sont des polymères de glycérophosphate. Ces acides teichoïques sont attachés au squelette NAG-NAM du peptidoglycane.

La couche de muréine permet à ces bactéries de vivre dans un milieu ambiant qui est fréquemment hypotonique, les protéines et les acides lipoteichoïques déterminent le caractère hydrophobe de la surface des bifidobactéries (Op Den Camp et al., 1985).

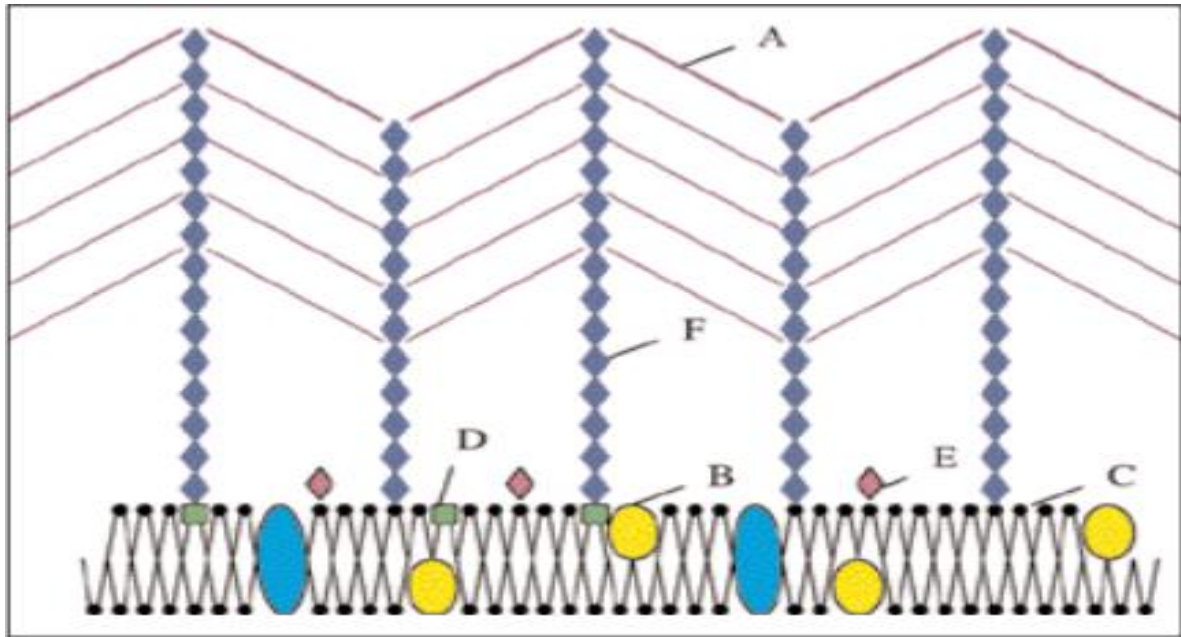


Figure 11: Modèle pariétale d’une bactérie Gram positive (Delcensrie et al., 2002).

A: peptidoglycane ; B : protéine ; C : phospholipide ; D : glycolipide ; E :
phosphatidylglycolipide ; F : acide lipotéichoïque.

Tableau 05 : La composition chimique de la paroi chez certain espèces de *Bifidobacterium* (Ballongue, 1993).

Espèces	Type du peptidoglycane	Glucose	Galactose	Rhamnose
<i>Bf. Adolescentis</i>	Lys ou Orn-D-Asp	+	+	-
<i>Bf. Bifidum</i>	Orn ou Lys-D-Asp	+	+	+
<i>Bf/ breve</i>	Lys-Gly	+	+	+
<i>Bf. Infantis</i>	Orn ou Lys-Ser-Ala-Thr-Ala	+	+	+
<i>Bf. Longum</i>	Orn ou Lys-Ser-Ala-Thr-Ala	+	+	+

+ : présence ; - : absence

6.3. Membrane cytoplasmique

Seul la *Bifidobacterium* contient des polyglycérol phospholipides et leurs lysodérivés, l’alanylphosphatidylglycerol et les lysodérivés du diphosphatidylglycérol. Des

essais de réactions croisées avec des extraits phénoliques d'acides lipoteichoïques de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus* montrent que seuls les premiers réagissent. Il est, dès lors, intéressant d'envisager un séro-groupage avec, comme antigènes de groupe les acides lipoteichoïques. La composition en phospholipides de la membrane est un bon critère de différenciation (Op Den Camp et al., 1985).

II.7. Propriétés physiologiques des bifidobactéries

II.7.1. Température optimal

La température optimale pour la croissance des bifidobactéries est de 37 à 41 °C, le minimum est de 25 à 28°C et le maximum de 43 à 45 °C, alors qu'aucune croissance ne se produit en-dessous de 20 °C et au-dessus de 46 °C, à l'exception de *Bf. thermophilum*, *Bf. thermacidophilum subsp. Thermacidophilum* et *Bf. thermacidophilum subsp. porcinum* qui sont capable de croître aux états modérément thermophiles (47°C, 49,5°C et 46,5°C) (Zhu et al., 2003) et *Bf. psychraerophilum* cultive à température de 4°C (Simpson et al., 2004). Les bifidobactéries d'origine humaine révèlent une croissance optimale entre 36°C et 38°C, tandis que les bifidobactéries d'origine animale démontrent une croissance optimale entre 41°C et 43°C. La croissance à 45°C semble distinguer entre les espèces animales et humaines (Prasanna et al., 2014).

II.7.2. Sensibilité au pH

Les bifidobactéries sont des micro-organismes non acido-résistants. L'optimum pH est compris entre 6,5 et 7,0. Aucune croissance n'est enregistrée à pH plus bas que 4,5 et plus fortement qu'à 8,5. Seulement *Bf. thermacidophilum subsp. thermacidophilum* a une croissance retardée à pH 4 et *Bf. animalis subsp. Animalis* et *Bf. animalis subsp. Lactis* peuvent survivre exposés au pH 3,5 pendant 3 heures (Matsumoto et al., 2004).

La production maximale d'acide lactique et acétique chez les bifidobactéries exige un pH optimal initial proche de la neutralité qui varie entre 6-7 (Collins et Hall, 1984). Tandis que les bifidobactéries dans un environnement supérieur à pH 8,5 ne survivent pas (Biavati et al., 2000).

II.7.3. Anaérobiose

Les bifidobactéries sont des microorganismes anaérobies stricts, qui ne se développent pas en présence d'oxygène. La sensibilité à l'oxygène peut différer cependant entre les espèces mais également entre les souches d'une même espèce (**Talwalkar et Kailasapathy, 2003**). Certaines souches ont même donné naissance à des mutants facultatifs. D'une manière générale, les espèces du genre *Bifidobacterium* ne peuvent pas se développer en présence d'oxygène, mais survivent cependant. Les souches appartenant à l'espèce *lactis* peuvent croître en présence d'une faible tension d'oxygène (**Masco et al., 2004 ; Beerens et al., 2000**).

II.7.4. Sensibilité aux antibiotiques

Les bifidobactéries sont sensibles aux pénicillines telles que l'ampicilline ou la pénicilline G, les céphalosporines de première génération, les tétracyclines, les macrolides comme l'érythromycine, les lincosamides comme la clindamycine et enfin le chloramphénicol (**Bahloul, 2010**). La sensibilité des bifidobactéries à la tétracycline est variable selon les espèces. Elles sont par contre résistantes aux aminosides tels que la néomycine, la kanamycine, la gentamycine et la streptomycine (**Masco et al., 2006 ; Delgado et al., 2005**). Une résistance aux polymyxines telles que la polymyxine B a également été observée ainsi que pour le thriméthoprime et le métronidazole. Les mécanismes de résistance sont encore peu connus. La résistance intrinsèque à la néomycine et à la kanamycine a été largement exploitée pour améliorer la sélectivité des milieux de culture. Des limites sont cependant observées à cause de la grande variabilité entre les espèces (**Charteris et al., 1998**).

II.8. Propriétés génotypiques des bifidobactéries

Le séquençage du génome a permis une enquête plus approfondie sur les bactéries alimentaires et les commensaux intestinaux. La disponibilité publique de données complètes sur la séquence du génome a élargi notre compréhension de la biologie de ces micro-organismes et a fourni la possibilité de générer une énorme quantité d'informations sur les capacités métaboliques, la génétique et la phylogénie de ces bactéries. Sur les 37 espèces de bifidobactéries actuellement reconnues, seuls dix génomes de bifidobactéries ont été entièrement séquencés (**Hao et al., 2011**), avec 13 autres souches dont les séquences génomiques sont encore inachevées (source NCBI). Notamment, pour un petit

nombre de cas comme *Bf. longum subsp. Longum* (Schell et al., 2002), *Bf. animalis subsp. lactis* trois séquences génomiques ou plus sont disponibles (Barrangou et al., 2009).

II.8.1. Composition en bases cytosine guanine de l'ADN

Le pourcentage en G + C (G + C %) des bactéries du genre *Bifidobacterium* est compris entre 57,2 et 64,5 % par rapport aux bases A+T (Scardovi, 1986).

Les bifidobactéries ont un pourcentage en base G+C plus élevé que la plupart des autres espèces bactériennes. Miyake a classé les bifidobactéries en 2 groupes : les «G+C riches» (55-67%) et les «G+C pauvres» (45%) tandis que Jian et al.(2001) ont les a classer en 3 groupe : les «G+C riches» (55-67%), les «G+C pauvres» (45%) et les bifidobactéries ayant un % G+C intermédiaire (55%) (Jian et al., 2001).

II.8.2. Plasmides

Le plasmide s'est avéré être une molécule circulaire de 2540 paires de bases avec une teneur globale en G + C de 64 %. A l'origine putative de réplication, une répétition directe de 24 nucléotides répétée trois fois et demie a été observée, ainsi que cinq répétitions inversées, qui ressemblaient à l'organisation des plasmides répliquant le thêtype. Trois cadres de lecture ouverts codant pour des peptides de plus de 50 acides aminés ont également été identifiés : repB, codant pour une réplicase de 315 acides aminés, un gène couplé transcriptionnellement (orfX-like), similaire à l'orfX de certains plasmides lactococciques à réplication thêta, et copG- comme dans le brin complémentaire, qui a montré un domaine conservé présent dans les protéines de la famille CopG (Avarez-Martin et al., 2004).

Ces éléments d'ADN extrachromosomiques ne sont pas largement distribués dans les bifidobactéries. Une grande partie des plasmides de bifidobactéries décrits jusqu'à présent présentent des caractéristiques génétiques typiques pour la réplication plasmidique via un système de réplication en cercle roulant, c'est-à-dire les gènes repB, traA et mob. Exceptionnellement, dans pDOJH10S de *Bf. longum subsp. longum* DOJ10A et pBC1 de *Bf. catenulatum* possèdent des plasmides réplicatifs de type thêta. Notamment, tous les plasmides bifidobactériens ne codent pour aucun trait phénotypique évident, à l'exception du plasmide identifié à partir de *Bf. bifidum* NCFB 1454 qui code la bactériocine nommée bifidocine B (Turroni et al., 2009).

Lorsque les plasmides sont présents, ils sont de petite taille. Malgré cela, 11 plasmides de *Bf. longum* ont été complètement séquencés à ce jour : pMB1, pKJ36 et pKJ50 pBLO1 (Tanaka et al., 2005), pNAC1, pNAC2 et pNAC3, pTB6, pDOJH10L et pDOJH10S (Lee et O'Sullivan, 2006), et pB44 (GenBank Accession No. NC004443). De plus, cinq plasmides d'autres espèces de *Bifidobacterium* ont également été séquencés : pVS809 de *Bf. globosum*, pCIBb1 (O'Riordan et Fitzgerald, 1999) et pNBb1 (GenBank Accession No. E17316) de *Bf. breve*, pAP1 de *Bf. asteroides* (n° d'accès GenBank Y11549) et p4M de *Bf. pseudocatenulatum* (n° d'accès GenBank NC003527) (Corneau et al., 2004).

Tableau 06 : Projets de séquençage du génome des bifidobactéries (Turrone et al., 2010).

Species	Statuts	Length(bp)	ORFs	%GC	tRNA	rRNA	Accession number	Institution
<i>B.adolescentis ATCC15703</i>	Complete	2,089,645	1630	59	54	5	NC-0118618.1	Gifu Univ., Life science Research Centre ,Japan
<i>B.adolescentis ATCC15703</i>	Complete	1,933,695	1528	60	52	2	NC-011835.1	Korea Research Inst. Of bioscience and biotechnology
<i>B.animalis subsp.lactisAD011</i>	Complete	2,636,368	2143	59	55	4	CP001750	Univ.of Parma. Italy ;Univ. College of Cork, Ireland
<i>B.dentium Bd1</i>	Complete	2,832,748	2498	60	79	4	NC-011593.1	University of California Davis, USA
<i>B.longum subsp.LangumDJ010A</i>	Complete	2,375,792	1990	60	58	4	NC-010816.1	Univ.of Minnesota
<i>B.longumsubsp.LangumNcc2705</i>	Complete	2,256,640	1727	60	57	4	NC-004307.2	Nestle Research Center, Lausanne, Switzerland
<i>B.longumsubsp.LangumJDM301</i>	Complete	2,477,838	2035	59	61	3	NC-014169	Department of Medical Microbiology and Parasitology Shanghai Jiao Tony University school of Medicine
<i>B.animalis subsp.lactis B1-04</i>	Complete	1,938,709	1655	60	52	4	NC-012814	Danisco USA Inc
<i>B.animalis subsp.lactisDSM10140</i>	Complete	1,938,483	1658	60	51	4	NC-012815	Danisco USA Inc
<i>B.adolescentis 12-32</i>	Unfinished	2,385,710	2428	59	-	-	NZAAXD00000000	Washington Univ. (Wash U)
<i>B.angulatum DSM 20098</i>	Unfinished	2,007,108	1846	59	-	-	NZ-ABYS00000000	Washington Univ. (Wash U)
<i>B.animalis subsp.lactis HN 019</i>	Unfinished	1,915,892	1578	61	-	-	NZABOT00000000	Fonterra Research Centre
<i>B.bifidum PRL 2010</i>	Complete	2,214,656	1791	62	59	3	CP001840	Laboratory of probiogenomics.De parent of genetics University of Parma
<i>B.bifidum S17</i>	Complete	2,186,882	1845	62	59	3	CP002220	Italy University of Ulm, Germany
<i>B.bifidum NCI MB 41171</i>	Unfinished	2,186,140	1833	63	-	-	NZ-	Broad Institute

							ABQP00000000	
<i>B.breve</i> DSM 20213	Unfinished	2,297,799	2251	59	-	-	NZ-ACCG00000000	Washington Univ.(washU)
<i>B.catenulatum</i> DSM 16992	Unfinished	2,058,42	1950	56	-	-	NZ-ABXY00000000	Washington Univ.(washU)
<i>B.dentium</i> ATCC 27678	Unfinished	2,642,081	2430	59	-	-	NZ-ABIY00000000	Washington Univ. (Wash U)
<i>B.gallicum</i> DSM 20093	Unfinished	2,016,380	1983	58	-	-	NZ-ABXB00000000	Washington Univ. (Wash U)
<i>B.longum</i> subsp. <i>infantis</i> ATCC55813	Unfinished	-	2109	60	-	-	NZ-ACMI00000000	Baylor College of Medicine
<i>B.longm</i> subsp. <i>infantis</i> CCUG 52486	Unfinished	-	2120	60	-	-	NZ-ABQQ00000000	Broad Institute
<i>B.longum</i> subsp. <i>longum</i> strain BORI	Unfinished	-	-	-	-	-	Unpublished data	Korea Research of bioscience and biotechnology
<i>B.pseudocatenulatum</i> DSM 20438	Unfinished	-	2151	56	-	-	NZ-ABXX00000000	Washington Univ. (WashU)

II.9. Classification des bifidobactéries

Historiquement, les membres du genre *Bifidobacterium* ont été assignés à divers genres : *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bacterium*, *Bifidobacterium*, *Tissieria*, *Nocardia*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*. Pendant de nombreuses années, les bifidobactéries ont été incluses dans le genre *Lactobacillus* sous le nom de *Lactobacillus bifidus*, mais elles sont maintenant classifiées dans un genre distinct, *Bifidobacterium*, comme l'avait déjà suggéré Orla-Jensen, et le genre est inclus dans la famille des *Actinomycetaceae* (Orla jensen, 1924).

Avant 1957, de nombreux chercheurs ne reconnaissaient qu'une seule espèce dans le genre *Bifidobacterium*. Dans 1957, Dehnert a reconnu pour la première fois l'existence de multiples biotypes de bifidobactéries et a proposé un schéma pour la différenciation de cinq groupes de bifidobactéries basés principalement sur la fermentation des glucides (Dehnert, 1957).

Reuter a proposé, sur la base de la fermentation des glucides et des caractéristiques sérologiques, sept espèces de *Bifidobacterium*, en plus du *Bactéries bifidobacterium* connu, pour les souches isolées de nourrissons et d'adultes humains. Il a présenté un schéma pour leur identification et a reconnu les espèces et biovars suivants dans le genre *Bifidobacterium* : *Bf. bifidum* var. *a* et *b*, *Bf. infantis*, *Bf. parvulorum* var. *a* et *b*, *Bf. breve* var. *a* et *b*, *B. lactentis*, var. *a* et *b*, *Bf. lactentis*, *Bf. liberorum*, *Bf. adolescentis* var. *a*, *b*, *c* et *d*, et *Bf. longum* var. *a* et *b* (Reuter, 1963).

Le prochain grand schéma de classification a été présenté par Mitsuoka ,Quatre cent quatre-vingt-trois souches de bifidobactéries, isolées chez l'homme ainsi que chez une variété d'animaux, porc, poulet, *Bf. Bifidobacterium* veau, mouton, souris, rat et cobaye, et cochon d'Inde, ont été étudiées et classées sur la base des critères suivants Les résultats ont été comparés à ceux obtenus par Reuter, qui ont permis d'identifier les caractéristiques physiologiques et biochimiques de l'homme par leurs schémas de fermentation des hydrates de carbone et leur capacité à se développer à 46,5°C. Dans cette étude et a proposé la création des deux nouvelles Il a clairement différencié les souches non humaines, *Bf. thermophilum* var. *a*, *b*, *c* et *d*, de l'espèce humaine (Mitsuoka, 1969).

II.10. Quelques nouvelles espèces de *Bifidobacterium*

II.10.1. *Bifidobacterium Leontopitheci*

Les cellules sont Gram-positives, non-mobiles, non-sporulantes et F6PPK-positives. Les cellules se développent dans des conditions anaérobies et aérobies. Les diamètres de chaque colonie. Les cellules sont capables de se développer de 30 à 40 °C, mais sont incapables de se développer à 20 °C, 25 et 45 °C. De plus, les cellules se développent à un pH de 4,5-6 (**Duranti et al., 2020**).

II.10.2. *Bifidobacterium Castoris*

Les cellules sont Gram-positives, non mobiles, non sporulantes et F6PPK-positives. Les cellules se développent dans des conditions anaérobies et aérobies. se développer à des températures allant de 25 à 40 °C, mais pas à 20 °C. 40 C, mais pas à 20 C ou 45 C. De plus, les cellules se développent à un pH 5-6 (**Duranti et al., 2019**).

II.10.3. *Bifidobacterium Callimiconis*

Les cellules sont Gram-positives, non-mobiles, non-sporulantes et F6PPK-positives. Les cellules incubées en conditions aérobies ou anaérobies sont capables de se développer entre 25 et 40 C, mais ne se développent pas à 20 et 45 C. En outre, les cellules se développent à un pH de 4 à 6 (**Duranti et al., 2019**).

II.10.4. *Bifidobacterium Samirii*

Les cellules sont Gram-positives, non mobiles, non sporulantes et F6PPK-positives. Les cellules se développent dans des conditions anaérobies et aérobies. Ils sont capables de se développer entre 30 et 40 C, mais sont incapables de se développer à 20, 25 et 45 C. En outre, les cellules se développent à un pH de 4 à 6 (**Duranti et al., 2019**).

II.10.5. *Bifidobacterium Goeldii*

Les cellules sont Gram-positives, non motiles, non sporulantes et F6PPK-positives. Les cellules se développent dans des conditions anaérobies et aérobies. Ils sont capables de se développer de 20 à 40 C, mais ne peuvent pas se développer à 45 C. De plus, les cellules se développent à un pH de 4-6 (**Duranti et al., 2019**).

II.10.6. *Bifidobacterium Cebidarum*

Les cellules sont Gram-positives, non mobiles, non sporulantes et F6PPK-positives. Elles se développent dans des conditions d'anaérobies et aérobies et capables de se développer de 25 à 40 °C, mais ne se développent pas à 20 et 45 °C. De plus, les cellules se développent à un pH de 4,5-6, avec un pH optimal pour la croissance est de 6 (**Duranti et al., 2020**).

II.11. Métabolisme des bifidobactéries

II.11.1. Métabolisme des carbohydrates

La majorité des bifidobactéries utilisent le lactose, le glucose le sucrose, le galactose comme sources de carbone . Les hexoses sont dégradés par une voie métabolique particulière, elles utilisent la voie du fructose 6-phosphocétolase (F6PPK) ou encore appelée « shunt » du fructose 6-phosphate (**Angelo, 2015**). La voie métabolique du fructose 6-phosphate phosphocétolase produit de l'acide lactique et l'acide acétique comme métabolites primaires et par cette même voie métabolique il y'a la production des acides aminés à partir de cette voie bifide F6PPK (**Daniel et al., 2010**). Il existe également une voie partielle de la glycolyse ainsi qu'une voie partielle du cycle d'acide tricarboxylique. Des différences existent entre les espèces dans leur capacité à fermenter d'autres glucides ou des alcools (**Bruno, 2012**).

La fermentation de deux moles de glucose produit approximativement trois moles d'acide acétique, deux moles d'acide lactique et 2,5 moles d'ATP. L'enzyme clé de cette voie métabolique, la F6PPK, est considérée comme un identifiant taxinomique pour la famille des *Bifidobacteriaceae* (**Ventura et al., 2004; Felis et Dellaglio, 2007**). Cette enzyme scinde l'hexose-P en érythrose-4-P et acétylphosphate. Les bifidobactéries ne produisent ni l'acide butyrique ni l'acide propionique et le CO₂ est synthétisé seulement lors de la dégradation du gluconate. Cependant, la dégradation du pyruvate en acide formique et acétylphosphate et la réduction de cet acétylphosphate en éthanol peuvent modifier le ratio en faveur d'une production d'acétate, acide formique et éthanol plutôt qu'en faveur d'une production de lactate (**Ruas-Madiedo et al., 2005**).

II.11.2. Activité uréasique

Les souches les plus fréquemment uréolytiques sont celles appartenant à l'espèce *Bf. suis* (80% des souches sont uréolytiques). Toutes les autres espèces possèdent également des souches uréolytiques sauf *Bf. cuniculi*. Les bifidobactéries d'origine humaine sont moins souvent uréolytiques (moins de 10 %) (**Crociani et Matteuzi, 1982**).

II.11.3. Métabolisme des vitamines

Les bifidobactéries sont capables de produire des vitamines qu'elles libèrent dans le milieu. Cette capacité est variable selon les espèces. Deguchi et ses collaborateurs (1985) Distinguent ainsi trois groupes, sur la base de la production et de la libération de thiamine (Vit B1), acide nicotinique (Vit B3), et acide folique (Vit B9) (**Deguchi et al.,1985**), les espèces *Bf. bifidum* et *Bf. infantis* possèdent une bonne production des vitamines B1 et B9, *Bf. breve* et *Bf. longum* sont de faibles producteurs. Parmi les espèces faiblement productrices de vitamines, il existe certaines souches de l'espèce *Bf. adolescentis* ne synthétisant aucune vitamine (**Tamura 1983**).

III.1. Généralités sur les probiotiques

Plusieurs définitions ont été proposées depuis la théorie de Metchnikoff pour définir le terme probiotique (**Schrezenmeir et de Vrese 2001; Sanders, 2008**). En 2002, l'organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO : Food Agriculture Organisation Of the United Nation) et organisation mondiale de la santé (OMS) ont défini les probiotiques comme étant des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte au-delà de l'effet nutritionnel primaires, ils peuvent être des bactéries ou des levures (**Guarner et al., 2011**). Il s'agit le plus souvent de bactéries ou de levures qui peuvent être intégrés dans différents types de produits, y compris les aliments (notamment les produits laitiers fermentés), les substances médicamenteuses et les suppléments alimentaires. Ces microorganismes constituent la flore buccale, intestinale et vaginale (**Naïmi, 2014**).

De façon plus spécifique, pour qu'un organisme soit considéré comme étant potentiellement probiotique il doit présenter les caractéristiques suivantes:

- être un habitant naturel de l'intestin
- être capable de coloniser le milieu intestinal, persister et se multiplier
- adhérer aux cellules intestinales et exclure ou réduire l'adhérence des pathogènes
- avoir un métabolisme actif et produire des substances inhibant les pathogènes (acides, H₂O₂, bactériocines...)
- non invasif, non carcinogène et non pathogène
- être capable de co-agréger pour former une flore normale équilibrée
- survivre aux différents procédés technologiques de production
- garder sa viabilité dans l'aliment et durant le transit intestinal (**Stanton et al., 2001**).

Un vrai probiotique doit être sain, d'origine humaine, sans aucun vecteur qui peut transférer la résistance à l'antibiotique et les facteurs toxiques ainsi il doit avoir une bonne capacité pour survivre sous la condition intestinale (**Plaza –Dias et al., 2019**).

III.2. *Bifidobacterium* comme probiotique

Les microorganismes probiotiques sont en majorité des bactéries lactiques, utilisées dans la production des produits lactés fermentés. Les espèces associées aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* ont été signalées comme étant les souches bactériennes

les plus utilisées. Les espèces représentatives sont *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Bf. lactis*, *Bf. longum* et *Bf. bifidum* (Shi et al., 2016).

Les bifidobactéries sont souvent citées comme ayant de fortes capacités probiotiques. Cependant, l'utilisation industrielle de ces souches n'est pas aussi répandue que celles des lactobacilles. En effet, en 2009, l'analyse de 34 produits commerciaux a montré la présence de 16 bifidobactéries probiotiques contre 27 lactobacilles. De plus, parmi ces 16 bifidobactéries, 11 appartenaient à l'espèce *Bifidobacterium lactis*, connue pour ses propriétés de résistance aux stress (Muller et al., 2009). De même, sur les 35 souches vendues par les fabricants de ferments probiotiques, seules 11 sont des bifidobactéries.

La plupart des bactéries colonisant l'intestin sont des anaérobies obligatoires, y compris le genre *Bifidobacterium*. Les espèces bifidobactériennes sont traditionnellement utilisées dans les produits laitiers fermentés et certaines souches sont « généralement reconnues comme sûres ». Cela a favorisé l'application des bifidobactéries comme agents probiotiques (Picard et al., 2005). La plupart des souches probiotiques ont démontré leur effet positif sur la santé humaine. Certaines espèces et souches de bifidobactéries utilisées commercialement, y compris quelques souches probiotiques récemment confirmées de bifidobactéries, ont été étudiées (Sharma et al., 2021).

Tableau 07 : Effets de santé revendiqués de souches du genre *Bifidobacterium* (Fijan, 2014).

Espèce <i>Bifidobacterium</i>	Propriété de santé rapporté dans la littérature
<i>Bf. animalis subsp. Lactis</i>	<ul style="list-style-type: none"> •<i>Bf. animalis subsp. Lactis</i> DN-173 010 : traitement de la constipation fonctionnelle chez les adultes •Modulation de l'activité du cerveau •Réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés •réduction de la numérotation microbienne totale dans la plaque dentaire •<i>Bf. animalis. Subsp. Lactis</i> MB 202 / DSMZ 23733 :réduction du taux de cholestérol •<i>Bf. animalis. subsp. Lactis</i> B1-04 : réduction du risque

	de maladie des voie respiratoire supérieures
<i>Bf. breve</i>	<ul style="list-style-type: none"> •Prévention est et traitement de l'entérocolite nécrosante chez les nouveau-nés •<i>Bf. breve</i> MB 113/ DSMZ 23731: réduction du cholestérol
<i>Bf. bifidum</i>	<ul style="list-style-type: none"> •Réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés •<i>Bf. bifidum</i> MB 109/ DSMZ 23731 : réduction du taux de cholestérol
<i>Bf. infantis</i>	<ul style="list-style-type: none"> •Réduction des symptômes du syndrome de l'intestin irritable •Réduction de l'entérocolite nécrosante chez les prématurés •Réduction des ballonnements chez les personnes présentant des troubles fonctionnels intestinaux
<i>Bf. longum</i>	<ul style="list-style-type: none"> •Prévention et traitement de l'entérocolite nécrosante chez les nouveau-nés •Réduction de la diarrhée induite par rayonnement •Réduction des symptômes du syndrome de l'intestin irritable •<i>Bf. longum</i> SMCC P0001 : traitement des maladies gastro-intestinales •<i>Bf. longum</i> CCM 7952 : réduction de l'allergie

III.3.Mécanisme d'action des bifidobactéries

Les effets des microorganismes probiotiques varient selon les souches et résultent généralement de mécanismes complexes, souvent non totalement élucidés. Ces effets sont dus, soit à la présence de la souche, soit à une interaction avec la flore autochtone/le système immunitaire. Il est généralement admis que les probiotiques contribuent à l'homéostasie intestinale par quatre grands modes d'action :

- Amélioration des fonctions digestives
- Exclusion ou inhibition des pathogènes
- Renforcement de la fonction barrière de l'intestin

- Modulation du système immunitaire (**Bermudez-Brito et al., 2012; Lemetais, 2012**).

Les probiotiques affectent l'écosystème intestinal en stimulant les mécanismes Immunitaires, en produisant des produits métaboliques tels les acides gras à chaîne courte et en communiquant avec les cellules hôtes par des signaux chimiques. Ces mécanismes peuvent induire un antagonisme envers des pathogènes potentiels, améliorer l'environnement intestinal, renforcer la barrière intestinale, diminuer l'inflammation et renforcer la réponse immune. On pense que ces phénomènes induisent la plupart des effets positifs, y compris la réduction de l'incidence et de la sévérité des diarrhées. Il s'agit là de l'utilisation la plus largement reconnue des probiotiques (**Guarner et al., 2011; Ashaolu, 2020**). Les probiotiques concernent différentes espèces bactériennes, mais on rencontre le plus souvent des bactéries à Gram positif qui sont les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (**Butel, 2014**).

Les attributs fonctionnels de bifidobactéries contribuent directement ou indirectement à plusieurs bienfaits pour la santé, notamment la protection contre les microbes pathogènes, l'hypertension, l'inflammation, le diabète, le stress oxydatif, etc. Ces microbes sont également impliqués dans la modulation du microbiome, la modulation immunitaire et l'activité anti-cholestérolémique (**Novik et Savich, 2020**).

Les bifidobactéries peuvent synthétiser et produire des vitamines comme la riboflavine, la thiamine, la vitamine B6 et la vitamine K et des molécules bioactives apparentées comme l'acide folique, la niacine et la pyridoxine. Les bifidobactéries contenant du lait fermenté sont riches en acides aminés libres et en vitamines. Par rapport aux bactéries lactiques, les bifidobactéries produisent préférentiellement de l'acide L(+)-lactique, qui est plus facilement métabolisé par l'homme et peut être important dans le cas des nourrissons ou des personnes souffrant d'acidose métabolique. Les produits alimentaires contenant des bifidobactéries peuvent également améliorer la biodisponibilité des minéraux en facilitant leur ionisation des formulations probiotiques contenant des bifidobactéries comprennent une seule souche bactérienne, en combinaison avec d'autres microbes probiotiques, des cellules bactériennes encapsulées et des cellules co-encapsulées avec des prébiotiques (**Sharma et al., 2021**).

Les bifidobactéries interviennent aussi bien dans la prévention que dans le traitement d'un large spectre de troubles gastro-intestinaux chez l'homme et les animaux (**Szajewska et al., 2006**). Parmi leurs effets bénéfiques, on peut citer la réduction de

l'intolérance au lactose (**He et al., 2008**), la diminution du cholestérol, la réduction de l'inflammation intestinale ou encore l'immunostimulation et l'effet barrière vis-à-vis d'agents pathogènes (**Ataie Jafari et al., 2009**).

Les espèces de *Bifidobacterium* les plus courantes colonisent l'intestin humain et sont utilisées dans des formulations probiotiques, notamment *Bf. animalis*, *Bf. adolescentis*, *Bf. bifidum*, *Bf. breve*, *Bf. infantis* et *Bf. longum*. La plupart de ces bactéries ont démontré leur rôle en tant que souches probiotiques ainsi que postbiotiques (**Sharma et al., 2021**).

III.4. Culture des bifidobactéries

III.4.1. Besoins nutritionnels des *Bifidobacterium*

III.4.1.1. Besoins en acides aminés

Les *Bifidobacterium* sont, d'une façon générale, capables d'utiliser les sels d'ammonium comme seule source d'azote. A ce sujet, il est peut-être envisageable d'imaginer que les bifidobactéries pourraient diminuer la teneur en ammoniacque du tube digestif, particulièrement augmentée lors des insuffisances hépatiques (**Asselin, 1988**). Certaines espèces telles que *Bf. suis*, *Bf. magnum* et *Bf. cuniculi* peuvent pousser sans apport d'azote organique. Dans ce cas de nombreux acides aminés tels que la thréonine, l'alanine, la valine et l'acide aspartique sont excrétés et ceci en quantité importante (**Ravula et Shah, 1998**).

Mais d'une façon générale la cystéine est le seul acide aminé nécessaire à la croissance des espèces de *Bifidobacterium*. Le glutathion est lui aussi indispensable. Les composés inactifs sont l'homocystéine, la méthionine, le mercaptoéthanol, l'acide thiopropionique, l'acide thiomalique. La cystéine nécessaire à la culture des *Bifidobacterium* ne peut pas être remplacée par la méthionine ou homocystéine (**Scardovi, 1986**).

Ces bactéries ne réduisent pas les nitrates et sont incapables de former de l'indole, de liquéfier la gélatine, de fermenter le glycérol ou d'utiliser les acides aminés, les acides gras et les acides organiques comme sources de carbone. Toutefois, les carbonates ou les bicarbonates sont des sources de carbone utilisées par les bifidobactéries (**Delsenserie et al., 2002**).

L'utilisation des hydrates de carbone comme source de carbone varie d'une espèce à l'autre. L'espèce *Bf. infantis* peut fermenter quatre types d'hydrate de carbone alors que l'espèce *Bf. adolescentis* peut en fermenter plus de 19. Toutes les souches d'origine humaine sont capables d'utiliser le glucose, le galactose, le lactose et généralement le fructose comme source de carbone (Shah, 1997).

III.4.1.2. Besoins en minéraux

Bf. bifidum est une espèce particulièrement étudiée en ce qui concerne les minéraux. Bezkovainy et Topouzian, 1983 et Ueda et al, 1983 ont montré que *Bf. bifidum* ne croît qu'en présence de magnésium et de manganèse, et surtout de fer. Le fer peut être assimilé par *Bf. bifidum* sous ses deux formes d'oxydation selon l'acidité du milieu : ferreux ou ferrique (Bezkovainy et Topouzian, 1983).

Le fer ferreux (Fe^{+2}) est assimilé essentiellement à pH acide, son incorporation est régie par plusieurs facteurs. A faible concentration, le transport de la molécule dans la bactérie dépend, entre autres, de la température (Bezkovainy et al., 1986).

A forte concentration, l'affinité du germe pour le fer diminue et l'incorporation devient indépendante de la température. Le transport de la molécule dépendrait, dans les deux cas, d'une ATPase membranaire et son incorporation est inhibée compétitivement par le zinc. Le fer ferrique (Fe^{+3}) n'est incorporé par *Bf. bifidum* qu'à pH neutre. Il existe deux systèmes d'assimilation selon le mode de présentation du fer. Sous forme monomérique, le transport dépend de la température et de la présence d'une substance sécrétée par la bactérie, et est inhibé par différents inhibiteurs métaboliques. Inversement, la forme polymérique est incorporée sans que ces différents facteurs n'interviennent. Les deux systèmes sont saturables par le fer, indiquant ainsi la présence d'un transporteur associé à la membrane et (ou) un nombre limité de sites récepteurs à la surface de la bactérie (Ueda et al., 1983).

III.4.1.3. Besoins en vitamine

La culture des *Bf* a permis de montrer que la biotine et le pantothénate de calcium sont nécessaires (Hassinen, 1951). Mais ces vitamines ne sont nécessaires que chez certains *Bifidobacterium* que l'on retrouve dans les selles des enfants nourries au sein. On les appelle *Bf* de type A. Les *Bf* de type B sont rencontrés dans les selles des enfants nourris au biberon et la biotine n'est pas nécessaire pour leur culture, mais la stimule et ceci

de façon importante. La riboflavine est indispensable à leur croissance La croissance des bifidobactéries est stimulée d'une façon générale par l'acide para-aminobenzoïque, l'acide folique et l'acide nicotinique L'activité de la pantéthine est approximativement égale à celle du pantothénate de calcium (**Shah et Lankaputha, 2002**).

De nombreuses souches humaines sont capables de produire des vitamines qu'elles libèrent dans le milieu. Cette capacité est variable selon les espèces. **Deguchi** et ses collaborateurs (**1985**) distinguent ainsi trois groupes, sur la base de la production et de la libération de thiamine, acide nicotinique et acide folique. *Bf. bifidum* et *Bf. infantis* les accumulent en grande quantité alors que *Bf. breve* et *Bf. longum* sont de faibles producteurs. Parmi les espèces faiblement productrices de vitamines, il existe certaines souches de l'espèce *Bf. adolescentis* ne synthétisant aucune vitamine (**Delcenserie, 2002**).

III.4.1.4. Besoins en composés azotés

La plupart des souches de *Bifidobacterium* sont capables d'utiliser les sels d'ammonium comme unique source d'azote, Cependant, *Bf. suis*, *Bf. magnum*, *Bf. choerinum* et *Bf. cuniculi* ne se développent qu'en présence d'azote organique. In vitro, et en absence de source azotée organique, les bifidobactéries peuvent synthétiser d'importantes quantités d'acides aminés. *Bf. bifidum*, par exemple, produit de l'alanine, de la valine, de l'acide aspartique et jusqu'à 150 mg/l de thréonine (**Matieuzi et coll, 1978**). Selon **Hatanaka et coll (1987a, 1987b)**, la glutamine synthétase et le glutamate déshydrogénase des *Bifidobacterium* participeraient à l'assimilation des composés azotés chez ces microorganismes (**Hassinen et coll., 1951**).

III.4.2. Facteurs bifidigènes

Les *Bifidobacterium* ont besoin pour leur développement de facteurs de croissance présents dans le lait de femme et qu'ils ne trouvent pas dans le lait de vache ou les laits modifiés, dits humanisés (**De Halleux et Rigo, 2013**).

En 1953, Gyoigy emploi pour la première fois le terme facteur bifidigènes pour designer des substances inconnues indispensables à la croissance d'un mutant *Bf. bifidum*. Le rôle important des facteurs bifidigènes a été revu par **Modler (1997)**.

Il y a des différences entre les facteurs bifidigènes et les facteurs de croissance pour les bifidobactéries en termes de leur nature et de leur fonction. Les facteurs de croissance

sont des composés qui favorisent la croissance des bifidobactéries *in vitro* mais ne peuvent pas être livrés aux grands intestins ou caecum pour favoriser sélectivement la prolifération des bifidobactéries. En revanche, les facteurs de bifidigènes sont définis en tant que composés, habituellement à caractère d'hydrate de carbone, qui ne sont pas digérés directement par l'hôte et atteignent le grand intestin ou caecum, où elles sont préférentiellement métabolisées par les bifidobactéries comme source d'énergie (**Modler, 1994**).

Il est montré, il y a quelques années, que les différentes espèces de *Bifidobacterium* n'exigent pas les mêmes facteurs de croissance (**Coppa et al., 2014**). La fraction HPLS, avec un taux de peptides élevé (76.30 % poids sec), de MM ne dépassant 3500 daltons et avec une faible dose en sucre lactose (5% poids sec), montre une meilleure activité bifidigène vis-à-vis des *Bifidobacterium*, en particulier vis-à-vis de *Bf.bifidum* var b, souche qu'on trouve en majorité chez les nourrissons nourris au sein. Les autres fractions semblent être actives sur les autres *Bifidobacterium* (*Bf. longum*, *Bf. infantis*) dont leur besoin en facteurs de croissance est de nature peptidique, non glycosylé (**Chadli et al., 2018**). Ainsi *Bf. bifidum* trouve dans le lait de femme des facteurs qui résistent au chauffage alors que *Bf. infantis* ne se développe plus en présence de lait de femme pasteurisé. Il existe donc au moins deux types de facteurs, thermostables pour *Bf. bifidum* et thermolabiles pour *Bf. infantis*. Lorsqu'on s'adresse au lait de vache ou aux laits maternisés comme source de facteurs bifidigènes, on constate, au moins *in vitro*, qu'ils ne favorisent pas le développement de *Bf. bifidum*, par contre les résultats sont variables avec les autres espèces (**Mitsuokat, 1984**).

Actuellement, nous pouvons distinguer trois grands groupes de facteurs bifidigènes différents selon l'espèce à laquelle nous nous intéressons (**Modler, 1990**) : Les mieux étudiés, sont les facteurs de croissance spécifiques de *Bf. bifidum*. Trois groupes de substances sont décrits :

III.4.2.1. Facteur BB

Le groupe BB est spécifique à l'espèce *bifidum* et ressemble les facteurs BF1, BF2 et des glycoprotéines.

III.4.2.1.1. Facteur bifidus 1

Est un sucres contenant tous de la N-acetylglucosamine, favorisant le développement de *Bf. bifidum* var pennsylvanicus. Il existe dans de nombreuses sécrétions humaines, dans le colostrum, le lait (gynolactose), le liquide amniotique, le méconium ainsi que dans les glycoprotéines des groupes sanguins. Des produits de synthèses comme le β -éthyl-N-acétylglucosamine entre dans cette catégorie de facteurs (**Neimann et al., 1965 ; Rommond et al., 1990 ; Biavati et al., 2000**).

III.4.2.1.2. Facteur bifidus 2

Leur nature a été décrite essentiellement par Raynaud (1959a) à partir d'une souche de *Bf. bifidum* var. a : Il s'agirait de peptides non glycosylés dépourvu de la N.acetylglucosamine, obtenus par exemple par action d'une protéase sur la caséine. L'hydrolysate enzymatique de caséine est, de loin, le composé le plus actif (**Raynaud, 1959a**).

III.4.2.1.3. Glycoprotéines

Les glycoprotéines isolées du lactosérum de lait et de colostrum humain semblent efficaces sur les deux types de variantes (**Seka, 1982**). Il semble que l'activité de ces structures soit à relier à leur copule glucidique (**Passerat, 1991**). Il a été démontré que l'hydrolyse trypsine et chymotrypsine de la caséine libèrent des glycoprotéines similaires à celle du lactosérum (**Romond et Romond, 1990**).

III.4.2.1.4. Facteur de Petuely (lactulose)

La lactulose s'est avéré être un facteur efficace pour la croissance de *Bifidobacterium* et il est également appliqué dans une grande variété d'aliments en tant que facteur bifidogène ou en tant qu'ingrédient fonctionnel pour la régulation intestinale (**Biavati et al., 2000**). Le lactulose dissacharide, inactif in vitro, mais ajouté à l'alimentation artificielle de l'enfant, il stimule le développement de *Bifidobacterium* intestinaux (**Chadli et al., 2018**). Il est facilement métabolisé par toutes les espèces de *Bifidobacterium* qui résident dans le tractus intestinal humain.

La lactulose utilisée par *Bifidobacterium*, est métabolisée en acides organiques et entraîne une diminution du pH intestinal. Anaérobies obligatoires, leur croissance dans le

gros intestin est stimulée par le lactulose et peut conduire à la formation de formes cellulaires spécifiques, telles que « Y » ou « V » (**Biavati et al., 2000**).

La polymyxine B a également été observée ainsi que pour le thriméthoprim et le métronidazole (**Rada et Diebal, 1998**). Les mécanismes de résistance sont encore peu connus (**Lim et al., 1993**). La résistance intrinsèque à la néomycine et à la kanamycine a été largement exploitée pour améliorer la sélectivité des milieux de culture. Des limites sont cependant observées à cause de la grande variabilité entre les espèces (**Charteris et al., 1998**).

III.4.3. Milieux sélectifs des bifidobactéries

L'isolement, la culture et le dénombrement des bifidobactéries nécessite des conditions assez spécifiques, qui mettent en jeu des systèmes d'anaérobiose comme les anaerocult ou les gas-pack et des milieux de cultures très riches (**Hadadji et al, 2005**). tel que TPY, milieu Beerens, MRS cystéine, MRS Raffinose, milieu Columbia modifié (**Scardovi, 1986**) et milieu sélectif de Pentuey (PSM) contenant l'acide pyruvique et l'acide nalidixique (**Tanaka et Mutai, 1980**); BSI (**Mitsuoka et al., 1965**); Bim-25 (**Munoa et Pares, 1988**), AMC (**Payne et al., 1999**), milieu DP (**Bonaparte et al., 2001**), ils favorisent une croissance optimale des bifidobactéries et possède ainsi une bonne productivité (**Bonaparte et al., 2001**).

Des agents sélectifs pour *Bifidobacterium* sont additionnés à ces milieux, et sont principalement des antibiotiques (kanamycine, acide nalidixique, paramycine et polymyxine B) et/ou acide propionique. Cependant, l'analyse de quelques milieux sélectifs généralement utilisés de *Bifidobacterium* a montré qu'aucun milieu ne possède une sélectivité satisfaisante (**Mikkelsen et al., 2003**).

III.4.4. Isolement des bifidobactéries

Selon **Shah (1997)**, les conditions anaérobies sont essentielles pour l'isolation et l'énumération des bifidobactéries. Aussi, il est suggéré d'incuber les bifidobactéries sous atmosphères modifiées et composées de 10% CO₂ et 90% N₂ à 37 °C pendant 48h.

Les colonies isolées sont repiquées de façon alternée sur milieu solide jusqu'à purification. La pureté des souches est vérifiée par l'observation macroscopique (forme, couleur, taille) (**Zuo, et al., 2015**).

Pour l'isolement des composés bifides après la fermentation dans le milieu de production, le surnageant de culture est recueilli après centrifugation à grande vitesse, concentré par ultrafiltration (100 kDa) puis dialysé à l'aide d'une membrane de 10 kDa pour isoler les composés de haut poids moléculaire. Le surnageant concentré, appelé BI CBi0703SN ou BI CBi0701SN, est lyophilisé avant d'être soumis à une analyse par chromatographie de gel filtration (GF) de Superdex200® (**Zuo, et al., 2015**)

III.4.5. Dénombrement des bifidobactéries

Pour évaluer la viabilité et la survie des bactéries probiotiques, il est important d'avoir une méthode de travail pour le dénombrement sélectif de ces bactéries probiotiques. Il existe plusieurs méthodes pour la sélection et le dénombrement de *Bifidobacterium*. Cependant, la plupart de ces méthodes sont basées sur des cultures pures de ces organismes. De même, plusieurs milieux sélectifs (**tableau 08**) ont été développés pour le dénombrement de cultures pures de *Bf.* dont (NNLP) acide nalidixique- néomycine, gélose sulfate-chlorure de lithium-sulfate de paromomycine (5,8, 61, 65, 67, 80, 90, 91, 92) (**Shah, 1999**).

Les milieux de culture pour les bifidobactéries peuvent être divisés en milieu de culture basal, électif, différentiel et sélectif. Les milieux non sélectifs sont utiles pour le dénombrement de routine des bifidobactéries lorsqu'elles sont présentes dans les laits non fermentés. La gélose clostridienne renforcée et la gélose Man Rogosa Sharpe (MRS) additionnées de cystéines disponibles dans le commerce sont les milieux de choix des laboratoires de contrôle de la qualité industriels. Plusieurs milieux d'isolement sélectif ou différentiel ont été décrits pour le dénombrement des bifidobactéries à partir d'autres bactéries lactiques. On peut conclure qu'il n'existe pas de milieu standard pour la détection des bifidobactéries. Cependant, les milieux à base de gélose Columbia additionnés de chlorure de lithium et de propionate de sodium et le milieu MRS additionné de néomycine, de paromomycine, d'acide nalidixique et de chlorure de lithium peuvent être recommandés pour le dénombrement sélectif des bifidobactéries (**Roy D, 2001**).

Tableau 08 : Milieux utilisés pour le dénombrement des bifidobactéries dans les fèces, les produits laitiers et produits pharmaceutiques (Shigwedha et Jia, 2013).

Moyen	sélectivité basée sur	utilisé pour
Acetylglucosamine-Lactose (AL)	Lactose, acetylglucosamine	Fèces
AMC-agar	nal, polymyxin B, kan, iac, TTC, LiCl, prop	<i>Bf. longum</i>
<i>Bifidobacterium</i> selective (BS) agar	LiCl, neo, paro, prop	Fèces
<i>Bifidobacterium</i> selective medium (BBM-agar)	nal, rifampicine, raffinose	Fèces
<i>Bifidus</i> Blood Agar	aniline bleu, sang	Fèces
Bif-medium	human whey, nal, paro, aztreoname, netilmycine	Produits laitiers
<i>Bifidobacterium</i> Iodoacetate Medium (BIM-25 agar)	kan, nal, iac, neo, polymyxine B	Eaux usées
BS-agar	LiCl, neo, paro, prop	Fèces
China Blue (CB) agar	Effet spécifique de bleu de chine	Fèces
GL-agar	galactose, LiCl	Produits laitiers
Liver Cysteine Lactose (LCL) agar	lactose, infusion de foie	Fèces
LP agar	lactose, LiCl, prop	Produits laitiers
Modified Rogosa agar	neo, paro, prop, LiCl	Produits laitiers
MPN-agar	lactose, nal	Fèces
MRS-LP-agar	prop, LiCl	Produits laitiers
Neomycin Paromomycin Lithium Nalidixic acid (NPLN) agar	LiCl, nal, neo, paro, prop	fèces, produits laitiers
Propionate or Beerens agar	propionique, pH 5.0	Fèces
Raffinose-Bifidobacterium (RB) Agar	raffinose, LiCl, propionate	fèces, produits laitiers
RCM (modified)	Bas Ph	Produits laitiers
RCM + stain	stain Loeffler's methylene blue stain	Produits laitiers

Rogosa agar	Bas Ph	fèces, produits laitiers
Rogosa (modified)	neo, paro, prop, LiCl	Produits laitiers
Rogosa-N	low pH, nal	Fèces
Tomato Casein Peptone Yeast Agar (TCPY)	Jus de tomate	Fèces
Transgalactosyloligosaccharide (TOS-Agar)	TOS	fèces, produits laitiers
TOS-Agar (modified)	TOS, nal, neo, paro	Produits laitiers
TPYd-agar	Dicloxacillin	Produits laitiers
TTC-agar	TTC	Contamination fécale
VF-agar (modified)	LiCl, prop, neo, sodium lauryl sulfate	Produits laitiers
YN-6 agar	lactose, nal, neo, vert de bromocrésol	fèces, eaux usées

iac = acide iodoacétique, kan = kanamycine, LiCl = lithiumchloride, nal = acide nalidixique, neo = neomycine, paro = paromomycine, prop = propionate, TOS = transgalactosyl oligosaccharides, TTC = 2,3,5-triphenyltetrazoliumchloride

III.4.6. Identification des bifidobactéries

III.4.6.1. Identification au niveau du genre

L'identification provisoire d'une souche bactérienne comme membre du genre *Bifidobacterium* peut être réalisée sur la base de la forme de la colonie et de la microscopie, bien que *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Actinomyces* et *Eubacterium* peuvent se ressembler de près dans leur apparence microscopique. Une différenciation fiable des bifidobactéries de ces genres apparentés, ne peut cependant être obtenue que par des tests biochimiques, comme le montre le **tableau 09**. Le site présence des produits de fermentation, parmi lesquels l'acide acétique prédomine généralement sur l'acide lactique comme principal produit final, est considérée comme l'un des plus importants tests de diagnostic du genre *Bifidobacterium*. L'attribution la plus directe, la plus fiable et, surtout, la plus fructueuse d'une souche bactérienne au genre *Bifidobacterium* est la démonstration dans des extraits cellulaires de la présence de fructose-6-phosphate phosphocétolase (F6PPK), l'enzyme clé de métabolisme de l'hexose des bifidobactéries (**Mitsouka, 1984**).

Presque tous les tests biochimiques tels que la mise en évidence de la catalase, la réduction des nitrates, la formation d'indole, la liquéfaction de la gélatine, la formation de gaz à partir du glucose, et la fermentation du rhamnose, sorbose, glycérol, érythritol, adonitol et dulcitol sont négatifs pour le genre *Bifidobacterium* (Mitsouka, 1984).

Tableau 09 : Clé pour la différenciation des *Bifidobacterium* de la génération apparentée (Mitsouka, 1984).

Characterisitics	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Lactobacellus</i>
Major fermentation products	AL	S	P	B,AF,none	L
Aerobic growth	-	+	V	-	V
Gas formation from glucose	-	-	-	V	V
Catalase production	-	V	+ ⁻	-	-
Nitrate production	-	+ ⁻	+	V	-
Indole production	-	-	V	-	-
Gelatin production	-	- ⁺	+ ⁻	V	-
Dulcitol	-	-	- ⁺	- ⁺	
Rhamnose	-	V	- ⁺	- ⁺	V ⁻⁺
Sorbose	-	V	V	-+	- ⁺
Glycerol	-	-	+ ⁻	- ⁺	- ⁺
Erythritol	-	-	+ ⁻	- ⁺	- ⁺
Adonitol	-	-	V	- ⁺	- ⁺

+ = Positive; A = Acetic acid; S = succinic acid; - = Négative

B = Butyric acid; +⁻ = Major positive; F = Formic acid; -⁺ = Major negative; L = lactic acid;

V = Variable; P = Propionic acid

III.4.6.2. Identification au niveau de l'espèce

L'identification de *Bifidobacterium* au niveau de l'espèce peut être réalisée par l'utilisation de tests de fermentation. L'un des premiers schémas d'identification était basé sur le schéma de fermentation des hydrates de carbone (Mitsuoka, 1969). Des données encourageantes ont été obtenues de la fermentation de polysaccharides complexes et de mucine. Certaines espèces d'origine humaine fermentent sélectivement certains composants, ce qui permet de développer une clé pour la différenciation des espèces humaines de *Bifidobacterium* (Crociani et al., 1994).

Les profils électrophorétiques des protéines cellulaires ont été utilisés pour confirmer l'identification taxonomique de 1 094 souches de bifidobactéries appartenant à des espèces connues du genre. Au sein des espèces, les souches qui ont 80% ou plus d'homologie d'ADN sont identiques ou presque identiques (**Biavati et al., 1982**).

En pratique, la différenciation entre les espèces de *Bifidobacterium* peut être réalisée principalement à l'aide des tests de fermentation et des tests morphologiques. Le schéma différentiel pour une identification rapide de routine des espèces phénotypiques de bifidobactéries est présenté dans le **tableau 10**.

Tableau 10 : Caractéristiques utilisées pour différencier les espèces et sous-espèces phénotypiques au sein du genre bifidobacterium (Mitsuoka, 1984).

Espèce et sous espèce	Gluconate	Arabinose	Xylose	Ribose	Mannose	Fructose	Galactose	Sucrose	Maltose	Cellobiose	Lactose	Trehalose	Malibiose	Raffinose	Melezitose	Starch	Glycogen	Inulin	Mannitol	Sorbitol	Inositol	Esculin PH	Salicin	Amygdalin	synonyme phénotypique	
<i>B.bifidum</i>	-	-	-	-	-	+	+	V	-	-	+	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>B.minium</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>B.choeriumum</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>B.Thermophilum</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	V	V	V	+	+	V	+	+	V	-	-	-	(+)	(+)	(+)	<i>B. boum</i>	
<i>B.infantis</i>																										
<i>ss.infantis</i>	-	-	-	+	(+)	+	+	+	+	W	+	(+)	+	+	-	(+)	(+)	-	-	-	V	-	+	-		
<i>ss.liberonum</i>	-	-	+	+	(+)	+	+	+	+	-	+	(+)	+	+	-	W	-	-	-	-	+	(+)	(+)	-		
<i>ss.lactentis</i>	-	-	+	(+)	(+)	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	W	-	-	-		
<i>B.breve</i>																										
<i>ss.breve</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	V	V	W	+	+	-	+	+	+		
<i>ss.parularum</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-+	+	+	V	+	+	V	-	-	-	+	+	+		
<i>B.Cuniculi</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>B.longum</i>	-	+	+	+	V	+	+	+	+	-	+	-+	+	+	+	- ^w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>B.magnum</i>
<i>B.animalis</i>	-	+	+	+	V	+	+	+	+	-	+	V	+	+	-	- ^w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>B.suis</i>
<i>B.pullorum</i>	-	+	+	+	+	+	(+)	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-		
<i>B.pseudolangum</i>	-	+	+	+	(+)	+	+	+	+	V	V	-	+	+	V	+	+	-	-	-	-	- ^w	- ^w	- ^w	<i>B.globosum</i>	
<i>B.gallinarum</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-+	-	-	+	-	-	-	+	+	+		
<i>B.adolescentis</i>	V	+	+	+	V	+	+	+	+	V	+	V	+	+	V	V	V	V	V	V	V	-	+	+	+	<i>B.angulatum</i> <i>B.catenulatum</i> <i>B.pseudocatenulatum</i> <i>B.lentium</i>
<i>B.Coryneforme</i>	V	+	+	+	-	+	V	+	V	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	<i>B.asteroides</i>	
<i>B.indicum</i>	+	-	-	+	V	+	V	+	V	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>B.subtile</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	V	+	+	+	+	+	D	-	+	-	V	-	-		

III.5.Critères de sélection des bifidobactéries en tant que probiotique

Les bactéries des souches productrices d'acide lactique tels que les *Lactobacilles*, certains *Streptocoques* et les bifidobactéries, se sont les probiotiques les plus étudiés (**Kopp-Hoolihan, 2001**).L'attribution des allégations santé et la mise en marché des produits probiotiques doivent passer par plusieurs étapes. En effet, la sélection et l'évaluation du potentiel probiotique des micro-organismes dépendent de certains critères. Ces critères, résumés dans le (**tableau 11**), sont réparties en trois catégories à savoir les critères de sécurité, fonctionnels et technologiques.Le choix des probiotiques dépend de ses propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Selon le rapport de la **FAO/WHO (2002)**, un microorganisme doit être soumis aux étapes de caractérisations suivantes avant d'avoir le statut probiotique (**Jedidi, 2007**) :

- Être d'origine humaine
- Être non pathogène
- Résister au pH acide de l'estomac et aux concentrations biliaires présentes dans l'intestin grêle
- Adhérer aux différents tissus épithéliaux du tractus gastro-intestinal
- Avoir une bonne colonisation du tube digestif
- Produire des substances antimicrobiennes capables d'inactiver des pathogènes
- Moduler les réponses immunitaires

Tableau 11 : Principaux critères utilisés pour la sélection des souches probiotiques (**Alegre, 2009**).

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • Historique de non pathogénicité (GRAS) Souche d'origine humaine ou alimentaire • Souche caractérisée par des méthodes phénotypiques et génotypiques • Souche déposée dans une collection de cultures internationale • Aucune possibilité de transmission de gènes de résistance aux antibiotiques • Pas de déshydroxylation des sels biliaires
----------------------	--

Compétitivité	<ul style="list-style-type: none"> • Tolérance à l'acidité gastrique • Tolérance à la bile • Antagonisme vis-à-vis des pathogènes et production de substances antimicrobiennes (bactériocines) • Adhésion à diverses lignées de cellules intestinales et/ou au mucus • Stimulation du système immunitaire
Performances et fonctionnalités	<ul style="list-style-type: none"> • Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé (efficacité documentée et prouvée dans des études in vitro et in vivo contrôlées chez l'Homme) • Action antagoniste vis-à-vis de bactéries pathogènes • Production de substances anti-microbiennes et/ou bioactives (enzymes, peptides, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, acides organiques ou autres composés inhibiteurs) • Propriétés immunostimulantes, Anti-mutagène et anti-cancérigène
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini • Conservation des propriétés probiotiques après production

III.5.1. Pouvoir non pathogène des bifidobactéries

Les espèces du genre *Bifidobacterium* ne possèdent ni endotoxine (bactérie Gram positive), ni exotoxine. Ce genre n'est pas considéré comme pathogène. Cependant, son pouvoir acidogène est tellement intense qu'il peut provoquer des irritations locales (cystites hémorragiques) ou même des destructions : ainsi la présence de l'espèce *Bf. Dentium* dans les dents cariées a incité de nombreux auteurs à l'incriminer comme agent de corrosion de la dentine et de l'émail. A ce jour, l'espèce *Bf. dentium* est considérée comme potentiellement pathogène, bien qu'on la trouve dans la flore intestinale humaine à des taux relativement bas (10⁴-10⁵-cfu de matière fécale) (Civen et al., 1993 ;Crociani et al., 1996). *Bf. longum*, également, a été incriminé dans un cas de septicémie (Ha et al., 1999).

L'injection aux animaux de cultures ou de suspensions microbiennes ne provoque cependant aucune lésion ni aucun trouble. Bien au contraire, sa présence dans l'intestin est une cause ou un témoin de l'équilibre bactérien intestinal, et son implantation dans un intestin dont la microflore est déséquilibrée rétablit rapidement cet équilibre, d'où la thérapie possible des troubles intestinaux par l'ingestion ou l'implantation indirecte de la flore bifide (**Delcenserie et al., 2002**).

III.5.2. *Bifidobacterium* et tolérance au stress gastro-intestinal

Le stress gastro-intestinal représente une condition physiologique cruciale rencontrée par les bactéries probiotiques durant le transit digestif. En effet, ces bactéries ingérées doivent survivre et exprimer leurs fonctions métaboliques spécifiques sous les conditions acides dans l'estomac, et en présence de bile dans l'intestin (**Jedidi, 2007**).

Les conditions gastro-intestinales sont considérées comme l'un des principaux critères de sélection des probiotiques. Les bifidobactéries sont généralement considérées comme faiblement tolérantes aux acides (**Munoz-Quezada et al., 2013 ; Toscano et al., 2015**).

III.5.2.1. Tolérance aux stress acide

L'acidité est une condition environnementale rencontrée par les bactéries lactiques ainsi que les bactéries probiotiques dans les aliments fermentés et le tractus gastro-intestinal. En effet, l'acidité est l'un des principaux facteurs de stress rencontré par la bactérie dans le yaourt (4,3-4,5) aussi bien que dans l'estomac (1,5-2) après consommation. Le phénomène d'adaptation au stress acide est particulièrement bien étudié chez les bactéries entériques (**Foster et al., 1999**). De même, l'étude du stress acide des bactéries impliquées dans la fermentation des aliments tels que le yogourt et le fromage et au cours des processus industriels a été bien décrit (**De Angelis et Gobbetti, 2004**).

Il existe un mécanisme par lequel les bactéries s'adaptent à des pH inhabituellement bas, appelé *Acid Tolerance Response* (ATR). L'ATR met en jeu la transcription de certains gènes, avec synthèse d'enzymes et de protéines protectrices pour le microorganisme. Elles lui permettent par exemple d'éliminer les protons de son cytoplasme grâce à des pompes à ATP spécifiques ou de produire des ions ammoniacs qui tamponnent le milieu cellulaire et y maintiennent un pH alcalin (**Ebel, 2012**).

Parmi les bifidobactéries, l'espèce *Bf. animalis* possède une résistance naturellement élevée à des pH acides tels que le pH gastrique. *Bf. longum* BL1 met également en jeu un mécanisme d'ATR qui lui permet de résister à des pH inférieurs à 3 (Ebel, 2012). Concernant la souche *Bf. lactis* BB12, l'ingestion de 1010 UFC permet d'augmenter le taux de bifidobactéries iléales de 102,2 à 106,4 UFC/MI, avec un taux de survie de 23,5 %. La souche de *Bf. bifidum* contenue dans les produits fermentés Ofilus® dispose quant à elle d'un taux de survie au passage gastrique de 37,5 % (Bernalier-Donadille, 2010).

D'autres études ont montré que l'encapsulation des cellules de bifidobactéries et leur conservation à bas pH, ont montré une viabilité plus grande que les cellules non encapsulées. De même, l'immobilisation de ces souches dans des microcapsules à base de protéines pourrait augmenter leur tolérance dans des milieux de grande concentration, rendant ainsi cette approche potentiellement utile pour l'utilisation des cultures probiotiques dans le tractus gastro-intestinal humain (Picot et Lacroix, 2004). Les bifidobactéries sont généralement considérées comme faiblement tolérantes aux acides (Toscano et al., 2015).

III.5.2.2. Tolérance aux stress biliaire

La bile est une sécrétion digestive complexe qui joue un rôle dans la dispersion et l'absorption des graisses. Les sels biliaires, les constituants majeurs de la bile, sont des dérivés de l'acide cholique (CA) qui est lui même synthétisé à partir du cholestérol. Une partie des sels biliaires est conjuguée sous forme de glycine ou de taurine dans le foie (Russell et Setchell., 1992).

La tolérance à la bile est l'une des propriétés les plus cruciales pour les bactéries probiotiques, car elle détermine sa capacité à survivre dans l'intestin grêle, et par conséquent sa capacité à jouer son rôle fonctionnel de probiotique (Ruis et al., 2013). Bien que la tolérance intrinsèque à la bile semble être dépendante de la souche, les lactobacilles et les bifidobactéries peuvent s'adapter progressivement à la présence de sels biliaires, et des dérivés résistants peuvent être obtenus à partir de souches sensibles de type sauvage par repiquage dans des concentrations progressivement croissantes de bile (Burns et al., 2010). L'existence de mécanismes communs dans les réponses bactériennes à divers stress et suggère que l'amélioration de la tolérance à la bile des probiotiques pourrait aider à développer des souches plus robustes présentant une résistance accrue à d'autres facteurs

technologiques ou gastro-intestinaux compromettant la survie des probiotiques (**Sánchez et al., 2012**). Les souches adaptées à la bile fournissent également un modèle intéressant pour analyser les mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance bactérienne et la réponse à ces composés. En effet, en utilisant des techniques à haut débit sur certains de ces modèles bactériens, certains aspects cruciaux de la résistance et de la réponse biliaires de ces micro-organismes ont été identifiés (**Ruiz et al., 2013**).

Les bifidobactéries doivent survivre aux conditions restrictives du tractus gastro-intestinal en résistant, entre autres facteurs, à l'action toxique des sels biliaires. L'inhibition exercée par ces composés sur les bifidobactéries peut être levée par une adaptation progressive à des concentrations croissantes de bile. L'acquisition de résistance stable ou même l'exposition transitoire à des sels biliaires provoque chez *Bifidobacterium* des modifications physiologiques irréversibles. La présence de sels biliaires, ou l'exposition transitoire, entraîne une diminution de l'adhésion au mucus et aux cellules épithéliales intestinales de même qu'une baisse de l'hydrophobicité de surface des bactéries. En revanche, l'adaptation à des hautes concentrations de sels biliaires entraîne une augmentation de l'adhésion au mucus intestinal qui s'accompagne dans certains cas d'une augmentation de l'hydrophobicité de surface des bactéries (**Reyes-Gavilan et al., 2005**).

III.5.2.3. Tolérance aux stress oxydant

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire, cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire. Produites en trop grande quantité, les espèces oxygénées activées (EOA) peuvent en effet entraîner de profondes modifications dans la structure de substrats biologiques comme les protéines, les lipides, les lipoprotéines ou l'acide désoxyribonucléique (ADN) (**Morel et Barouki, 1988**).

La plupart du temps l'intestin répond adéquatement au stress oxydatif, mais avec le vieillissement ou dans des conditions exacerbant la production de ROS et/ou de RNS les défenses ne suffisent pas, ce qui contribue au développement de pathologies intestinales telles que les maladies inflammatoires de l'intestin (IBD), gastroduodénales ulcères, cancer du côlon et autres (**de Barboza et al., 2017**).

Bifidobacterium est considéré comme un micro-organisme probiotique représentatif en raison de ses effets bénéfiques tels que l'amélioration des fonctions physiologiques, l'amélioration de l'inflammation et la résistance contre les infections pathogènes (**Kim et al., 2018**). Étant donné que les bifidobactéries et les bactéries lactiques (LAB) résident généralement dans le gros intestin et l'intestin grêle, les bifidobactéries recombinantes aux propriétés antioxydantes peuvent réduire efficacement le stress oxydatif dans le gros intestin et traiter la colite ulcéreuse, une maladie inflammatoire du côlon. Une étude précédente a rapporté que le *Bf. longum* HB25 recombinant capable de produire de la SOD réduisait la colite ulcéreuse induite par le sulfate de dextrane sodique chez la souris (**Lin et al., 2021**).

III.6. Applications des bifidobactéries

Les produits laitiers fermentés sont toujours les véhicules alimentaires majeurs dans lesquels les bifidobactéries probiotiques sont livrés, qui ont été utilisées dans les fermentations des laits de chèvre, de brebis et lait de chamelle et dans le soja fermenté et dans une variété de fromages et yaourt (**Crittenden, 2004**). L'incorporation de bifidobactéries améliore la valeur thérapeutique des produits alimentaires et des boissons. Ces bactéries existent aussi en compléments alimentaires ou en médicaments (**Shori, 2022**).

La prépondérance des bifidobactéries chez les nourrissons au moment où leur système immunitaire n'est pas parfaitement développé ainsi que l'effet antagoniste de la présence de bifidobactéries et d'entéropathogènes ont suscité beaucoup d'intérêt quant à l'action des bifidobactéries sur la santé (**Christophe et Thoman, 2005**) ; même chez les personnes âgées il a été suggéré que la prise de fibres alimentaires insolubles conduit à une diminution de la durée du transit intestinal et à une réduction des possibilités d'interaction entre les carcinogènes fécaux et l'épithélium intestinal (**Theboudin et al., 1997**), avec l'âge la diversité des espèces de *Bifidobacterium* dans le tractus intestinal est diminuée (**Crittenden, 2004**), et aussi diminue le risque de cancer par l'inhibition des nitrites et nitrosamines procancéreuses selon des mécanismes non enzymatiques et intracellulaires (**Grill et al., 1995**) et ont la propriété d'inhiber les processus conduisant à la formation du cancer colorectal et d'autres types de cancer mais les mécanismes précis ne sont pas encore élucidés (**Leahy et al., 2005**). Ils jouent un rôle dans la réduction de taux de cholestérol dans le sang (**Xiao et al., 2003**).

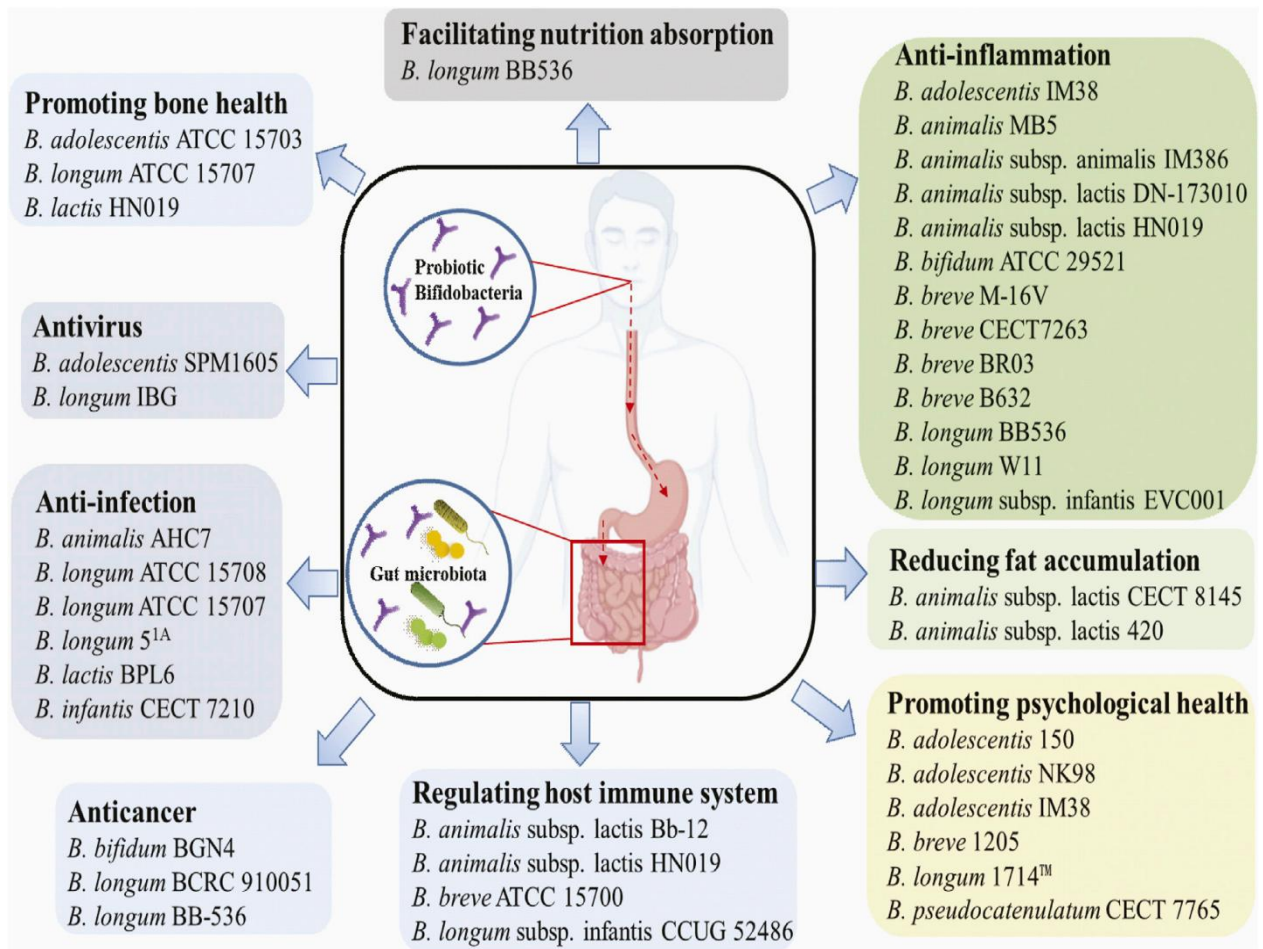


Figure 12 : Les effets bénéfiques de souches probiotiques communes de *Bifidobacterium* (Chen et al., 2021).

Le tableau 12 représente les attributs biofonctionnels de différentes souches de *Bifidobacterium* récemment rapportés par plusieurs auteurs après des études sur des modèles humain et animal.

Tableau 12 : Attributs biofonctionnels de différentes souches de *Bifidobacterium* récemment rapportés (Sharma et al.,2021).

Souche bactérienne	Attribut fonctionnel	Modèle	Référence
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	Rôle anti-inflammatoire en modulant associé aux miRNA TJP et NF-Kb et, en restaurant la dysbiose	Souris mâles C57JBL/6.	Din et al., (2020)

<i>Bifidobacterium Breve NCIM 5671</i>	Prophylactique en termes de la régulation négative de marqueurs de l'arthrite Rats	Prophylactique en termes de la régulation négative de marqueurs de l'arthrite.	Achi ;Talahalli, et Halami (2019)
<i>Bifidobacterium Bifidum</i>	Contrôler et l'inhibition de la croissance tumorale par l'élévation des spécifiques de l'antigène IL-12, IFN- γ et lymphocytes prolifératifs des lymphocytes	C57BL/6 Souris	Abdolalipour et al., (2020)
<i>Bifidobacterium Lactic V9</i>	régulent les niveaux d'hormones sexuelles pendant le syndrome des polykystique des ovaires	Les femmes atteintes polykystique	Zhang et al., (2019)
<i>Bifidobacterium breve A1 (MCC1274)</i>	amélioration de fonctions de la mémoire	Santé adultes humains souffrant de troubles cognitifs légers	Xiao et al., (2020)
<i>Bifidobacterium Longum subsp Longum35624TM</i>	Impacté l'axe hypothalamo hypophyso surrénalien fonctionnement de l'axe hypothalamique animaux mâles et a eu tendance à réduire anxiolytique chez les animaux de le OFT	Sprague Dawley sous conditions de contrôle ou de "stress"	Haas et al., (2020)
<i>Bifidobacterium lactis BB12</i>	Modification du biofilm oral (réduction de la <i>S. mutans</i> salivaire et des lactobacilles	18-30 ans étudiants avec des stades initiaux de caries dentaires	Zare Javid et al.,(2020)
<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis CECT 8145</i>	Obésité gestion de l'obésité (réduction desanthropométrique adiposité biomarqueurs	Abdominalement obèse individus	Pedret et al., (2019)

<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Modulé humorale et cellulaires et équilibrées Th1/Th2 équilibrées contre l'influenza infection Agées	de six à huit semaines femelles Balb/c âgées	Mahooti et al., (2019)
<i>Bifidobacterium longum subsp longum YS108R</i>	a atténué la colite induite par le DSS en protégeant l'intégrité de la barrière muqueuse	Souris mâles C57BL/6J	Yan et al., (2020)
<i>Bifidobacterium animalis subsp Lactis BB-12</i>	Réduction des coliques du nourrisson (Modulation du microbiote intestinal et fonction)	Nourris au sein et souffrant de coliques du nourrisson	Nocerino et al., (2020)
<i>Bifidobacterium longum 1714™</i>	Modulation des réponses neurales pendant stress social	humain sains	(H. Wang, Braun, Murphy, et Enck, 2019)

En conclusion, les bifidobactéries et les bactéries lactiques appartiennent à la flore naturelle habitant l'intestin de l'homme sain, et elles sont déjà utilisées avec innocuité dans les aliments depuis longtemps partout dans le monde ou comme complément.

Les bactéries lactiques sont des microorganismes caractérisés par la production des acides organiques, en particulier l'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Elles sont utilisées dans les aliments industriels pour améliorer ces aliments. Qui constitué de plusieurs germes y compris le *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, etc. Actuellement, les chercheurs considèrent le *Bifidobacterium* comme genre appartenant au groupe des bactéries lactiques même s'il présente un haut pourcentage en G+C.

Les bifidobactéries sont des bactéries symbiotiques dominantes dans le TGI endogène chez l'être humain et les animaux. La colonisation de l'intestin s'effectue dans les heures qui suivent la naissance, et se poursuit toute la vie, ayant toutefois tendance à diminuer avec l'âge. Par leur présence naturelle dans le microbiote intestinale et les effets bénéfiques qu'elles procurent sur la santé, les bifidobactéries sont communément utilisées comme probiotiques.

Les *Bifidobacterium* peuvent être utilisés dans les infections gastro-intestinales, dans la prévention et la gravité des diarrhées aiguës chez les enfants, la réduction du risque du cancer, la lutte contre d'allergie, l'inhibition des bactéries pathogènes, le raccourcissement et prévention des maladies inflammatoires. La présence des bifidobactéries permet aussi de réduire le niveau de cholestérol sérique et aident à la déconjugation des acides biliaires.

Pour prouver son activité probiotique, les souches de *Bifidobacterium* doivent présenter une résistance aux conditions hostiles du TGI (la tolérance à l'acidité gastrique, la bile et aux enzymes), avec une résistance à certaines conditions de production industrielle.

En Algérie, nous constatons une exploitation très limitée de ce genre, cette limitation concerne la diversité des produits présents sur le marché, mais aussi la non disponibilité de ces souches localement, qui doivent toujours être importées. Donc, nous souhaitons de financer davantage les recherches scientifiques dans ce domaine, afin de faire face à la dépendance d'une part, et de limiter le problème de l'antibiorésistance et

trouver des solutions et alternatives à l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance.

A

Alessandri, G., Ossiprandi, M. C., MacSharry, J., Van Sinderen, D., & Ventura, M. (2019). Bifidobacterial dialogue with its human host and consequent modulation of the immune system. *Frontiers in immunology*, *10*, 2348.

Álvarez-Martín, P., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2007). Screening for plasmids among human bifidobacteria species: sequencing and analysis of pBC1 from *Bifidobacterium catenulatum*L48. *Plasmid*, *57*(2), 165-174.

Atlan, D., Béal, C., Champomier-Verges, M. C., Chapot-Chartier, M. P., Chouayekh, H., Coccagn-Bousquet, M., & Deghorain, M. (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. *Bacteries Lactiques—De la génétique aux ferments*, 271-509.

Ataie-Jafari, A., Larijani, B., Majd, H. A., & Tahbaz, F. (2009). Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *54*(1), 22-27.

Axelsson, L. (1998). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In, S. Salminen and A. Von Wright (eds). *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Inc, New York.

Axelsson, L. (2004). Bactéries lactiques : classification et physiologie. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-* , *139*, 1-66.

Ashaolu, T. J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *130*, 110625.

B

Baliarda, A., Robert, H., Jebbar, M., Blanco, C., Deschamps, A., & Le Marrec, C. (2003). Potential osmoprotectants for the lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus* and *Tetragenococcus halophilus*. *International journal of food microbiology*, *84*(1), 13-20.

Ballongue, J. (2004). Bifidobactéries et action probiotique. *SCIENCES ET TECHNOLOGIES ALIMENTAIRES-NEW YORK-MARCEL DEKKER-* , *139* , 67-124.

Barrangou, R., Briczinski, E. P., Traeger, L. L., Loquasto, J. R., Richards, M., Horvath, P., ... & Roberts, R. F. (2009). Comparison of the complete genome sequences of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 and BI-04. *Journal of bacteriology*, 191(13), 4144-4151.

Beerens, H., Gavini, F., & Neut, C. (2000). Effet de l'exposition à l'air sur 84 souches de bifidobactéries. *Anaérobie*, 6 (2), 65-67.

Belyagoubi, L. (2014). *Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens* (Doctoral dissertation, thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, 209p).

Bergey, D., & Holt, J. (2009). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Systematic Bacteriology. 2da Edicion, USA, 4.*

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.

Bernalier-Donadille, A. (2010). Activités métaboliques du microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 34(4), 17-23.

Bessaguet, F., de Bandt, J. P., & Desmoulière, A. (2021). L'estomac. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(611), 53-56.

Biavati, B., Scardovi, V., & Moore, W. E. C. (1982). Electrophoretic patterns of proteins in the genus *Bifidobacterium* and proposal of four new species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 32(3), 358-373.

Biavati, B., Vescovo, M., Torriani, S., & Bottazzi, V. (2000). Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of microbiology*, 50(2), 117-132.

Biavati, B., & Mattarelli, P. (2015). *Bifidobacterium*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-57.

Bik, E. M., Eckburg, P. B., Gill, S. R., Nelson, K. E., Purdom, E. A., Francois, F., ... & Relman, D. A. (2006). Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 732-737.

Blanchard, D. K., Budde, J. M., Hatch III, G. F., Wertheimer-Hatch, L., Hatch, K. F., Davis, G. B., ... & Skandalakis, J. E. (2000). Tumors of the small intestine. *World journal of surgery*, 24(4), 421-429.

Bonaparte, C., Klein, G., Kneifel, W., & Reuter, G. (2001). Développement d'un milieu sélectif pour le dénombrement des bifidobactéries dans les laits fermentés. *Le Lait*, 81(1-2), 227-235.

Burns, P., Sánchez, B., Vinderola, G., Ruas-Madiedo, P., Ruiz, L., Margolles, A., ... & Clara, G. (2010). Inside the adaptation process of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* to bile. *International journal of food microbiology*, 142(1-2), 132-141.

Butel, M. J. (2014). Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Anti-infectieux*, 16(2), 33-43.

Björkroth, J., & Holzapfel, W. (2006). Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. *The prokaryotes*, 4, 267-319.

C

Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., & Butel, M. J. (2007). Establishment of the intestinal microflora in neonates. *Gastroenterologie clinique et biologique*, 31(5), 533-542.

Calvez, S., Belguesmia, Y., Prévost, H., Drider, D., & Kergourley, G. (2009). Les bactériocines : de la synthèse aux applications. Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. *Edition : Economica. Paris*.

Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.

Chamba, J-P. (2009). «Les bactéries lactique : historique et perspective». Bactéries lactiques : Physiologies, métabolismes, génomiques et application industrielles. Sous la direction de Drider. Dj & Prévost. H, Economica, Paris(49), (1-3).

Charteris, WP, Kelly, PM, Morelli, L. et Collins, JK (1998). Sensibilité aux antibiotiques des isolats potentiellement probiotiques de *Bifidobacterium* du tractus gastro-intestinal humain. *Lettres de microbiologie appliquée* , 26 (5), 333-337.

Cherrad, Z., Tazegouaret, I., & ChekaraBouziani, M. (2020). Isolement, identification et diversité génétique par les marqueurs moléculaires des bactéries lactiques qui présentent l'activité protéolytique isolées du lait de Chèvre.

Chen J, Chen X and Ho CL (2021). Recent Development of Probiotic *Bifidobacteria* for Treating Human Diseases. *Front. Bioeng. Biotechnology*. 9:770248.

Civen, R., Väisänen, M. L., & Finegold, S. M. (1993). Peritonsillar abscess, retropharyngeal abscess, mediastinitis, and nonclostridial anaerobic myonecrosis: a case report. *Clinical infectious diseases*, 16(4), 299-303.

Collins, E. B., & Hall, B. J. (1984). Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *Bifidobacterium infantis* for a dietary adjunct. *Journal of Dairy Science*, 67(7), 1376-1380.

Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., & Wallbanks, S. (1993). Taxonomic studies on some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostocparamesenteroides* group of species. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(6), 595-603.

Corrieu, G., & Luquet, F. M. (2008). *Bactéries lactiques*. Technique et Documentation.

Coudeyras, S., & Forestier, C. (2010). Microbiote et probiotiques: impact en santé humaine. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(8), 611-650.

Corneau, N., Émond, É., & LaPointe, G. (2004). Molecular characterization of three plasmids from *Bifidobacterium longum*. *Plasmid*, 51(2), 87-100.

Crittenden, R. O. S. S. (2004). An update on probiotic bifidobacteria. *Food science and technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 125-158.

Crociani, F. T., & Matteuzzi, D. (1982, mai). Activité uréasique dans le genre *Bifidobacterium*. Dans *Annales de Microbiologie* 133 (3), 417-423.

Crociani, F., Alessandrini, A., Mucci, M. M., & Biavati, B. (1994). Degradation of complex carbohydrates by *Bifidobacterium* spp. *International journal of food microbiology*, 24(1-2), 199-210.

Crociani, F., Biavati, B., Alessandrini, A., Chiarini, C., & Scardovi, V. (1996). *Bifidobacterium inopinatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp. nov., two new species isolated from human dental caries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(2), 564-571.

Cummins, C. S., Glendenning, O. M., & Harris, H. (1957). Composition of the cell wall of *Lactobacillus bifidus*. *Nature*, 180(4581), 337-338

D

Daniel, A., Euler, C., Collin, M., Chahales, P., Gorelick, KJ et Fischetti, VA (2010). La synergie entre une nouvelle lysine chimère et l'oxacilline protège contre l'infection par *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 54 (4), 1603-1612.

Daoudi, H., & Khelef, C. (2018). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru. Thèse de doctorat. Université EchahidHamma Lakhdar -El Oued, 104p.

Debré, P., & Le Gall, J. Y. (2014). Le microbiote intestinal. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 198(9), 1667-1684.

Deeth, H. C., & Touch, V. (2000). Methods for detecting lipase activity in milk and milk products. *Methods*, 5(5), 555.

Deguchi, Y., Morishita, T., & Mutai, M. (1985). Études comparatives sur la synthèse des vitamines hydrosolubles chez les espèces humaines de bifidobactéries. *Chimie agricole et biologique*, 49 (1), 13-19.

Dehnert, J. (1957). Untersuchung über die Grampositive Stuhlflora des Brustmilchkindes. *ZentralblBakteriol I Orig*, 169, 66-79.

Delcenserie, V., China, B., Gavini, F., Beerens, H., & Daube, G. (2002). Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments: le genre *Bifidobacterium*. In *Annales de médecine vétérinaire* 146, 279-294.

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. C., & Janssens, D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*, 1, 25-116.

Delgado, S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract. *Current microbiology*, 50(4), 202-207.

Den Camp, H. O., Veerkamp, J. H., Oosterhof, A., & Van Halbeek, H. (1984). Structure of the lipoteichoic acids from *Bifidobacterium bifidum* spp. *pennsylvanicum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 795(2), 301-313.

Desmazeaud, M. (1998). Le rôle du génie génétique: La vie secrète des fromages. *Biofutur (Puteaux)*, (177), 24-27.

De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2004). Environmental stress responses in *Lactobacillus*: a review. *Proteomics*, 4(1), 106-122.

De Vries, W., & Stouthamer, A. H. (1967). Pathway of glucose fermentation in relation to the taxonomy of bifidobacteria. *Journal of bacteriology*, 93(2), 574-576.

De Vries, W., Gerbrandy, S. J., & Stouthamer, A. H. (1967). Carbohydrate metabolism in *Bifidobacterium bifidum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 136(3), 415-425.

De Vries, W., & Stouthamer, A. (1968). Fermentation of glucose, lactose, galactose, mannitol, and xylose by bifidobacteria. *Journal of Bacteriology*, 96(2), 472-478.

De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., ... & Whitman, W. B. (2009). Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*. *Bergey's manual of systematic bacteriology-The Firmicutes*, 3, 2009.

De Roissart, H. (1986). Bactéries lactiques. In lait et produits laitiers: vache, brebis, chèvre. *Technique et Documentation. Lavoisier. Apria*, 191-203.

De Barboza, G. D., Guizzardi, S., Moine, L., & de Talamoni, N. T. (2017). Oxidative stress, antioxidants and intestinal calcium absorption. *World journal of gastroenterology*, 23(16), 2841.

De los Reyes-Gavilan, C. G., Ruas-Madiedo, P., Noriega, L., Cuevas, I., & Sanchez, B. (2005). Effect of acquired resistance to bile salts on enzymatic activities involved in the utilisation of carbohydrates by bifidobacteria. An overview. *Le Lait (Print)*, 85(1-2), 113-123.

Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L. M., & Prévost, H. (2006). The continuing story of class II bacteriocins. *Microbiology and molecular biology reviews*, 70(2), 564-582.

Drider, D., & Prévost, H. (2009). Bactéries lactiques. *Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*, 593p.

Duranti, S., Lugli, G. A., Viappiani, A., Mancabelli, L., Alessandri, G., Anzalone, R., ... & Ventura, M. (2020). Characterization of the phylogenetic diversity of two novel species belonging to the genus *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium cebidarum* sp. nov. and *Bifidobacterium leontopithecis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2288-2297.

Duranti, S., Longhi, G., Ventura, M., van Sinderen, D., & Turrone, F. (2020). Exploring the ecology of bifidobacteria and their genetic adaptation to the mammalian gut. *Microorganisms*, 9(1), 8.

E

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).

Edima, H. C. (2007). *Carnobacterium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine). 57-66.

Embley, T. M., &Stackebrandt, E. (1994). La phylogénie moléculaire et la systématique des actinomycètes. *Revue annuelle de microbiologie* , 48 , 257-290.

Esaiassen, E., Hjerde, E., Cavanagh, J. P., Simonsen, G. S., &Klingenberg, C. (2017). Norwegian Study Group on Invasive Bifidobacterial Infections. *Bifidobacterium* bacteremia: clinical characteristics and a genomic approach to assess pathogenicity. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(7), 2234-2248.

Eshaghi, M., Bibalan, M. H., Rohani, M., Esghaei, M., Douraghi, M., Talebi, M., &Pourshafie, M. R. (2017). *Bifidobacterium* obtained from mother's milk and their infant stool; A comparative genotyping and antibacterial analysis. *Microbialpathogenesis*, 111, 94-98.

Everard, A. (2021). Microbiote intestinal et cellules entéro-endocrines. *Microbiote intestinal et santé humaine*, 75.

Fabiani, K. (2019). Microbiote intestinal, immunité et transfert de microbiote: vers un espoir thérapeutique ?.

Fao, J., & Working, W. H. O. (2002). Report G, Guidelines D, London F. *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*, 1-11.

Fallingborg, J., Pedersen, P., & Jacobsen, B. A. (1998). Small intestinal transit time and intraluminal pH in ileocecal resected patients with Crohn's disease. *Digestive diseases and sciences*, 43(4), 702-705.

Mahmoudi, F (2014). *Les substances antimicrobiennes produites par les bifidobactérium et leurs effets sur les bactéries entéropathogènes* (Doctoral dissertation).

Felis, G. E., &Dellaglio, F. (2007). Taxonomie des lactobacilles et des bifidobactéries. *Problèmesactuels de microbiologieintestinale* , 8 (2), 44.

Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745-4767.

Folie, B. D., Haber, J. B., Refaely-Abramson, S., Neaton, J. B., & Ginsberg, N. S. (2018). Long-lived correlated triplet pairs in a π -stacked crystalline pentacene derivative. *Journal of the American Chemical Society*, 140(6), 2326-2335.

Frank, J. F., & Hassan, A. N. (2002). Microorganisms associated with milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 1786-1796.

Frank, J. F., & Hassan, A. N. (1998). Starter cultures and their use. *Applied dairy microbiology*, 1, 131-172.

Fessard, A. (2017). *Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

G

Ganong, W. (2005). *Physiologie médicale*. De Boeck Supérieur.

Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117.

Gavini, F., Pourcher, AM, Neut, C., Monget, D., Romond, C., Oger, C., & Izard, D. (1991). Différenciation phénotypique des bifidobactéries d'origine humaine et animale. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, 41 (4), 548-557.

Gill, C. I. R., & Rowland, I. R. (2002). Diet and cancer: assessing the risk. *British journal of nutrition*, 88(S1), s73-s87.

Gomes, A. M., & Malcata, F. X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4-5), 139-157.

González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E. (2007). Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Control*, 18(6), 716-722.

Grill, J. P., Crociani, J., & Ballongue, J. (1995). Effect of bifidobacteria on nitrites and nitrosamines. *Letters in applied microbiology*, 20(5), 328-330.

Guiraud, J. P. (1998). La microbiologie alimentaire.

Guiraud, J. P. (2003). Microbiologie alimentaire: milieux et techniques générales de culture. *Dunod, Paris*, 178-180.

Guiraud, J. P., & Rosec, J. P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Afnor.

Guiraud J-P. (2012). Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, 651p (89-92).

Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & LE, M. (2011). Probiotiques et prébiotiques. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*.

H

Ha, G. Y., Yang, C. H., Kim, H., & Chong, Y. (1999). Case of sepsis caused by *Bifidobacterium longum*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(4), 1227-1228.

Hadadji, M., Benama, R., Saidi, N., Henni, D. E., & Kihal, M. (2005). Identification of cultivable *Bifidobacterium* species isolated from breast-fed infants feces in West-Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 4(5), 422-430.

Hadadji, M. (2007). *Caractérisation Microbiologique et Biochimique des Bifidobactéries isolées à partir des selles de nourrissons: Etude des critères Technologiques et Thérapeutiques* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

Hallouët, P. (2017). *Sciences biologiques et médicales pour le DEI-Toutes les UE du Domaine 2!: Sciences biologiques et médicales*. Elsevier Health Sciences.

Hao, Y., Huang, D., Guo, H., Xiao, M., An, H., Zhao, L., ... & Ren, F. (2011). Complete genome sequence of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BBMN68, a new strain from a healthy Chinese centenarian. *Journal of bacteriology*, 193(3), 787-788.

Hassan, A. N., & Frank, J. F. (2001). Starter cultures and their use. In *Applied dairy microbiology* (pp. 171-226). CRC Press.

Hassaine, O. (2013). *Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat (Université d'Oran Esenia, Algérie, 2007)).

He, T., Priebe, M. G., Zhong, Y., Huang, C., Harmsen, H. J. M., Raangs, G. C., ... & Vonk, R. J. (2008). Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology*, 104(2), 595-604.

Ho, T. N. T. (2008). *Étude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit* (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).

Holland, D. F. (1920). The families and genera of the bacteria. V. Generic index of the commoner forms of bacteria. *Journal of Bacteriology*, 5, 191-229.

Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 365s-373s.

Holzappel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., & 't Veld, J. H. H. (1998). Overview of gut flora and probiotics. *International journal of food microbiology*, 41(2), 85-101.

Hoyles, L., Inganäs, E., Falsen, E., Drancourt, M., Weiss, N., McCartney, A. L., & Collins, M. D. (2002). *Bifidobacterium scardovi* sp. nov., from human sources. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 995-999.

Hugenholtz J. (1993). *FEMS Microbiology Reviews*. 12:165-178

I

Ikeda, T. (2013). Synthesis towards a global-bathymetric model of metabolism and chemical composition of mysid crustaceans. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 445, 79-87.

J

Jedidi, H. (2007). Effet du stress gastro-intestinal sur la physiologie et le métabolisme des bactéries lactiques et probiotiques.

Jian, W., Zhu, L., & Dong, X. (2001). New approach to phylogenetic analysis of the genus *Bifidobacterium* based on partial HSP60 gene sequences. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(5), 1633-1638.

K

Kathiriya, M., Sreeja, V., Hati, S., & Prajapati, J. B. (2015). Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milks by in vitro study. *International Journal of Fermented Foods*, 4(1/2), 47.

Kandler, O., & Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL..Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Edited Sneath PHA,2, 1209–1234.

Khalid, K. (2011). Présentation des bactéries lactiques. *Journal international des biosciences*, 1 (3), 1-13.

Kim, M. J., Ku, S., Kim, S. Y., Lee, H. H., Jin, H., Kang, S., ... & Ji, G. E. (2018). Safety evaluations of *Bifidobacterium bifidum* BGN4 and *Bifidobacterium longum* BORI. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1422.

Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., & Reuter, G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 41(2), 103-125.

Koïche, M. (2011). Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose (Doctoral dissertation).

Kopp-Hoolihan, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(2), 229-241.

Kunji, ER, Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., & Konings, WN (1996). Les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques. *Antoine van Leeuwenhoek*, 70 (2), 187-221.

L

Laease, (2005). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73p.

Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. et Wright, A.V. (2012). Lactic acid bacteria: *Microbiological and functional aspects*. Taylor and Francis.

Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & von Wright, A. (Editeurs scientifique.). (2011). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. Crc Press.

Langella, P., Nouaille, S., Commissaire, J., Bolotine, A., Gruss, A., & Le Loir, Y. (2001). Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis* [random mutagenesis]. *Lait (France)*.

Lancefield, R. C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic *streptococci*. *The Journal of experimental medicine*, 57(4), 571-595.

Larpent, J. P. (1996). Les bactéries lactiques in: Microbiologie alimentaire. Tome, 2, 1-31.

Larpent, J. P., & Larpent-Gourgau, M. (1996). Mémento technique de microbiologie, 3^{ème} édition. *Technique et Documentation, Paris*, 63.

Larpent, J. P. (1997). Microbiologie alimentaire.

Lauer, E., & Kandler, O. (1983). DNA-DNA homology, murein types and enzyme patterns in the type strains of the genus *Bifidobacterium*. *Systematic and Applied Microbiology*, 4(1), 42-64.

Law, J., & Haandrikman, A. (1997). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 7(1), 1-11.

Leahy, S. C., Higgins, D. G., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Getting better with bifidobacteria. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1303-1315.

Lebland-Bourget, N & Gudon, G. (2009) «Organisation et évaluation des génomes des bactéries lactiques Agroalimentaire» Bactéries Lactique : physiologie, métabolisme,

Génomique et application industrielle, sous la direction de Drider, DJ & Prévost, H, Economica, Paris, (49), 198-203.

Lee, J. H., & O'Sullivan, D.* J. (2006). Sequence analysis of two cryptic plasmids from *Bifidobacterium longum* DJO10A and construction of a shuttle cloning vector. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 527-535

Lee, J. H., & O'Sullivan, D. J. (2010). Genomic insights into bifidobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 378-416.

Lemetais, G. (2012). *Sélection et intégration d'une souche probiotique fonctionnelle dans une matrice sèche* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).

Lenoir, J., Hermier, J., & Weber, F. (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. *Technique et Documentation. Edition Lavoisier. CEPIL. France*, 73, 251-259.

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.

Leveau, J. Y., & Bouix, M. (1993). Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel.

Liepke, C., Adermann, K., Raida, M., Mägert, H. J., Forssmann, W. G., & Zucht, H. D. (2002). Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. *European Journal of Biochemistry*, 269(2), 712-718.

Limsowtin, G. K. Y., Broom, M. C & Powell, I. B. (2004). Lactic acid bacteria, taxonomy. In *Encyclopedia of Dairy Science*. Roginski H. Oxford, Elsevier, pp :1470-1478.

Lin, Z., Ku, S., Lim, T., Park, S. Y., Park, M. S., Ji, G. E., ... & Hwang, K. T. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory properties of recombinant *Bifidobacterium bifidum* BGN4 expressing antioxidant enzymes. *Microorganisms*, 9(3), 595.

Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen, R. J. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics*, 11(1), 1-15.

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.

M

Malagelada, J. R., Go, V. L., & Summerskill, W. H. J. (1979). Different gastric, pancreatic, and biliary responses to solid-liquid or homogenized meals. *Digestive diseases and sciences*, 24(2), 101-110.

Mami, A. (2013). *Recherche des bacteries lactiques productrices de bactéroicines à large spectre d'action vis à vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie-Mohamed Boudiaf d'Oran).

Manus, J. M. (2011). Avant sa naissance, un bébé déjà immunocompétent. *Revue Francophone des Laboratoires*, 431(2011), 24.

Marteau, P., Pochart, P., Bouhnik, Y., & Rambaud, J. C. (1993). The fate and effects of transiting, nonpathogenic microorganisms in the human intestine. *Intestinal Flora, Immunity, Nutrition and Health*, 74, 1-21.

Martin, J. H., & Chou, K. M. (1992). Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: I-tolerance to pH of yogurt. *Cultured dairy products journal* (United States of America).

Masco, L., Ventura, M., Zink, R., Huys, G., & Swings, J. (2004). Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(4), 1137-1143.

Masco, LVHK, Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J. et Huys, G. (2006). Sensibilité aux antimicrobiens des souches de *Bifidobacterium* d'origine humaine, animale et de produits probiotiques. *Tourillon de chimiothérapie antimicrobienne*, 58 (1), 85-94.

Matamoros, S. (2008). *Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid* (Doctoral dissertation, Université de Nantes).

Matsumoto, M., & Benno, Y. (2004). La consommation de yaourt *Bifidobacterium lactis* LKM512 réduit la mutagénicité intestinale en augmentant la teneur en polyamines intestinales chez des sujets adultes sains. *Recherche sur les mutations/Mécanismes fondamentaux et moléculaires de la mutagenèse*, 568 (2), 147-153.

McSweeney, P. L., & Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324.

Metchnikoff, E. (1907). The prolongation of life: optimistic studies, trans. *P. Chalmers Mitchell*. New York: general practitioner Putnam's Sons.

Mikkelsen, L. L., Bendixen, C., Jakobsen, M., & Jensen, B. B. (2003). Enumeration of bifidobacteria in gastrointestinal samples from piglets. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 654-658.

Milani, C., Mangifesta, M., Mancabelli, L., Lugli, G. A., James, K., Duranti, S., ... & Ventura, M. (2017). Unveiling bifidobacterial biogeography across the mammalian branch of the tree of life. *The ISME journal*, 11(12), 2834-2847.

Mitsuoka, T., Segal, T., & Yamamoto, S. (1965). Improved methodology of qualitative and quantitative analysis of the intestinal flora of man and animals. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. I. Abt. Medizinisch-hygienische Bakteriologie, Virusforschung und Parasitologie. Originale*, 195(4), 455-469.

Mitsuoka, T. (1969). Vergleichende Untersuchungen über die Bifidobakterien aus dem Verdauungstrakt von Menschen und Tieren (Zugleich die Beschreibung von *B. thermophilum* nov. spec. und *B. pseudolongum* nov. spec.). *Zbl Bakt Hyg I Abt Orig A*, 210, 52-64..

Mitsuoka, T. (1984). Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria and Microflora*, 3(1), 11-28.

Modesto, M., Watanabe, K., Arita, M., Satti, M., Oki, K., Sciavilla, P., ... & Mattarelli, P. (2019). *Bifidobacterium jacchi* sp. nov., isolated from the faeces of a baby common marmoset (*Callithrix jacchus*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(8), 2477-2485.

Morelli, L., & Capurso, L. (2012). FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. *Journal of clinical gastroenterology*, 46, S1-S2.

Morel, Y., & Barouki, R. (1998). Down-regulation of cytochrome P450 1A1 gene promoter by oxidative stress: critical contribution of nuclear factor 1. *Journal of Biological Chemistry*, 273(41), 26969-26976.

Mozzi, F., & Vignolo, G. M. (Eds.). (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*. John Wiley & Sons.

Mugula, J. K., Nnko, S. A. M., Narvhus, J. A., & Sørhaug, T. (2003). Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. *International journal of food microbiology*, 80(3), 187-199.

Munoa, F. J., & Pares, R. (1988). Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(7), 1715-1718.

Munoz-Quezada, S., Chenoll, E., Vieites, J. M., Genovés, S., Maldonado, J., Bermúdez-Brito, M., ... & Gil, A. (2013). Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants. *British journal of nutrition*, 109(S2), S51-S62.

Muller, J. A., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2009). Manufacture of probiotic bacteria. In *Prebiotics and probiotics science and technology* (pp. 725-759). Springer, New York, NY.

N

Naimi, S. (2014). Isolement, caractérisation et étude "in vitro" de l'activité anti-inflammatoire de différentes souches probiotiques.

Novak, L., & Loubiere, P. (2000). The metabolic network of *Lactococcus lactis*: distribution of ¹⁴C-labeled substrates between catabolic and anabolic pathways. *Journal of bacteriology*, 182(4), 1136-1143.

Novik, G., & Savich, V. (2020). Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine. *Microbes and Infection*, 22(1), 8-18.

O

O'Hara, A. M., & Shanahan, F. (2007). Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases. *The Scientific World Journal*, 7, 31-46.

Op den Camp, H. J., Oosterhof, A., & Veerkamp, J. H. (1985). Interaction of bifidobacterial lipoteichoic acid with human intestinal epithelial cells. *Infection and immunity*, 47(1), 332-334.

Orla-Jensen, S. (1924). La classification des bactéries lactiques. *Le Lait*, 4(36), 468-474.

O'Riordan, K., & Fitzgerald, G. F. (1999). Molecular characterization of a 5.75-kb cryptic plasmid from *Bifidobacterium breve* NCFB 2258 and determination of mode of replication. *FEMS microbiology letters*, 174(2), 285-294.

P

Payne, J. F., Morris, A. E. J., & Beers, P. (1999). Note: evaluation of selective media for the enumeration of *Bifidobacterium* sp. in milk. *Journal of Applied Microbiology*, 86(2), 353-353.

Pei, Z., Bini, E. J., Yang, L., Zhou, M., Francois, F., & Blaser, M. J. (2004). Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(12), 4250-4255.

Penaud, S. (2006). *Analyse de la séquence génomique et Etude de l'adaptation à l'acidité de L. delbrueckii sp. bulgaricus ATCC11842* (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech)).

Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neant, F., & Matuchansky, C. (2005). bifidobacteria as probiotic agents—physiological effects and clinical benefits. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 22(6), 495-512.

Picot, A., & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International dairy journal*, 14(6), 505-515.

Pilet M.F., Magras C., Federighi M., (1998). Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica*. Paris. 235-260.

Pilet, M. F., Magras, C., & Federighi, M. (2005). Bactéries lactiques. *Bactériologie alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments. Economica, Paris*. 219-240.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., & Gil, A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in nutrition*, 10(supplément _1), S49-S66.

Prasanna, PHP, Grandison, AS et Charalampopoulos, D. (2014). Bifidobactéries dans les produits laitiers : aperçu des propriétés physiologiques et biochimiques, production d'exopolysaccharides, critères de sélection des produits laitiers et bienfaits pour la santé. *Food Research International* , 55 , 247-262.

Prevot, A. R., Turpin, A., & Kaiser, P. (1967). Sous-genre: *Bifidobacterium*.

Prioult, G., Fliss, I., & Pecquet, S. (2003). Effet des bactéries probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez les souris

gnotobiotiques. *Immunologie clinique et vaccinale* , 10 (5), 787-792.

R

Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P. C., ... & Collins, J. K. (2007). Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *The American journal of clinical nutrition*, 85(2), 488-496.

Rašić, J. L., & Kurmann, J. A. (1983). *Bifidobacteria and their role: microbiological, nutritional-physiological, medical and technological aspects and bibliography* (Volume. 39). Birkhäuser.

Rasic, J. L. (1983). The role of dairy foods containing bifido-and *acidophilus* bacteria in nutrition and health?. *North Europe Dairy J*, 48, 80-86.

Reuter, G. (1963). Vergleichende Untersuchungen über die *Bifidus*-flora im Säuglings- und Erwachsenenstuhl. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 191, 486-507.

Ruas-Madiedo, P., Hernández-Barranco, A., Margolles, A., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2005). Un dérivé résistant aux sels biliaires de *Bifidobacterium animalis* a un schéma de fermentation modifié lorsqu'il est cultivé sur du glucose et du maltose. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 71 (11), 6564-6570.

Ruiz, F. O., Gerbaldo, G., Asurmendi, P., Pascual, L. M., Giordano, W., & Barberis, I. L. (2009). Antimicrobial activity, inhibition of urogenital pathogens, and synergistic interactions between *Lactobacillus* strains. *Current microbiology*, 59(5), 497-501.

Ruiz, L., Margolles, A., & Sánchez, B. (2013). Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Frontiers in microbiology*, 4, 396.

Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E. M., & Mozzi, F. (2019). Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1091.

Russell, D. W., & Setchell, K. D. (1992). Bile acid biosynthesis. *Biochemistry*, 31(20), 4737-4749.

Roissart, H., & Luquet, F. M. (1994). Méthodes d'identification des Bactéries Lactiques. *Bactéries Lactiques; Aspects fondamentaux et technologiques*, 2, 1994.

Ross, R. P., Morgan, S., & Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*, 79(1-2), 3-16.

Roy, D. (2001). Media for the isolation and enumeration of bifidobacteria in dairy products. *International journal of food microbiology*, 69(3), 167-182.

S

Saidi, Y. (2020). Biodiversité de la microflore lactique du lait cru de dromadaire et évaluation de ses caractères technologiques (Doctoral dissertation, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Microbiologie appliquée).

Salminen, S., & Von Wright, A. (2004). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC Press.

Salvetti, E., Harris, H. M., Felis, G. E., & O'Toole, P. W. (2018). Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(17), e00993-18.

Sánchez, B., Ruiz, L., Gueimonde, M., Ruas-Madiedo, P., & Margolles, A. (2013). Adaptation of bifidobacteria to the gastrointestinal tract and functional consequences. *Pharmacological research*, 69(1), 127-136.

Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical infectious diseases*, 46(Supplement_2), S58-S61.

Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(4), 394-406.

Scardovi, V. (1965). The fructose-6-phosphate shunt as peculiar pattern of hexose degradation in the genus *Bifidobacterium*. *Annexe. Microbiol. Enzimol.*, 15, 19-29.

Scardovi, V. (1986). Genus *Bifidobacterium*. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1418-1434.

Scardovi, V. (1986). Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924, 472[^]. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2, 1423-1424.

Schell, M. A., Karmirantzou, M., Snel, B., Vilanova, D., Berger, B., Pessi, G., ... & Arigoni, F. (2002). The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(22), 14422-14427.

- Schnupf, P., Gaboriau-Routhiau, V., & Cerf-Bensussan, N. (2018).** Modulation of the gut microbiota to improve innate resistance. *Current Opinion in Immunology*, *54*, 137-144.
- Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001).** Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(2), 361s-364s.
- Scuotto, A. (2015).** *Contribution à l'étude des agrégats bifides: sélection, caractérisation, mécanisme et prévention du diabète de type 1* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- Seirafi, M., & Cunningham, S. (2011).** Le microbiote dans les maladies du foie et du tube digestif: la révolution annoncée. *Rev Med Suisse*, *7*, 1696-700.
- Shah, N. P. (1997).** Isolation and enumeration of bifidobacteria in fermented milk products: a review. *Milchwissenschaft (Germany)*.
- Sharma, M., Wasan, A., & Sharma, R. K. (2021).** Recent developments in probiotics: An emphasis on *Bifidobacterium*. *Food Bioscience*, *41*, 100993.
- Shi, L. H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N. I. M., & Yin, O. S. (2016).** Beneficial properties of probiotics. *Tropical life sciences research*, *27*(2), 73.
- Siegumfeldt, H., Bjorn Rechinger, K., & Jakobsen, M. (2000).** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid *bacterium* cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Applied and environmental microbiology*, *66*(6), 2330-2335.
- Simpson, P. J., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2003).** Genomic diversity and relatedness of bifidobacteria isolated from a porcine cecum. *Journal of bacteriology*, *185*(8), 2571-2581.
- Stackebrandt, E., & Teuber, M. (1988).** Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie*, *70*(3), 317-324.
- Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P. B., & Ross, R. P. (2001).** Market potential for probiotics. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(2), 476-483.

Stiles, M. E., &Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29.

Streit, F., Corrieu, G., &Béal, C. (2007). Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*CFL1. *Journal of biotechnology*, 128(3), 659-667.

Sutra, L., Federighi, M., &Jouve, J. L. (1998). Bactéries lactiques. *Manuel de bactériologie alimentaire*». Polytechnica.édition, Paris.

Szajewska, H., Setty, M., Mrukowicz, J., &Guandalini, S. (2006). Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 42(5), 454-475.

T

Talarico, T. L., Casas, I. A., Chung, T. C., &Dobrogosz, W. J. (1988). Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(12), 1854-1858.

Talwalkar, A., &Kailasapathy, K. (2003). Réponses métaboliques et biochimiques des bactéries probiotiques à l'oxygène. *Journal des sciences laitières*, 86 (8), 2537-2546.

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (1988). Fermented milks and their future trends. Part II. Technological aspects. *Journal of dairy research*, 55(2), 281-307.

Tamime, A. Y. (2002). Microbiology of starter cultures. *Dairy Microbiology Handbook*, 3, 261.

Tanaka, R., & Mutai, M. (1980). Improved medium for selective isolation and enumeration of *Bifidobacterium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(5), 866-869.

Tanaka, K., Samura, K., & Kano, Y. (2005). Structural and functional analysis of pTB6 from *Bifidobacterium longum*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69(2), 422-425.

Tissier, H. (1900). *Recherches sur la flore intestinale des nourrissons:(état normal et pathologique)* (Doctoral dissertation).

Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M., & Bourgeois, C. M. (1997). Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends in Food Science & Technology*, 8(2), 41-48.

Thompson, J., & Gentry-Weeks, C. R. (1994). Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. *Bactéries lactiques. Lorica, Uriage, France*, 239-290.

Toscano, M., De Vecchi, E., Gabrieli, A., Zuccotti, G. V., & Drago, L. (2015). Probiotic characteristics and in vitro compatibility of a combination of *Bifidobacterium breve* M-16 V, *Bifidobacterium longum* subsp. infantis M-63 and *Bifidobacterium longum* subsp. longum BB536. *Annals of microbiology*, 65(2), 1079-1086.

Turroni, F., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2009). *Bifidobacteria*: from ecology to genomics. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 14(12), 4673-4684.

Turroni, F., Bottacini, F., Foroni, E., Mulder, I., Kim, J. H., Zomer, A., ... & Ventura, M. (2010). Genome analysis of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 reveals metabolic pathways for host-derived glycan foraging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(45), 19514-19519.

Turroni, F., Van Sinderen, D., & Ventura, M. (2011). Aperçu génomique et écologique du genre *Bifidobacterium*. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 149 (1), 37-44.

Turroni, F., Foroni, E., Serafini, F., Viappiani, A., Montanini, B., Bottacini, F., ... & Ventura, M. (2011). Ability of *Bifidobacterium breve* to grow on different types of milk: exploring the metabolism of milk through genome analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(20), 7408-7417.

V

Van Wey, A. S., Cookson, A. L., Roy, N. C., McNabb, W. C., Soboleva, T. K., Wieliczko, R. J., & Shorten, P. R. (2014). A mathematical model of the effect of pH and

food matrix composition on fluid transport into foods: An application in gastric digestion and cheese brining. *Food research international*, 57, 34-43.

Veerkamp, J. H., Lambert, R., & Saito, Y. (1965). The composition of the cell wall of *Lactobacillus bifidus* var. *pennsylvanicus*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 112(1), 120-125.

Veerkamp, J. H. (1969). Catabolism of glucose and derivatives of 2-deoxy-2-amino-glucose in *Bifidobacterium bifidum* var. *pennsylvanicus*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 129(1), 257-263.

Ventura, M., van Sinderen, D., Fitzgerald, GF et Zink, R. (2004). Aperçu de la taxonomie, de la génétique et de la physiologie des bifidobactéries. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86 (3), 205-223.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Devere, J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International journal of food microbiology*, 96(2), 149-164.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., ... & Whitman, W. B. (Editeurs.). (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

W

Wlodarska, M., Kostic, A. D., & Xavier, R. J. (2015). An integrative view of microbiome-host interactions in inflammatory bowel diseases. *Cell host & microbe*, 17(5), 577-591.

Widmaier, E. P., Raff, H., & Strang, K. T. (2009). Goals & Objectives. *Endocrine*, 4(1), 1.

Winslow, C. E., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede Jr, C., Rogers, L. A., & Smith, G. H. (1917). The families and genera of the bacteria preliminary report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of bacteriology*, 2(5), 505-566.

Winslow, C. E., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede Jr, C., Rogers, L. A., & Smith, G. H. (1920). The families and genera of the bacteria final report of the Committee of the Society of American bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of bacteriology*, 5(3), 191-229.

X

Xiao, J. Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., ... & Hosono, A. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of dairy science*, 86(7), 2452-2461.

Z

Zergoug, A. (2017). *Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des agents pathogènes responsables des infections urinaires* (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).

Zhang, H., & Cai, Y. (2014). *Lactic acid bacteria*. Springer Berlin Heidelberg.

Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., & Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 883-893.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H., Mattarelli, P., ... & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*.

Zhu, L., Li, W. & Dong, X. (2003). Identification des espèces du genre *Bifidobacterium* sur la base de séquences partielles du gène HSP60 et proposition de *Bifidobacterium thermacidophilum* subsp. *porcinum* sp. nov. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, 53 (5), 1619-1623.

Zhurina, D., Zomer, A., Gleinser, M., Brancaccio, VF, Auchter, M., Waidmann, MS, ... & Riedel, CU (2011). Séquence complète du génome de *Bifidobacterium bifidum* S17. *Tourillon de bactériologie*, 193 (1), 301-302.

Zuo, F., Yu, R., Feng, X., Chen, L., Zeng, Z., Khaskheli, G. B., ... & Chen, S. (2016). Characterization and in vitro properties of potential probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-fed infant feces. *Annals of Microbiology*, 66(3), 1027-1037.