

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abderrahmane Mira de Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée



Réf :

Mémoire de fin de cycle

en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Thème :

*Effet prébiotique de la poudre de cladodes de figue de barbarie
sur deux souches de *Lactiplantibacillus plantarum* et
*Kluyveromyces marxianus**

Présenté par :

KENZA KAID et YETTOU MANIL

Soutenu le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Mme Tetili Fatiha	MCB	Présidente
Mme Bendali Farida	Pr	Encadreur
Mme Ouarabi Liza	MCB	Examinatrice

2023/2024

Remerciements

Avant tout propos, Dieu merci pour tout ce qu'on a pu atteindre après un long chemin d'étude.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à notre promotrice Mme BENDALI. F pour ses conseils et sa supervision durant toute la période de cette formation.

Nos remerciements les plus sincères vont à Mme TETILI qui nous fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement Mme OUARABI d'avoir accepté et consacré du temps pour examiner notre travail.

Le grand merci est à nos parents et à nos familles qui nous ont soutenus tout au long de ce parcours et qui nous ont encouragés sans cesse, ainsi que nos amis et nos collègues, qui nous ont accompagnés tout au long de ces années.

KAID Kenza, YETTOU Manil

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

À mes chers parents ; symbole de sacrifice. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis le 1^{er} jour de ma vie. Merci de m'avoir soutenue tout au long de ces années.

À tous mes enseignants qui ont illuminé mon chemin durant toute la période de mes études et de mon apprentissage.

À mes chers frères Tinhinane et Assalas, pour tout ce qu'on a passé ensemble et leurs encouragements.

À ma meilleure amie, ma deuxième sœur Nadine, qui est à tout moment à mes côtés pour me soutenir.

À mon meilleur ami, qui est mon époux Yamine, qui m'a toujours encouragé à me lancer en avant.

À tous mes amis qui m'ont souhaité le meilleur.

À mon binôme Manil.Y, avec qui j'ai partagé ce travail.

À tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin.

K.KAID

Dédicaces

C'est avec une immense joie et honneur que je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, source de fierté. Je vous remercie pour tout le soutien inconditionnel que vous me portez depuis toujours. Merci de m'avoir soutenue tout au long de ces années.

À mes enseignants et professeurs, qui m'ont guidé, inspiré et transmis leur savoir avec passion et patience.

À mes amis, qui sont avec moi à tout moment à mes côtés pour me soutenir, et en particulier toi mon frère d'une autre mère Massi avec qui j'ai vécu je ne sais combien d'histoire.

À mes camarades avec qui j'ai partagé cette expérience surtout Elyassaa avec qui au cours de ces années d'étude ensemble est devenue l'un de mes plus proches ami.

À tous mes amis qui m'ont souhaité le meilleur avec une pensée spécial pour toi A.L.

À mon binôme Kenza. K, avec qui j'ai partagé ce travail.

À tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin.

Y.MANIL

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

Sommaire

Introduction	01
Partie 01 : synthèse bibliographique	
I. <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> en tant que probiotique	
I.1. Caractéristiques	02
I.2. Nouvelle nomenclature	02
I.3. Critères probiotiques	02
I. 3.1. Critères de sécurité	02
I. 3.2. Activité antimicrobienne	02
I.3.3. Persistance dans le tractus gastro-intestinal	03
I.3.4. Critères technologiques	05
I.4. Mécanismes d'action et effets bénéfiques	05
I.4.1. Inhibition des agents pathogènes	05
I.4.2. Amélioration de la fonction de barrière intestinale	05
I.4.3. Réponse inflammatoire	05
I.4.4. Promotion de l'intégrité et de la motilité intestinale	05
I.4.5. Absorption du Fer	06
I.4.6. Influence sur l'axe intestin-cerveau	06
I.4.7. Santé métabolique	06
II. <i>Kluyveromyces marxianus</i> en tant que probiotique	
II.1. Caractéristiques.....	07
II.2. Applications industrielles	07
II.3. Critères probiotiques de <i>K. marxianus</i>	08
II.3.1. Non toxicité.....	08
II.3.2. Résistance aux conditions gastro-intestinales.....	08
II.3.3. Adhésion à l'épithélium intestinal.....	08
II.3.4. Capacité de croissance et de survie.....	08
II.3.5. Activités enzymatiques	08
II.3.6. Caractéristiques technologiques	09
II.4. Effets bénéfiques de <i>K. marxianus</i>	09
II.4.1. Activité antagoniste contre les agents pathogènes.....	09
II.4.2. Activité anticancéreuse	09
II.4.3. Activité immuno-modulatrice.....	09
II.4.4. Amélioration de l'équilibre du microbiote intestinal	10
III. <i>Opuntia ficus-indica</i> en tant que prébiotique	

III.1. Caractéristiques	11
III.2. Composition des poudres de cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	11
III.2.1. Composition chimique.....	11
III.2.2. Composés bioactifs.....	12
III. 3. Potentiel prébiotique des cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	12
III.4. Effet bénéfique d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	13
III.4.1. Activité antimicrobienne	13
III.4.2. Propriétés anti-inflammatoires	13
III.4.3. Activité chimio-préventive (anticancéreuse).....	14
III.4.4. Minimisation de la multiplication des lymphocytes T Jurkat.....	14
III.4.5. Propriétés antioxydantes.....	14
III.4.6. Activité hypocholestérolémique	15
III.4.7. Effet neuroprotecteur.....	15
III.5. Application d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	16

Partie 02 : Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel biologique	18
I.1.1 Souches microbiennes	18
I.1.2. Poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i>	18
I.2. Revivification des souches	18
I.3. Préparation des milieux de culture d'études	19
I.4. Préparation des cultures fraîches.....	19
I.5. Etude de l'effet prébiotique de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i>	19
I.6. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur l'activité antibactérienne.....	20
I.6.1. Test des spots	20
I.6.2. Test des puits.....	20
I.6.3. Test des spots- contact	21
I.6.4. Test des cylindres d'agar.....	21
I.7. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur l'adhésion des deux souches probiotiques	22
I.8. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur le potentiel antiadhésif des deux souches probiotiques	22

II. Résultats et discussions

Revivification et aspect des souches	24
II.1. Aspect macroscopique et microscopique des souches.....	24
II.1.1 Aspect macroscopique	24

II.1.2 Aspect microscopique.....	25
II.2. Etude de l'effet prébiotique de la poudre d' <i>Opuntia ficus indica</i>	25
II.3. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur l'activité antibactérienne.....	28
II.3.1. Test des spots.....	28
II.3.2. Test des puits.....	30
II.3.3. Test des spots- contact.....	31
II.3.4. Test des cylindres d'agar.....	31
II.4. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur l'adhésion des deux souches probiotiques.....	31
II.5. Effet de la poudre de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur l'effet antiadhésif des deux souches probiotiques.....	34

Conclusion.....	39
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

BHI : Bouillon cœur-cerveau (Brain Heart Infusion)

BN : Bouillon nutritif

DO : Densité Optique

FAO: Food and Agriculture Organization

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GN: Gélose nutritive

GRAS: generally recognized as safe

K. marxianus: *Kluyveromyces marxianus*

LAB: Lactic Acid Bacteria

L. plantarum: *Lactiplantibacillus plantarum*.

mg/dL: milligramme de sucre par décilitre de sang

MH: Gélose Mueller-Hinton

MRS: Gélose de Man Rogosa Sharpe

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P1 : Poudre de cladodes âgées de 3 à 6 mois

P2 : Poudre de cladodes âgées de plus d'un an

SMA : Surnageant milieu autoclavé.

SMF : Surnageant milieu filtré.

TSB: Trypticase Soja Broth

UFC: Unités formant colonies.

Liste des tableaux

Tableau n°	Titre	Page
<i>I</i>	Les composés bioactifs des cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	<i>12</i>
<i>II</i>	Souches microbiennes utilisées et conditions de culture.	<i>18</i>
<i>III</i>	Préparation des milieux de culture d'études.	<i>19</i>
<i>IV</i>	Adhésion de la souche de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> sur microplaque en polystyrène en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i>	<i>32</i>
<i>V</i>	Adhésion de la souche de <i>Kluyveromyces marxianus</i> sur microplaque en polystyrène en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i>	<i>32</i>

Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
1	Effet de <i>L. plantarum</i> sur l'axe intestin-cerveau	6
2	Schéma Illustratif de la Méthode de Transformation des Cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i> en Poudre	18
3	Aspect macroscopique de la souche de <i>L. plantarum</i> F8 sur gélose MRS après 48 h d'incubation à 37°C	24
4	Aspect macroscopique de la souche de <i>K. marxianus</i> sur gélose Sabouraud après 48 h d'incubation à 37°C.	24
5	Aspect microscopique de la souche <i>L. plantarum</i> après coloration de GRAM. , Grossissement X100	25
6	Aspect microscopique de la souche de <i>K. marxianus</i> après une coloration simple au Bleu de méthylène. Grossissement X100	25
7	Croissance de <i>L. plantarum</i> dans le bouillon MRS en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i> .	27
8	Croissance de <i>Kluyveromyces marxianus</i> en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i> .	28
9	Activité antibactérienne de <i>L. plantarum</i> (test des spots) contre <i>S. aureus</i> en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d' <i>Opuntia ficus-indica</i> en cm.	30
10	Activité antibactérienne de <i>L. plantarum</i> , cultivée dans le milieu témoin (MRS sans poudre) obtenu avec le test des spots, contre <i>S. aureus</i> .	30
11	Exemple d'un résultat négatif du test des puits	31
12	Exemple de résultat négatif du test des cylindres d'agar réalisé avec <i>K. marxianus</i> contre <i>S. aureus</i> .	31
13	Adhésions de <i>L. plantarum</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	33
14	Adhésions de <i>K. marxianus</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	34
15(a)	Effet antiadhésif de la souche de <i>L. plantarum</i> sur la souche d' <i>E. coli</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	35
15(b)	Effet antiadhésif de la souche de <i>L. plantarum</i> sur la souche de <i>S. aureus</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	36
16(a)	Effet antiadhésif de la souche de <i>K. marxianus</i> sur la souche d' <i>E. coli</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	37
16(b)	Effet antiadhésif de la souche de <i>K. marxianus</i> sur la souche de <i>S. aureus</i> sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	37

Introduction

Introduction

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants, principalement des bactéries et des levures, qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante, procurent des bienfaits pour la santé de l'hôte (FAO/WHO, 2002). Ils jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre de la flore intestinale, essentielle à une bonne digestion et à l'amélioration de la fonction immunitaire, aident à réduire l'inflammation et ont même un impact positif sur la santé mentale en régulant l'axe intestin-cerveau (Oak et Jha., 2019).

Lactiplantibacillus plantarum et *Kluyveromyces marxianus* sont parmi les souches probiotiques utilisées pour leur efficacité et leur capacité de survie aux conditions du transit gastro-intestinal, adhérer et à inhiber la croissance des pathogènes (Marianelli et al., 2010). L'intégration de ces micro-organismes bénéfiques sous forme de suppléments peut donc être une stratégie efficace pour promouvoir la santé de l'hôte. C'est pour cela que l'utilisation des probiotiques continue d'être un domaine de recherche dynamique, ouvrant la voie à de nouvelles découvertes et applications innovantes.

Les cladodes *Opuntia ficus-indica*, également connues sous le nom de nopal, sont la partie plate et charnue de ce cactus. Ces structures végétales sont riches en fibres alimentaires et sont connues pour leur capacité à améliorer la digestion et à réguler le transit intestinal. Les fibres solubles présentes dans ces cladodes forment un gel visqueux dans les intestins et améliorent l'équilibre du microbiote intestinale (Cruz-Rubio et al., 2020).

Ces cladodes possèdent également des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires dues à la présence de composés phénoliques et flavonoïdes (Jakobek., 2015, Antunes-Ricardo et al., 2015). Ces propriétés aident à neutraliser les radicaux libres et à réduire l'inflammation, contribuant ainsi à prévenir diverses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires (Padilla-Camberos et al., 2015).

L'intégration de la poudre des cladodes de figuier de Barbarie dans des formulations probiotiques peut représenter une approche innovante pour augmenter l'efficacité et la vitalité des probiotiques. Cette synergie offre de nombreuses opportunités pour développer des produits fonctionnels alliant des bienfaits nutritionnels et thérapeutiques pour contribuer à l'amélioration de la santé globale.

C'est dans ce sens que notre travail a été effectué, qui consiste à étudier l'effet de la poudre de cladodes de figue de Barbarie sur l'activité probiotique des deux souches de *L. plantarum* et *Kluyveromyces marxianus*, en évaluant *in vitro* quelques propriétés probiotiques de ces dernières en présence de cette poudre.

Partie bibliographique

Chapitre 01 :
Lactiplantibacillus plantarum
en tant que probiotique

I.1. Caractéristiques

Lactiplantibacillus plantarum est une bactérie lactique couramment utilisée dans la fermentation et ses propriétés probiotiques et fonctionnelles ainsi que ses bienfaits sur la santé sont mis en avant. Les souches de *L. plantarum*, d'origine alimentaire, ont montré une bonne résistance et une bonne adhérence dans le tractus gastro-intestinal ainsi que d'excellentes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. De plus, de nombreuses souches de *L. plantarum* peuvent produire des bactériocines ayant une activité antimicrobienne intéressante (**Fidanza et al., 2021**). Cette espèce est naturellement présente dans divers environnements, y compris les aliments fermentés comme les produits laitiers et les légumes fermentés (**Nordström et al., 2021**).

I.2. Nouvelle nomenclature

Après avoir été nommée *Streptobacterium plantarum* par Orla Jenness en 1919 et *Lactobacillus plantarum* en 1936 par Pederson en fonction de certaines caractéristiques biochimiques et morphologiques (**Melgar-Lalanne et al., 2012**), en mars 2020, un changement radical a été apporté au genre *Lactobacillus*, dont *L. plantarum*. En effet, le genre *Lactobacillus* comportait 261 espèces avec une grande diversité génétique, phénotypique et écologique. Le 15 avril 2020, une étude a été publiée sur la nouvelle taxonomie de *Lactobacillus* dans la revue de renom « *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* » qui a proposé 25 noms de genres, partiellement nouveaux, tandis que les noms des espèces ont été conservés. C'est le cas de *Lactobacillus plantarum* qui a été renommé en *Lactiplantibacillus plantarum* (**Zheng et al., 2020**).

I.3. Critères probiotiques**I. 3.1. Critères de sécurité**

L. plantarum est reconnue comme étant inoffensive et figure sur la liste de présomption de sécurité qualifiée (QPS) de l'Union européenne, et qualifiée par le statut GRAS (**Generally Recognized As Safe**) aux États-Unis (**Nordström et al., 2021**).

I. 3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne contre les microorganismes pathogènes est l'un des critères principaux utilisés pour la sélection des souches probiotiques (**Marianelli et al., 2010**).

Lactiplantibacillus plantarum est considérée comme une espèce de bactéries lactiques avec une activité antimicrobienne à large spectre (antibactérienne et antifongique) (Dinev et al., 2018), grâce à ses propriétés antagonistes:

- Diminution du pH par production d'acides organiques,
- Consommation des nutriments disponibles,
- Diminution du potentiel redox,
- Production de peroxyde d'Hydrogène dans des conditions aérobies,
- Production de composés inhibiteurs spécifiques tels que les bactériocines.

I.3.3. Persistance dans le tractus gastro-intestinal

Selon Hamon et al. (2011), la résistance de *Lactiplantibacillus plantarum* peut être attribuée à plusieurs mécanismes adaptatifs qui lui permettent de survivre dans des environnements hostiles :

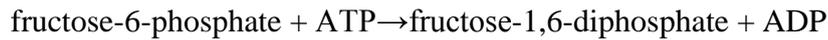
- ❖ **Tolérance aux sels biliaries** : Cette tolérance est associée à des changements significatifs dans la morphologie cellulaire, notamment à travers la régulation de gènes comme *cfa2*, qui modifient la composition et la fluidité de la membrane cellulaire pour résister aux effets des sels biliaries.
- ❖ **Réponse au stress oxydatif** : *L. plantarum* a la capacité de réagir au stress oxydatif en augmentant l'expression de gènes tels que la glutathion réductase qui est une enzyme catalysant la réduction du glutathion oxydé (le rôle principal du glutathion est de protéger les cellules des radicaux libres lorsqu'elles sont exposées à un stress provoqué par les sels biliaries).

De même, Schubert (1999) a montré sa résistance au suc gastrique humain qui est principalement composé de pepsine et d'acide hydrochlorique. Cette composition se traduit par un pH cyclique dans l'estomac qui varie d'environ 1,5 pendant le jeûne à 3 à 5 après l'ingestion d'aliments.

Les espèces de *Lactobacillus* utilisent plusieurs mécanismes dans le but de maintenir l'homéostasie du pH intracellulaire :

- Recyclage rapide des protéines endommagées et l'induction de diverses voies de réponse au stress (Wu et al., 2014).
- Adaptation à l'acidité : la tolérance à l'acidité de *L. plantarum*, peut être augmentée par une exposition préalable à des conditions acides non létales dans un processus connu sous le nom de réponse de tolérance à l'acide.

- Modifications inductibles de la composition de la membrane plasmique, en acides gras de sorte que le rapport entre les acides gras saturés et insaturés augmente lors de l'exposition à un pH faible, ce qui entraîne une réduction significative de la fluidité de la membrane (**Huang et al., 2016**).
- Augmentation de l'expression de la phosphofructokinase par la phosphotransférase qui intervient dans la glycolyse, et catalyse la réaction:



et de la pyruvate-kinase par la phosphotransférase qui intervient dans la glycolyse, et catalyse la réaction:



à l'aide d'un cation de magnésium Mg^{2+} comme cofacteur; pour faciliter le métabolisme des sucres. par conséquent, une plus grande production d'ATP, qui fournit l'énergie nécessaire à l'entraînement des pompes à protons qui contribuent à maintenir l'homéostasie du pH intracellulaire (**Huang et al., 2016**).

❖ Adhésion au mucus intestinal

Les cellules bactériennes probiotiques doivent adhérer temporairement à la muqueuse intestinale (**Ammor et Mayo, 2007**). Cette adhésion est considérée comme un critère de colonisation pour exercer son effet bénéfique pour la santé tels que la production des acides aminés, vitamines, acides organiques, enzymes, composés antimicrobiens (**Gupta et al., 2018**).

Bien qu'il ait été démontré que la capacité d'adhésion de *L. plantarum* dépendait de la souche, les caractéristiques physiques de la cellule bactérienne telles que la charge de surface, l'hydrophobicité et les propriétés de donneur et d'accepteur d'électrons peuvent influencer les propriétés d'adhésion. En termes d'interactions spécifiques, un certain nombre d'adhésines bactériennes prototypiques de la surface des cellules contribuent à la capacité d'adhésion de *L. plantarum* (**Buntin et al., 2017**).

Les résultats de **Panigrahi et al. (2008)** *in vivo* valident les évaluations *in vitro* et suggèrent que *L. plantarum* est capable d'adhérer à la muqueuse intestinale humaine et de persister dans le tractus gastro-intestinal des mammifères.

I.3.4. Critères technologiques

Les critères technologiques sont également pris en considération dans la sélection de *L. plantarum* en tant que probiotique (Saarela et al., 2000):

- Bonnes propriétés sensorielles,
- Résistance aux phages,
- Viabilité durant le traitement technologique,
- Stabilité dans le produit et durant la fabrication et le stockage.

I.4. Mécanismes d'action et effets bénéfiques

La capacité de *L. plantarum* à survivre au passage dans le tractus gastro-intestinal et d'adhérer aux cellules épithéliales lui permet d'exercer ses effets bénéfiques sur la santé dont : (Fidanza et al., 2021 ; Nordström et al., 2021).

I.4.1. Inhibition des agents pathogènes

Plusieurs mécanismes ont été mis en évidence (Karlsson et al., 2010):

- Exclusion compétitive due à l'occupation de sites de liaison,
- Production induite de mucine
- Production de bactériocines

I.4.2. Amélioration de la fonction de barrière intestinale

Cela peut se traduire par une réduction de la perméabilité intestinale et une diminution de la translocation bactérienne, ce qui peut contribuer à prévenir les conditions pathologiques associées à une altération de la barrière intestinale, telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Corr et al., 2009; Hu et al., 2017).

I.4.3. Réponse inflammatoire

Les souches probiotiques peuvent également avoir des propriétés immuno régulatrices directes, telles que l'amélioration de l'activité des macrophages et des cellules tueuses naturelles (NK) ou moduler les sécrétions d'anticorps ou de cytokines (Isolauri et al., 2001 ; La Fata et al., 2018).

I.4.4. Promotion de l'intégrité et de la motilité intestinales

- ❖ **Intégrité intestinale** : L'intestin est protégé par une barrière épithéliale qui empêche la pénétration de substances nocives dans l'organisme. *L. plantarum* peut renforcer cette

barrière en favorisant la production de protéines de jonction serrée entre les cellules épithéliales, ce qui maintient l'étanchéité de la paroi intestinale et prévient les fuites indésirables de molécules à travers la paroi intestinale. En renforçant l'intégrité intestinale, *L. plantarum* contribue à réduire l'inflammation et à prévenir les maladies associées à une perméabilité intestinale accrue (**Fidanza et al., 2021**).

- ❖ **Motilité intestinale** : c'est-à-dire la capacité des muscles intestinaux à se contracter et à propulser les aliments à travers le tractus gastro-intestinal. Des études ont montré que l'administration de *L. plantarum* peut améliorer la motilité intestinale et réduire les symptômes de constipation. En favorisant un transit intestinal régulier et efficace, *L. plantarum* contribue à maintenir la santé digestive et à prévenir les troubles liés à la motilité intestinale (**Fidanza et al., 2021**).

I.4.5. Absorption du fer

Il a été démontré que le *L. plantarum* 299v augmente l'absorption du fer dans plusieurs études cliniques, donc il peut être un remède efficace pour guérir l'anémie (**Korcok, et al., 2018**).

I.4.6. Influence l'axe intestin-cerveau

L'administration de probiotiques peut améliorer la translocation bactérienne et réduire les niveaux d'hormones de stress (**Andersson et al., 2016**).

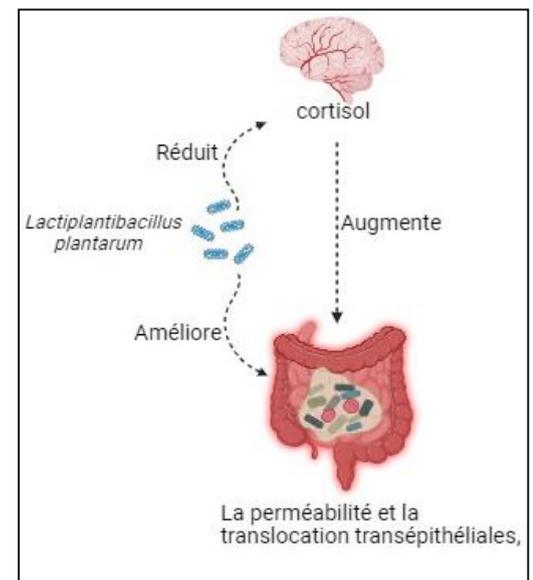


Figure 01: Effet de *L. plantarum* sur l'axe intestin-cerveau.

I.4.7. Santé métabolique

L. plantarum intervient dans la régulation des facteurs liés à la santé métabolique, y compris les réponses postprandiales à l'insuline, la concentration de lipides sanguins et les taux de cholestérol (**Nordström et al., 2021**).

*Chapitre 02 : Kluyveromyces
marxianus en tant que
probiotique*

II.1. Caractéristiques

Kluyveromyces marxianus est couramment utilisée dans l'industrie pour une variété d'applications commerciales, cela grâce à sa thermo-tolérance, son taux de croissance rapide, sa sécrétion d'enzymes lytiques, sa capacité à assimiler une large gamme de sucres et sa production d'éthanol par fermentation (Morrissey et al., 2015 ; Varela et al., 2017). Cette espèce de levure est inoffensive et possède le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) attribué par la « Food and Drug Administration (FDA) » (Ceugniez et al., 2017). Cela signifie qu'elle est considérée comme sûre pour une utilisation dans l'alimentation humaine en raison de son long historique d'utilisation sans problème signalé (Ceugniez et al., 2017). Parmi les autres propriétés que possède *K. marxianus*, on discerne sa production à la fois d'arômes et de parfums, ce qui la rend attrayante pour l'industrie des boissons (Varela et al., 2017).

Les souches de *K. marxianus* ont été isolées d'une grande variété d'habitats tels que l'environnement naturel (sol, plantes, fruits, et insectes) ou encore dans les industries agro-alimentaires (du vin, de la bière, ou encore de la panification) mais les plus courants sont les produits laitiers naturels (Homayouni-Rad et al., 2020).

II.2. Applications industrielles

Selon Homayouni-Rad et al. (2020), *K. marxianus* possède plusieurs propriétés intéressantes exploitées industriellement dont :

- **Impact sur les qualités sensorielles du chocolat:** En fermentant le cacao, *K. marxianus* a un bon impact sur les qualités sensorielles du chocolat.
- **Développement de la saveur et de la texture de certains produits laitiers:** *K. marxianus* favorise le développement de la saveur et de la texture du fromage, du kéfir et du koumiss.
- **Production d'éthanol:** Certaines souches de *K. marxianus* (VST44 et ZIM75) peuvent être utilisées pour la production d'éthanol à l'échelle industrielle. De plus, cette espèce de levure peut fermenter directement le lactose en éthanol.
- **Production de diverses enzymes:** *K. marxianus* peut produire de la pectinase, de la β -galactosidase, de la β -glucosidase, de la polygalacturonase et quelques autres enzymes.

De plus, suivant Hoshida et al. (2018), *K. marxianus* a été utilisée comme producteur d'inulinase qui est une enzyme qui catalyse la dégradation de l'inuline en fructose ou en dextrines, en fonction de la source de l'inuline. L'inuline est un polysaccharide présent dans de

nombreux végétaux, tels que les artichauts, les oignons, les bananes et les blés. L'utilisation de l'inulinase est importante dans l'industrie alimentaire pour la production de fructose à partir d'inuline, qui peut ensuite être utilisé comme édulcorant ou dans d'autres applications industrielles.

II.3. Critères probiotiques de *K. marxianus*

II.3.1. Non toxicité

L'étude de **Ceugniet et al. (2017)** a montré la non toxicité de certaines levures non-*Saccharomyces* dont *K. marxianus* sur les cellules intestinales Caco-2 après 24 h d'incubation conjointe.

II.3.2. Résistance aux conditions gastro-intestinales

Dans l'étude rapportée par **Moradi et al. (2018)**, des souches de *K. marxianus* ont montré une résistance aux conditions gastro-intestinales hostiles, notamment en survivant à un pH de 1,5 et en présence de 5% de d'ox-bile et de pepsine sels biliaires ainsi qu'un taux de survie supérieur à 98% à un pH faible (2,0) et 0,6 % (w/v) de sels biliaires . Des souches de *Kluyveromyces* isolé du fromage artisanal 'Fiore Sardo' ont prouvé une capacité à se développer en présence de sels biliaires conjugués après 72 h d'incubation, et ont démontré un pourcentage de survie supérieur à 95% après exposition à un pH de 2,0 et en présence de 0,3% (w/v) sels biliaires (**Fadda et al., 2017**).

II.3.3. Adhésion à l'épithélium intestinal

K. marxianus fragilis B0399 a démontré une forte capacité d'adhésion aux cellules Caco-2 avec une valeur de $4.13 \cdot 10^3$ cellules /100cellues de Caco-2, suggérant un potentiel bénéfique pour la santé intestinale. Une forte adhésion aux cellules Caco-2 est souvent considérée comme un indicateur de la capacité d'un micro-organisme à coloniser la muqueuse intestinale et donc sa capacité d'accomplir son effet telle que la formation d'une barrière protectrice ou la stimulation de la sécrétion de mucus (**Maccaferria et al., 2011**).

II.3.4. Capacité de croissance et de survie

Des souches de *K. marxianus* ont été capables de croître à des températures allant de 25 à 42°C avec 100% de survie mais elles ont montré une croissance réduite à 42°C (**Moradi et al., 2018**).

II.3.5. Activités enzymatiques

Des souches de *Kluyveromyces* ont montré une activité protéolytique et absence d'activités lipolytique et hémolytique (Moradi et al., 2018).

II.3.6. Caractéristiques technologiques

La viabilité pendant le stockage de ce probiotique a été testé par Moradi et al.,(2018) à 4°C, les souches de *Kluyveromyces* ont montré une augmentation de leur population cellulaire, passant de 4,7 Log CFU/mL à 7,1 Log CFU/mL au cours de la période de stockage de 2 jours. Par contre à 25 °C, le taux de croissance de certain isolats de *Kluyveromyces* s'est également amélioré, bien que de manière moins prononcée qu'à 4°C.

II.4. Effets bénéfiques de *K. marxianus*

Cette espèce présente plusieurs effets bénéfiques qu'on peut trouver chez l'espèce en général et certains autres effets uniquement remarqués chez certaines souches ; parmi ces effets nous avons :

II.4.1. Activité antagoniste contre les agents pathogènes

K. marxianus montre des effets antagonistes contre des agents pathogènes tels que *Salmonella* spp. et *Candida albicans* (Ceugniz et al., 2017). De même, *K. marxianus* AS41, isolée à partir de produits laitiers traditionnels, montre des activités antimicrobiennes et antifongiques (Saber et al., 2017). L'étude de Fadda et al. (2017) a également démontré que des souches de *K. marxianus* ont une activité antagoniste contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium et *C. glabrata*, ce qui suggère un potentiel pour réduire la croissance de ces agents pathogènes dans l'intestin.

II.4.2. Activité anticancéreuse

Saber et al. (2017) ont démontré que la souche *K. marxianus* AS41 possède des activités cytotoxiques efficaces, notamment des effets apoptotiques importants sur différentes lignées de cellules cancéreuses, avec moins d'effets indésirables sur les cellules normales par rapport à la chimiothérapie habituelle.

II.4.3. Activité immuno-modulatrice

L'étude menée par Maccaferria et al. (2011) a montré que *K. marxianus fragilis* B0399 a une capacité à induire la production de cytokines pro-inflammatoires chez les cellules

mononucléaires périphériques, comprenant tous les leucocytes mononucléaires tels que les lymphocytes (cellules T, cellules B, cellules NK), les monocytes, les cellules dendritiques et les basophiles. De même, une modulation des cytokines pro-inflammatoires en présence de LPS (Les lipopolysaccharides) a été notée, ce qui suggère un potentiel immunomodulateur.

II.4.4. Amélioration de l'équilibre du microbiote intestinal

L'administration de *K. marxianus fragilis* B0399 a entraîné une augmentation significative des bactéries du genre *Bifidobacterium* et de la concentration d'acétate et de propionate, ce qui peut contribuer à la santé colique en fournissant de l'énergie aux cellules épithéliales et en favorisant leur croissance (le propionate sert à la production de glucose dans le foie tandis que l'acétate avec le butyrate interviennent dans la synthèse des lipides) (Maccaferria et al., 2011).

***Chapitre 03 : Opuntia ficus-
indica en tant que prébiotique***

III.1. Caractéristiques

Les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* ont une grande valeur commerciale en raison de leur utilisation dans l'alimentation humaine et en médecine traditionnelle. Ils sont consommés directement comme légume ou utilisés comme ingrédient dans divers produits alimentaires, notamment au Mexique (**Ramírez-Moreno et al., 2013**). Ces dernières sont séchées, broyées et vendues sous forme de poudre sèche pour être utilisées dans les formulations pharmaceutiques en vente libre. Le séchage à l'air chaud (convection) est la méthode commerciale la plus courante, bien que le séchage solaire gagne en popularité. La méthode de séchage choisie peut influencer significativement le profil de qualité de la poudre produite, y compris les propriétés du mucilage et d'autres composants d'intérêt thérapeutique (**Martínez-Soto et al., 2016**).

III.2. Composition des poudres de cladodes d'*Opuntia ficus-indica*

II.2.1. Composition chimique

L'étude menée par **Ayadi et al. (2009)** a permis de déduire la composition chimique suivante :

- **Humidité et cendres** : Les cladodes épineux et sans épines présentent des teneurs élevées en humidité, d'environ 86-88%, et en cendres, d'environ 1,5-2%.
- **Acidité** : Un faible pH est observé, autour de 4,6, probablement en raison de la présence d'acides organiques tels que les acides malique, citrique et oxalique.
- **Protéines et graisses** : Les cladodes contiennent environ 1-2% de protéines et moins de 1% de graisses.
- **Glucides** : Les glucides constituent la majeure partie des cladodes, avec des fibres alimentaires, de l'amidon et des sucres solubles. Les fibres alimentaires représentent environ 4-5% de la matière sèche, avec une proportion plus élevée de fibres insolubles que de fibres solubles.
- **Minéraux** : Les cladodes sont riches en potassium, avec des teneurs pouvant atteindre 3-4% de la matière sèche. Les autres minéraux présents comprennent le calcium, le magnésium, le sodium, le phosphore, le zinc, le fer et le cuivre, à des niveaux inférieurs.

II.2.2. Composés bioactifs

Les cladodes sont aussi une importante source de composés bioactifs aux nombreux bienfaits pour la santé d'après **Silva et al. (2021)** les principaux composés présents sont :

Tableau I : Les composés bioactifs des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* .**Silva et al. (2021)**

<ul style="list-style-type: none"> • Acides gras : 	<p>Les cladodes contiennent principalement :</p> <ul style="list-style-type: none"> -l'acide palmitique (C16:0) -l'acide oléique (C18:1) -l'acide linoléique (C18:2) -l'acide linoléique (C18:3).
<ul style="list-style-type: none"> • Acides aminés : 	<p>Les cladodes comparer au reste de plante telle que les graines ou la pulpe ne contiennent presque pas d'acides aminés sauf pour la Threonine et la Glutamate qui sont présentes a des valeurs qui dépassent de peut les 1 g/100 g protein.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Caroténoïdes : 	<p>Les cladodes contiennent/</p> <ul style="list-style-type: none"> -La lutéine ($102 \pm 0,07$ à $187 \pm 0,22$ $\mu\text{g}/100\text{g}$ poids sec) -β-carotène ($82 \pm 0,22$ à $119 \pm 0,53$ $\mu\text{g}/100$ g poids sec) -La β- cryptoxanthine ($45 \pm 0,60$ à $72 \pm 0,28$ $\mu\text{g}/100$ g poids sec).
<ul style="list-style-type: none"> • Composés phénoliques : 	<p>Les cladodes contiennent divers acides phénoliques, tels que:</p> <ul style="list-style-type: none"> -L'acide gallique, l'acide coumarique ($140,8$ à $161,8$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -L'acide 3,4- dihydroxy-benzoïque, l'acide 4-hydroxybenzoïque ($5,0$ à $47,2$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -L'acide férulique ($5,6$ à $347,7$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -L'acide salicylique ($5,8$ à $35,4$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec). <p>Dans les cladodes, les flavonoïdes identifiés incluent :</p> <ul style="list-style-type: none"> -L'iso-quercitrine ($22,9$ à $396,7$ $\mu\text{g}/\text{g}$poids sec) -L'isorhamnétine-3-O-glucoside ($45,9$ à $322,1$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -La nicotiflorine($28,9$ à $1465,0$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -La rutine ($23,6$ à $261,7$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec) -La narcissine ($146,9$ à $1371,0$ $\mu\text{g}/\text{g}$ poids sec).
<ul style="list-style-type: none"> • Bétalaïnes : 	<p>Les bétalaïnes, incluant les bétacyanines et les bétaxanthines, sont des pigments puissants avec des propriétés antioxydantes importantes. Les valeurs trouvées dans les cladodes sont les suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Betacyanines (bétanine) : $1,17 \pm 0,04$ à $2,52 \pm 0,10$ mg/100 g. -Betaxanthines (indicaxanthine) : $1,73 \pm 0,04$ à $2,00 \pm 0,15$ mg/100 g,

III. 3. Potentiel prébiotique des cladodes d'*Opuntia ficus-indica*

Les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* présentent un potentiel intéressant en tant que prébiotique, notamment en raison de leur composition en polysaccharides complexes. L'étude de **Cruz-Rubio et al. (2021)** a montré que le mucilage extrait des cladodes de cette plante est principalement composé d'assemblages supramoléculaires de polysaccharides neutres et acides, avec la possibilité d'inclure des composants de faible poids moléculaire tels que des oligosaccharides. Ces oligosaccharides souvent négligés dans la littérature antérieure montrent des structures complexes avec des chaînes latérales variées suggérant un potentiel prébiotique intéressant.

Des tests de croissance de souches probiotiques des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* effectués par **Cruz-Rubio et al. (2020)** ont prouvé que ces souches étaient capables d'utiliser le mucilage d'*Opuntia* comme substrat, bien que leur croissance soit inférieure à celle obtenue en présence du glucose. Ces auteurs ont conclu que bien que la teneur en prébiotiques des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* soit inférieure à celle d'autres sources telles que l'inuline, leur utilisation comme source de fibres alimentaires avec des effets bénéfiques potentiels sur la santé semble prometteuse (**Cruz-Rubio et al., 2020**).

III.4. Effet bénéfique d'*Opuntia ficus-indica*

III.4.1. Activité anti-microbienne

L'extrait de cladodes d'*Opuntia ficus-indica* a montré une activité antimicrobienne significative, surpassant même des agents antimicrobiens courants comme la tétracycline et la vancomycine contre certaines bactéries. L'extrait a révélé une forte activité antibactérienne contre les bactéries gram-positives et gram-négatives, avec une efficacité particulièrement élevée contre *S. pneumoniae* et *B. subtilis*. Cette activité antimicrobienne est attribuée à la présence de diverses substances phytochimiques, tels que les substances phénoliques, les tanins, les glycosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les saponines, présents dans les extraits. Avec l'augmentation des résistances microbiennes, les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* représentent une alternative prometteuse pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens. (**Welegerima et al., 2018**)

III.4.2. Propriétés anti-inflammatoires

Les flavonoïdes agissent en inhibant les enzymes clés impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique, réduisant ainsi la production de prostaglandines pro-inflammatoires

(Antunes-Ricardo et al., 2015). Certains flavonoïdes, tels que l'isorhamnétine-3-O-glucosyl-rhamnoside (IGR) et l'isorhamnétine-3-O-glucosyl-rhamnosylrhamnoside (IGRR), régulent spécifiquement les activités anti-inflammatoires en inhibant l'activation du facteur nucléaire kappa B (NFκ-B) et l'expression génique de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), tout en supprimant la production de facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α) (Antunes-Ricardo et al., 2015).

III.4.3. Activité chimio-préventive (anticancéreuse)

Opuntia ficus-indica a démontré une efficacité d'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses. Des études ont montré que l'extrait de figue de Barbarie induit une apoptose cellulaire et inhibe le développement des cellules cancéreuses du col de l'utérus, de la vessie et de l'ovaire (Zou et al., 2005).

L'extrait de bétanine d'*Opuntia ficus-indica* a également été bénéfique en induisant l'apoptose cellulaire, particulièrement dans la leucémie myéloïde (Sreekanth et al., 2007).

Les antioxydants présents dans l'*Opuntia ficus-indica* ont la capacité de protéger la muqueuse gastrique contre les lésions, les ulcères, la gastrite et le cancer (Galati et al., 2003). Une étude récente a montré qu'*Opuntia ficus-indica* a un effet anti-ulcérogène et peut prévenir les lésions gastriques induites par le stress (Kim, et al., 2012)

III.4.4. Minimisation de la multiplication des lymphocytes T Jurkat

Il a été récemment montré qu'*Opuntia ficus-indica* peut agir en minimisant la multiplication des lymphocytes T Jurkat. Les lymphocytes T sont des cellules clés du système immunitaire impliquées dans la réponse immunitaire. En réduisant leur multiplication, *Opuntia ficus-indica* peut moduler la réponse immunitaire, ce qui peut être bénéfique pour les personnes souffrant de maladies auto-immunes où le système immunitaire est hyperactif et attaque les tissus sains du corps (Aires et al., 2004).

III.4.5. Propriétés antioxydantes

Les polyphénols et les bétalaines de l'*Opuntia ficus-indica* possèdent des propriétés antioxydantes notables. Les polyphénols présents dans l'*Opuntia ficus-indica*, tels que les flavonoïdes, les stilbènes, les acides phénoliques, la lignine et la subérine, exercent une activité antioxydante en inhibant le processus d'oxydation via des interactions avec les glucides, les lipides et les protéines (Jakobek, 2015).

Les flavonoïdes neutralisent les radicaux libres, chélatent les ions métalliques pro-oxydants, inhibent les enzymes pro-oxydantes et induisent l'expression des enzymes

oxydants, inhibent les enzymes pro-oxydantes et induisent l'expression des enzymes antioxydantes. Les stilbènes piègent les radicaux libres, inhibent l'oxydation des lipides et régulent l'expression des gènes impliqués dans la réponse antioxydante. Les acides phénoliques neutralisent les radicaux libres, inhibent les enzymes pro-oxydantes et stimulent la production d'enzymes antioxydantes endogènes. Bien que moins étudiées, la lignine et la subérine ont montré des activités antioxydantes en piégeant les radicaux libres et en stabilisant les membranes cellulaires (**Slimen et al., 2016**).

Les bétalaïnes, présentes sous forme d'acide bétalamique, se transforment en bétacyanines (couleur violette) et bétaxanthines (couleur jaune) dans la vacuole, trouvées dans la pulpe et la peau du fruit. Grâce à leurs groupes hydroxyle, imino et tétrahydropyridine, les bétalaïnes inhibent la peroxydation lipidique et la désintégration de l'hème, conférant ainsi des propriétés antioxydantes. (**Taira et al., 2015**)

III.4.6. Activité hypocholestérolémique

Dans des expériences *in vivo* menée par **Padilla-Camberos et al. (2015)** sur des souris, l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* a significativement réduit les niveaux de cholestérol après une induction de l'hypercholestérolémie. Avant l'administration de l'extrait les niveaux de cholestérol étaient de 246,5 mg/dL, mais ils ont diminué à 203,1 mg/dL après traitement. En comparaison, le contrôle positif, l'orlistat, a réduit les niveaux de cholestérol à 147,8 mg/dL.

L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* a montré une inhibition dose-dépendante de la lipase pancréatique, une enzyme clé dans l'absorption des graisses alimentaires. Cette inhibition a été similaire à celle observée avec l'orlistat, un inhibiteur connu de la lipase pancréatique. Ces résultats suggèrent que l'*Opuntia ficus-indica* pourrait réduire l'absorption intestinale des graisses alimentaires, contribuant ainsi à son effet hypocholestérolémiant. (**Padilla-Camberos, et al., 2015**)

III.4.7. Effet neuroprotecteur

Les mécanismes les plus fréquemment mis en évidence qui peuvent causer des dommages neuronaux sont liés à l'inflammation et au stress oxydatif. Ainsi, les multiples composants présents dans *O. ficus-indica* peuvent prévenir ces phénomènes péjoratifs et protéger le cerveau et le système nerveux (**Shoukat et al., 2023**)

Des études de **Kim et al. (2006)** ont été menées pour déterminer l'effet neuroprotecteur des extraits méthanoliques d'*O. ficus-indica* dans des modèles *in vitro* et *in vivo* d'ischémie

(c'est une diminution ou arrêt de la circulation artérielle dans une région plus ou moins étendue d'un organe ou d'un tissu). Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques d'*O. ficus-indica* sont capables de réduire les dommages excitotoxiques provoqués par l'ischémie, qui est également une cause possible de dommages neuronaux.

Wie (2000) A étudié l'action inhibitrice des extraits méthanoliques d'*O. ficus-indica* sur la neurotoxicité induite par la xanthine/xanthine oxydase, le FeCl₂ /acide ascorbique et l'acide arachidonique dans des cultures de cellules corticales de souris. Les résultats obtenus suggèrent que les extraits d'*O. ficus-indica* peuvent contribuer à la neuroprotection des neurones endommagés par les radicaux libres ou la privation d'oxygène.

Dok-Go et al. (2003) ont montré que des composés comme la quercétine, la dihydroquercétine et la quercétine-3-méthyl-éther, présents non seulement dans la pulpe du fruit mais aussi dans les cladodes, sont capables de réduire les dommages causés par le peroxyde d'hydrogène, ainsi que par la xanthine oxydase dans les cellules corticales de rat.

III.5. Les Application d'*Opuntia ficus-indica*

Les recherches de **Shoukat et al. (2023)** on permit de réunir toutes les dernières applications des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* :

- **Bioremédiation des eaux usées** : Les cladodes d'*Opuntia* sont utilisées pour éliminer les contaminants organiques et inorganiques des eaux usées grâce à leurs capacités de biosorption et de coagulation-floculation, particulièrement efficaces pour réduire la turbidité et éliminer les métaux lourds.
- **Fourrage pour le bétail** : Résistantes à la sécheresse, les cladodes et les fruits d'*Opuntia* sont riches en nutriments, ce qui en fait un excellent fourrage pour les animaux tels que les chèvres, les moutons et les vaches. Ils améliorent la digestion et la production de lait, et peuvent être combinés à d'autres matières comme la bagasse de canne à sucre pour des résultats optimaux.
- **Production de carburant** : *Opuntia* peut être utilisée pour produire du biométhane (biogaz), de l'énergie électrique et thermique via la digestion anaérobie. Le digestat obtenu peut servir de bio-engrais.
- **Applications pharmacologiques** : *Opuntia* contient des composés bioactifs tels que les bêtaïnes aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et hypoglycémiantes. Elle est également étudiée pour ses effets antidiabétiques et anticancéreux.

- **Applications cosmétiques** : Les extraits de cladodes sont utilisés dans des formulations cosmétiques pour leurs propriétés hydratantes et apaisantes, ainsi que pour leur capacité à améliorer l'apparence et la santé de la peau.
- **Matériaux de construction** : *Opuntia* est utilisée pour fabriquer des matériaux de construction durables et écologiques. Ses fibres et mucilages améliorent la durabilité, la résistance mécanique et l'isolation thermique des matériaux tels que le béton et les biocomposites.
- **Autres usages** : Les cladodes et autres parties de la plante sont utilisées pour la fabrication d'adhésifs naturels, la création de panneaux muraux, et comme additifs dans des produits alimentaires pour leurs capacités antioxydantes.

Partie pratique

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie (Bloc 9), Département de Microbiologie, FSNV, université A. Mira-Béjaia, durant la période allant du 14 Avril au 08 Juin 2024.

I.1. Matériel biologique

I.1.1 Souches microbiennes

Quatre souches microbiennes appartenant à la collection du laboratoire de Recherche de Microbiologie Appliquée(LMA), conservées à 4°C, ont été utilisées lors de cette étude: *Lactiplantibacillus plantarum*F2, *Kluyveromyces marxianus*GBC2, *Escherichia coli*PIU5 et *Staphylococcus aureus* KB06 (tableau II).

Tableau II. Souches microbiennes utilisées et conditions de culture

	Souche	Origine	Milieu de culture	Incubation
Souches probiotiques	<i>L. plantarum</i> F2	Figues fraîches	Bouillon MRS	37°C/18 h
			Gélose MRS	37°C/48 h
	<i>K. marxianus</i> GBC2	Grenades	Bouillon BHI	37°C/18 h
			Gélose de Sabouraud	37°C/48 h
Souches pathogènes	<i>E. coli</i> PIU5	Infection urinaire	Bouillon et gélose nutritifs	37°C/24 h
	<i>S. aureus</i> KB06	Selles de lapins infectés		

I.1.2. Poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica*

Les cladodes ont été collectées le 15 Septembre 2023 au niveau de l'Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie (INRA), station d'Oued-Ghir (W. Bejaia) et la poudre nous a été fournie pour étude par Dr Mahdeb Amokrane (Chercheur à l'INRA) en mois de Mars 2024. Il s'agit de la poudre de deux types de cladodes : Des cladodes âgées de 3 à 6 mois (P1) et des cladodes âgées de >1 an (P2). Les cladodes étaient dans des bocaux hermétiques, conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité. Une fois au laboratoire, la poudre est tamisée avec un tamis de 250 µm de maille.

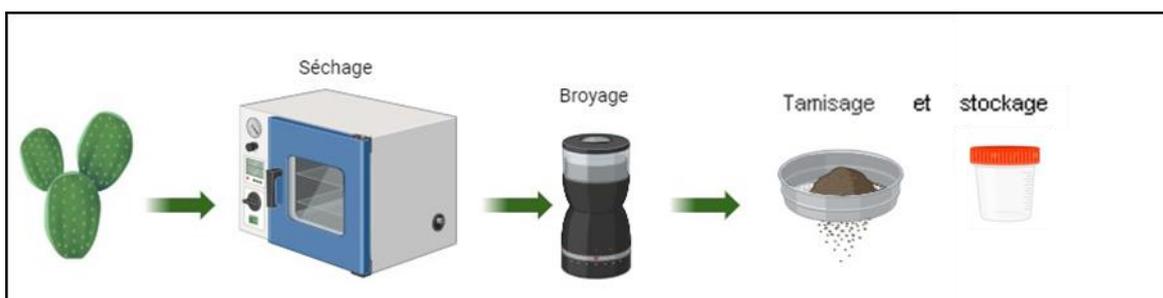


Figure 02 : Schéma Illustratif de la Méthode de Transformation des Cladodes d'*Opuntia ficus-indica* en Poudre

I.2. Revivification des souches

La revivification des souches est effectuée par la réalisation de repiquages successifs dans des tubes de 9mL de bouillon MRS (de Man, Rogosa et Sharpe; TM MEDIA, Delhi, Inde) pour *L. plantarum*, BHI (Brain Heart Infusion ; BIOCHEM Chemopharma, Cosne-Cours-sur-Loire, France) pour *K. marxianus* et de BN (bouillon nutritif ; TM MEDIA, Delhi, Inde) pour *S.aureus* et *E.coli* avec une incubation à 37°C/ 24 h.

I.3. Préparation des milieux de culture d'études

Après la préparation des deux bouillons MRS et BHI, de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* (P1 ou P2) est ajoutée à différentes concentrations dans chaque milieu. Le mélange obtenu est par la suite stérilisé suivant une des méthodes indiquées dans le tableau III suivant.

Tableau III. Préparation des milieux de culture d'études

Méthode de préparation	% de poudre ajoutée	Méthode de stérilisation
Addition directe de la poudre dans le bouillon de culture	0,1 ; 0,5 et 10% (P1)	Autoclavage à 115°C/15 min
Addition directe de la poudre dans le bouillon de culture+ macération à 60°C/1h+ Centrifugation 4000 g/20 min	1,0 et 5,0 % (P1 ou P2)	Autoclavage à 115°C/15 min
		Double filtration (filtres à seringues, 0,45 µm)

I.4. Préparation des cultures fraîches

Un isolement est réalisé sur la gélose appropriée suivi d'une incubation à 37°C/24 h-48 h (tableau II). Par la suite, 1 colonie bien isolée de chaque souche estensemencée dans 9 mL dubouillon adapté, puis incubée à 37°C/18-24h (tableau II).

I.5. Etude de l'effet prébiotique de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica*

Un dénombrement est réalisé selon la méthode décrite par Carr et al. (2002). A partir de cultures fraîches (18 h) de *L. plantarum* et *K. marxianus* dans les différents milieux d'études (tableau III), une série de dilutions décimales est réalisée dans de l'eau physiologique, suivie d'un ensemencement en masse de 1mL des dilutions 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ et 10⁻⁹ dans les géloses MRS et Sabouraud respectivement, à raison de deux boites par dilution. Les boites sont incubées à 37°C/48h. Un comptage des colonies est effectué après croissance bactérienne et le nombre de

cellules est calculé suivant la formule (Guiraud, 2003) :

$$N = \frac{\Sigma C}{v(n_1 + 0,1n_2 + \dots)d}$$

Où :

ΣC : Somme des colonies comptées sur les boîtes retenues

V : Volume prélevé de la dilution.

n1 : Nombre des boîtes de la première dilution retenue

n2 : Nombre des boîtes de la deuxième dilution retenue

d : Facteur de la première dilution retenue

Des cultures dans les bouillons MRS et BHI, respectivement, sans addition de poudre sont incluses comme cultures témoins. Le test est répété au moins trois fois.

I.6. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur l'activité antibactérienne

Pour tester l'effet des poudres végétales (P1 et P2), à différentes concentrations, sur l'activité antibactérienne des deux souches probiotiques, *L. plantarum* et *K. marxianus* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli* plusieurs tests sont réalisés. Des cultures dans les bouillons MRS et BHI, respectivement, sans addition de poudre sont incluses comme cultures témoins dans chaque test.

I.6.1. Test des spots

Pour tester l'effet des poudres végétales, à différentes concentrations sur l'activité antibactérienne des deux souches probiotiques, *L. plantarum* et *K. marxianus* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, le test des spots est réalisé selon la méthode décrite par Tremonte et al. (2007).

Les souches sont cultivées dans les milieux de culture d'études (tableau III), suivie d'une incubation à 37°C/ 18 h. Un volume de 5µL des cultures fraîches est déposé en spots à la surface des géloses MRS pour *L. plantarum* et Sabouraud pour *K. marxianus*, préalablement coulées en boîtes de Petri et solidifiées. Les boîtes sont laissées séchées près du bec bunsen pendant 30 min puis incubées à 37°C pendant 48h pour *L. plantarum*, et 24h pour *K. marxianus*. Ensuite, les spots sont recouverts d'une couche de 9 mL d'une gélose Mueller-Hinton (MH ; Guipry-Messac, France) en surfusion, ensemencée avec 1 mL (10⁷ UFC/mL) d'une culture fraîche de la souche cible *S. aureus* ou *E. coli*. Après solidification du milieu, les boîtes de Petri sont incubées à 37°C/24h. L'apparition de zones claires autour des spots indique la présence d'une activité inhibitrice à l'égard des souches pathogènes. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec une règle et exprimés en cm. Le test est répété au moins trois fois.

I.6.2. Test des puits

La méthode décrite par **Mami et al. (2010)** permet de mettre en contact le surnageant de culture de la souche test, éventuellement productrice de substances antimicrobiennes, avec la souche cible et mesurer le diamètre des zones d'inhibition. Pour cela, les souches sont cultivées dans les milieux de culture d'études (tableau III), suivie d'une incubation à 37°C/18 h. Après incubation, la culture fraîche est double centrifugée à 8000 g/20 min à 4°C (Centurion Scientific, K3 Series. UK). Les surnageants récupérés sont filtrés à travers des filtres à seringues de 0,45 µm (Biomed). Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans la gélose MH, préalablementensemencée, en masse, avec 1 mL de la culture fraîche (107 UFC/mL) de la souche cible (*S. aureus* ou *E. coli*). Ensuite, les puits sont remplis avec 100 µL du surnageant de culture de la souche à tester (*L. plantarum* et *K. marxianus*). Les boîtes sont entreposées au réfrigérateur à 4°C/ 1 h, pour permettre la diffusion des substances éventuellement présentes dans les surnageants de culture. Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C/24 h.

I.6.3. Test des spots- contact

Pour tester l'effet des poudres végétales, à différentes concentrations, sur l'activité antibactérienne de *K. marxianus* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, le test des spots- contact est réalisé selon la méthode décrite par **Ceugniezet al. (2017)**.

La souche de levure est cultivée dans les milieux de culture d'études (tableau III), suivie d'une incubation à 37°C/ 18 h. Un volume de 10 µL des cultures fraîches est déposé en spots à la surface de la gélose MH, préalablementensemencée en masse ou en surface avec la souche cible. Les boîtes sont laissées séchées près du bec bunsen pendant 30 min puis incubées à 37°C/24 h. L'apparition de zones claires autour des spots indique la présence d'une activité inhibitrice à l'égard des souches pathogènes. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec une règle et exprimés en cm. Le test est répété au moins trois fois.

I.6.4. Test des cylindres d'agar

Pour tester l'activité antibactérienne de *K. marxianus* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, la méthode utilisée par **Balouiriet al (2016)** est suivie avec quelques modifications. La souche fongique est cultivée dans les milieux de culture d'études (tableau III), suivie d'une incubation à 37°C/18h. Après incubation, les cultures fraîches sontensemencées, en masse, dans la gélose Sabouraud, puis incubées à 37°C/24 h. A l'aide d'une spatule stérile, un rectangle de gélose est découpé, puis déposé sur la surface de la gélose MH, préalablementensemencée en masse (1 mL) ou en surface (écouvillonnage) avec la souche cible. Les boîtes de Petri sont entreposées au réfrigérateur (4°C/1 h), pour permettre la diffusion

des substances antimicrobiennes, puis incubées à 37°C/24 h. Le test est répété au moins 3 fois.

I.7. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur l'adhésion microbienne

La capacité d'adhésion et par conséquent de formation de biofilms est testée sur microplaques en polystyrène suivant la méthode d'Ait Ouali et al. (2014), avec quelques modifications. Pour cela, les puits de la microplaque, déjà remplis avec 100µL de bouillon TSB (Trypticase Soja Broth ; TM MEDIA, Delhi, Inde) stérile, sontensemencés avec 100µL d'une suspension bactérienne de *L. plantarum* ou de *K. marxianus* cultivées dans les différents milieux de culture d'études (tableau III).L'adhésion de *S. aureus* et *E. coli* est aussi testée en utilisant des cultures fraîches de 18h dans le bouillon nutritif. Les puits contenant 200µL de TSB sont utilisés comme témoins. La microplaque est incubée à 37°C/24h. Après incubation, le contenu des puits est aspiré délicatement puis les puits sont rincés, deux fois, avec 200µL d'eau physiologique. Les cellules adhérentes sont fixées avec 200µL d'éthanol absolu (Sigma-Aldrich, Allemagne) pendant 20 min. L'éthanol est aspiré, les cellules fixées sont colorées avec 200µL d'une solution de Crystal violet (BiochemChemopharma, Québec, Canada) à 0,1% (m/v) pendant 20 min, suivi de deux lavages successifs avec 200µL d'eau physiologique. Le colorant fixé est solubilisé en ajoutant 200µL d'éthanol à 96% (Sigma-Aldrich, Allemagne). La quantité de biomasse a été quantifiée en mesurant l'absorbance (A) à 630 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (ELX800. BioTek, USA). Ces souches ont été classées en quatre catégories suivant la classification de Stepanović et al. (2000). En considérant l'absorbance du bouillon TSB stérile comme témoin (Ac), les interprétations suivantes ont servi tout au long de cette expérience : $A \leq Ac$, non adhérent (non producteur de biofilm) ; $2Ac \geq A > Ac$, faiblement adhérent (faible producteur de biofilm) ; $4Ac \geq A > 2Ac$, modérément adhérent (producteur de biofilm modéré) ; et fortement adhérent (fort producteur de biofilm), $A > 4Ac$.

Des cultures dans les bouillons MRS et BHI, respectivement, sans addition de poudre sont incluses comme cultures témoins. Le test est répété au moins trois fois.

I.8. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur le potentiel antiadhésif des souches probiotiques

L'inhibition de l'adhésion des souches pathogènes par le surnageant de culture des deux souches probiotiques est évaluée comme décrit ci-dessous. Tout d'abord, 100 µL de la culture de la souche cible (10^6 UFC/ml) sont déposés dans les puits des microplaques stériles de 96-puits, puis 100 µL du surnageant de culture, préparé comme décrit précédemment (paragraphe

I.6.2), sont ajoutés. Les puits de la microplaque sont bien mélangés avant que les microplaques ne soient incubées 37°C/24 h (**Ait Ouali et al., 2014**). Chaque test est effectué trois fois et du bouillon TSB stérile est inclus comme témoin négatif.

Des cultures dans les bouillons MRS et BHI, respectivement, sans addition de poudre sont incluses comme cultures témoins. .

Résultats et discussion

Avant d'entamer le travail avec les deux souches probiotiques, des observations macroscopique et microscopique ont été réalisées pour vérifier la pureté des souches probiotiques.

II.1. Aspect macroscopique et microscopique des souches probiotiques

II.1.1. Aspect macroscopique

La souche de *L. plantarum* a donné sur gélose MRS, des colonies rondes, légèrement convexes, de tailles différentes, suivant la position de la colonie dans les stries, à bords réguliers, lisses et de couleur blanc à crème (**Figure 03**). Cet aspect est caractéristique des bactéries lactiques sur MRS suivant **Yu et al. (2023)**.



Figure 03 : Aspect macroscopique de la souche de *L. plantarum* F8 sur gélose MRS après 48h d'incubation à 37°C.

Après 48 h d'incubation à 37°C sur gélose Sabouraud, les colonies de *K. marxianus* (**Figure 04**) apparaissent de couleur blanche à crème, rondes et convexes, avec une texture crémeuse à l'aspect humide. Leur diamètre était de quelques centimètres avec bords réguliers et une texture visqueuse. Selon **Vardjan et al. (2013)**, les colonies de *K. marxianus* peuvent avoir un diamètre allant de quelques millimètres à plusieurs centimètres, parfois présenter des bords réguliers ou légèrement irréguliers et une texture souvent visqueuse ou mucilagineuse.



Figure 04 : Aspect macroscopique de la souche de *K. marxianus* sur gélose Sabouraud après 48 h d'incubation à 37°C.

II.1.2 Aspect microscopique

Une coloration de Gram suivie d'une observation microscopique de la souche de *L. plantarum*, sous grossissement X100, a permis d'observer des cellules en forme de bâtonnets droits, isolés, en paires ou en chaînes courtes, de couleur violette (**Figure 05**).

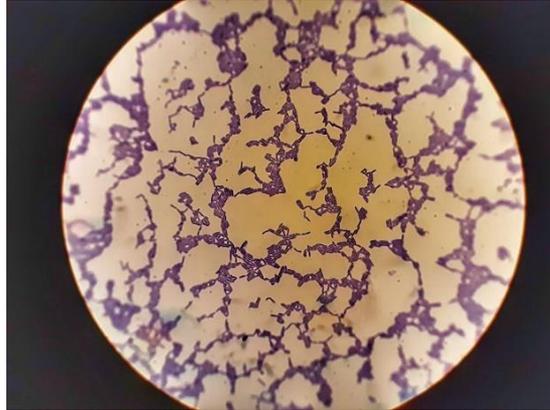


Figure 05 : Aspect microscopique de la souche *L. plantarum* après coloration de GRAM. ,
Grossissement X100

De même l'observation microscopique de la souche de *K. marxianus* au grossissement X100 après coloration au bleu de méthylène, a fait apparaître des cellules ovoïdes ou elliptiques (comme une feuille d'arbre), avec une plus grande taille que les bactéries typiques. Les cellules se sont présentées individuellement, en paires, et en petites grappes (**Figure 06**).



Figure 06 : Aspect microscopique de la souche de *K. marxianus* après une coloration simple
au Bleu de méthylène. Grossissement X100

II.2. Etude de l'effet prébiotique de la poudre d'*Opuntia ficus indica*

II.2.1. Effet sur la souche de *Lactiplantibacillus plantarum*

Après 48 h d'incubation à 37°C, les résultats du test de croissance de *L. plantarum* dans le bouillon MRS, sans ou avec addition de la poudre d'*Opuntia ficus indica* à différentes concentrations de P1 et P2, avec et sans macération (**Tableau III**) sont présentés sur la **figure 07**. Les résultats ont montré que la souche probiotique *L. plantarum* a une croissance presque similaire en présence de la poudre P1 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* par rapport à sa croissance dans le milieu MRS témoin (milieu sans poudre). Par contre, les résultats obtenus après macération de cette poudre sont plus significative. En effet, dans le milieu préparé par

macération de la poudre P1, la croissance de la souche probiotique de *L. plantarum* a été stimulée ($P < 0.05$), avec une augmentation des taux de croissance allant de 3,97% à la concentration de 1% dans le milieu autoclavé (SMA) jusqu'à 22,12% en présence de 5% de P1 dans le milieu filtré (SMF). Ces résultats suggèrent que la macération de la poudre P1 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* pourrait être un moyen efficace de stimuler la croissance de cette souche probiotique, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour son utilisation dans les formulations alimentaires ou les compléments nutritionnels.

En revanche, les résultats de la détermination du taux de croissance de cette souche lactique dans le milieu MRS préparé par macération de la poudre 2 (P2), ont montré une diminution de la croissance allant de 1,03 % (SMA à 1 %) jusqu'à 5,27 % (SMA à 5 %), en passant par une réduction de 4,47 % dans SMF à 1%. Par contre, dans SMF à 5 %, une augmentation de 3,73 % a été enregistrée. Ces résultats indiquent que la poudre 2 avec macération peut avoir un effet négatif sur la croissance de la souche probiotique *L. plantarum*, mais ceci dépend de la concentration utilisée et le mode de stérilisation du milieu.

II.2.2. Effet sur la souche de *Kluyveromyces marxianus*

Les résultats du test de croissance de *Kluyveromyces marxianus*, à différentes concentrations de P1 et P2 d'*Opuntia ficus-indica* (**Tableau III**) sont présentés sur la **Figure 08**. Les résultats obtenus ont montré que cette levure présente une augmentation de sa croissance lors de l'ajout de la poudre 1 sans macération, comparativement au milieu témoin (milieu sans poudre). Cette augmentation variait de 3,59 % pour une concentration de 0,1 % de poudre à 6,99 % pour une concentration de 10 %. Ces résultats suggèrent que la poudre 1, même sans traitement préalable, possède des composants qui stimulent la croissance de *K. marxianus*.

En ce qui concerne les résultats obtenus avec la poudre 1, avec macération, ils sont globalement plus performants et stables. Les augmentations de croissance variaient de 6,37 % et 5,96 % pour SMA et SMF à 1% respectivement, et atteignaient une augmentation de 8,36 % pour SMA et SMF à 5%. Ces données indiquent que la macération de la poudre 1 améliore la disponibilité des nutriments ou des composés bioactifs, facilitant ainsi une meilleure croissance. Des études et des expériences supplémentaires pourraient explorer les effets des différents temps et méthodes de macération sur la libération de ces composés.

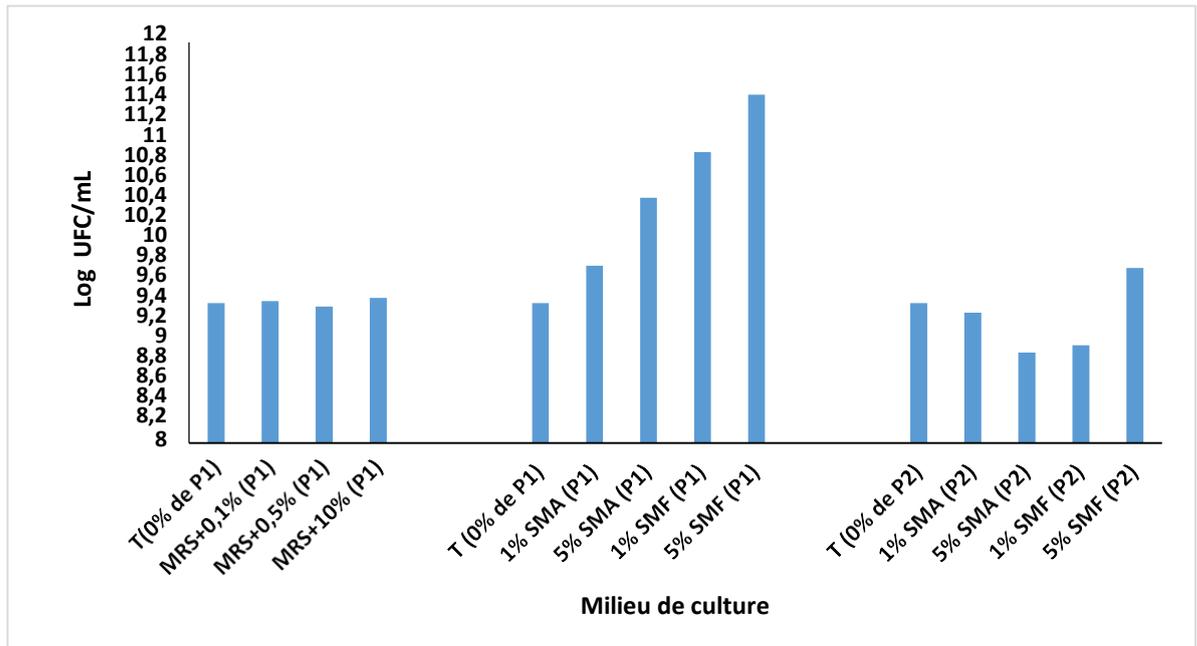


Figure 07. Croissance de *L. plantarum* dans le bouillon MRS en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica*. T : Milieu MRS témoin sans addition de poudre ; SMA : Surnageant du milieu MRS additionné de poudre et autoclavé; SMF : Surnageant du milieu MRS additionné de poudre et filtré.

Concernant la croissance de la souche dans le milieu préparé par macération de la poudre 2, une légère diminution non significative du taux de croissance de *K. marxianus* (0,39 %) a été enregistrée dans SMA à 5%, ce qui pourrait être dû à des interactions spécifiques entre les composants de la poudre du milieu SMA et la levure. Cependant, une augmentation significative ($P < 0,05$) de la croissance (21,21 %) a été observée dans SMF à 5%, ce qui démontre l'effet stimulant de la poudre d'*Opuntia ficus indica* sur la croissance de la souche probiotique de *K. marxianus*. De plus, des augmentations de l'ordre de 5,82% et 4,72% ont été observées dans SMA et SMF à 1% respectivement, montrant que la poudre 2 a un potentiel stimulant, mais variable selon les conditions de culture.

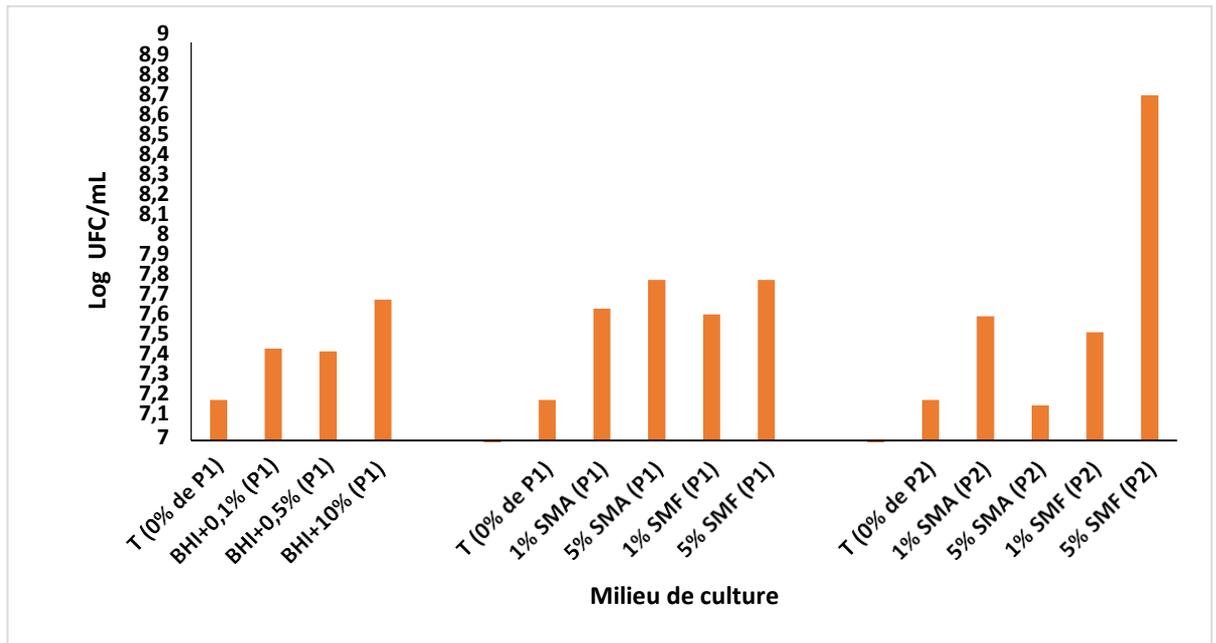


Figure 08 : Croissance de *Kluyveromyces marxianus* en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica*. T : Milieu MRS témoin sans addition de poudre ; SMA : Surnageant du milieu MRS additionné de poudre et autoclavé ; SMF : Surnageant du milieu MRS additionné de poudre et filtré.

Globalement, ces résultats démontrent que les effets des poudres 1 et 2 sur la croissance de *K. marxianus* dépendent de la concentration, du traitement préalable (macération), ainsi que de la méthode de stérilisation employée (autoclavée ou filtrée). Les divergences observées entre les milieux SMA et SMF suggèrent que les composants des poudres ont des interactions spécifiques avec les composants du milieu de culture (BHI) ou encore avec les souches. Un examen plus approfondi de la composition chimique des poudres et des mécanismes d'interaction avec *K. marxianus* serait nécessaire pour bien comprendre et appliquer ces résultats.

II.3. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur l'activité antibactérienne

II.3.1. Test des spots

Pour évaluer l'activité inhibitrice de *L. plantarum* et de *K. marxianus* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, un test des spots a été réalisé. Les résultats obtenus ont montré que la souche de *L. plantarum* cultivée dans le bouillon MRS en présence de la poudre 1 ou 2 présentait une activité antimicrobienne (**Figure 09**) vis-à-vis des deux souches cibles de *S. aureus* et *E. coli*.

En particulier, une inhibition totale d'*E. coli* (10^7 UFC/mL) a été observée avec toutes les concertations de poudres 1 et 2, avec et sans macération. Ces résultats démontrent l'efficacité des poudre 1 et 2 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* dans l'inhibition d'*E. coli* suggérant que ces poudres contiennent des composants bioactifs puissants.

Concernant l'activité de *L. plantarum* vis-à-vis de *S. aureus*, une zone d'inhibition de 3.65 cm de diamètre a été enregistrée quand la souche probiotique fut cultivée dans le milieu témoin (MRS sans poudre) (**Figure 10**), ce qui prouve que la souche de *L. plantarum* possède une activité antimicrobienne contre cet agent pathogène. Lors de sa culture dans le milieu MRS, additionné de la poudre 1 et stérilisé par autoclavage, une augmentation de la zone d'inhibition a été observée au fur et à mesure que la concentration de la poudre 1 augmentait. Cette augmentation est passée de 1.37% dans le cas du bouillon MRS à 0,1% de P1 à 68,49% dans le cas du bouillon MRS à 10 % avec une augmentation intermédiaire de 41 % dans le bouillon MRS+ 0,5% de P1. Ces résultats montrent que la poudre 1 renforce l'activité antimicrobienne de *L. plantarum* contre *S. aureus*

Pour la souche de *L. plantarum*, cultivées dans le bouillon MRS avec P1, après macération, les résultats étaient une augmentation des diamètres des zones d'inhibitions de 53,42% et 56,16% dans les milieux à 1% et 5% respectivement, stérilisé par autoclavage (SMA). De même pour les milieux SMF (milieu centrifugé et filtré) à 1% et 5%, des augmentations de 54,79% et 58,9% respectivement ont été enregistrées. Ces observations suggèrent que la macération améliore l'extraction des composants bioactifs de la poudre 1 augmentant ainsi l'efficacité antimicrobienne de *L. plantarum*.

De même, pour les milieux avec la poudre 2 ayant subi une macération, des augmentations de 19,18% et 6,85% ont été observées dans SMA et SMF à 1% de P2. Toutefois, des diminutions de 8,22 % et 21,92 % des diamètres des zones d'inhibitions ont été notées dans SMA et SMF à 5 % de P2, comparé au diamètre de la zone témoin. Ces résultats indiquent que la poudre 2 a une efficacité antimicrobienne variable qui dépend de la concentration et des conditions de préparation du milieu.

Enfin, concernant *K. marxianus* les résultats du test des spots étaient négatifs contre *E. coli* et *S. aureus*, suggérant ainsi que cette levure n'a pas d'activité antimicrobienne notable contre ces agents pathogènes dans les conditions testées. Cette absence d'activité pourrait signifier que les souches cibles utilisées possèdent une résistance contre cette souche

probiotique.

En conclusion, ces résultats mettent en évidence l'efficacité des poudres 1 et 2 dans l'amélioration de l'activité antimicrobienne de *L. plantarum*, particulièrement après macération et à des concentrations optimales. Les variations observées avec la poudre 2 nécessitent des investigations supplémentaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents.

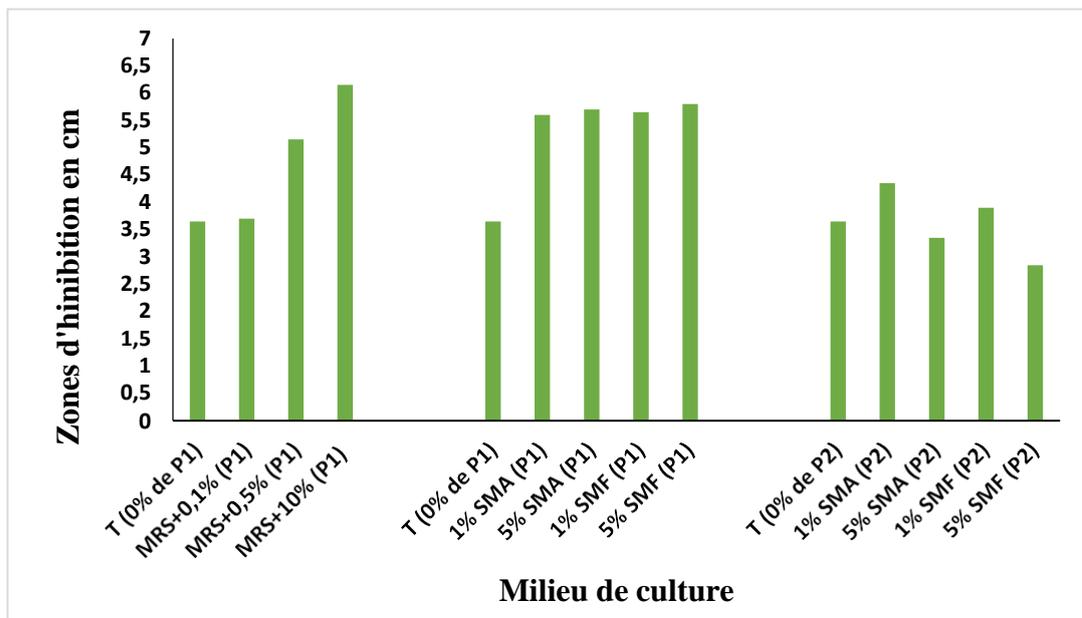


Figure 09: Activité antibactérienne de *L. plantarum* (test des spots) contre *S. aureus* en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* en cm.



Figure 10 : Activité antibactérienne de *L. plantarum*, cultivée dans le milieu témoin (MRS sans poudre) obtenu avec le test des spots, contre *S. aureus*.

II.3.2. Test des puits

Aucune des deux souches probiotiques n'a présenté d'effet antibactérien vis-à-vis de *S.*

aureus ou *E. coli*, aucune zone d'inhibitions n'as été observée dans toutes les conditions de l'essai (**Figure 11**)



Figure 11. Exemple d'un résultat négatif du test des puits

II.3.3. Test des spots- contact

Vu les résultats négatifs obtenus avec le test des spots avec *K. marxianus*, le test des spots-contact décrit par **Ceugniesz et al. (2017)** a été effectué pour les confirmer. Aucune zone d'inhibition n'a été notée à l'égard de *S. aureus* ou *E. coli*.

II.3.4. Test des cylindres d'agar

Pour vérifier une dernière fois si la souche de *K. marxianus* n'as réellement pas d'effet antimicrobien vis-à-vis de *S. aureus* ou *E. coli*, un dernier test d'activité antimicrobienne, test des cylindres d'agar (**Bramki, 2019**) a été effectué. Les résultats enregistrés prouvent qu'en effet, *K. marxianus* ne possède pas d'effet contre les souches cibles testées (**Figure 12**).

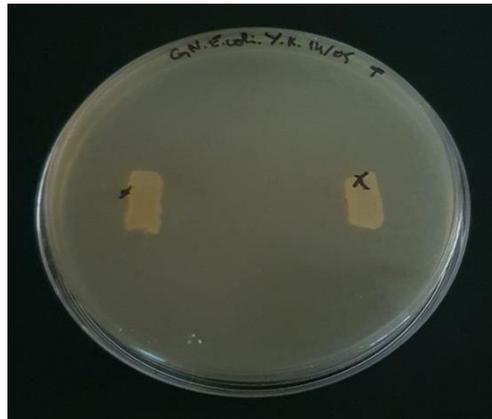


Figure 12 : Exemple de résultat négatif du test des cylindres d'agar réalisé avec *K. marxianus* contre *S. aureus*.

II.4. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur l'adhésion des deux souches probiotiques

L'effet des poudres des cladodes d'*Opuntia ficus indica* P1 et P2 sur le potentiel

d'adhésion des souches probiotiques *L. plantarum* et *K. marxianus* a été testé par la méthode semi quantitative d'adhésion en microplaques en polystyrène (Ait Ouali et al., 2014). Les résultats de l'adhésion sont classés en quatre catégories suivant la classification de Stepanović et al. (2000). En considérant l'absorbance du bouillon TSB stérile comme témoin (Ac), les interprétations suivantes ont servi tout au long de cette expérience : $A \leq Ac$, non adhérent (non producteur de biofilm) ; $2Ac \geq A > Ac$, faiblement adhérent (faible producteur de biofilm) ; $4Ac \geq A > 2Ac$, modérément adhérent (producteur de biofilm modéré) ; et fortement adhérent (fort producteur de biofilm), $A > 4Ac$.

Tableau IV. Adhésion de la souche de *Lactiplantibacillus plantarum* sur microplaque en polystyrène en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*

Milieu testé	Pas d'adhésion	Faible adhésion	Adhésion modérée	Fortement adhésion
Sans poudre	-	MRS+ 0% P	-	-
Sans macération	-	-	MRS+0,1 P1 MRS+ 0,5 P1	MRS+10% P1
Avec macération et filtration	-	-	SCF+5% P1 SCF+1% P2 SCF+5% P2	SCF+1% P1
Avec macération et autoclavage	-	-	SCA+1% P1 SCA+5% P1 SCA+1% P2 SCA+5% P2	-

Les résultats obtenus (**Tableaux IV et V**) ont montré que les 2 poudres de cladodes de figue de barbarie améliorent significativement l'adhésion des deux souches *L. plantarum* et *K. marxianus* et ce de fait leur capacités de former un biofilm.

Tableau V. Adhésion de la souche de *K. marxianus* sur microplaque en polystyrène en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*

Milieu testé	Pas d'adhésion	Faible adhésion	Adhésion modérée	Fortement adhésion
Sans poudre	-	BHI+0% P		-
Sans macération	-	-	BHI+0,1% P1 BHI+ 0,5 %P1	BHI+10% P1
Avec macération et filtration	-	-	-	SMF+1% P1 SMF+5% P1 SMF+1% P2 SMF+5% P2
Avec macération et autoclavage	-	-	SMA+1% P1 SMA+5% P1 SMA+5% P2	SMA+1% P2

Cependant, la souche *L. plantarum* a montré un passage d'une adhésion faible (MRS+0% P) à modérée avec les 2 poudres et à une forte adhésion en utilisant les milieux : MRS+10% P1 et MRS enrichie par P1 et filtré (1 et 5 %) (**Figure 13**).

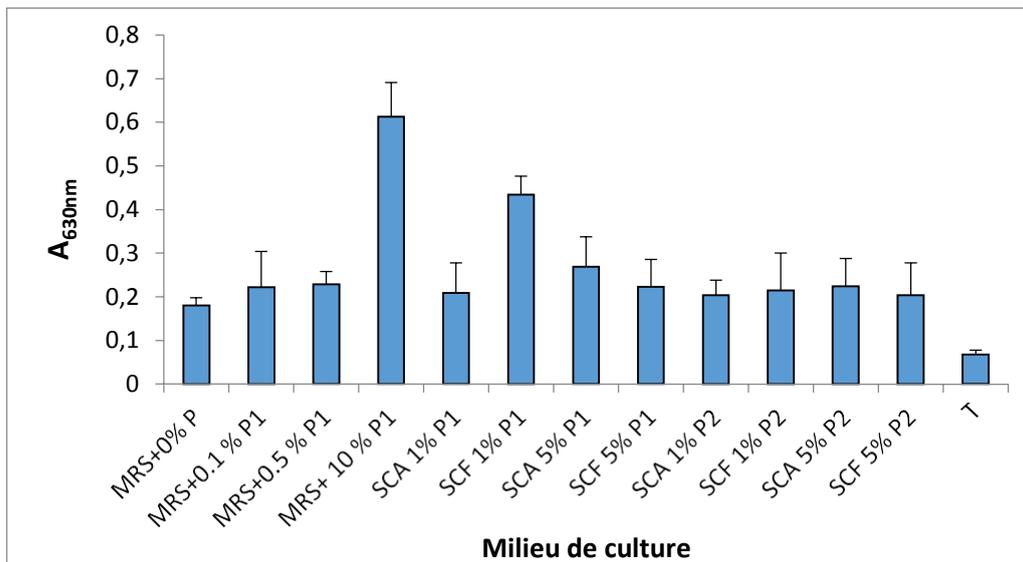


Figure 13: Adhésions de *L. plantarum* sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

En revanche, une meilleure adhésion de *K. marxianus* cultivées en présence des 2 poudres a été notée. En effet, les résultats ont montré un passage d'une adhésion faible (BHI+ 0% P) à modérée avec les 2 poudres, sans macération et avec BHI enrichi et autoclavé, à l'exception du milieu BHI+10% P1 et BHI enrichi en P2 et autoclavé ainsi que pour les milieux enrichis et filtrés (**figure 14**).

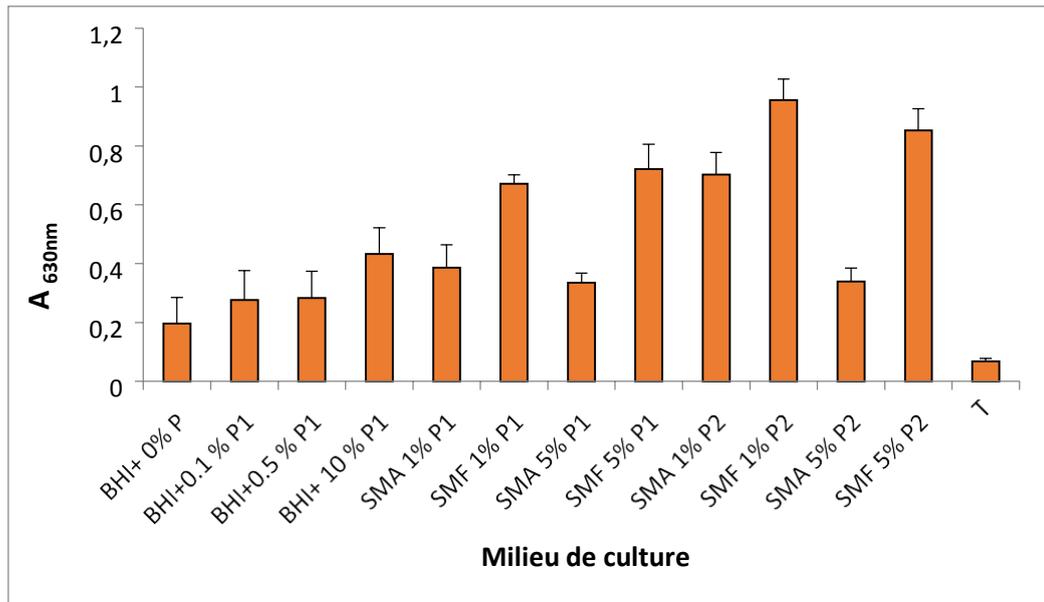


Figure 14: Adhésions de *K. marxianus* sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

Les résultats du test d'adhésion des deux souches cultivées dans les bouillons MRS ou BHI respectivement enrichis en poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* ont montré une amélioration très remarquable par rapport à l'adhésion des deux souches en absence de la poudre et surtout *K. marxianus*. Cependant, l'effet dépend de la concentration de la poudre, du traitement préalable (macération), ainsi que de la méthode de stérilisation employée (autoclavée ou filtrée).

Cette propriété d'adhésion favorise la colonisation et augmente la persistance dans la muqueuse de l'hôte, en évitant la colonisation par des bactéries pathogènes (Ammor et Mayo, 2007).

II.5. Effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur l'effet antiadhésif des deux souches probiotiques

Après mesure de l'absorbance, les résultats de l'adhésion d'*E. coli* et *S. aureus* et de

l'effet antiadhésif de *L. plantarum* et *K. marxianus* aux différentes concentrations de P1 et P2 avec et sans macération (Tableau III) à l'égard de ces deux souches pathogènes sont présentés sur les figures 15(a,b) et 16 (a,b).

II.5.1. Effet de *L. plantarum*

Les résultats obtenus (figures 15 et 16) ont montré que la souche probiotique *L. plantarum* a un effet antiadhésif faible (16,04 %) à l'égard d'*E. coli* en absence de la poudre d'*Opuntia ficus indica* (P1 et P2). En présence de P1, sans macération, une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition en augmentant la concentration de la poudre dans le milieu, de 23,52 % avec 0,1% de P1 jusqu'à 42,24% avec 10% de P1. Par contre, les surnageants de culture avec macération utilisés pour tester P1 et P2 ont révélé des résultats plus intéressants, une très grande augmentation de l'effet inhibiteur d'adhésion est enregistrée qui varie entre 77,54% et 89,30% avec le SMA+1% P2. Bien qu'une inhibition d'adhésion de 39,57% à SMA+1% P1 et SMF+5% P2 a été remarqué.

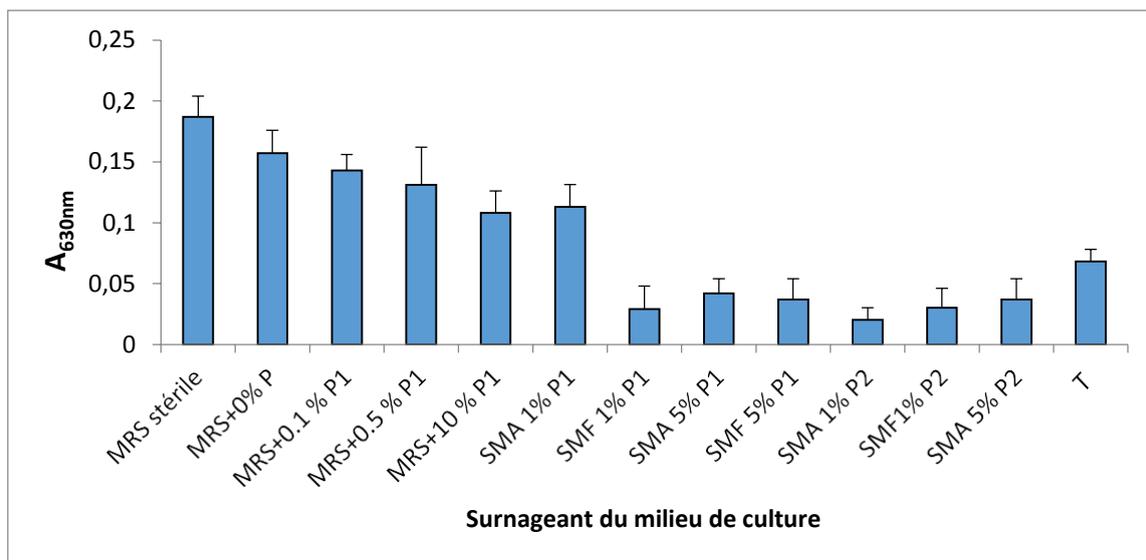


Figure 15 (a) : Effet antiadhésif de la souche de *L. plantarum* sur la souche d'*E. coli* sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

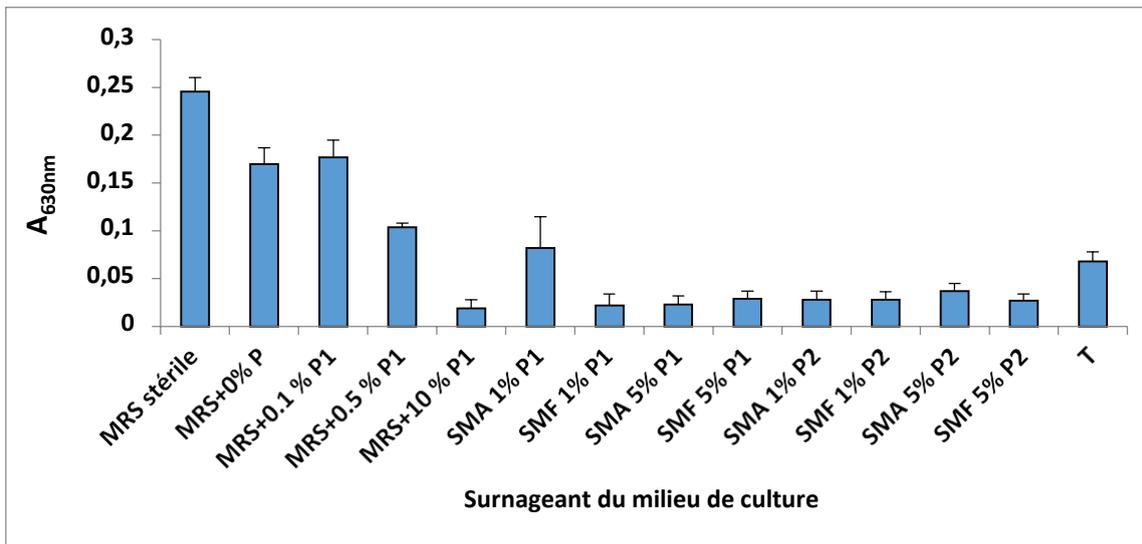


Figure 15 (b) : Effet antiadhésif de la souche de *L. plantarum* sur la souche de *S. aureus* sur microplaques en polystyrène après culture en présence différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d'*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

En revanche, les résultats de l'effet inhibiteur de cette souche lactique à l'égard de *S. aureus* en absence de la poudre a été de 30,89 %. En présence de la poudre 1 et sans macération, une diminution du pourcentage d'inhibition a été remarquée avec 0,1% de P1, suivie d'une augmentation en augmentant la concentration de poudre dans le milieu : 57,04% avec 0,5% de P1 jusqu'à 92,27% avec 10% de P1. De même, les surnageants des milieux de culture avec macération ont révélé des résultats très remarquables, avec une très grande augmentation de l'effet inhibiteur d'adhésion variant de 66,66% avec SMA+1% P1 à 91,05% avec SMF+1% P1.

Ces résultats indiquent que les milieux enrichis avec les différentes concentrations de P1 et P2, suite à la macération ont un effet positif sur l'effet antiadhésif de la souche probiotique *L. plantarum*.

II.5.2. Effet de *Kluyveromyces marxianus*

Les résultats de l'effet antiadhésif de *K. marxianus* à l'égard d'*E. coli* et de *S. aureus* ont montré une stimulation de l'adhésion de ces souches en présence du surnageant de culture de cette levure.

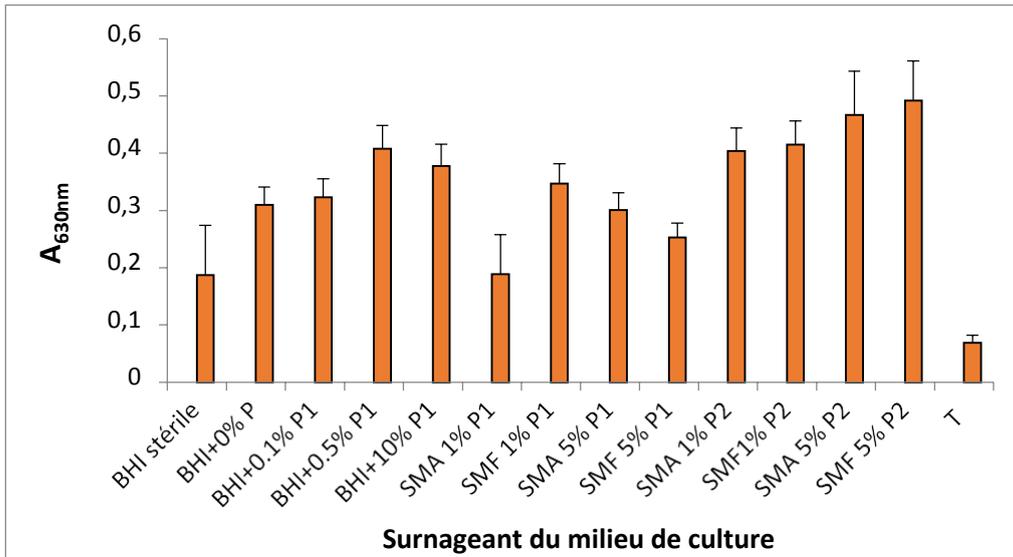


Figure 16 (a) : Effet antiadhésif de la souche de *K. marxianus* sur la souche d’*E. coli* sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d’*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

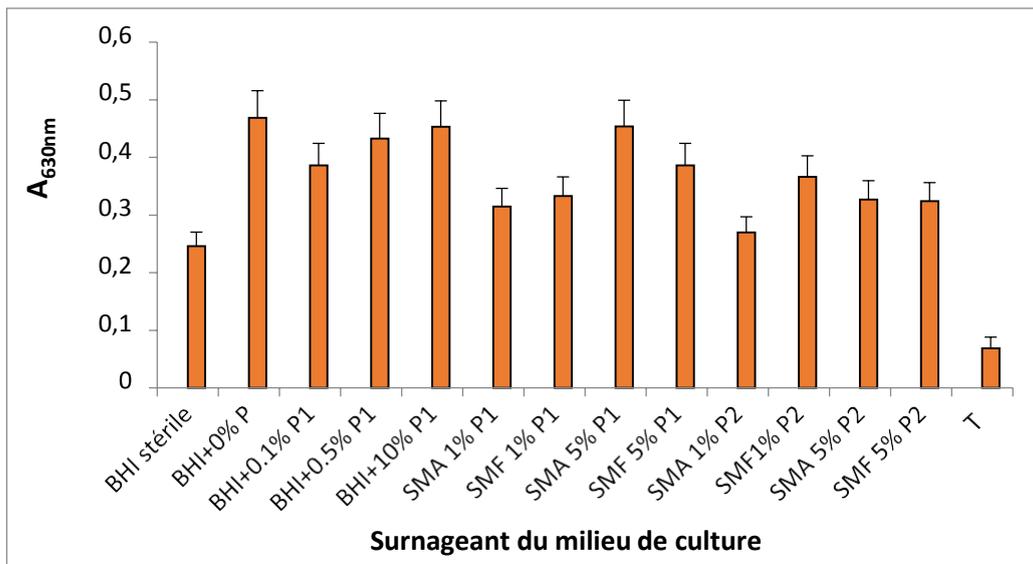


Figure 16 (b) : Effet antiadhésif de la souche de *K. marxianus* sur la souche de *S. aureus* sur microplaques en polystyrène après culture en présence de différentes concentrations de la poudre P1 ou P2 d’*Opuntia ficus indica*. SMF : Surnageant de milieu filtré, SMA : Surnageant de milieu autoclavé.

Ces résultats ont montré que la souche de *K. marxianus* n’a pas d’effet inhibiteur à l’égard d’*E. coli*, mais au contraire, elle favorise son adhésion, en particulier la poudre 2 ou une augmentation plus importante a été remarquée (figure 14a). Cela suggère que la poudre 2, possède des composants qui stimulent encore plus l’adhésion d’*E. coli*.

En ce qui concerne les résultats obtenus avec le surnageant de culture de la levure à l'égard de *S. aureus*, un effet stimulant d'adhésion a été remarqué dans toutes les cultures avec et sans poudre.

Globalement, les résultats démontrent que la souche de *K. marxianus* a la capacité de stimuler l'adhésion des souches pathogènes : *E. coli* et *S. aureus*.

Conclusion

Conclusion

Lors de cette étude la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus-indica* (P1 et P2) a été testée pour évaluer son effet sur les caractéristiques probiotiques de *Lactiplantibacillus plantarum* et *Kluyveromyces marxianus*, les résultats de cette dernière ont montré des effets importants et variables selon les souches et les traitements.

D'abord, pour *L. plantarum* sa croissance a été optimisée de manière notable de sorte que : Sans macération il y a eu 0,52% d'augmentation de sa croissance à 10% de P1, tandis qu'elle a légèrement diminué avec P2. En revanche avec macération une hausse importante a été constatée, atteignant 22,12% avec une concentration de P1 de 5% en milieu filtré (SMF), ce qui suggère que la macération libère des nutriments favorables à la croissance de *L. plantarum*.

Concernant l'activité antimicrobienne, les résultats du test des spots a démontré que *L. plantarum* cultivé avec P1 et P2 inhibe complètement *E. coli* et augmente l'inhibition de *S. aureus* jusqu'à 68,49% avec 10% de P1, que les poudres renforcent l'activité antibactérienne de cette souche. Toutefois les données résultant du test des puits ont prouvé que cette souche lactique n'a aucun effet antibactérien extracellulaire, soulignant l'importance de l'interaction milieu-poudre.

Une faible adhésion a été enregistrée chez cette souche lactique lors de sa culture dans le milieu sans poudre mais plus la concentration des poudres augmente plus l'adhésion de *L. plantarum* s'améliore jusqu'à ce qu'elle atteigne une forte adhésion avec 10% de P1. De même pour l'anti-adhésion ou une inhibition de l'adhésion des souches pathogènes testées a été trouvé proportionnelle à l'augmentation de la concentration de la poudre. Cela prouve que cette poudre favorise la colonisation et la persistance de *L. plantarum* dans l'hôte, empêchant la colonisation par des pathogènes.

Par contre pour *Kluyveromyces marxianus*, sa croissance a aussi subi une augmentation allant jusqu'à 6,99% avec la poudre 1 sans macération à 10% ainsi que dans P1 avec macération où sa croissance est devenue plus stable et performante avec une augmentation uniforme de 8,36% dans SMA et SMF à 5%.

Cependant aucune inhibition d'*E.coli* ou de *S.aureus* n'a été détectée par les tests antimicrobien, (spots, puits, spots contacte et cylindre d'agar). Confirment ainsi que cette souche possède pas d'activité antibactérienne dans ces conditions.

Conclusion

Pour l'adhésion, la présence de la poudre a favorisé la formation de biofilm de *K. marxianus*, mais elle a aussi favorisé la formation de biofilm des pathogènes testé, en particulier avec P2 qui a favorisé l'adhésion d'*E.coli*. Ce résultat a été déduit à partir de valeurs négatives du test d'anti-adhésion.

En résumé, à travers les résultats obtenus dans cette étude on peut suggérer que les poudres de cladodes d'*Opuntia ficus-indica* surtout après macération améliorent les caractéristiques probiotiques de *Lactiplantibacillus plantarum*, augmentant sa croissance, son activité antimicrobienne et son adhésion. Ces résultats suggèrent un potentiel prometteur pour l'utilisation des poudres de cladodes dans les formulations probiotiques, avec des applications possibles dans les produits alimentaires et les compléments nutritionnels. En revanche bien que *Kluyveromyces marxianus* montre une capacité accrue de croissance en présence des poudres de cladodes d'*Opuntia ficus-indica*, son interaction avec les pathogènes nécessite une évaluation plus approfondie pour optimiser son utilisation en tant que probiotique.

Notre étude ouvre la porte à des perspectives futures telle que:

- L'élargissement du spectre d'activité antibactérienne
- Une analyse statistique plus approfondie
- Exploration de l'effet de notre prébiotique sur d'autres propriétés probiotiques telles que:
 - l'activité anti-cholestérol
 - l'activité antioxydant
 - l'activité anticancéreuse
 - l'activité antidiabétique

Il serait également essentiel de confirmer les résultats *in vivo* pour valider les bénéfices observés.

*Références
Biobibliographiques*

Références bibliographiques

« A »

Aires, V., Adote, S., Hirschami, A., Moutairou, K., Boustani, E. S., & Khan, N. A. (2004). Modulation of intracellular calcium concentrations and T cell activation by prickly pear polyphenols. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 260,103-110. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000026061.57326.28>

Ait Ouali F., Al Kassaa I., Cudennec B., Abdallah M., Bendali F., Sadoun D., Chihib N-E, Drider D. (2014). Identification of *lactobacilli* with inhibitory effect on biofilm formation by pathogenic bacteria on stainless steel surfaces. *International Journal of Food Microbiology* 191:116-124. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.011>, ISSN: 0168-1605

Ammor, M. S., & Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science* 76(1), 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.022>

Andersson, H., Tullberg, C., Ahrne, S., Hamberg, K., Lazou Ahren, I., Molin, G., Sonesson, M. and Hakansson, A., 2016. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* 299v reduces cortisol levels in human saliva during examination induced stress: a randomized, double-blind controlled trial. *International Journal of Microbiology* 2016: 8469018. <https://doi.org/10.1155/2016/8469018>

Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., López-Pacheco, F., Alvarez, M. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2015). *In vivo* anti-inflammatory effects of isorhamnetin glycosides isolated from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill cladodes. *Industrial Crops and Products*, 76, 803-808. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.089>

Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., & Attia, H. (2009). Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*,30(1),40-47. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.01.003>

« B »

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *In Methods in*

enzymology (Vol. 299, pp. 15-27). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)

Buntin, N., de Vos, W. M., & Hongpattarakere, T. (2017). Variation of mucin adhesion, cell surface characteristics, and molecular mechanisms among *Lactobacillus plantarum* isolated from different habitats. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 7663-7674. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8482-3>

« C »

Carr. F. J, Chill. D & Maida. N, (2002): The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Rev. Microbiol*, 28: 281-370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>

Ceugniesz, A., Coucheney, F., Jacques, P., Daube, G., Delcenserie, V., & Drider, D. (2017). Anti-*Salmonella* activity and probiotic trends of *Kluyveromyces marxianus* S-2-05 and *Kluyveromyces lactis* S-3-05 isolated from a French cheese, Tomme d'Orchies. *Research in Microbiology* 168(6), 575-582. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.03.004>

Ceugniesz, A., Turret, M., Dussert, E., Coucheney, F., Deracinois, B., Jacques, P & Behra-Miellet, J. (2017). Interactions between *Kluyveromyces marxianus* from cheese origin and the intestinal symbiont *Bacteroides thetaiotaomicron*: Impressive antioxidative effects. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 281-290. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.056>

Cruz-Rubio, J. M., Mueller, M., Loeppert, R., Viernstein, H., & Praznik, W. (2020). The Effect of Cladode drying techniques on the prebiotic potential and molecular characteristics of the mucilage extracted from *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia joconostle*. *Scientia Pharmaceutica*, 88(4), 43. <https://doi.org/10.3390/scipharm88040043>

Cruz-Rubio, J. M., Mueller, M., Viernstein, H., Loeppert, R., & Praznik, W. (2021). Prebiotic Potential and Chemical Characterization of the Poly and Oligosaccharides Present in the Mucilage of *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia joconostle*. *Food Chemistry*, 362, 130167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130167>

« D »

Dinev, T., Beev, G., Tzanova, M., Denev, S., Dermendzhieva, D., & Stoyanova, A. (2018). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against pathogenic and food spoilage microorganisms: a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(3). <https://doi.org/10.15547/bjvm.1084>

Dok-Go, H., Lee, K. H., Kim, H. J., Lee, E. H., Lee, J., Song, Y. S., & Cho, J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin,(+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Brain research*, 965(1-2), 130-136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04150-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04150-1)

« F »

Fadda, M. E., Mossa, V., Deplano, M., Pisano, M. B., & Cosentino, S. (2017). *In vitro* screening of *Kluyveromyces* strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*, 75, 100-106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.020>

FAO/WHO (2002) Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf

Fidanza, M., Panigrahi, P., & Kollmann, T. R. (2021). *Lactiplantibacillus plantarum*–nomad and ideal probiotic. *Frontiers in Microbiology*, 12, 712236. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.712236>

Flórez, A. B., Ladero, V., Álvarez-Martín, P., Ammor, M. S., Álvarez, M. Á., & Mayo, B. (2007). Acquired macrolide resistance in the human intestinal strain *Lactobacillus rhamnosus* E41 associated with a transition mutation in 23S rRNA genes. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(4), 341-344. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.06.002>

Fonseca, G. G., Heinzle, E., Wittmann, C., & Gombert, A. K. (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 79, 339-354. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1458-6>

« G »

Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., & Taviano, M. F. (2003). Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4903-4908. <https://doi.org/10.1021/jf030123d>

Guiraud, J-P. 2003. Microbiologie alimentaire. 1e édition. Paris. Dunod. 696 p.
<https://www.dunod.com/sciences-techniques/microbiologie-alimentaire>

Gupta, R., Jeevaratnam, K. et Fatima, A. (2018). Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health: a review. *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(10), 411-424. www.jetir.org, Vol.5, Issue 10, page no. pp411-424

« H »

Hamon, E., Horvatovich, P., Izquierdo, E., Bringel, F., Marchioni, E., Aoudé-Werner, D., & Ennahar, S. (2011). Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC Microbiology*, 11, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-63>

Homayouni-Rad, A., Azizi, A., Oroojzadeh, P., & Pourjafar, H. (2020). *Kluyveromyces marxianus* as a probiotic yeast: A mini-review. *Current Nutrition & Food Science*, 16(8), 1163-1169. <https://doi.org/10.2174/1573401316666200217113230>

Hoshida, H., Kidera, K., Takishita, R., Fujioka, N., Fukagawa, T., & Akada, R. (2018). Enhanced production of extracellular inulinase by the yeast *Kluyveromyces marxianus* in xylose catabolic state. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 125(6), 676-681. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.12.024>

Huang, R., Pan, M., Wan, C., Shah, N. P., Tao, X., & Wei, H. (2016). Physiological and transcriptional responses and cross protection of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 under acid stress. *Journal of dairy science*, 99(2), 1002-1010. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9993>

« I »

Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H. and Salminen, S., 2001. Probiotics: effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 444S-450S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.444s>

« J »

Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>

« K »

Karlsson, C., Ahrne, S., Molin, G., Berggren, A., Palmquist, I., Fredrikson, G.N. and Jeppsson, B., 2010. Probiotic therapy to men with incipient arteriosclerosis initiates increased bacterial diversity in colon: a randomized controlled trial. *Atherosclerosis* 208, 228-233. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.06.019>

Kim, J. H., Park, S. M., Moon, C. J., Ha, H. J., Shin, T. K., Kim, J. M., & Wie, M. B. (2006). *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in *in vitro* and *in vivo* models of cerebral ischemia. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1-2), 257-262. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.017>

Kim, S. H., Jeon, B. J., Kim, D. H., Kim, T. I., Lee, H. K., Han, D. S., & Sung, S. H. (2012). Prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica* var. saboten) protects against stress-induced acute gastric lesions in rats. *Journal of Medicinal Food*, 15(11), 968-973. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2282>

Korcok, D.J., Trsic-Milanovic, N.A., Ivanovic, N.D. and Dordevic, B.I., 2018. Development of probiotic formulation for the treatment of iron deficiency anemia. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 66, 347-352. <https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00634>

« L »

La Fata, G., Weber, P. and Mohajeri, M.H., 2018. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10, 11-21. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9322-6>

« M »

Maccaferria, S., Klinderb, A., Brigidia, P., Cavinac, P., & Costabile, A. (2011). Potential probiotic *Kluyveromyces marxianus* fragilis B0399 modulates the immune response in Caco-2 cells and PBMCs and impacts on the human gut microbiota in an *in vitro* colonic model system. <https://doi.org/10.1128/AEM.06385-11>

Mami, A., Amine, R.H., Henni, J.E., Kerfouf, A. et Kihal, M. (2010). Activité Anti-Bactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis à vis de *Staphylococcus*

aureus. *Les technologies de laboratoire*, 5(21), 26- 33. <https://doi.org/10.34874/PRSM.teclab-vol5iss21.390>

Marianelli, C., Cifani, N., & Pasquali, P. (2010). Evaluation of antimicrobial activity of probiotic bacteria against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *typhimurium* 1344 in a common medium under different environmental conditions. *Research in Microbiology*, 161(8), 673-680. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.06.007>

Martínez-Soto, G., Celis-Fabián, F., Hernández-Pérez, T., & Paredes-López, O. (2016). Effect of drying methods on the nutraceutical potential of cactus cladodes (*Opuntia* spp.). *Int. J. Food Nutr. Sci*, 2(6), 1-6. <https://doi.org/10.15436/2377-0619.15.023>

Melgar-Lalanne, G., Rivera-Espinoza, Y., & Hernández-Sánchez, H. (2012). *Lactobacillus plantarum*: An overview with emphasis in biochemical and healthy properties. *Lactobacillus: Classification, Uses and Health Implications*. Pérez Campos A., Mena AL (eds). Nova Publishing, New York, USA, 1-31. <https://www.researchgate.net/publication/272415707>

Moradi, R., Nosrati, R., Zare, H., Tahmasebi, T., Sadari, H., & Owlia, P. (2018). Screening and characterization of *in-vitro* probiotic criteria of *Saccharomyces* and *Kluyveromyces* strains. *Iranian Journal of Microbiology*, 10(2), 123. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6039453>

Morrissey, J. P., Etschmann, M. M., Schrader, J., & Billerbeck, G. M. (2015). Cell factory applications of the yeast *Kluyveromyces marxianus* for the biotechnological production of natural flavour and fragrance molecules. *Yeast*, 32(1), 3-16. <https://hal.science/hal-01269070>

« N »

Nordström, E. A., Teixeira, C., Montelius, C., Jeppsson, B., & Larsson, N. (2021). *Lactiplantibacillus plantarum* 299v (LP299V®): Three decades of research. *Beneficial Microbes*, 12(5), 441-465. <https://doi.org/10.3920/BM2020.0191>

« O »

Oak SJ, Jha R (2019) The effects of probiotics in lactose intolerance: a systematic review. *CritRev Food Sci Nutr* 59:1675–1683. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>

« P »

Padilla-Camberos, E., Flores-Fernández, J. M., Fernandez-Flores, O., Gutierrez-Mercado, Y., Carmona-de la Luz, J., Sandoval-Salas, F., . . . Allen, K. (2015). Hypocholesterolemic Effect and *In Vitro* Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of an *Opuntia ficus-indica* Extract. *BioMed Research International*, 1-4. <http://doi.org/10.1155/2015/837452>

Panigrahi, P., Parida, S., Pradhan, L., Mohapatra, S. S., Misra, P. R., Johnson, J. A., ... & Gewolb, I. H. (2008). Long-term colonization of a *Lactobacillus plantarum* synbiotic preparation in the neonatal gut. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 47(1), 45-53. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31815a5f2c>

« R »

Ramírez-Moreno, E., Córdoba-Díaz, D., de Cortes Sánchez-Mata, M., Díez-Marqués, C., & Goñi, I. (2013). Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.005>

Ramzan, S., & Saeed, M. (2020). *Opuntia ficus-indica* as Nutritious Food Ingredient; Prevalence for Therapeutic Speciality. *RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences*, 11(2), 144-153. <https://doi.org/10.37962/jbas.v11i2.323>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology And Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

« S »

Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00375-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00375-8)

Saber, A., Alipour, B., Faghfoori, Z., & Khosroushahi, A. Y. (2017). Secretion metabolites of dairy *Kluyveromyces marxianus* AS41 isolated as probiotic, induces apoptosis in different human cancer cell lines and exhibit anti-pathogenic effects. *Journal of Functional Foods*, 34, 408-421. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.007>

Schubert, M. L. (1999). Regulation of gastric acid secretion. *Current Opinion in Gastroenterology*, 15(6), 457. <https://doi.org/10.1097/00001574-199911000-00002>

Shoukat, R., Cappai, M., Pia, G., & Pilia, L. (2023). An updated review: *Opuntia ficus indica* (OFI) chemistry and its diverse applications. *Applied Sciences*, 13(13), 7724. <https://doi.org/10.3390/app13137724>

Silva, M. A., Albuquerque, T. G., Pereira, P., Ramalho, R., Vicente, F., Oliveira, M. B., & Costa, H. S. (2021). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: A multi-benefit potential to be exploited. *Molecules*, 26(4), 951. <https://doi.org/10.3390/molecules26040951>

Slimen, I. B., Najar, T., & Abderrabba, M. (2016). *Opuntia ficus-indica* as a source of bioactive and nutritional phytochemicals. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 4(6), 162-169. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20160406.14>

Sreekanth, D., Arunasree, M. K., Roy, K. R., Reddy, T. C., Reddy, G. V., & Reddanna, P. (2007). Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine*, 14(11), 739-746. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.03.017>

Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M (2000) A modified microtiter-plate test for quantification of *staphylococcal* biofilm formation. *Journal of microbiological methods*, 40(2):175–179. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)

« T »

Taira, J., Tsuchida, E., Katoh, M. C., Uehara, M., & Ogi, T. (2015). Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. *Food Chemistry*, 166, 531-536. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.102>

Tremonte, P., Succi, M., Reale, A., Di Renzo, T., Sorrentino, E. and Coppola, R. 2007. Interactions between strains of *Staphylococcus xylosus* and *Kocuria varians* isolated from fermented meats. *Journal of Applied Microbiology* 103: 743-751. [http://www.ifrj.upm.edu.my/24 \(02\) 2017/\(54\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(02)%202017/(54).pdf)

« V »

Vardjan, T., Lorbeg, P. M., Rogelj, I., & Majhenič, A. Č. (2013). Characterization and stability of *Lactobacillus* and yeast microbiota in kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2729-2736. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5829>

Varela, J. A., Gethins, L., Stanton, C., Ross, P., & Morrissey, J. P. (2017). Applications of *Kluyveromyces marxianus* in biotechnology. *Yeast Diversity in Human Welfare*, 439-453. <https://hdl.handle.net/10468/6566>

« W »

Welegerima, G., Zemene, A., & Tilahun, Y. (2018). Phytochemical composition and antibacterial activity of *Opuntia ficus-indica* cladodes extracts. *J. Med. Plants Stud*, 6(2), 243-246. <https://www.plantsjournal.com/archives/2018/vol6issue2/PartD/6-2-35-824.pdf>

Wie, M. B. (2000). Protective effects of *Opuntia ficus-indica* and *Saururus chinensis* on free radical-induced neuronal injury in mouse cortical cell cultures. *Yakhak Hoeji*, 44(6), 613-619.

Wu, D., Sun, M. Z., Zhang, C., & Xin, Y. (2014). Antioxidant properties of *Lactobacillus* and its protecting effects to oxidative stress Caco-2 cells. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(6), 1766-1771. [Page: 1766-1771 ISSN: 1018-7081](https://doi.org/10.1016/j.japsc.2014.06.001)

« Y »

Yu, L., Ye, G., Qi, X., Yang, Y., Zhou, B., Zhang, Y., & Ping, W. (2023). Purification, characterization and probiotic proliferation effect of exopolysaccharides produced by *Lactiplantibacillus plantarum* HDC-01 isolated from sauerkraut. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1210302. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1210302>.

« Z »

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Vandamme, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, M. G. and 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*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Zou, D. M., Brewer, M., Garcia, F., Feugang, J. M., Wang, J., Zang, R., & Zou, C. (2005). Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition journal*, 4, 1-12. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-4-25>

Annexes

Annexe 01 : Matériel utilisé

1. Appareillage

- Autoclave (Pbinternational)
- Bain marie (Raypa)
- Balance (Radwag)
- Centrifugeuse (Sigma)
- Etuve (Memmert)
- Pipette pasteur
- Micropipette (Accumax)
- Microscope optique
- pH-mètre (Hannainstruments)
- Réfrigérateur (Campingaz)
- Spectrophotomètre (Biotek)
- Vortex électrique
- Four Pasteur (Pol-Ekoaparatura)
- lecteur microplaque (BioTek)

2. Réactifs, colorants et autres

- Eau physiologique
- Ethanol
- Lugol
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Crystal Violet
-

Annexe 02 : Composition des milieux de culture

Tableau I : Bouillon MRS (De Man, Rogosa et Sharpe ; TM MEDIA, Delhi, Inde)

Composition	Quantité (Gramme/litre)	Quantité (Gramme/litre)
Peptone		10
Extrait de viande		10
Extrait de levure		5
Dextrose		20
Tween 80		1ml
Phosphate dipotassique		2
Acétate de sodium		5
Citrate d'ammonium		2
Sulfate de magnésium		0,1
Sulfate de manganèse		0,05
Eau distillé		1000 ml
pH 6,5 ± 0,2		
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes		

Tableau II : Gélose MRS (De Man, Rogosa et Sharpe ; Condalab, Madrid, Espagne).

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Peptone	10
Extrait de viande de boeuf	8
Extrait de levure	4
Dextrose	20
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique	2
Acétate de Sodium	5
Citrate d'ammonium	2
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Agar	10
Eau distillé	1000ml
pH 6,2 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau III : Bouillon nutritif (TM MEDIA, Delhi, Inde)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Chlorure de sodium	5
Produit de la digestion peptique de tissus animaux	5
Extrait de bœuf	1,5
Extrait de levure	1,5
Eau distillé	1000 ml
pH 7,4 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau IV : Gélose nutritive (TM MEDIA, Delhi, Inde)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Peptone	5
Chlorure de sodium	5
Extrait de viande	1,5
Extrait de levure	1,5
Agar	15
Eau distillé	1000 ml
pH 7 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau V : BHI (BOUILLON CŒUR-CERVELLE ; BIOCHEM Chemopharma, Cosne-Cours-sur-Loire, France)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Extrait de cœur de bœuf	250

Extrait de cerveau de veau	200
Chlorure de sodium	5
Phosphate disodique	2,5
Dextrose	2
Eau distillé	1000 ml
pH 7,4 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau VI : Gélose Sabouraud (CONDA pronadisa, Madrid, Espagne)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Peptone	10
Glucose monohydraté	40
Agar	15
Chloramphénicol	0,05
Eau distillée	1000 mL
pH final : 7,4 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau IX : Gélose Muller Hinton (ALLIANCE BIO EXPERTISE, Guipry-Messac, France)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Infusion de viande	2
Peptone	17,5
Amidon	1,5
Agar	17
Eau distillé	1000ml
pH 7,3 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Tableau X: TSB (Trypticase Soja Agar ; TM MEDIA, Delhi, Inde)

Composition	Quantité (Gramme/Litre)
Hydrolysate enzymatique de caséine	17
Peptone de soja	3
Chlorure de sodium	5
Dextrose	2,5
Phosphate dipotassique	2,5
Eau distillée	1000 mL
pH=7,3 ± 0,2	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Annexe 03: Solutions

Tableau I : Eau physiologique

Composition	Quantité
Eau distillé	1000 ml
NaCl	9
pH 7	
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

Annexe 04:Résultats des tests d'adhésion et anti adhésion**Tableau I:** Adhésion de *Lactiplantibacillus plantarum*

Milieu de croissance	Absorbance
MRS	0,18
Addition directe	
MRS+0,1 % P1	0,222
MRS+0,5 % P1	0,229
MRS+ 10 % P1	0,613
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,209
Surnageant filtré 1% P1	0,434
Surnageant autoclavé 5% P1	0,269
Surnageant filtré 5% P1	0,223
Surnageant autoclavé 1% P2	0,204
Surnageant filtré 1% P2	0,215
Surnageant autoclavé 5% P2	0,224
Surnageant filtré 5% P2	0,204

T= 0,068

Tableau II : Adhésion de *Kluyveromyces marxianus*

Milieu de croissance	Absorbance
BHI	0,196
Addition directe	
BHI+0,1 % P1	0,277
BHI+0,5 % P1	0,283
BHI+ 10 % P1	0,433
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,386
Surnageant filtré 1% P1	0,672
Surnageant autoclavé 5% P1	0,335
Surnageant filtré 5% P1	0,721
Surnageant autoclavé 1% P2	0,703
Surnageant filtré 1% P2	0,956
Surnageant autoclavé 5% P2	0,34
Surnageant filtré 5% P2	0,853

T= 0,068

Tableau III. Effet antiadhésif de *L. plantarum* contre *E. coli*

Souche	Absorbance
<i>E. coli</i>	0,187
Addition directe	
MRS+0% P1	0,157
MRS+0,1 % P1	0,143
MRS+0,5 % P1	0,131

MRS+ 10 % P1	0,108
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,113
Surnageant filtré 1% P1	0,029
Surnageant autoclavé 5% P1	0,042
Surnageant filtré 5% P1	0,037
Surnageant autoclavé 1% P2	0,02
Surnageant filtré 1% P2	0,03
Surnageant autoclavé 5% P2	0,037
Surnageant filtré 5% P2	0,113

T=0,069

Tableau IV. Effet antiadhésif de *L. plantarum* contre *S. aureus*

Souche	Absorbance
<i>S. aureus</i>	0,246
Addition directe	
MRS+0% P1	0,170
MRS+0,1 % P1	0,177
MRS+0,5 % P1	0,104
MRS+ 10 % P1	0,019
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,082
Surnageant filtré 1% P1	0,022
Surnageant autoclavé 5% P1	0,023
Surnageant filtré 5% P1	0,029
Surnageant autoclavé 1% P2	0,028
Surnageant filtré 1% P2	0,028
Surnageant autoclavé 5% P2	0,037
Surnageant filtré 5% P2	0,027

T=0,069

Tableau V. Effet antiadhésif de *K. marxianus* contre *E. coli*

Souche	Absorbance
<i>E. coli</i>	0,187
Addition directe	
BHI+0% P1	0,310
BHI+0,1 % P1	0,323
BHI+0,5 % P1	0,408
BHI+ 10 % P1	0,378
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,189
Surnageant filtré 1% P1	0,347
Surnageant autoclavé 5% P1	0,301
Surnageant filtré 5% P1	0,253
Surnageant autoclavé 1% P2	0,404
Surnageant filtré 1% P2	0,415
Surnageant autoclavé 5% P2	0,467
Surnageant filtré 5% P2	0,492

T=0,069

Tableau VI. Effet antiadhésif de *K. marxianus* contre *S. aureus*

Souche	Absorbance
<i>S. aureus</i>	0,246
Addition directe	
BHI+0% P1	0,469
BHI+0,1 % P1	0,386
BHI+0,5 % P1	0,433
BHI+ 10 % P1	0,453
Macération 60°C/1 h	
Surnageant autoclavé 1% P1	0,315
Surnageant filtré 1% P1	0,333
Surnageant autoclavé 5% P1	0,454
Surnageant filtré 5% P1	0,386
Surnageant autoclavé 1% P2	0,27
Surnageant filtré 1% P2	0,366
Surnageant autoclavé 5% P2	0,327
Surnageant filtré 5% P2	0,324

T=0,06

Annexe 05: Classification des souches probiotique

Tableau I. Classification de *Lactiplantibacillus plantarum* (Zheng et al., 2020)

Domaine	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Lactobacillales
Famille	Lactobacillaceae
Genre	Lactiplantibacillus
Espèce	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>

Tableau II. Classification de *Kluyveromyces marxianus* (Fonseca et al., 2008)

Domaine	Eukaryota
Règne	Fungi
Phylum	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetales

Annexe

Famille	Saccharomycetaceae
Genre	Kluyveromyces
Espèce	<i>Kluyveromyces marxianus</i>

Résumé

Résumé

Cette étude explore l'effet de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus-indica* sur les caractéristiques probiotiques de *Lactiplantibacillus plantarum* et *Kluyveromyces marxianus*. Les cladodes de ce cactus, riches en fibres alimentaires et en composés bioactifs, sont connues pour améliorer la digestion et réguler le transit intestinal.

Les résultats de *L. plantarum* ont montré une croissance optimisée particulièrement après macération. L'activité antimicrobienne de cette souche a également été renforcée avec une inhibition totale d'*Escherichia coli* ainsi qu'une augmentation de son inhibition contre *Staphylococcus aureus*. De même pour son adhésion qui s'améliore au fur et à mesure que la concentration de la poudre augmente cela va de même pour son effet d'anti-adhésion vis-à-vis des souches pathogènes testées qui s'est accru en présence des poudres suggérant une meilleure colonisation et persistance de cette souche lactique.

Pour *K. marxianus* certes en présence de poudre sa croissance et son adhésion se sont vu améliorées mais les résultats des tests d'activité antimicrobienne ainsi que l'activité antiadhésive prouvent la nécessité d'une évaluation plus approfondie pour optimiser son utilisation en tant que probiotique.

Mots clé : optimisation, probiotique, cladodes d'*Opuntia ficus-indica*, *L. plantarum*, *K. marxianus*.

Abstract

This study explores the effect of *Opuntia ficus-indica* cladode powder on the probiotic properties of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Kluyveromyces marxianus*. The cladodes of this cactus, rich in dietary fiber and bioactive compounds, are known to improve digestion and regulate intestinal transit.

The results of *L. plantarum* showed optimized growth especially after maceration. The antimicrobial activity of this strain was also enhanced with total inhibition of *Escherichia coli* as well as an increase in its inhibitions against *Staphylococcus aureus*. Similarly for its adhesion which improves as the concentration of the powder increases, the same goes for its anti-adhesion effect against the tested pathogenic strains which has increased in the presence of powders suggesting better colonization and persistence of this lactic strain.

For *K. marxianus* sure in the presence of powder its growth and adherence is seen improved but the results of the tests of antimicrobial activity as well as antiadhesive activity proves the need for a more in-depth evaluation to optimize its use as a probiotic.

Keywords: optimization, probiotic, cladodes of *Opuntia ficus-indica*, *L. plantarum*, *K. marxianus*