

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Caractérisation in vitro du potentiel probiotique de souches de bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels

Présenté Par :

- 1) Mr. BENALI Mohamed kheir Ellah
- 2) Mr. BOUZID Daho Mokhtar
- 3) Mr. KHALADI Walid

Devant le jury composé de :

Dr. BENBELAID F

UAT.B.B (Ain Temouchent)

Président

Dr. BOUCHOUICHA S

UAT.B.B (Ain Temouchent)

Examineur

Dr. DJOUAD Mokhtar Eddine

UAT.B.B (Ain Temouchent)

Encadrant

Année Universitaire 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé le courage, la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous Le remercions pour Sa guidance et Son éclairage tout au long de notre parcours.

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance, notre plus grand respect et notre sincère gratitude à notre encadrant, Monsieur **DJOUAD Mokhtar Eddine**, pour son accompagnement, ses conseils précieux, ses orientations pertinentes et le temps qu'il nous a consacré tout au long de ce travail.*

Nos sincères remerciements s'adressent également aux membres du jury :

- *Docteur **BENBELAID Fethi**, qui nous fait l'honneur de présider ce jury ;*
- *Docteure BOUCHOUICHA, qui a accepté d'examiner ce travail et de participer à son évaluation.*

Nous adressons également nos vifs remerciements à l'ensemble de nos enseignants, qui ont contribué à notre formation académique et scientifique tout au long de notre parcours universitaire.

Nous remercions enfin toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail et qui ont participé à son aboutissement.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à nos familles pour leur soutien moral, leur patience et leurs encouragements constants.

Dédicace

Je dédie ce travail :À mes très chers parents, en témoignage de ma profonde gratitude pour leurs sacrifices, leur amour inconditionnel et leur soutien constant, qui ont constitué le fondement de ma réussite tout au long de mon parcours académique.

À mon encadrant, Monsieur **Djouad Mokhtar Eddine**, pour son encadrement, ses orientations pertinentes, sa disponibilité et la qualité de ses conseils tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

À mes binômes **Khaladi Walid et Bouzid Daho Mokhtar**, pour leur précieuse collaboration tout au long de cette aventure scientifique et humaine. Leur esprit d'équipe, leur soutien constant et leur engagement ont permis de surmonter ensemble les différents obstacles rencontrés au cours de ce travail.

À tout le personnel du laboratoire, notamment Monsieur **Noureddine**, Mademoiselle **Liela** et Madame **Choukria**, pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur accompagnement durant les travaux pratiques et expérimentaux.

À mes amis et collègues de laboratoire, **Brahim, Inès, Khadidja, Imene, Fatima, Maissa, Insaf** pour leur soutien, leur esprit de collaboration et les moments partagés tout au long de ce parcours.

À mes meilleurs amis, **Rafik et Rahim**, pour leur fidélité, leur encouragement et leur présence constante.

À ma petite sœur **Kawter** et à mon frère **Noor** pour leur affection et leur soutien familial.

Enfin, je remercie l'Université Ahmed Belhadj Bouchaïb d'Aïn Témouchent, qui m'a offert un cadre académique favorable à l'acquisition de connaissances et au développement de compétences scientifiques.

BENALI MOHAMED KHEIR ELLAH

Dédicace

À Allah, Le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail malgré les difficultés rencontrées. C'est grâce à Sa volonté et à Son soutien que ce parcours a pu être accompli.

À ma chère famille, et plus particulièrement à mon père, ma mère et ma sœur, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants. Leur présence a constitué mon refuge et ma principale source de motivation.

À ma mère, qui a été bien plus qu'une enseignante et une guide dans mon parcours scolaire : elle a été mon repère, ma force et mon équilibre dans ma vie entière.

À mon superviseur, Monsieur **DJOUAD Mokhtar Eddine**, pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité et ses précieux conseils, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

À mes partenaires de travail, **Khaladi Walid et Benali Mohamed Kheir Ellah**, pour leur collaboration, leur soutien mutuel et les efforts communs fournis tout au long de ce parcours.

À toute l'équipe du laboratoire, notamment Monsieur **Noureddine**, ainsi que Madame **Chokria** et Mademoiselle **Leila**, pour leur aide, leur disponibilité et leur accompagnement durant le travail expérimental.

À tous mes collègues et camarades de promotion : **Aymen, Ibrahim, Ali, Islam, Yasser, Saïdo, Samir, Insaf, Khadija, Imène, Ikram, Meriem, Iness, Warda, Les Fatimats, Hanaa, Karima, Nour El Houda, Maïssa, Ghizlen, Aya, Samra**, et tous ceux que je n'ai pas pu citer.

À tous les enseignants qui m'ont accompagné depuis le primaire jusqu'à l'université, pour leur dévouement et leur contribution à ma formation.

Enfin, à tous les travailleurs de l'Université Belhadj Bouchaib, pour leur dévouement discret mais essentiel au bon fonctionnement de l'établissement.

BOUZID DAHO MOKHTAR

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, en témoignage de ma profonde reconnaissance pour leurs sacrifices, leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien constant. Leur présence et leurs encouragements ont constitué la principale source de ma motivation et le pilier essentiel de ma réussite tout au long de mon parcours académique.

À mon encadrant, Monsieur **,DJOUAD Mokhtar Eddine**

je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour la qualité de son encadrement, ses orientations pertinentes, sa disponibilité et ses précieux conseils. Son expertise et sa rigueur scientifique ont été déterminantes dans la réalisation de ce mémoire.

À mes binômes, **Benali Mohamed Kheir Ellah** et **Bouzid Daho Mokhtar**, j'adresse mes remerciements pour leur collaboration, leur esprit d'équipe et leur soutien tout au long de ce travail.

Grâce à notre coopération et notre persévérance, nous avons pu mener à bien ce projet. À tout le personnel du laboratoire, en particulier M. **Noureddine**, je remercie pour leur accueil, leur disponibilité et leur aide précieuse qui ont facilité le bon déroulement de ce travail.

À mes amis et collègues du laboratoire, notamment **Khadidja** et **Imen**, pour leur soutien et leur contribution durant cette expérience

À mes très chers amis, **Abdenour**, **Ayman**, **Ahmed**, **Abdul Ilah** et **Muhammad**, pour leur fidélité, leur soutien et leur encouragement constant.

À mes frères et sœurs, **Khaladi**, **Iman** et **Fatima**, pour leur amour et leur soutien indéfectibles. À la mémoire de mon cher ami **Ayoub**, qui restera à jamais dans mon cœur.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à l'Université Ahmed Belhadj Bouchaïb d'Aïn Témouchent, qui m'a offert un cadre propice à mon apprentissage et à mon développement académique.

KHALADI WALID

Résumé

Cette étude porte sur l'isolement, la caractérisation et l'évaluation des propriétés technologiques, fonctionnelles et probiotiques de bactéries lactiques (BL) isolées de produits fermentés traditionnels algériens. Au total, 46 isolats ont été obtenus à partir de huit types de produits collectés dans cinq régions (Aïn Témouchent, Chlef, Biskra, Oran et Touggourt). La caractérisation morphologique, biochimique et physiologique a confirmé leur appartenance au groupe des BL. L'identification par galeries API a permis de répertorier plusieurs espèces, notamment *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2), *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4), *Levilactobacillus brevis* (VC2), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (FA3), *Leuconostoc* spp. (FA6 et LCT1) et *Enterococcus faecium* (LC8), témoignant de la diversité microbiologique des fermentations traditionnelles algériennes.

L'évaluation des propriétés technologiques a révélé une activité protéolytique et acidifiante variable selon les souches, une absence totale d'activité lipolytique, ainsi qu'une production hétérogène d'exopolysaccharides et de biofilm. L'activité antioxydante, mesurée par le test DPPH, a mis en évidence des taux d'inhibition élevés pour les souches **FO1** (93,5 %), **LB6** (93,4 %) et **FA1** (89,4 %).

L'évaluation des propriétés probiotiques *in vitro* a montré une résistance variable à l'acidité gastrique (pH 2 et pH 3), aux enzymes digestives (pepsine et trypsine) et aux sels biliaries (Oxgall 0,1 %, 0,3 % et 0,5 %). Les souches **LB6**, **LC3**, **LA1** et **FO1** se sont distinguées par leurs performances globales, confirmant leur potentiel probiotique. Ces résultats soulignent la richesse microbiologique des produits fermentés traditionnels algériens et ouvrent des perspectives pour le développement de probiotiques d'origine locale.

Mots-clés : Bactéries lactiques, produits fermentés traditionnels, Algérie, identification biochimique, propriétés probiotiques, activité antioxydante, tolérance aux sels biliaries.

Abstrat

This study focuses on the isolation, characterization, and evaluation of the technological, functional, and probiotic properties of lactic acid bacteria (LAB) isolated from traditional Algerian fermented products. A total of 46 isolates were obtained from eight types of products collected in five regions (Aïn Témouchent, Chlef, Biskra, Oran, and Touggourt). Morphological, biochemical, and physiological characterization confirmed their belonging to the LAB group. API gallery identification revealed several species, including *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2), *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4), *Levilactobacillus brevis* (VC2), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (FA3), *Leuconostoc* spp. (FA6 and LCT1), and *Enterococcus faecium* (LC8), reflecting the microbiological diversity of traditional Algerian fermentations.

Evaluation of technological properties revealed variable proteolytic and acidifying activity across strains, a complete absence of lipolytic activity, and heterogeneous exopolysaccharide and biofilm production. Antioxidant activity, measured by the DPPH assay, showed high inhibition rates for strains **FO1** (93.5%), **LB6** (93.4%), and **FA1** (89.4%).

In vitro evaluation of probiotic properties demonstrated variable resistance to gastric acidity (pH 2 and pH 3), digestive enzymes (pepsin and trypsin), and bile salts (Oxgall 0.1%, 0.3%, and 0.5%). Strains **LB6**, **LC3**, **LA1**, and **FO1** distinguished themselves through overall performance, confirming their probiotic potential. These results highlight the microbiological richness of traditional Algerian fermented products and open perspectives for the development of locally sourced probiotics.

Keywords : Lactic acid bacteria, traditional fermented products, Algeria, biochemical identification, probiotic properties, antioxidant activity, bile salt tolerance.

ملخص

تتناول هذه الدراسة عزل بكتيريا حمض اللبن وتوصيفها وتقييم خصائصها التكنولوجية والوظيفية والبروبيوتكية، المعزولة من منتجات تقليدية جزائرية مخمرة. تم الحصول على ما مجموعه 46 عزلة من ثمانية أنواع من المنتجات جُمعت من خمس مناطق (عين تموشنت، الشلف، بسكرة، وهران وتوقرت). أكد التوصيف المورفولوجي والكيميائي الحيوي والفيزيولوجي انتماء هذه العزلات إلى مجموعة بكتيريا حمض اللبن.

وقد أتاح التعرف بواسطة أدرج API وقد مكن التعريف باستخدام نظام API من تحديد عدة أنواع، من بينها : *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4) و *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2) و *Levilactobacillus brevis* (VC2) و *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (FA3) و *Enterococcus faecium* (LC8)، مما يعكس التنوع الميكروبيولوجي الكبير للتخميرات التقليدية الجزائرية..

أظهر تقييم الخصائص التكنولوجية وجود نشاط بروتيني ونشاط تحمضي متفاوت بين السلالات، مع غياب تام للنشاط الحال للدهون، إضافة إلى إنتاج غير متجانس للسكريات خارج الخلوية والأغشية الحيوية. كما أظهرت الفعالية المضادة للأكسدة، المقاسة باختبار DPPH، نسب تثبيط مرتفعة لدى السلالات FO1 (93.5%) و LB6 (93.4%) و FA1 (89.4%).

وبين تقييم الخصائص البروبيوتكية في المختبر وجود مقاومة متفاوتة للحموضة المعدية عند pH 2 و pH 3، وللإنزيمات الهاضمة (الببسين والتريسين)، ولأملاح الصفراوية (Oxgall) بتركيز 0.1% و 0.3% و 0.5%. (وقد تميزت السلالات LB6 و LC3 و LA1 و FO1 بأفضل أداء إجمالي، مما يؤكد إمكاناتها البروبيوتكية الواعدة.

وتبرز هذه النتائج الثراء الميكروبيولوجي للمنتجات التقليدية الجزائرية المخمرة، وتفتح آفاقاً واعدة لتطوير بروبيوتيكات محلية المنشأ يمكن استغلالها في التطبيقات الغذائية والتكنولوجية الحيوية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللبن، المنتجات التقليدية المخمرة، الجزائر، التعرف الكيميائي الحيوي، الخصائص البروبيوتكية، النشاط المضاد للأكسدة، تحمل الأملاح الصفراوية.

Table des matières

<i>Remerciements</i>	
<i>Dédicace</i>	
Résumé	
Abstrat	
ملخص	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION	1
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : Les produits laitiers fermentés traditionnels	5
1. Généralités sur le lait	6
1.1. Définition du lait.....	6
1.2. Composition physicochimique du lait.....	6
1.3. Caractéristiques microbiologiques du lait	6
2. Produits laitiers fermentés traditionnels.....	7
2.1. Définition des produits laitiers fermentés	7
3. Produits laitiers fermentés traditionnels algériens	8
3.1. Lben.....	8
3.2. Raïb	8
3.3. Jben.....	8
4. Microbiote des produits laitiers fermentés traditionnels.....	9
4.1. Diversité microbienne des produits fermentés.....	9
4.2. Principales bactéries lactiques associées	9
5. Importance nutritionnelle, sanitaire et culturelle	10
5.1. Valeur nutritionnelle	10
5.2. Importance sanitaire et potentiel probiotique	11
5.3. Importance socio-culturelle et traditionnelle en Algérie.....	11
CHAPITRE II : Les Bactéries lactiques	13

1. Historique.....	14
1.1. Définition et généralités	14
1.2. Habitat	15
1.3. Taxonomie et classification.....	16
1.4. Voies fermentaires des bactéries lactiques.....	18
1.4.1. Voie des pentoses-phosphates (hétérofermentation).....	18
1.4.2. Voie homofermentaire (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas, EMP)	19
2. Caractéristiques des genres associés aux produits laitiers	20
2.1. Genre <i>Lactobacillus</i>	20
2.2. Genre <i>Lactococcus</i>	20
2.3. Genre <i>Enterococcus</i>	20
2.4. Genre <i>Bifidobacterium</i>	20
3. Applications des bactéries lactiques	21
4. Effets des bactéries lactiques sur la santé humaine	22
CHAPITRE III : Les probiotiques	23
1. Probiotiques	20
1.1. Historique	20
1.2. Définitions du terme probiotique	20
2. Microorganismes utilisés en tant que probiotiques.....	20
2.1. Les bactéries lactiques	20
2.2. Levures.....	21
2.3. Bactéries non lactiques.....	22
3. Critères de sélection des souches bactériennes potentiellement probiotiques	22
4. Mécanismes d'action des probiotiques	23
5. Applications thérapeutiques potentielles des probiotiques dans les maladies associées aux axes microbiote-organe.....	27
5.1. Axe intestin-poumon.....	28
5.2. Axe intestin-cerveau	28
5.3. Axe intestin-cœur	28
5.4. Axe intestin-peau.....	28
5.5. Effets sur le métabolisme	29
PARTIE EXPERIMENTALE	30

Matériels et Méthodes.....	31
1. Isolement des bactéries lactiques.....	30
1.1. Préparation des échantillons	30
2. Isolement sur milieux sélectifs.....	31
2.1. Milieux de culture et conditions de croissance	31
2.2. Procédure d'isolement.....	31
2.3. Purification des isolats	31
3. Conservation des souches purifiées	31
3.1. Conservation à courte durée	31
3.2. Conservation à longue durée	32
4. Identification des bactéries lactiques	32
4.1. Identification morphologique	32
4.1.1. Examen macroscopique.....	32
4.1.2. Examen microscopique	32
4.2. Identification physiologique et biochimique.....	33
4.2.1. Coloration de Gram (méthode au KOH).....	33
4.2.2. Test de la catalase.....	33
4.2.3. Test de l'oxydase.....	33
4.3. Caractérisation physiologique	34
4.3.1. Type fermentaire.....	34
4.3.2. Croissance à différentes températures.....	34
4.3.3. Croissance à différents pH	34
4.3.4. Tolérance au NaCl.....	34
4.3.5. Recherche de la sporulation	35
5. Étude des caractères biotechnologiques.....	35
5.1. Activité protéolytique	35
5.2. Activité acidifiante.....	35
5.3. Activité lipolytique.....	35
5.4. Production d'exopolysaccharides (EPS)	35
5.5. Formation de biofilm.....	36
5.6. Activité antioxydante	36
6. Mise en évidence in vitro des propriétés probiotiques.....	37

6.1.	Résistance aux conditions gastro-intestinales.....	37
6.1.1.	Tolérance à l'acidité (pH 2–3).....	37
6.1.2.	Tolérance aux sels biliaires	37
6.1.3.	Étude de la résistance aux conditions gastro-intestinales simulées.....	38
7.	Capacité d'adhésion	38
7.1.	Hydrophobicité (test MATH)	38
7.2.	Auto-agrégation.....	39
7.3.	Co-agrégation	39
8.	Étude des critères de sécurité des souches	40
8.1.	Test d'hémolyse.....	40
8.2.	Test de sensibilité aux antibiotiques.....	40
8.3.	Activité antimicrobienne des isolats lactiques contre des souches pathogènes	41
9.	Identification par les galeries API 50 CHL et API 20 STREP	42
9.1.	Galerie API 50 CHL	42
9.2.	Identification par galerie API 20 STREP	42
	Résultat et Discussion	44
1.	Isolément et purification des bactéries lactiques	44
1.1.	Résultats d'isolement.....	44
2.	Caractéristiques morphologiques.....	45
2.1.	Examen macroscopique	45
2.2.	Examen microscopique	45
3.	Conservation des souches	46
4.	Identification biochimiques et physiologiques des isolats.....	46
4.1.	Test de Gram (KOH).....	46
4.2.	Test de catalase.....	47
4.3.	Test d'oxydase.....	47
4.4.	Type fermentaire	47
4.5.	Croissance à différentes températures.....	48
4.6.	Croissance à différents pH	49
4.7.	Croissance à différentes concentrations en NaCl.....	49
4.8.	Test de sporulation	49
5.	Étude des caractéristiques biotechnologiques.....	50

5.1.	Pouvoir acidifiant.....	50
5.2.	Étude de l'activité protéolytique	50
5.3.	Étude de l'activité lipolytique	52
5.4.	Étude de la production des exopolysaccharides (EPS)	53
5.5.	Production de biofilm.....	53
5.6.	Pouvoir antioxydant	55
6.	Évaluation des propriétés probiotiques in vitro	56
6.1.	Résistance aux conditions gastro-intestinales.....	56
6.1.1.	Tolérance à l'acidité	57
6.1.2.	Tolérance aux sels biliaires	59
6.1.3.	Simulation gastro-intestinale (modèle INFOGEST).....	61
7.	Capacité d'adhésion	64
7.1.	Hydrophobicité cellulaire	64
7.2.	Auto-agrégation.....	65
7.3.	Co-agrégation avec les bactéries pathogènes	67
8.	Étude des critères de sécurité des souches	68
8.1.	Test d'hémolyse.....	68
8.2.	Test de sensibilité aux antibiotiques.....	69
8.3.	Activité antimicrobienne des isolats lactiques contre des souches pathogènes	71
9.	Identification par les galeries API 50 CHL et API 20 STREP	73
9.1.	Galerie API 50 CHL	73
9.2.	Identification par API 20 STREP.....	74
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		78
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		83
ANNEXES		106

Liste des figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique des bactéries Gram positives basé sur la comparaison des séquences de l'ARNr	17
Figure 2 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques	19
Figure 3 : Représentation schématique des mécanismes d'action des probiotiques dans l'organisme hôte	23
Figure 4 : Mécanismes d'action des probiotiques dans la modulation de l'axe intestin–cerveau par les voies neuronale, immunitaire et métabolique	26
Figure 5 : Applications des probiotiques dans le traitement des maladies humaines	27
Figure 6 : Résultats de l'isolement des bactéries lactiques sur milieu mixte (MRS–M17) après 48 h d'incubation.....	45
Figure 7 : Observation microscopique des souches <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (LB4) et	46
Figure 8 : Croissance de quelques souches homofermentaires dans le milieu liquide MRS	48
Figure 9 : Résultats du test de croissance de quelques souches bactériennes à différentes températures dans le milieu liquide MRS	48
Figure 10 : Croissance de quelques souches bactériennes dans le milieu liquide MRS à pH 4,4 et à pH 9,6	49
Figure 11 : Résultats de test de l'activité protéolytique et acidifiante de quelques souches testées	51
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les souches sélectionnées.....	56
Figure 13 : Pourcentage de survie de quelques souches sélectionnées après exposition à des conditions acides (pH 2 et pH 3).....	58
Figure 14 : Tolérance des souches étudiées à 0,1 % de sels biliaires (OD600)	60
Figure 15 : Tolérance des souches étudiées à 0,3% de sels biliaires (OD600)	61
Figure 16 : Tolérance des souches étudiées à 0,5 % de sels biliaires (OD600)	61
Figure 17 : Comparaison de la tolérance des souches lactiques aux enzymes digestives (pepsine et trypsine)	63
Figure 18 : Évaluation de l'hydrophobicité de surface des souches par test d'adhésion au xylène et au chloroforme.....	65
Figure 19 : Capacité de co-agrégation des souches lactiques avec <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	68
Figure 20 : Spectre d'activité antimicrobienne des bactéries lactiques (Méthode de diffusion	

en puits)	72
Figure 21 : Résultats du Profil Fermentaire de la souche <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LA2) sur la galerie API 50 CHL après 48h d'incubation	73
Figure 22 : Résultats du Profil Fermentaire de la souche <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (LB 4) sur la galerie API 50 CHL après 48h d'incubation	74
Figure 23 : Résultat de l'identification phénotypique de la souche FA6 <i>Leuconostoc</i> spp.obtenu à l'aide de la galerie API 20 STRE.....	75
Figure 24 : Résultat de l'identification phénotypique de la souche LC8 <i>Enterococcus faecium</i> obtenu à l'aide de la galerie API 20 STRE	75

Liste des tableaux

Tableau 1 : Familles et genres de bactéries lactiques	18
Tableau 2 : Principales bactéries lactiques utilisées comme probiotiques adapté de	21
Tableau 3 : Provenance des échantillons	30
Tableau 4 : Antibiotiques utilisés pour l'évaluation de la sensibilité des souches par la méthode de diffusion sur disque.....	41
Tableau 5 : Répartition des isolats selon la source d'échantillonnage, la région d'origine et le milieu d'isolement.....	44
Tableau 6 : Répartition des souches selon leur niveau d'activité protéolytique et acidifiante	52
Tableau 7 : Évaluation de la formation de biofilm des souches sélectionnées par la méthode de coloration au cristal violet (OD 570).....	55
Tableau 8 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de LAB.....	70
Tableau 9 : Identification phénotypique des souches lactiques isolées par galerie API 50 CHL et API 20 STREP.....	76

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AND	Acide désoxyribonucléique
AGCC	Acides gras à chaîne courte
ANOVA	Analyse de la variance
API	Analytical Profile Index
ARN	Acide ribonucléique
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
ATP	Adénosine triphosphate
BL	Bactéries lactiques
LAB	Lactic Acid Bacteria
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
CO ₂	Dioxyde de carbone
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EFSA	European Food Safety Authority
EMP	Embden–Meyerhof–Parnas
EPS	Exopolysaccharides
FAO	Food and Agriculture Organization
FAO/OMS	FAO / OMS
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
GC	Guanine-Cytosine
GIT	Gastrointestinal tract
GSH	Glutathion réduit
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HCl	Acide chlorhydrique
IL-6	Interleukine-6
IL-10	Interleukine-10
KOH	Hydroxyde de potassium
NaOH	Hydroxyde de sodium
LDL	Low Density Lipoprotein

M17	Milieu de culture M17
MRS	Milieu de Man, Rogosa et Sharpe
MDA	Malondialdéhyde
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
OMS	Organisation mondiale de la santé
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
pH	Potentiel hydrogène
QPS	Qualified Presumption of Safety
SIF	Simulated Intestinal Fluid
SGF	Simulated Gastric Fluid
SNC	Système nerveux central
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
UFC	Unité formant colonie
UV	Ultraviolet

INTRODUCTION

Les produits laitiers fermentés figurent parmi les aliments fermentés les plus anciens et les plus largement consommés à travers le monde. Leur élaboration repose sur l'activité métabolique de microorganismes capables de transformer les constituants du lait, notamment le lactose, en divers métabolites, principalement l'acide lactique. Ce processus contribue à l'amélioration de la qualité microbiologique, à l'augmentation de la durée de conservation ainsi qu'à l'optimisation des propriétés organoleptiques et nutritionnelles des produits obtenus (**Castellone *et al.*, 2021 ; Sharma *et al.*, 2023**). Parmi les microorganismes impliqués dans ces fermentations, les bactéries lactiques occupent une place prépondérante en raison de leur rôle essentiel dans les processus fermentaires et de leurs nombreuses propriétés technologiques et fonctionnelles (**Wang *et al.*, 2023**).

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de microorganismes à Gram positif appartenant principalement à l'ordre des Lactobacillales. Elles sont naturellement présentes dans divers écosystèmes, notamment les produits laitiers, les végétaux fermentés, les sols ainsi que le tractus gastro-intestinal de l'Homme et des animaux. Leur capacité à produire de l'acide lactique, des bactériocines, des exopolysaccharides, des enzymes et divers métabolites bioactifs leur confère un intérêt considérable dans les secteurs de l'alimentation, de la santé et des biotechnologies (**Ayivi *et al.*, 2020 ; Sharma *et al.*, 2023**). Par ailleurs, l'évolution récente de leur taxonomie, marquée notamment par la reclassification du genre *Lactobacillus* en plusieurs nouveaux genres fondée sur des analyses phylogénomiques approfondies, illustre l'importance scientifique croissante accordée à ce groupe bactérien et la nécessité d'une caractérisation précise des souches d'intérêt (**Zheng *et al.*, 2020**).

Au cours des dernières décennies, l'intérêt porté aux bactéries lactiques s'est considérablement accru en raison de leur potentiel probiotique. Selon la définition proposée conjointement par la FAO et l'OMS, les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, procurent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Les effets bénéfiques qui leur sont attribués comprennent notamment le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal, le renforcement de la barrière épithéliale, la modulation de la réponse immunitaire, l'inhibition des microorganismes pathogènes ainsi que la production de métabolites favorables à la santé (**Wieërs *et al.*, 2020 ; Hyland et Stanton, 2023**).

De plus, des études récentes mettent en évidence l'implication des probiotiques dans plusieurs axes de communication microbiote-organe, notamment les axes intestin-cerveau, intestin-poumon, intestin-cœur et intestin-peau, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans

la prévention et la prise en charge de diverses pathologies chroniques et métaboliques (**Cryan *et al.*, 2019 ; Morais *et al.*, 2021**).

L'Algérie dispose d'un patrimoine riche et diversifié en produits laitiers fermentés traditionnels, élaborés selon des procédés artisanaux reposant généralement sur des fermentations spontanées. Ces procédés impliquent des communautés microbiennes complexes et variées qui participent au développement des caractéristiques sensorielles et nutritionnelles des produits. Contrairement aux produits industriels fabriqués à partir de cultures de départ sélectionnées, les produits traditionnels représentent d'importants réservoirs de biodiversité microbienne et constituent une source potentielle de nouvelles souches probiotiques présentant des caractéristiques fonctionnelles originales (**Mechai *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2023**). La valorisation de cette biodiversité locale s'inscrit aujourd'hui dans une démarche de développement durable visant à promouvoir les ressources microbiologiques nationales et à développer de nouveaux produits à forte valeur ajoutée.

Dans ce contexte, l'isolement, la caractérisation et l'évaluation des bactéries lactiques issues des produits laitiers fermentés traditionnels algériens apparaissent comme une approche particulièrement prometteuse pour l'identification de nouvelles souches probiotiques. L'étude de leurs propriétés technologiques, fonctionnelles et de sécurité, notamment leur capacité à résister aux conditions gastro-intestinales, à adhérer aux surfaces biologiques et à inhiber les microorganismes pathogènes, constitue une étape indispensable dans le processus de sélection de souches destinées à des applications alimentaires ou thérapeutiques.

Le présent travail s'inscrit dans cette perspective et a pour objectif principal d'évaluer *in vitro* le potentiel probiotique de bactéries lactiques isolées à partir de différents produits laitiers fermentés traditionnels algériens. Plus spécifiquement, cette étude vise à isoler et identifier les bactéries lactiques présentes dans ces produits, à caractériser leurs principales propriétés technologiques et fonctionnelles associées au caractère probiotique, ainsi qu'à sélectionner les souches les plus performantes en vue de leur valorisation future dans les domaines de l'alimentation, de la santé et des biotechnologies.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Les produits laitiers fermentés traditionnels

1. Généralités sur le lait

1.1. Définition du lait

Le lait est défini par le Codex Alimentarius comme la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite, obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction, destinée à être consommée à l'état liquide ou à subir une transformation ultérieure (**Codex Alimentarius, 2011**). Sur le plan biologique, il s'agit d'un fluide physiologique complexe sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères, dont la fonction principale est d'assurer la nutrition, la croissance et la protection immunitaire du nouveau-né (**Haug et al., 2007**). En technologie laitière, le lait est considéré comme une émulsion de globules gras dispersés dans une phase aqueuse renfermant des protéines sous forme colloïdale, du lactose et divers sels minéraux en solution (**Merzouk et al., 2013**).

1.2. Composition physicochimique du lait

La composition physicochimique du lait est influencée par plusieurs facteurs, notamment l'espèce animale, la race, le stade de lactation, l'âge de l'animal, l'alimentation et les conditions environnementales (**Haug et al., 2007**). D'une manière générale, le lait est constitué majoritairement d'eau (87 à 91 %), tandis que la matière sèche représente la fraction restante.

Les lipides, principalement sous forme de triglycérides organisés en globules gras, représentent généralement entre 3,5 et 4,5 % du lait de vache. Des teneurs plus élevées, pouvant atteindre 5,2 %, ont toutefois été rapportées dans le lait de dromadaire produit en Algérie (**Merzouk et al., 2013**). Les protéines laitières (3,2 à 3,5 %) se répartissent principalement entre les caséines (environ 80 %) et les protéines du lactosérum (environ 20%) (**FAO, 2023**). Le lactose, principal glucide du lait (4,6 à 4,9 %), constitue la principale source de carbone utilisée par les bactéries lactiques lors des processus fermentaires. Enfin, la fraction minérale, représentant environ 0,7 % de la composition totale, contribue à la stabilité des micelles de caséine ainsi qu'à la valeur nutritionnelle du lait (**Haug et al., 2007**).

1.3. Caractéristiques microbiologiques du lait

La qualité microbiologique du lait cru dépend étroitement de l'état sanitaire des animaux producteurs ainsi que des conditions d'hygiène appliquées lors de la traite, de la collecte et du stockage.

Lorsqu'il est récolté dans des conditions aseptiques, le lait contient une microflore endogène provenant principalement du canal du trayon. Cette flore est majoritairement composée de bactéries Gram positives telles que les microcoques, les streptocoques et les staphylocoques à coagulase négative (Quigley *et al.*, 2013). Bien que généralement peu abondante ($< 10^3$ UFC/mL), elle comprend également des bactéries lactiques appartenant notamment aux genres *Lactobacillus* et *Lactococcus*, qui jouent un rôle essentiel dans les phénomènes de fermentation spontanée observés dans les produits laitiers traditionnels (Wouters *et al.*, 2021).

Au cours de la traite et du stockage, le lait peut être exposé à diverses sources de contamination exogène provenant de l'environnement, du matériel de traite ou de l'eau utilisée. Cette contamination peut inclure des bactéries psychrotrophes telles que *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, capables de se développer à basse température et de produire des enzymes thermorésistantes. Des bactéries indicatrices de contamination fécale, notamment les membres de la famille des Enterobacteriaceae et *Escherichia coli*, peuvent également être détectées (Quigley *et al.*, 2013). Par ailleurs, la présence éventuelle de microorganismes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* spp. Constitue un risque sanitaire important pour le consommateur (Boumediene *et al.*, 2024).

2. Produits laitiers fermentés traditionnels

2.1. Définition des produits laitiers fermentés

Selon le Codex Alimentarius, les laits fermentés sont des produits obtenus par la fermentation du lait sous l'action de microorganismes appropriés, entraînant une diminution du pH avec ou sans coagulation des protéines lactières (Codex Alimentarius, 2003). Ces microorganismes doivent demeurer viables, actifs et présents en quantité suffisante dans le produit final, généralement à une concentration minimale de 10^7 UFC/g jusqu'à la date limite de consommation.

Au cours de la fermentation, le lactose est converti en acide lactique, provoquant l'acidification du milieu. Ce phénomène contribue à l'amélioration des propriétés organoleptiques, à la modification de la texture ainsi qu'à l'augmentation de la durée de conservation grâce à l'inhibition de nombreux microorganismes d'altération ou pathogènes (Wouters *et al.*, 2021).

3. Produits laitiers fermentés traditionnels algériens

L'Algérie possède un riche patrimoine de produits laitiers artisanaux, dont la fabrication repose sur des savoir-faire ancestraux et une fermentation spontanée.

3.1. Lben

Le Lben est un lait de beurre fermenté traditionnellement obtenu par le barattage du Raïb dans une outre en peau de chèvre (Chekoua) ou dans une baratte traditionnelle. Ce procédé permet la séparation des grains de beurre de la phase liquide résiduelle appelée Lben (**Mechai *et al.*, 2014**). Le produit obtenu se caractérise par un pH acide compris entre 3,8 et 4,5 ainsi qu'une saveur légèrement acidulée et rafraîchissante. Son microbiote est principalement dominé par *Lactococcus lactis* ainsi que par diverses levures telles que *Kluyveromyces lactis*, qui contribuent à une légère fermentation alcoolique et à la production de composés aromatiques responsables des caractéristiques sensorielles du produit (**Mangia *et al.*, 2014**).

3.2. Raïb

Le Raïb est obtenu par la fermentation spontanée du lait cru maintenu à température ambiante pendant 24 à 48 heures jusqu'à la formation d'un gel ferme (**Mechai *et al.*, 2014**). Contrairement au yaourt industriel, sa fabrication ne nécessite ni pasteurisation préalable ni ajout de ferments sélectionnés. Son profil microbiologique est particulièrement diversifié et repose sur une succession de populations microbiennes. Les streptocoques mésophiles assurent généralement l'acidification initiale du milieu, favorisant ensuite le développement de lactobacilles plus acidotolérants qui participent à la maturation du produit (**Quigley *et al.*, 2013**).

3.3. Jben

Le Jben est un fromage frais traditionnel élaboré à partir de lait de vache, de chèvre ou de brebis. La coagulation est généralement obtenue grâce à l'utilisation de coagulants végétaux ou, plus traditionnellement, de caillette d'agneau séchée (**Boumediene *et al.*, 2024**). Des études réalisées sur le Jben produit dans la région d'Aïn Sefra ont mis en évidence une richesse importante en bactéries lactiques associée à une présence variable de levures, de moisissures et de bactéries contaminantes. Cette diversité microbiologique reflète la nature artisanale de ce produit et la variabilité des conditions de fabrication (**Boumediene *et al.*, 2024**).

4. Microbiote des produits laitiers fermentés traditionnels

4.1. Diversité microbienne des produits fermentés

Les produits laitiers fermentés traditionnels présentent généralement une biodiversité microbienne plus importante que celle observée dans les produits industriels élaborés à partir de cultures de départ standardisées. Cette richesse microbienne contribue au développement des caractéristiques organoleptiques propres à chaque produit ainsi qu'à la préservation d'une diversité génétique d'intérêt technologique et biotechnologique.

Pendant de nombreuses années, les approches microbiologiques classiques basées sur la culture ont permis d'identifier les principaux groupes microbiens impliqués dans les fermentations. Cependant, l'émergence des méthodes moléculaires indépendantes de la culture, notamment le séquençage du gène de l'ARNr 16S et les approches métagénomiques, a permis de mettre en évidence une diversité microbienne beaucoup plus importante, incluant des microorganismes minoritaires jouant des rôles fonctionnels essentiels dans l'écosystème fermentaire (You *et al.*, 2024).

Par ailleurs, les analyses de séquençage à haut débit réalisées sur différents produits laitiers fermentés traditionnels ont révélé une diversité d'unités taxonomiques opérationnelles (OTU) significativement plus élevée que celle obtenue par les méthodes conventionnelles de culture. Ces observations témoignent de la complexité des interactions microbiennes qui s'établissent au cours des processus fermentaires spontanés (Sagyman *et al.*, 2021).

4.2. Principales bactéries lactiques associées

Les bactéries lactiques (BL) constituent le groupe microbien dominant des produits laitiers fermentés traditionnels. Elles jouent un rôle fondamental dans l'acidification du milieu, la conservation des aliments, le développement des propriétés organoleptiques ainsi que dans l'expression de diverses activités fonctionnelles d'intérêt technologique et probiotique.

- **Genre *Lactobacillus***

À la suite d'une importante révision taxonomique réalisée en 2020, le genre *Lactobacillus* sensu stricto a été subdivisé en plusieurs nouveaux genres fondés sur des critères phylogénomiques (Zheng *et al.*, 2020). Parmi les espèces fréquemment isolées des produits laitiers fermentés algériens figurent *Lactiplantibacillus plantarum* (anciennement *Lactobacillus plantarum*) et *Lentilactobacillus brevis* (anciennement *Lactobacillus brevis*),

reconnues pour leur robustesse métabolique, leur capacité d'adaptation à différents environnements fermentaires et leur potentiel probiotique (Mechai *et al.*, 2014).

- **Genre *Lactococcus***

Les espèces *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* représentent les principaux agents acidifiants mésophiles impliqués dans la fabrication du Lben et du Raïb. Ces bactéries contribuent à la réduction du pH du milieu et produisent également des substances antimicrobiennes, notamment la nisine, capables d'inhiber plusieurs microorganismes pathogènes ou d'altération (Mangia *et al.*, 2014).

- **Genre *Leuconostoc***

Leuconostoc mesenteroides est fréquemment rencontré dans les fermentations spontanées des produits laitiers traditionnels. Son métabolisme hétérofermentaire conduit à la production de dioxyde de carbone (CO₂), d'acide lactique et de composés aromatiques tels que le diacétyl, contribuant ainsi à l'amélioration de la texture et des qualités sensorielles des produits fermentés (Mechai *et al.*, 2014).

- **Genre *Streptococcus***

Streptococcus thermophilus est également présent dans certains produits laitiers fermentés traditionnels. Cette espèce participe activement à l'acidification du lait et à l'amélioration de la texture grâce à la production d'exopolysaccharides favorisant la viscosité et l'onctuosité du produit final (Quigley *et al.*, 2013).

- **Genre *Enterococcus***

Les espèces *Enterococcus faecium* et *Enterococcus durans* sont régulièrement isolées à partir du Jben et du lait de dromadaire. Malgré certaines préoccupations liées à la présence potentielle de facteurs de virulence chez certaines souches, ces bactéries jouent un rôle important dans les phénomènes de protéolyse et dans le développement des caractéristiques organoleptiques au cours de l'affinage des produits fermentés (You *et al.*, 2024).

5. Importance nutritionnelle, sanitaire et culturelle

5.1. Valeur nutritionnelle

La fermentation améliore significativement la valeur nutritionnelle du lait grâce à l'activité métabolique des microorganismes impliqués. Les bactéries lactiques hydrolysent partiellement les protéines laitières en peptides bioactifs et en acides aminés

libres, augmentant ainsi leur digestibilité et leur biodisponibilité pour l'organisme (FAO, 2023).

Par ailleurs, certaines souches de bactéries lactiques sont capables de synthétiser des vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12 et l'acide folique, contribuant ainsi à l'enrichissement nutritionnel des produits fermentés. La fermentation entraîne également une diminution de la teneur en lactose par sa conversion en acide lactique, ce qui améliore la tolérance de ces produits chez les personnes présentant une intolérance partielle au lactose (Wouters *et al.*, 2021).

De plus, plusieurs études ont montré que les produits laitiers fermentés constituent une source importante de composés bioactifs pouvant exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment des activités antihypertensives, antioxydantes et immunomodulatrices.

5.2. Importance sanitaire et potentiel probiotique

Les produits laitiers fermentés traditionnels algériens représentent une source importante de bactéries lactiques présentant des propriétés probiotiques potentielles. De nombreuses souches isolées à partir du Lben, notamment *Lactiplantibacillus plantarum*, ont démontré une bonne résistance aux conditions simulant le tractus gastro-intestinal, incluant l'acidité gastrique et les sels biliaries (Mechai *et al.*, 2014).

Ces bactéries sont également capables d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales, propriété essentielle pour leur colonisation temporaire du tractus digestif et l'expression de leurs effets bénéfiques. En outre, plusieurs souches produisent des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines capables d'inhiber le développement de microorganismes pathogènes tels que *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*, contribuant ainsi à l'amélioration de la sécurité microbiologique des aliments (Mechai *et al.*, 2014).

L'intérêt croissant porté à ces microorganismes s'explique également par leur implication dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal et dans la modulation de diverses fonctions physiologiques de l'hôte, ce qui justifie leur utilisation potentielle dans le développement de nouveaux aliments fonctionnels.

5.3. Importance socio-culturelle et traditionnelle en Algérie

Au-delà de leur intérêt nutritionnel et sanitaire, les produits laitiers fermentés occupent une place importante dans le patrimoine alimentaire et culturel algérien. Des produits tels que

le Raïb, le Lben, le Jben, la Klila ou encore le Bouhezza sont étroitement associés aux habitudes alimentaires de nombreuses régions du pays et sont transmis de génération en génération selon des savoir-faire traditionnels (**Merzouk *et al.*, 2013**).

Le Raïb et le Lben accompagnent fréquemment les repas traditionnels, notamment le couscous, et sont souvent présents lors des fêtes religieuses, des cérémonies familiales et des rassemblements communautaires. Ces produits constituent ainsi un élément important de l'identité gastronomique nationale.

La préservation de ces procédés artisanaux présente également un intérêt scientifique majeur puisqu'elle contribue au maintien d'une biodiversité microbienne unique susceptible de renfermer de nouvelles souches d'intérêt technologique et probiotique. La valorisation de ce patrimoine alimentaire apparaît ainsi comme un enjeu important face à la standardisation croissante des procédés industriels (**Benzekri *et al.*, 2024**).

CHAPITRE II : Les Bactéries lactiques

1. Historique

L'histoire des bactéries lactiques (BL) remonte aux travaux de Carl Wilhelm Scheele, qui fut le premier à isoler l'acide lactique à partir du lait aigri. Par la suite, en 1857, Louis Pasteur démontra le rôle des micro-organismes dans la fermentation lactique et la production d'acide lactique. En 1881, la société M/s Clinton Processing Company (États-Unis) fut la première à commercialiser la production d'acide lactique par voie fermentaire. À partir des années 1980, l'intérêt scientifique pour les bactéries lactiques s'est fortement accru en raison de leurs nombreuses applications en conservation des aliments, en biotechnologie et en biomédecine (Gupta *et al.*, 2018).

1.1. Définition et généralités

Les bactéries lactiques (BL) constituent un groupe de micro-organismes procaryotes à Gram positif, se présentant sous forme de coques ou de bâtonnets, généralement non sporulés et non mobiles (Ayivi *et al.*, 2020 ; Melia *et al.*, 2022). Elles se caractérisent par des exigences nutritionnelles élevées, une tolérance aux environnements acides, l'absence de cytochromes ainsi qu'une activité catalasique généralement négative (Islam *et al.*, 2020). Leur principale caractéristique physiologique réside dans leur capacité à fermenter les glucides, avec production d'acide lactique comme principal produit final du métabolisme carboné (Gupta *et al.*, 2018).

En outre, les bactéries lactiques produisent divers métabolites contribuant aux qualités organoleptiques des aliments fermentés, notamment l'amélioration de la saveur, de l'arôme et de la texture (Mokoena *et al.*, 2017). Elles suscitent un intérêt scientifique croissant en raison de leurs applications dans les secteurs alimentaire, biotechnologique et biomédical. Cet intérêt est lié à leur capacité à produire des composés bioactifs à activité antimicrobienne, tels que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène et le diacétyl, contribuant à l'inhibition des micro-organismes pathogènes et des agents d'altération des denrées alimentaires (Mokoena, 2017 ; Rakhmanova *et al.*, 2018).

Sur le plan taxonomique, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène comprenant des genres à morphologie cocci, tels que *Streptococcus*, *Aerococcus* et *Lactococcus*, ainsi que des formes bacillaires représentées notamment par le genre *Lactobacillus* (Jamyuang *et al.*, 2019). Elles sont généralement anaérobies facultatives ou aérotolérantes, capables de croître en conditions de faible disponibilité en oxygène et de résister à des valeurs de pH faibles (Zhou *et al.*, 2019 ; Melia *et al.*, 2022).

Le métabolisme énergétique des BL repose principalement sur la fermentation des glucides, au cours de laquelle des composés organiques issus du substrat jouent le rôle d'accepteurs finaux d'électrons en remplacement de l'oxygène (**Zhou et al., 2019**). Outre l'acide lactique, elles synthétisent divers métabolites d'intérêt biologique, notamment des enzymes, des vitamines, des composés antioxydants et des substances antimicrobiennes, contribuant à leur compétitivité écologique et à leurs propriétés technologiques (**Papadimitriou et al., 2016 ; Omeonu et al., 2022**).

D'un point de vue génomique, les bactéries lactiques présentent généralement une faible teneur en guanine et cytosine (GC), souvent inférieure à 50 % du génome total, bien que certaines espèces de lactobacilles puissent atteindre des valeurs proches de 57 % (**Omeonu et al., 2022**). Enfin, selon les produits finaux issus de la fermentation des glucides, elles sont classées en bactéries homofermentaires, produisant principalement de l'acide lactique, ou hétérofermentaires, produisant simultanément de l'acide lactique, du dioxyde de carbone, de l'éthanol ou de l'acétate (**Mora-Villalobos et al., 2020**).

1.2. Habitat

Les bactéries lactiques (LAB) présentent une distribution ubiquitaire et colonisent une grande diversité d'environnements, généralement riches en substrats fermentescibles (**Kathiriya et al., 2018**). Elles sont couramment isolées à partir des produits laitiers (lait, fromage, yaourt), où elles jouent un rôle déterminant dans les processus de fermentation et de conservation. Leur présence est également rapportée dans les matrices végétales (fruits et légumes fermentés) ainsi que dans les produits carnés (saucisses, charcuteries). Ces environnements offrent des conditions favorables à leur développement, notamment un pH acide et une faible disponibilité en oxygène (**Ayivi et al., 2020**).

Au-delà des matrices alimentaires, les bactéries lactiques occupent diverses niches écologiques naturelles, notamment le tractus gastro-intestinal des mammifères (intestin, cavité buccale), les sols, les végétaux en décomposition ainsi que certains écosystèmes aquatiques. Leur aptitude à s'adapter à des conditions environnementales contraignantes, telles que les basses températures ou les fortes concentrations en sel, témoigne de leur importante diversité métabolique (**Mokoena, 2017**).

Le microbiote intestinal constitue un écosystème majeur colonisé par les bactéries lactiques, contribuant au maintien de la santé de l'hôte à travers leur implication dans le métabolisme, la digestion et le bon fonctionnement physiologique. Elles participent également

à la modulation et à la stimulation du système immunitaire. Les bactéries lactiques sont particulièrement adaptées à l'environnement intestinal des mammifères (Ayivi *et al.*, 2020).

Les environnements industriels, notamment les unités de transformation alimentaire et les surfaces de contact où se développent des biofilms, constituent également des réservoirs importants de bactéries lactiques. Leur capacité à former des biofilms favorise leur persistance malgré les procédures de nettoyage et de désinfection, ce qui peut représenter un enjeu en matière de sécurité alimentaire (Galié *et al.*, 2018).

1.3. Taxonomie et classification

La première classification des bactéries lactiques (BL) a été proposée en 1919 par **Orla-Jensen**. Elle reposait sur des critères phénotypiques observables, incluant les caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques. Cette approche a été progressivement enrichie par les apports de la taxonomie moléculaire (Tahlaiti *et al.*, 2019).

Classiquement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base de caractères phénotypiques tels que la morphologie cellulaire, le type de fermentation du glucose, la capacité de croissance à différentes températures, l'isomérisation de l'acide lactique produit ainsi que les profils de fermentation des glucides (Ayivi *et al.*, 2020).

La taxonomie de ces bactéries demeure en constante évolution et intègre toujours des critères phénotypiques, notamment la morphologie, le mode de fermentation du glucose, ainsi que la tolérance à la température, au sel et aux conditions acides. D'autres approches, telles que l'analyse de la composition en bases guanine-cytosine (G+C) de l'ADN, la caractérisation des acides gras ou encore l'étude de l'activité enzymatique, sont également utilisées à des fins d'identification et de classification (Salveti *et al.*, 2018).

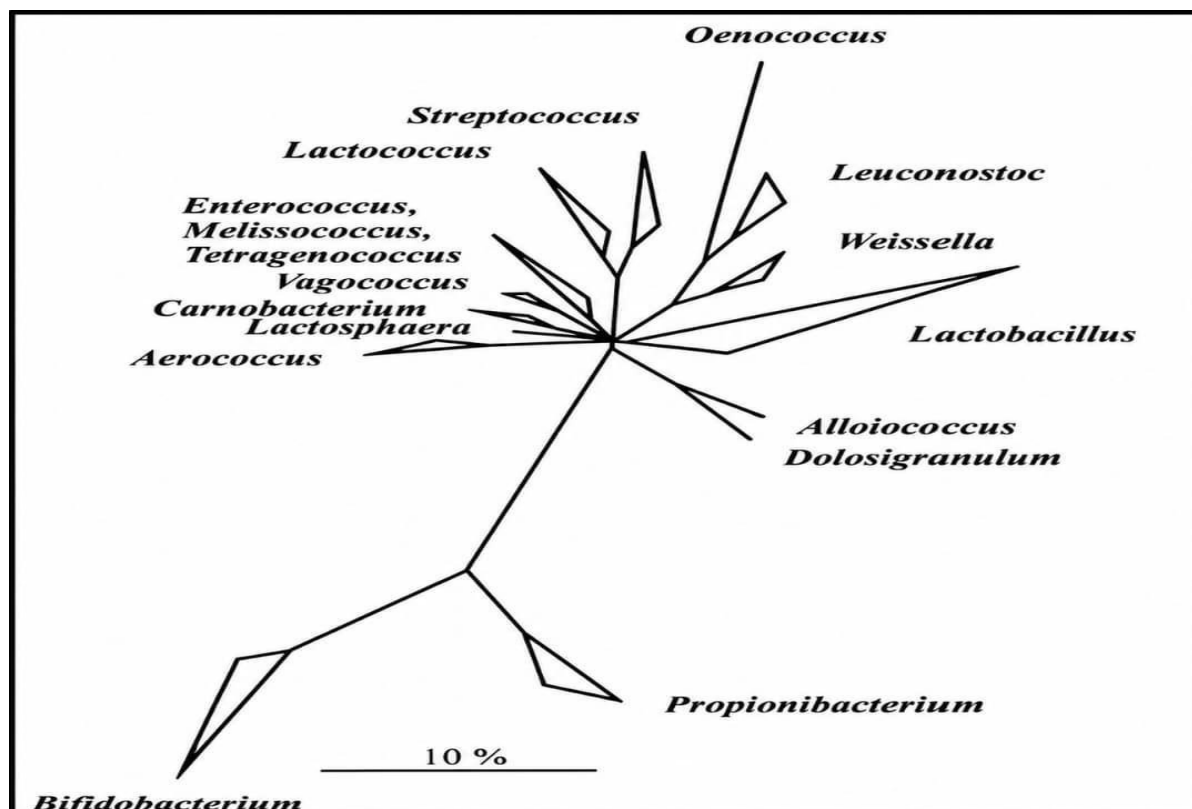


Figure 1 : Arbre phylogénétique des bactéries Gram positives basé sur la comparaison des séquences de l'ARNr (Holzapfel *et al.*, 2001)

Selon la dernière édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la classe des Bacilli et l'ordre des Lactobacillales. Cet ordre comprend trente-cinq genres répartis en six familles : Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceae et Streptococcaceae (König et Fröhlich, 2017).

Cette classification a évolué de manière significative ces dernières années, notamment avec la révision majeure du genre *Lactobacillus* en 2020, qui a conduit à son éclatement en 25 nouveaux genres sur la base d'analyses génomiques approfondies. Cette reclassification a permis une meilleure compréhension des relations phylogénétiques entre les différentes souches et une caractérisation plus précise de leurs propriétés fonctionnelles (Zheng *et al.*, 2020).

Tableau 1 : Familles et genres de bactéries lactiques (Gänzle et Zheng, 2022; Fusco *et al.*, 2023)

Famille	Genres principaux actuellement reconnus parmi les bactéries lactiques
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i> , <i>Abiotrophia</i> , <i>Dolosicoccus</i> , <i>Eremococcus</i> , <i>Facklamia</i> , <i>Globicatella</i> , <i>Ignavigranum</i>
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i> , <i>Alkalibacterium</i> , <i>Alloiococcus</i> , <i>Atopococcus</i> , <i>Desemzia</i> , <i>Dolosigranulum</i> , <i>Granulicatella</i> , <i>Marinilactibacillus</i> , <i>Trichococcus</i>
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i> , <i>Tetragenococcus</i> , <i>Melissococcus</i> , <i>Pilibacter</i>
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lacticaseibacillus</i> , <i>Lactiplantibacillus</i> , <i>Limosilactobacillus</i> , <i>Levilactobacillus</i> , <i>Latilactobacillus</i> , <i>Ligilactobacillus</i> , <i>Companilactobacillus</i> , <i>Loigolactobacillus</i> , <i>Bombilactobacillus</i> , <i>Apilactobacillus</i> , <i>Fructilactobacillus</i> , <i>Furfurilactobacillus</i> , <i>Agrilactobacillus</i> , <i>Amylolactobacillus</i> , <i>Acetilactobacillus</i> , <i>Dellaglioia</i> , <i>Holzapfelia</i> , <i>Lentilactobacillus</i> , <i>Liquorilactobacillus</i> , <i>Paucilactobacillus</i> , <i>Schleiferilactobacillus</i> , <i>Secundilactobacillus</i> , <i>Convivina</i> , <i>Paralactobacillus</i>
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> , <i>Weissella</i> , <i>Periweissella</i> , <i>Fructobacillus</i>
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactococcus</i>

1.4. Voies fermentaires des bactéries lactiques

1.4.1. Voie des pentoses-phosphates (hétérofermentation)

La voie des pentoses phosphates, également appelée voie du 6-phosphogluconate, est principalement retrouvée chez *Leuconostoc* ainsi que chez certaines espèces de *Lactobacillus*. Comparativement au métabolisme homofermentaire, la voie hétérofermentaire présente un rendement énergétique inférieur, puisqu'elle conduit à la production d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule d'éthanol, d'une molécule de CO₂ et d'un seul ATP (Fessard *et al.*, 2017).

Ce métabolisme débute par la conversion du glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconate, qui subit ensuite une décarboxylation oxydative conduisant à la formation du ribulose-5-phosphate puis du xylulose-5-phosphate. Ce dernier est clivé en glycéraldéhyde-3-phosphate (GA-3P) et acétyl-phosphate par l'action de la D-xylulose-5-phosphate phosphokétolase. Le

GA-3P est ensuite converti en lactate, tandis que l'acétyl-phosphate est réduit en éthanol ou transformé en acétate (**Rahman et al., 2025**).

1.4.2. Voie homofermentaire (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas, EMP)

Les bactéries lactiques requièrent des sucres comme source d'énergie pour assurer leur croissance. La fermentation du lactose s'inscrit dans la voie glycolytique ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas.

Les bactéries lactiques homofermentaires strictes métabolisent le lactose en acide pyruvique, lequel est ensuite réduit en acide lactique grâce au pouvoir réducteur généré sous forme de NADH. Dans ce cas, l'acide lactique constitue le seul produit final, avec un rendement de deux molécules d'acide lactique et deux molécules d'ATP par molécule de glucose, processus qualifié de fermentation homolactique.

Les bactéries lactiques homofermentaires strictes comprennent notamment *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactobacillus helveticus* (**Okoye et al., 2023**).

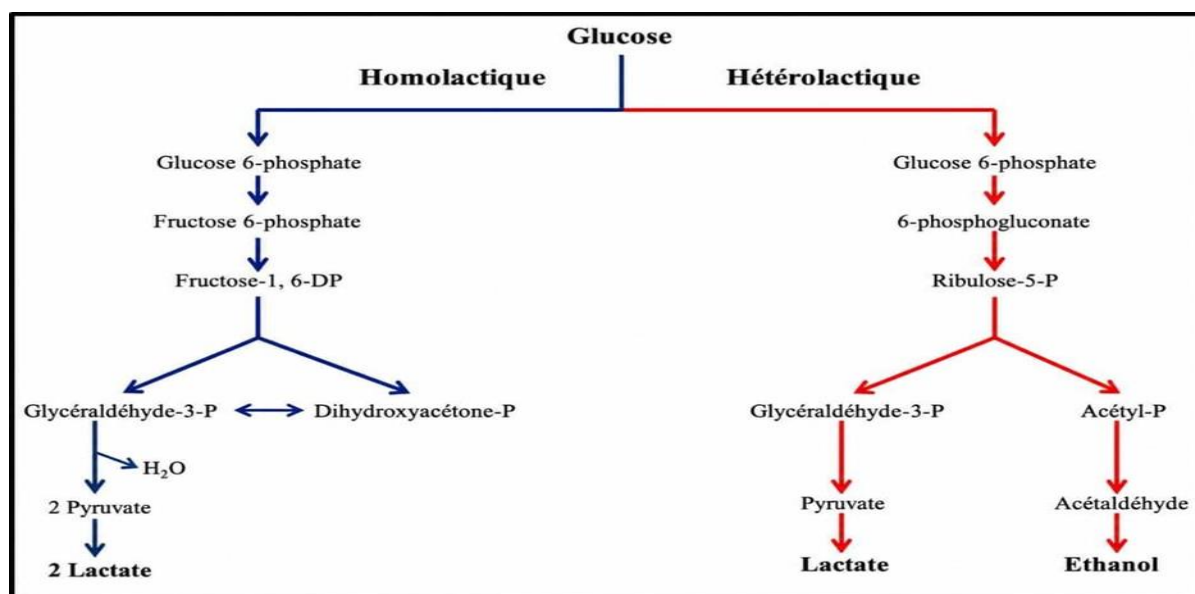


Figure 2 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques (**Caplice et Fitzgerald, 1999**)

2. Caractéristiques des genres associés aux produits laitiers

2.1. Genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* constitue le groupe principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il regroupe un grand nombre d'espèces impliquées dans les processus de fermentation lactique, exploitées dans diverses industries ou retrouvées comme contaminants.

Ces bactéries se présentent sous forme de bacilles longs et fins, parfois légèrement incurvés, souvent organisés en chaînettes. Elles sont immobiles, asporulées et catalase négative. Leur croissance est optimale à des températures comprises entre 30 et 40 °C. Les lactobacilles présentent par ailleurs des exigences nutritionnelles complexes, nécessitant des acides aminés, des vitamines, des acides gras, des nucléotides, des glucides ainsi que des sels minéraux (Menad *et al.*, 2018).

2.2. Genre *Lactococcus*

Les bactéries du genre *Lactococcus* constituent un groupe phylogénétiquement homogène au sein du phylum des Firmicutes, appartenant à la famille des Streptococcaceae.

Ces micro-organismes présentent une morphologie coccoïde (0,5–1,5 µm de diamètre), avec une organisation cellulaire typique en diplocoques ou en courtes chaînes, et sont à Gram positif. Leur paroi cellulaire est caractérisée par une structure peptidoglycanique de type Lys-D-Asp, spécifique des bactéries lactiques (Zhou *et al.*, 2022).

2.3. Genre *Enterococcus*

D'un point de vue métabolique, *Enterococcus* spp, sont des chimio-organotrophes anaérobies facultatifs présentant un métabolisme fermentaire principalement homolactique via la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas.

Leur croissance optimale est observée à des températures mésophiles (25–30 °C) et à pH neutre, bien qu'elles soient capables d'acidifier leur environnement jusqu'à des valeurs de pH comprises entre 4,0 et 4,5. Leur génome, d'une taille moyenne de 2,3 à 2,8 Mb avec un contenu en GC d'environ 35–40 %, code pour des systèmes enzymatiques impliqués dans l'utilisation du lactose et la production d'acide lactique (Yu *et al.*, 2021).

2.4. Genre *Bifidobacterium*

Les bifidobactéries constituent l'un des groupes majeurs du microbiote intestinal humain, jouant un rôle important dans la santé de l'hôte. Elles s'implantent dès la naissance et

deviennent rapidement dominantes dans la flore intestinale du nouveau-né (**Huang et al., 2025**). Leur croissance est optimale à un pH proche de 6,5–7 et à des températures comprises entre 37 °C et 41 °C. Elles présentent une morphologie irrégulière bifide en forme de Y.

Ces bactéries sont hétérofermentaires et métabolisent les hexoses en produisant principalement de l'acide lactique et de l'acide acétique (**Sibanda et al., 2024**).

Ces micro-organismes peuvent inhiber les coliformes, les entérocoques et les clostridies par la production de métabolites ou par compétition pour les nutriments et les sites d'adhésion au niveau de la muqueuse intestinale.

Toutefois, ces bactéries présentent des exigences nutritionnelles élevées et nécessitent des facteurs de croissance spécifiques pour leur culture. Leur croissance sur le lait de vache est lente ; afin d'améliorer leur développement et de réduire le temps d'incubation, elles sont généralement associées à d'autres bactéries lactiques, notamment *Streptococcus thermophilus* (**Jicheng et al., 2020**).

3. Applications des bactéries lactiques

Au cours des dernières années, les données scientifiques ont mis en évidence le caractère dynamique des bactéries lactiques, ce qui explique leur large utilisation à l'échelle mondiale (**Rakhmanova et al., 2018**).

Les bactéries lactiques mobilisent diverses stratégies d'adaptation leur permettant de résister aux conditions environnementales défavorables et aux variations du milieu. Ces mécanismes contribuent au maintien ou à l'amélioration de la qualité, de l'arôme et des propriétés organoleptiques des aliments fermentés (**Ayivi et al., 2020**). Dans les systèmes de production industrielle à grande échelle, leur utilisation comme cultures starters fonctionnelles constitue une approche majeure visant à limiter les variations des paramètres de fermentation susceptibles d'altérer la qualité et les caractéristiques sensorielles du produit final, tout en assurant la stabilité des propriétés essentielles des aliments fermentés (**Hu et al., 2022**).

Les consommateurs orientent de plus en plus leurs choix alimentaires en fonction de la valeur nutritionnelle et des bénéfices pour la santé, favorisant ainsi l'utilisation d'ingrédients naturels comme agents de conservation en remplacement des additifs chimiques. Dans ce contexte, les bactéries lactiques produisent des peptides antimicrobiens appelés bactériocines, capables d'inhiber les agents pathogènes d'origine alimentaire et de contribuer à la sécurité sanitaire des aliments (**Ayivi et al., 2020**).

Par ailleurs, les bactéries lactiques sont largement exploitées comme bioconservateurs afin de prolonger la durée de conservation des denrées alimentaires au cours du stockage (Shehata *et al.*, 2019).

Enfin, les bactéries lactiques sont utilisées depuis plusieurs décennies dans les systèmes agricoles afin d'améliorer la qualité des sols, notamment par la régulation de la matière organique, la détoxification de composés chimiques nocifs, le contrôle des maladies phytopathogènes et la stimulation de la croissance des plantes (Raman *et al.*, 2022).

4. Effets des bactéries lactiques sur la santé humaine

Selon la nature de l'aliment, les méthodes de fabrication et les procédés de fermentation, les produits fermentés peuvent contenir diverses espèces et souches de bactéries lactiques (BL), susceptibles d'interagir de manière bénéfique avec le microbiote intestinal. De nombreuses études ont mis en évidence plusieurs effets positifs des BL sur la santé humaine, notamment :

Santé intestinale : les bactéries lactiques sont capables de produire des vitamines, des acides gras à chaîne courte et des bactériocines. Elles inhibent la croissance de micro-organismes pathogènes tout en contribuant au maintien de l'équilibre du microbiote intestinal (Meng *et al.*, 2026).

Amélioration de la digestibilité et de l'absorption des nutriments : les bactéries lactiques participent à l'amélioration de la digestion et de l'assimilation des nutriments, en particulier des protéines (Yildiz *et al.*, 2026).

Réduction des allergies : certaines souches de bactéries lactiques peuvent réduire le potentiel allergène de certains aliments, tels que les produits laitiers ou les céréales, en dégradant les protéines impliquées dans les réactions allergiques (Feng *et al.*, 2025).

Propriétés antioxydantes : certaines souches produisent des composés à activité antioxydante, contribuant à la neutralisation des radicaux libres (Lepecka *et al.*, 2025).

Réduction du stress : certaines bactéries lactiques produisent le GABA (acide gamma-aminobutyrique), un neurotransmetteur impliqué dans la diminution de la pression artérielle, la relaxation musculaire et la réduction du stress psychologique (Pasolli *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2021).

CHAPITRE III : Les probiotiques

1. Probiotiques

1.1. Historique

L'histoire des probiotiques remonte à la consommation ancestrale d'aliments fermentés, déjà observée dans les civilisations grecque et romaine. En 1907, **Élie Metchnikoff**, lauréat du prix Nobel, fut le premier à proposer l'idée selon laquelle certains micro-organismes probiotiques exercent des effets bénéfiques sur la santé humaine. Il a notamment avancé l'hypothèse que la longévité et l'état de santé des populations bulgares étaient liées à la consommation régulière de produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques en forme de bacilles (*Lactobacillus* spp.). Selon cette hypothèse, ces bactéries contribuent à moduler favorablement le microbiote intestinal et à réduire l'activité des micro-organismes potentiellement pathogènes.

Le terme « probiotique » a ensuite été introduit en 1965 par **Lilly** et **Stillwell** afin de désigner des substances favorisant la croissance d'autres micro-organismes. Depuis, cette notion a été progressivement élargie et utilisée dans divers contextes, en fonction de ses mécanismes d'action et de ses effets sur la santé humaine (**Hyland et al., 2023**).

1.2. Définitions du terme probiotique

Le terme « probiotique » a fait l'objet de plusieurs définitions qui ont évolué au fil du temps en fonction des avancées scientifiques et technologiques. Étymologiquement, il signifie « pour la vie » et désigne des associations microbiennes associées à des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale (**Kerry et al., 2018**).

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants non pathogènes qui confèrent divers bénéfices pour la santé de l'hôte (**Singh et Rao, 2021**). Toutefois, la définition la plus largement acceptée est celle de la consultation mixte d'experts **FAO/OMS (2001)**, qui définit les probiotiques comme « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte ».

2. Microorganismes utilisés en tant que probiotiques

2.1. Les bactéries lactiques

Les principales bactéries probiotiques appartiennent généralement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Il est également pertinent de mentionner certaines souches probiotiques appartenant aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus* (**Nectoux et al., 2022**).

Tableau 2 : Principales bactéries lactiques utilisées comme probiotiques adapté de (Abedin *et al.*, 2024)

Genre	Espèces / souches probiotiques
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> , <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG
<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> , <i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecium</i> SF68, <i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i>

2.2. Levures

Les levures sont des micro-organismes unicellulaires largement utilisés depuis longtemps dans la production du pain ainsi que des boissons fermentées telles que la bière et le vin. Certaines espèces ont également été identifiées comme ayant un potentiel probiotique, notamment *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces boulardii* (Czerucka et Rampal, 2019).

L'efficacité et l'innocuité de *Saccharomyces boulardii* ont été démontrées dans plusieurs études portant sur différentes indications cliniques chez l'adulte, sur la base d'essais cliniques randomisés évalués par des pairs ainsi que d'études précliniques (McFarland, 2010). Cette levure est largement utilisée dans de nombreux pays comme agent

prophylactique et thérapeutique contre les diarrhées et divers troubles gastro-intestinaux, notamment ceux associés à l'utilisation d'agents antimicrobiens (Czerucka *et al.*, 2007).

2.3. Bactéries non lactiques

D'autres bactéries, présentant un métabolisme différent de celui des bactéries lactiques, sont également reconnues pour leur intérêt probiotique. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 ainsi que de bactéries sporulées telles que *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*.

Escherichia coli Nissle 1917 est une bactérie à Gram négatif non pathogène appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (Schultz *et al.*, 2008). Cette souche probiotique est largement étudiée pour ses effets bénéfiques sur l'homéostasie intestinale. Contrairement à d'autres souches d'*E. coli*, elle ne produit pas de facteurs de virulence et n'induit pas de dommages au niveau de l'épithélium intestinal (Grozdanov *et al.*, 2004).

Elle est capable de stimuler la production de la bêta-défensine 2 humaine, une molécule essentielle dans le maintien de la barrière muqueuse, contribuant ainsi à limiter l'adhésion et l'invasion des bactéries pathogènes (Schlee *et al.*, 2007).

3. Critères de sélection des souches bactériennes potentiellement probiotiques

La sélection des souches bactériennes à potentiel probiotique repose sur un ensemble de critères de sécurité, fonctionnels et technologiques strictement définis (Marion *et al.*, 2018).

Sur le plan de la sécurité, la souche probiotique doit idéalement être isolée à partir du tractus gastro-intestinal d'un individu sain, être dépourvue de tout pouvoir pathogène et ne pas être associée à des pathologies. Elle ne doit pas présenter d'activité de déconjugaison des sels biliaires ni contenir de gènes transmissibles impliqués dans la résistance aux antibiotiques. En complément, la souche doit être correctement identifiée sur le plan taxonomique selon le Code international de nomenclature, ne pas posséder la capacité d'envahir l'épithélium intestinal et répondre au statut QPS (Qualified Presumption of Safety) défini par l'EFSA (Saarela *et al.*, 2000).

Les critères fonctionnels concernent principalement la capacité de la souche à survivre et à exercer son activité dans le tractus gastro-intestinal. Ainsi, elle doit présenter une tolérance à l'acidité gastrique, aux sels biliaires et aux enzymes digestives. Elle doit également être capable d'adhérer à l'épithélium intestinal afin de persister dans le tractus digestif et de produire de manière continue des substances bactéricides ou bactériostatiques.

En outre, elle doit exercer une immunomodulation sans induire de réponses pro-inflammatoires, tout en présentant une activité antagoniste vis-à-vis des micro-organismes pathogènes (Gagnon, 2007 ; Shokryzdan *et al.*, 2017 ; Marion *et al.*, 2018).

Enfin, les critères technologiques sont liés à l'applicabilité industrielle des souches probiotiques. Celles-ci doivent présenter de bonnes propriétés sensorielles, une résistance aux bactériophages, une viabilité suffisante au cours des procédés technologiques ainsi qu'une stabilité satisfaisante dans le produit fini et durant la période de stockage (Ebel *et al.*, 2012).

4. Mécanismes d'action des probiotiques

Parmi les études ayant démontré les effets bénéfiques de l'utilisation des probiotiques, différents mécanismes d'action ont été mis en évidence. Ceux-ci varient selon les caractéristiques spécifiques des souches probiotiques ainsi que les conditions environnementales auxquelles les micro-organismes sont exposés (Pereira *et al.*, 2022).

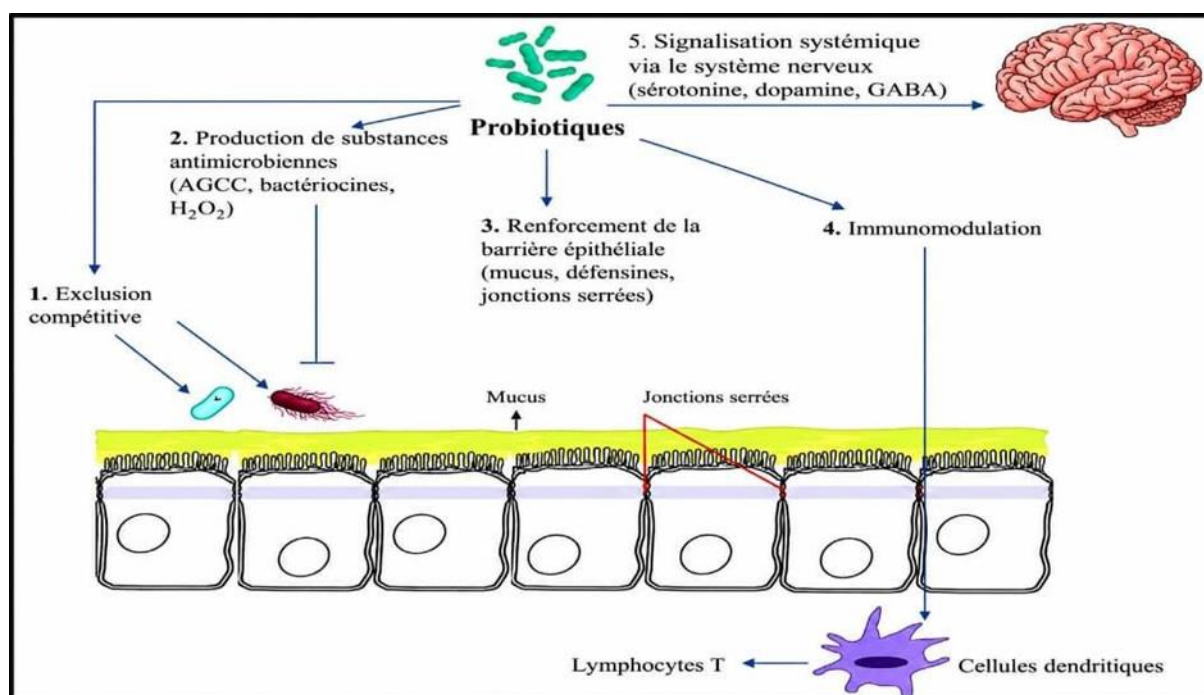


Figure 3 : Représentation schématique des mécanismes d'action des probiotiques dans l'organisme hôte (Latif *et al.*, 2023)

a. Digestion

Les probiotiques stimulent la synthèse et l'activité de diverses enzymes digestives, ce qui contribue à améliorer la digestion ainsi que l'absorption intestinale des nutriments. Cet effet peut être particulièrement bénéfique chez les individus présentant une production enzymatique insuffisante (Khushboo *et al.*, 2023).

b. Transit intestinal

Le temps de transit des aliments dans le tractus digestif dépend principalement de la motilité intestinale, en particulier celle du côlon. Une motricité intestinale efficace permet de limiter la prolifération excessive des bactéries indésirables. Ainsi, une accélération du transit peut contribuer à réduire le développement de micro-organismes pathogènes (**Dasriya et al., 2024**).

c. Modification du pH intestinal

Les bactéries lactiques exercent leur activité fermentaire en produisant des métabolites tels que le lactate et l'acétate. Ces composés acides entraînent une diminution du pH intestinal, créant un environnement défavorable à la croissance de certaines bactéries, notamment *Escherichia coli*, et réduisant ainsi leur potentiel pathogène (**Cela et al., 2023**).

d. Renforcement de la barrière épithéliale

Les probiotiques contribuent à l'amélioration de la fonction barrière de l'épithélium intestinal en stimulant la production de mucines, en limitant les dommages induits par les agents pathogènes et en réduisant la perméabilité intestinale. Ils participent également au renforcement de la barrière muqueuse par l'induction de peptides antimicrobiens, tels que les défensines (**Ayivi et al., 2020**).

e. Production de substances antimicrobiennes

Les probiotiques exercent leur action en produisant divers composés antimicrobiens capables de réduire la charge en micro-organismes pathogènes, notamment en perturbant leur métabolisme ou leur capacité à produire des toxines (**Nectoux et al., 2022**).

- **Acide lactique**

Les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique à partir de différentes sources de carbone, notamment les glucides simples. Par ailleurs, elles génèrent divers métabolites secondaires tels que les bactériocines, les exopolysaccharides et certaines enzymes, contribuant à l'inhibition de la croissance d'autres micro-organismes (**Silva et al., 2020**).

- **Bactériocines**

Les bactériocines sont des peptides ou protéines synthétisés par voie ribosomique, présentant une activité de type antibiotique. Leur mécanisme d'action repose principalement sur l'interaction avec la membrane cellulaire des bactéries cibles, où elles se fixent à des

récepteurs spécifiques et forment des pores. Cette perméabilisation membranaire entraîne la fuite du contenu intracellulaire et, in fine, la mort cellulaire (**Piquepaille et al., 2013**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques d'origine alimentaire suscitent un intérêt particulier en raison de leur potentiel en bioconservation naturelle des aliments (**Bouguerra et al., 2021**).

- **Peroxyde d'hydrogène**

Les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase, enzyme responsable de la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. Par conséquent, ce composé peut s'accumuler et exercer un effet inhibiteur sur divers micro-organismes, notamment par l'oxydation des lipides membranaires et l'altération des structures protéiques cellulaires (**Khodja et al., 2018**).

f. Signalisation via le système nerveux (axe intestin–cerveau)

Les probiotiques et les bactéries lactiques participent à la modulation de l'axe intestin–cerveau, un réseau de communication bidirectionnel reliant le microbiote intestinal au système nerveux central. Cette interaction repose sur plusieurs voies complémentaires, notamment neuronales, immunitaires et métaboliques, permettant au microbiote d'interagir avec l'hôte (**Cryan et al., 2019**).

Sur le plan neuronal, certaines souches probiotiques sont capables d'influencer la synthèse, la disponibilité et le métabolisme de plusieurs neurotransmetteurs, notamment la sérotonine, la dopamine et l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (**Strandwitz, 2018 ; Latif et al., 2023**).

La modulation de ces médiateurs neuroactifs est liée à l'activité métabolique du microbiote intestinal ainsi qu'à l'influence exercée sur le métabolisme du tryptophane et la disponibilité des précurseurs des catécholamines. Par ailleurs, certaines espèces appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont capables de produire ou de stimuler la production de GABA, contribuant ainsi à la signalisation neurochimique entre l'intestin et le cerveau (**Strandwitz, 2018 ; Cryan et al., 2019**).

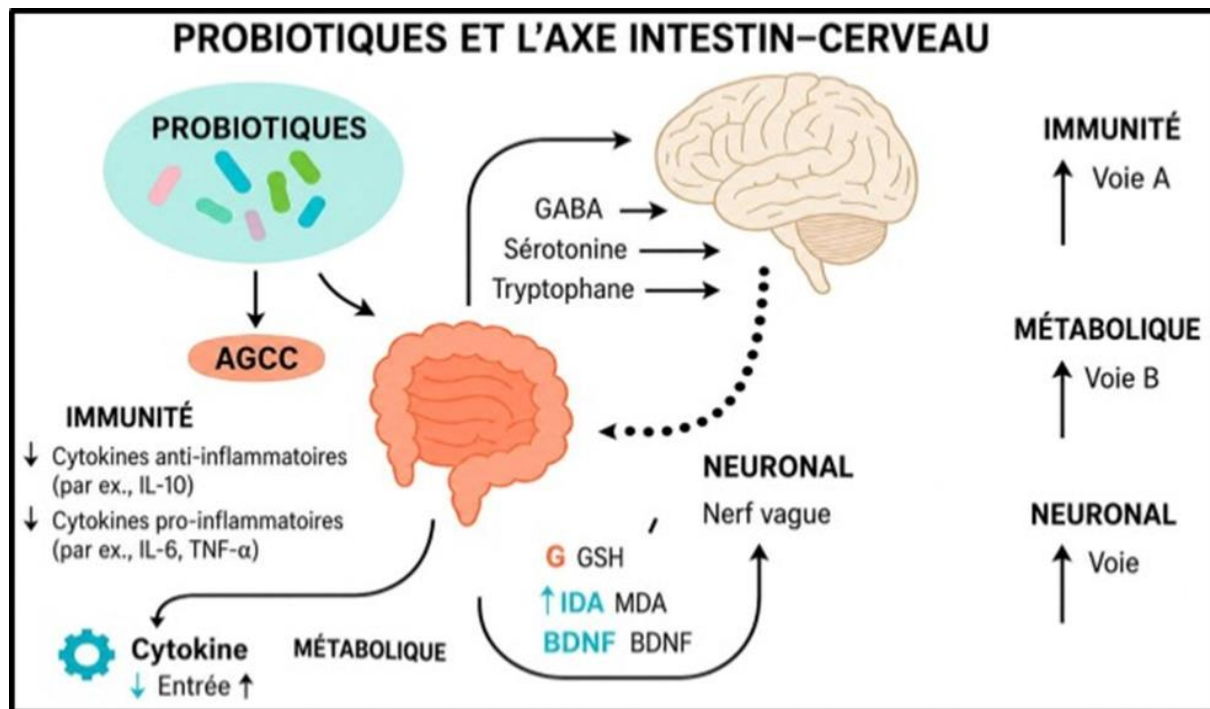


Figure 4 : Mécanismes d'action des probiotiques dans la modulation de l'axe intestin-cerveau par les voies neuronale, immunitaire et métabolique (Shokr *et al.*, 2025)

Les probiotiques interviennent également dans la communication intestin–cerveau par des mécanismes immunitaires. Plusieurs souches modulent la réponse immunitaire en favorisant la production de cytokines anti-inflammatoires, telles que l’interleukine-10 (IL-10), tout en limitant l’expression de cytokines pro-inflammatoires, notamment l’interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α). Cette régulation participe à la modulation des signaux immunitaires susceptibles d’influencer les fonctions nerveuses centrales (**Dinan et Cryan, 2017 ; Cryan *et al.*, 2019**).

Les mécanismes métaboliques constituent également une voie majeure de communication. Les probiotiques favorisent la production de métabolites microbiens bioactifs, en particulier les acides gras à chaîne courte (AGCC), tels que l'acétate, le propionate et le butyrate. Ces métabolites contribuent au maintien de l'intégrité de la barrière intestinale, à la régulation de la perméabilité épithéliale et à la transmission de signaux métaboliques vers différents organes, y compris le cerveau. Le butyrate est notamment impliqué dans la modulation de l'expression génique par inhibition des histones désacétylases (Dalile *et al.*, 2019 ; Silva *et al.*, 2020).

Enfin, certaines données suggèrent que les probiotiques peuvent intervenir dans la régulation de l'équilibre redox et de la neuroplasticité par la modulation de biomarqueurs

tels que le glutathion réduit (GSH), le malondialdéhyde (MDA) et le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) (Bercik *et al.*, 2011 ; Westfall *et al.*, 2017).

Ainsi, les probiotiques modulent l'axe intestin-cerveau par l'intermédiaire de voies neuronales, immunitaires et métaboliques étroitement interconnectées, impliquant des neurotransmetteurs, des cytokines et divers métabolites microbiens bioactifs (Carabotti *et al.*, 2015 ; Cryan *et al.*, 2019).

5. Applications thérapeutiques potentielles des probiotiques dans les maladies associées aux axes microbiote-organe

Les probiotiques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs effets bénéfiques potentiels sur de nombreuses fonctions physiologiques et pathologiques. Au-delà de leur rôle dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal, leurs effets s'étendent à différents organes via plusieurs axes de communication impliquant le système immunitaire, le métabolisme de l'hôte et les interactions microbiennes. Les données actuelles suggèrent que les probiotiques peuvent contribuer à la prévention ou à l'amélioration de diverses affections respiratoires, neurologiques, cardiovasculaires, dermatologiques et métaboliques (Markowiak et Śliżewska, 2017).

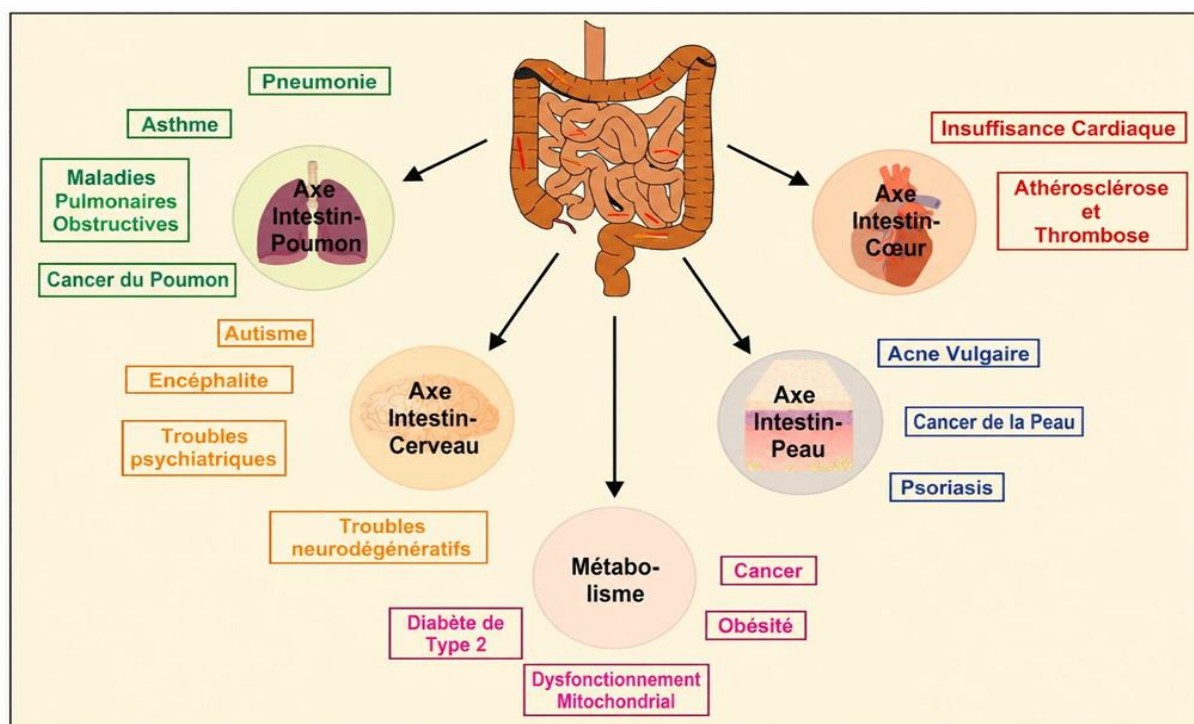


Figure 5 : Applications des probiotiques dans le traitement des maladies humaines (Wicërs *et al.*, 2020 ; Chandrasekaran *et al.*, 2024)

5.1. Axe intestin–poumon

L'axe intestin–poumon représente un système de communication bidirectionnel reliant le microbiote intestinal à l'immunité respiratoire. Plusieurs études ont montré que certaines souches de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* peuvent réduire l'incidence ou la sévérité de certaines infections respiratoires ainsi que moduler les réponses inflammatoires impliquées dans l'asthme et les maladies pulmonaires obstructives chroniques (Enaud *et al.*, 2020 ; Huang *et al.*, 2022).

Les probiotiques sont également étudiés comme adjuvants potentiels dans certaines pathologies pulmonaires, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour confirmer leur efficacité clinique.

5.2. Axe intestin–cerveau

L'implication du microbiote intestinal dans la communication avec le système nerveux central a conduit au développement du concept de psychobiotiques. Plusieurs essais cliniques rapportent une amélioration de certains symptômes liés au stress, à l'anxiété et à la dépression après administration de probiotiques spécifiques. Des effets potentiellement favorables ont également été suggérés dans certains troubles neurodéveloppementaux et neurodégénératifs, notamment par la modulation de l'inflammation systémique et du métabolisme microbien (Cryan *et al.*, 2019 ; Morais *et al.*, 2021).

Toutefois, les preuves cliniques demeurent encore limitées pour certaines pathologies neurologiques complexes.

5.3. Axe intestin–cœur

Le microbiote intestinal participe à la régulation de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire. Certaines souches probiotiques ont démontré leur capacité à réduire modérément les concentrations de cholestérol total et de cholestérol LDL, ainsi qu'à améliorer certains marqueurs inflammatoires associés à l'athérosclérose. Ces effets pourraient contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires, bien que les résultats varient selon les souches et les populations étudiées (Tang et Hazen, 2017 ; Sanchez *et al.*, 2020).

5.4. Axe intestin–peau

Les interactions entre le microbiote intestinal et la peau constituent le fondement de l'axe intestin–peau. Des études suggèrent que les probiotiques peuvent contribuer à l'amélioration de certaines affections dermatologiques inflammatoires telles que l'acné

vulgaire, la dermatite atopique et le psoriasis, notamment grâce à leur capacité à moduler les réponses immunitaires et l'inflammation systémique (**Mahmud *et al.*, 2022**).

Cependant, leur utilisation dans les pathologies cutanées nécessite encore des investigations cliniques complémentaires.

5.5. Effets sur le métabolisme

Les bénéfices métaboliques des probiotiques figurent parmi les domaines les plus étudiés. Plusieurs travaux rapportent des effets favorables sur la régulation de la glycémie, la sensibilité à l'insuline, le contrôle du poids corporel et certains paramètres du syndrome métabolique. Chez les patients atteints de diabète de type 2 ou d'obésité, l'administration de probiotiques a été associée à une amélioration modérée de plusieurs marqueurs métaboliques. Ces observations suggèrent un rôle potentiel des probiotiques dans la prévention et la prise en charge complémentaire des troubles métaboliques (**Koutnikova *et al.*, 2019 ; Ayesha *et al.*, 2023**).

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériels et Méthodes

1. Isolement des bactéries lactiques

1.1. Préparation des échantillons

La présente étude porte sur l'analyse de différents produits laitiers fermentés traditionnels algériens, à savoir le lait de vache fermenté, le Lben, le lait de brebis, le fromage frais et le lait de chamelle. Ces échantillons ont été collectés dans cinq régions d'Algérie, détaillées dans le **Tableau 3**.

La collecte du lait cru a été effectuée dans le respect strict des règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie. Elle a consisté en un lavage et un rinçage des pis de chamelle et de vache à l'eau javellisée, suivis de l'élimination des premiers jets de lait. Le lait cru a ensuite été recueilli dans des flacons stériles préalablement étiquetés.

Les échantillons de produits laitiers ont été immédiatement conservés à 4 °C, puis transportés au laboratoire dans un récipient isotherme afin d'être analysés dès leur arrivée. Les échantillons solides ont été homogénéisés dans de l'eau peptonée stérile, à raison de 1 g d'échantillon pour 9 mL de diluant. Des dilutions décimales successives ont ensuite été réalisées jusqu'à 10^{-7} , conformément au protocole décrit par **Endo et al., (2024)**.

Tableau 3 : Provenance des échantillons

Origine	Produit	Animal
Aïn Témouchent	Lait fermenté	Vache
Aïn Témouchent	Fromage frais	
Aïn Témouchent	Lben	
Chlef	Lben	
Chlef	Lait fermenté	
Biskra	Lait	Brebis
Oran	Fromage frais	Chevre
Touggourt	Lait	Chamelle

2. Isolement sur milieux sélectifs

2.1. Milieux de culture et conditions de croissance

Les bactéries lactiques ont été cultivées sur des milieux de culture spécifiques, disponibles sous forme liquide ou solide. Les milieux solides ont été obtenus par addition de 15 g/L d'agar aux milieux liquides correspondants.

Deux milieux de culture ont été utilisés en fonction de la nature des micro-organismes ciblés. Le milieu MRS (de Man, Rogosa et Sharpe) a été employé pour l'isolement et la culture des bactéries lactiques, en particulier les lactobacilles (**De *et al.*, 1960 ; Axelsson, 2004**). Le milieu M17 a été utilisé préférentiellement pour la culture des bactéries lactiques cocciques, notamment les lactocoques et les streptocoques (**Terzaghi et Sandine, 1975 ; Mathur et Singh, 2005**).

L'ensemble des milieux a été stérilisé à 120 °C pendant 20 minutes. La composition détaillée de ces milieux est présentée en (**Annexe 1**)..

2.2. Procédure d'isolement

Pour chaque dilution préparée, un volume de 0,1 mL a étéensemencé en double sur gélose MRS et sur gélose M17. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 48 à 72 heures, dans des conditions microaérophiles (**Zhao *et al.*, 2024**).

2.3. Purification des isolats

Après incubation, les colonies présentant des morphologies macroscopiques distinctes ont été sélectionnées sur la base de leurs caractéristiques visuelles. Elles ont ensuite été purifiées par repiquages successifs sur gélose MRS afin d'obtenir des cultures pures et homogènes.

3. Conservation des souches purifiées

3.1. Conservation à courte durée

Les souches purifiées ont été ensemencées sur un milieu mixte incliné, puis incubées à 30 °C pendant 24 h. Après incubation, elles ont été conservées à 4 °C au réfrigérateur. Afin de maintenir leur viabilité et leurs caractéristiques physiologiques, un repiquage a été réalisé toutes les quatre semaines.

3.2. Conservation à longue durée

Le milieu de conservation est constitué de 70 % de lait écrémé, enrichi avec 0,05 % d'extrait de levure et 0,05 % de glucose, ainsi que de 30 % de glycérol. Les souches sont d'abord centrifugées à 4000 tours/min pendant 10 min. Le surnageant est ensuite éliminé, puis 5 mL du mélange de conservation sont ajoutés au culot bactérien. La suspension obtenue est répartie dans des tubes Eppendorf et conservée à -20 °C (**Badis *et al.*, 2006**).

4. Identification des bactéries lactiques

4.1. Identification morphologique

L'identification des bactéries lactiques a été réalisée sur la base de critères morphologiques, complétée par divers tests biochimiques et physiologiques.

L'ensemble des essais a été effectué sur un milieu de culture ajusté à pH 6,2, préalablement stérilisé et ensemencé à l'aide d'une culture jeune obtenue après 18 h de croissance en bouillon mixte. Chaque test a été interprété en comparaison avec un témoin non inoculé, incubé dans les mêmes conditions de température.

Après incubation et développement des souches, l'observation des colonies a été réalisée à l'aide d'une loupe. Les caractéristiques macroscopiques, notamment la taille, la forme et la couleur des colonies, ont été relevées sur milieu solide. Par ailleurs, l'apparition de troubles ou d'altérations de la limpidité du bouillon mixte a également été examinée afin d'évaluer la croissance bactérienne (**Badis *et al.*, 2006**).

4.1.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique a permis d'évaluer le diamètre, la pigmentation ainsi que l'aspect des colonies. Les colonies obtenues ont été observées à la loupe binoculaire afin de déterminer leurs caractères culturels, notamment la taille, la forme et la couleur (**Hassaine *et al.*, 2013 ; Joffin et Leyral *et al.*, 2006**).

4.1.2. Examen microscopique

Après l'étude macroscopique, des colonies isolées présentant une morphologie caractéristique ont été prélevées à partir de chaque boîte de Pétri. Ces colonies ont ensuite été soumises à un examen microscopique permettant d'observer la morphologie cellulaire, leur taille ainsi que leur mode de regroupement.

4.2. Identification physiologique et biochimique

4.2.1. Coloration de Gram (méthode au KOH)

La réaction de Gram des isolats a été déterminée par le test rapide au KOH à 3 %, selon **Buck (1982)**. Cette méthode repose sur une lyse différentielle des bactéries : les bactéries à Gram négatif libèrent leur ADN en présence de KOH, formant un filament visqueux, tandis que les bactéries à Gram positif ne sont pas affectées en raison de leur paroi riche en peptidoglycane (**Halebian et al., 1981**).

Le test consiste à mélanger une colonie fraîche (24 à 48 h) avec une goutte de solution de KOH sur une lame. La formation d'un filament en moins de 30 secondes indique un résultat positif (Gram négatif), tandis que l'absence de filament correspond à un résultat négatif (Gram positif) (**Halebian et al., 1981 ; Buck et al., 1982**).

4.2.2. Test de la catalase

Le test de la catalase permet de mettre en évidence l'enzyme catalase, responsable de la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène, observée par un dégagement de bulles (**Khatoon et al., 2022**).

Une colonie fraîche est mise en contact avec une solution de peroxyde d'hydrogène à 3 %. L'apparition de bulles traduit un résultat positif, tandis que l'absence de réaction correspond à un résultat négatif. Les bactéries lactiques présentent généralement un résultat négatif (**Khatoon et al., 2022**).

4.2.3. Test de l'oxydase

Le test de l'oxydase met en évidence la présence de la cytochrome c oxydase, enzyme impliquée dans la chaîne respiratoire et responsable de l'oxydation du réactif TMPD, conduisant à l'apparition d'une coloration violette (**Chavan et al., 2022**).

Les colonies sont déposées sur un papier filtre imbibé de réactif. L'apparition d'une coloration violette en moins de 30 secondes indique un résultat positif, tandis que l'absence de coloration correspond à un résultat négatif, caractéristique des bactéries lactiques (**Chavan et al., 2022**).

4.3. Caractérisation physiologique

4.3.1. Type fermentaire

La capacité de production de gaz a été évaluée en milieu MRS-glucose à l'aide de tubes de Durham, incubés à 37 °C pendant 48 h. La présence de CO₂ a permis de distinguer les souches homofermentaires des souches hétérofermentaires (**Tadesse *et al.*, 2022 ; Kaur *et al.*, 2023**).

4.3.2. Croissance à différentes températures

La tolérance des isolats à différentes températures a été évaluée afin de déterminer leur profil mésophile ou thermophile. La croissance à 15 °C et 45 °C a été utilisée comme critère d'identification des isolats bacillaires, tandis que la croissance à 10 °C et 45 °C a été retenue pour les isolats cocciques.

Pour cette étude, 10 mL de bouillon nutritif supplémenté en glucose à 1 % ont été utilisés comme milieu de culture pour les bactéries lactiques. La croissance bactérienne a été considérée comme positive en présence d'une turbidité visible après incubation. Les cultures ont été incubées à 10 °C, 15 °C, 37 °C et 45 °C pendant 72 h, selon le protocole décrit par **Goa *et al.* (2022)**.

4.3.3. Croissance à différents pH

La tolérance des isolats à différentes valeurs de pH a été déterminée par inoculation dans du bouillon MRS ajusté aux pH 4,4 ; 6,5 et 9,6 à l'aide de solutions stériles de HCl et de NaOH. Les cultures ont été incubées à 37 °C pendant 48 à 72 h. La croissance a été considérée comme positive en présence d'une turbidité visible après incubation.

La croissance à pH 9,6 a été utilisée notamment pour différencier les entérocoques des lactocoques, ces derniers étant généralement incapables de se développer à ce pH (**Badis *et al.*, 2005 ; Goa *et al.*, 2022**).

4.3.4. Tolérance au NaCl

Les souches ont été testées pour leur capacité de croissance sur milieu MRS contenant différentes concentrations de NaCl (2 %, 4 % et 6,5 %), afin d'évaluer leur tolérance au sel (**Hassan *et al.*, 2023**). Par ailleurs, l'adaptation aux conditions de pH extrêmes a été évaluée à pH 4,4 et pH 9,6 (**Bekhouché *et al.*, 2022**).

4.3.5. Recherche de la sporulation

La capacité de sporulation a été évaluée par coloration différentielle de Schaeffer-Fulton après 72 h de culture. L'absence de spores confirme le caractère non sporulé des bactéries lactiques étudiées (Jarocki *et al.*, 2020).

5. Étude des caractères biotechnologiques

5.1. Activité protéolytique

L'activité protéolytique des souches a été évaluée sur un milieu Dextrose Tryptone Agar (DTA) supplémenté en lait écrémé stérile (**Annexe 1**). Après préparation et solidification du milieu dans des boîtes de Pétri stériles, les souches ont été ensemencées par dépôt ponctuel à la surface de la gélose, puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h.

L'activité protéolytique a été mise en évidence par l'apparition de zones d'hydrolyse autour des colonies. La présence d'un halo clair a été interprétée comme un résultat positif, tandis que son absence correspond à une activité négative (Kaktcham *et al.*, 2019 ; Gao *et al.*, 2022 ; Bekhouche *et al.*, 2022).

5.2. Activité acidifiante

L'activité acidifiante a été évaluée sur un milieu à base de lait écrémé supplémenté en bromocrésol pourpre, utilisé comme indicateur de pH. Les souches ont été inoculées puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. L'activité acidifiante a été déterminée par le changement de coloration du milieu, traduisant la production d'acides organiques.

5.3. Activité lipolytique

L'activité lipolytique a été recherchée sur un milieu MRS supplémenté en Tween 80 (1 % v/v). Les souches ont été inoculées à la surface du milieu, puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h.

Après incubation, l'activité lipolytique a été évaluée par l'observation de modifications autour des colonies, notamment la formation de halos opaques, de précipités ou de zones d'éclaircissement. L'absence de modification visible a été interprétée comme un résultat négatif (Tulini *et al.*, 2016 ; Kaktcham *et al.*, 2019 ; Gao *et al.*, 2022).

5.4. Production d'exopolysaccharides (EPS)

La production d'exopolysaccharides (EPS) a été évaluée sur gélose MRS supplémentée en saccharose (5 %, p/v) et en Rouge Congo (0,8 g/L). Après stérilisation à 121 °C pendant 15

min et solidification du milieu, les souches ont été ensemencées par stries puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h.

L'interprétation des résultats a été réalisée sur la base de la morphologie des colonies. Les colonies noires à aspect sec ou rugueux ont été considérées comme productrices d'EPS, tandis que les colonies rouges à surface lisse ont été interprétées comme faiblement productrices ou non productrices (Guéhi *et al.*, 2023 ; Abdel-Aziz *et al.*, 2024).

5.5. Formation de biofilm

La capacité de formation de biofilm a été déterminée selon la méthode de coloration au cristal violet décrite par Stepanović *et al.* (2007). Chaque souche a été inoculée dans 5 mL de bouillon MRS, puis incubée à 37 °C pendant 24 à 48 h en conditions statiques.

Après incubation, le surnageant a été éliminé et les tubes ont été lavés trois fois avec du PBS (pH 7,2) (Annexe 3). Le biofilm adhérent a ensuite été coloré avec 1 mL de cristal violet à 0,1% pendant 15 min. L'excès de colorant a été éliminé, puis le colorant fixé a été solubilisé à l'aide de 1 mL d'éthanol à 96 %. L'absorbance a ensuite été mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

5.6. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des souches a été évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Les souches ont été cultivées dans du bouillon MRS à 37 °C pendant 18 à 24 h. Les cellules ont ensuite été récupérées par centrifugation, lavées deux fois avec du PBS (pH 7,2–7,4), puis remises en suspension à une concentration comprise entre 10⁷ et 10⁹ UFC/mL.

Un volume de 1 mL de suspension bactérienne a été mélangé à 3 mL de solution de DPPH (0,1–0,2 mM). Les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où : $A_{\text{contrôle}}$ correspond à l'absorbance de la solution de DPPH seule et $A_{\text{échantillon}}$ à l'absorbance du mélange contenant la suspension bactérienne.

6. Mise en évidence in vitro des propriétés probiotiques

6.1. Résistance aux conditions gastro-intestinales

6.1.1. Tolérance à l'acidité (pH 2–3)

La tolérance à l'acidité a été évaluée selon la méthode décrite par **Zhao et al., 2023**. Les cultures bactériennes ont été récoltées par centrifugation à 6000 g pendant 10 min, puis lavées deux fois avec du PBS (pH 7,4). Les culots cellulaires ont ensuite été remis en suspension dans du PBS ajusté à pH 2,0 et pH 3,0 à l'aide de HCl 1 M.

Les suspensions ont été incubées à 37 °C pendant 2 à 3 h sous agitation modérée. La viabilité bactérienne a été estimée par mesure de la densité optique (DO_{600}) avant et après incubation. Le pourcentage de survie a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de survie (\%)} = \frac{A_t}{A_0} \times 100$$

Où : A_0 correspond à la densité optique (DO_{600}) avant traitement et A_t à la densité optique après exposition au stress (acidité, sels biliaries ou digestion simulée). Les souches présentant un taux de survie supérieur à 80 % ont été considérées comme tolérantes à l'acidité (**Zhao et al., 2023**).

6.1.2. Tolérance aux sels biliaries

La tolérance aux sels biliaries a été déterminée dans du bouillon MRS supplémenté en oxgall à des concentrations de 0,1 %, 0,3 % et 0,5 % (p/v). Les souches ont été inoculées à raison de 1 % (v/v), puis incubées à 37 °C. (**Annexe 1**).

La croissance bactérienne a été suivie par mesure de la densité optique à 600 nm aux temps 0 h, 4 h, 8 h et 24 h. Le pourcentage de survie a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Survie bactérienne (\%)} = \frac{A}{A_0} \times 100$$

Où : A_0 représente l'absorbance du témoin et A_t l'absorbance mesurée en présence de sels biliaires (Yao *et al.*, 2025).

6.1.3. Étude de la résistance aux conditions gastro-intestinales simulées

La résistance aux conditions gastro-intestinales simulées a été évaluée selon le protocole INFOGEST adapté de Minekus *et al.* (2014) et Brodkorb *et al.* (2019).

La phase gastrique simulée (SGF) a été préparée à partir de NaCl et de pepsine porcine (2000 U/mL), avec ajustement du pH à 3,0 à l'aide de HCl 1 M. Les cultures bactériennes ont été mélangées au SGF dans un rapport 1:1 (v/v), puis incubées à 37 °C pendant 120 min sous agitation à 95 rpm.

Après incubation, le milieu a été neutralisé à pH 7,0 à l'aide de NaOH 1 M. La phase intestinale simulée (SIF) a été préparée à partir d'une solution électrolytique (Annexe 2), complétée par de la trypsine (100 U/mL) et des sels biliaires à une concentration finale de 0,3 %.

Les suspensions ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 2 à 4 h sous agitation douce. Toutes les solutions ont été stérilisées par filtration sur membrane de 0,22 µm.

La survie bactérienne a été évaluée par mesure de la densité optique à 600 nm avant et après chaque étape de digestion simulée.

7. Capacité d'adhésion

7.1. Hydrophobicité (test MATH)

L'hydrophobicité de surface des souches a été déterminée par le test d'adhésion microbienne aux hydrocarbures (MATH) selon la méthode décrite par Zhao *et al.*, 2023. Les cellules bactériennes ont été récoltées par centrifugation puis remises en suspension dans du PBS (Annexe 2). La densité optique initiale de la suspension (A_0) a été ajustée à environ 0,6 à 600 nm.

Trois millilitres de suspension bactérienne ont été mélangés séparément à 1 mL de xylène ou de chloroforme. Après agitation au vortex pendant 2 min, les mélanges ont été laissés au repos pendant 20 min afin de permettre la séparation des phases.

La densité optique de la phase aqueuse résiduelle (A_t) a ensuite été mesurée à 600 nm. Le pourcentage d'hydrophobicité a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Hydrophobicité' (\%)} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Où : A_0 représente l'absorbance initiale et A_t l'absorbance après contact avec le solvant (Xu *et al.*, 2023).

Selon Zhao *et al.*, 2023, une hydrophobicité supérieure à 70 % est considérée comme forte, comprise entre 30 % et 70 % comme modérée, et inférieure à 30 % comme faible.

7.2. Auto-agrégation

La capacité d'auto-agrégation a été évaluée selon la méthode décrite par Zhao *et al.*, 2023. Les suspensions bactériennes ont été ajustées à une densité optique d'environ 0,5 à 600 nm (A_0) dans du PBS.

Les tubes ont été incubés à 37 °C sans agitation pendant 24 h. Des aliquotes de 100 µL ont été prélevées dans la partie supérieure de la suspension après 4 h et 24 h d'incubation afin de mesurer l'absorbance à 600 nm (A_t).

Le pourcentage d'auto-agrégation a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Auto-agrégation (\%)} = \left[1 - \frac{A_t}{A_0}\right] \times 100$$

Où : A_0 correspond à l'absorbance initiale et A_t à l'absorbance mesurée après incubation.

7.3. Co-agrégation

Le test de co-agrégation a été réalisé selon la méthode décrite par Abushelaibi *et al.* (2017). Les souches probiotiques ont été cultivées dans du bouillon MRS pendant 18 h, puis récupérées par centrifugation à 6000 rpm pendant 15 min. Les culots cellulaires ont ensuite été remis en suspension dans du PBS .

Les souches indicatrices *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ont été préparées selon le même protocole. Des volumes égaux de suspensions probiotiques et pathogènes ont été mélangés puis homogénéisés au vortex. L'absorbance initiale a été mesurée à 560 nm.

Les mélanges ont été incubés à 37 °C pendant 4 h. Après incubation, 0,5 mL du surnageant a été transféré dans 1,5 mL de PBS, puis l'absorbance a été mesurée à 560 nm.

Le pourcentage de co-agrégation a été calculé selon la formule décrite par Moovendran Srinivash *et al.*, 2023 :

$$\text{Co-agrégation (\%)} = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \times 100$$

8. Étude des critères de sécurité des souches

8.1. Test d'hémolyse

L'activité hémolytique des souches a été évaluée sur gélose Columbia Blood Agar supplémentée avec 5 % de sang de mouton. Les souches ont été ensemencées en surface, puis incubées à 37 °C pendant 48 h.

L'interprétation des résultats a été réalisée sur la base du type d'hémolyse observé autour des colonies : β -hémolyse (hémolyse complète), α -hémolyse (hémolyse partielle) et γ -hémolyse (absence d'hémolyse). Seules les souches présentant une γ -hémolyse ont été considérées comme sûres pour une utilisation probiotique (EFSA, 2018 ; Yao *et al.*, 2025).

8.2. Test de sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque (Kirby-Bauer), conformément aux recommandations du CLSI et de l'EFSA.

Une suspension bactérienne a été ensemencée uniformément à la surface d'une gélose MRS. Des disques d'antibiotiques appartenant à différentes classes ont ensuite été déposés sur le milieu. Chaque boîte a reçu sept disques d'antibiotiques, sélectionnés conformément aux recommandations de l'EFSA (2012).

Après incubation à 37 °C pendant 24 à 48 h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres. Les résultats ont été interprétés selon les critères de sensibilité et de résistance définis par l'EFSA (EFSA, 2018 ; EFSA, 2021).

Tableau 4 : Antibiotiques utilisés pour l'évaluation de la sensibilité des souches par la méthode de diffusion sur disque

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque
Ampicilline	AMP	10 µg
Streptomycine	S	300 µg
Gentamicine	GN	10 µg
Érythromycine	E	15 µg
Kanamycine	K	30 µg
Vancomycine	VA	30 µg
Tétracycline	TE	30 µg
Chloramphénicol	C	30 µg

8.3. Activité antimicrobienne des isolats lactiques contre des souches pathogènes

L'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques a été évaluée par la méthode Spot-on-Lawn selon **Hierro *et al.*, 2023**. Les souches indicatrices *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ont été cultivées puisensemencées uniformément à la surface d'une gélose Mueller-Hinton (MH) à l'aide d'un écouvillon stérile.

Les cultures de bactéries lactiques ont été centrifugées afin d'obtenir des surnageants exempts de cellules. Un volume de 20 µL de chaque surnageant a été déposé à la surface des boîtes préalablementensemencées avec les souches indicatrices.

Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres. La présence d'un halo d'inhibition autour du dépôt a été considérée comme indicative de l'activité antimicrobienne des métabolites produits par les souches testées (**Yadav *et al.*, 2019 ; Hierro *et al.*, 2023**).

9. Identification par les galeries API 50 CHL et API 20 STREP

9.1. Galerie API 50 CHL

Les souches bactériennes **LB4, LA2 et VC2**, sélectionnées sur la base de leur réaction Gram positive ainsi que de leurs activités catalase et oxydase négatives, ont été identifiées à l'aide du système commercial API 50 CHL associé au milieu API 50 CHL Medium (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). Cette galerie standardisée permet d'évaluer l'utilisation de 49 substrats glucidiques et d'établir un profil métabolique caractéristique des bactéries lactiques.

L'identification a été réalisée conformément aux recommandations du fabricant. Les souches pures ont été cultivées sur gélose MRS pendant 24 h à 37 °C. Une suspension bactérienne a ensuite été préparée dans le milieu de suspension API jusqu'à obtention d'une turbidité équivalente à 2 McFarland. Cette suspension a servi à l'inoculation des cupules de la galerie API 50 CHL, lesquelles ont été recouvertes d'huile de paraffine stérile afin de garantir des conditions d'incubation anaérobies.

Les galeries ont été incubées à 37 °C pendant 48 h, avec des lectures effectuées après 24 h et 48 h d'incubation. La fermentation des hydrates de carbone a été mise en évidence par le virage du pourpre de bromocrésol du violet au jaune, tandis que l'hydrolyse de l'esculine s'est traduite par l'apparition d'une coloration noire.

Les profils biochimiques obtenus pour les souches **LB4, LA2 et VC2** ont été analysés à l'aide de la plateforme UPBM ([UPBM Identifieur](#)) afin de déterminer leur identité taxonomique.

9.2. Identification par galerie API 20 STREP

L'identification complémentaire de certaines souches a été réalisée à l'aide de la galerie API

20 STREP (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), un système standardisé destiné à la caractérisation biochimique des bactéries appartenant notamment aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. Cette galerie comprend 20 microtests permettant d'évaluer l'utilisation de différents glucides ainsi que diverses activités enzymatiques, notamment la production d'acétoïne (test VP) et l'activité arginine dihydrolase.

Huit souches présumées appartenir au genre *Enterococcus* (**LC3, LC9, LC10, FA3, FA6, LCT1**) ont été soumises à cette analyse. Les galeries ont été inoculées conformément

aux recommandations du fabricant puis incubées à 37 °C.

Après 4 h d'incubation, les réactifs VP1, VP2, NIN, ZYMA 1 et ZYMA 2 ont été ajoutés dans les cupules correspondantes. Une première lecture a été effectuée après 10 min, suivie d'une seconde lecture après 24 h d'incubation. Les changements de coloration observés ont été interprétés selon le guide du fabricant afin d'établir le profil biochimique de chaque souche et de permettre leur identification (bioMérieux) .

Résultat et Discussion

1. Isolement et purification des bactéries lactiques

1.1. Résultats d'isolement

Après incubation à 37 °C pendant 48 à 72 heures en conditions microaérophiles, des colonies présentant des caractéristiques morphologiques typiques des bactéries lactiques ont été observées sur les deux milieux gélosés utilisés. Au total, 46 isolats ont été retenus sur la base de leur coloration Gram positive (**Annexe 3**), de l'absence d'activité catalase et de la réaction oxydase négative, conformément aux critères de présélection des bactéries lactiques établis par (**Goa et al., 2022**).

Ces 46 isolats de bactéries lactiques ont été obtenus à partir des différents échantillons analysés. La répartition des souches selon leur origine est présentée comme suit : le lait de vache fermenté provenant d'Aïn Témouchent constitue la source la plus productive avec 11 souches isolées, suivi du Lben de Chlef (10 souches). Le lait de vache fermenté de Chlef a permis l'obtention de sept souches, tandis que le lait de brebis de Biskra et le fromage frais d'Aïn Témouchent ont fourni chacun six isolats. Enfin, le fromage frais d'Oran, le lait de chamelle de Touggourt ainsi que le Lben d'Aïn Témouchent ont contribué chacun à hauteur de deux isolats.

Tableau 5 : Répartition des isolats selon la source d'échantillonnage, la région d'origine et le milieu d'isolement

Source	Région	Milieu MRS	Milieu M17	Total isolats
Lait de vache fermenté	Aïn Témouchent	7	4	11
Lben	Chlef	6	4	10
Lait de vache fermenté	Chlef	4	3	7
Lait de brebis	Biskra	4	2	6
Fromage frais	Aïn Témouchent	3	3	6
Fromage frais	Oran	1	1	2
Lait de chamelle	Touggourt	1	1	2
Lben	Aïn Témouchent	1	1	2

2. Caractéristiques morphologiques

2.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des isolats cultivés sur milieux solides et liquides a mis en évidence des profils de croissance caractéristiques des bactéries lactiques (BL).

En milieu liquide, une turbidité homogène, nettement distincte du témoin négatif, a été observée dans l'ensemble des tubes d'incubation, traduisant une activité métabolique active ainsi qu'une prolifération cellulaire soutenue.

Sur milieux gélosés, les isolats ont présenté une diversité morphologique macroscopique importante, caractérisée par plusieurs types coloniaux : des colonies circulaires, bombées, lisses, de coloration blanchâtre et à contours réguliers ; des colonies de grande taille, convexes, blanchâtres et bien délimitées ; de petites colonies rondes, lisses et blanches ; ainsi que de très petites colonies translucides. L'analyse macroscopique des colonies a porté sur plusieurs critères morphologiques, notamment la couleur, la forme, la taille, l'élévation et la texture. Ces paramètres constituent des critères fondamentaux dans la sélection préliminaire des bactéries lactiques (BL) (Hatami *et al.*, 2022, cité dans (Anjum *et al.*, 2023)).



Figure 6 : Résultats de l'isolement des bactéries lactiques sur milieu mixte (MRS–M17) après 48 h d'incubation

2.2. Examen microscopique

L'observation microscopique a permis de mettre en évidence deux morphotypes cellulaires principaux parmi les isolats. Le premier correspond à des bacilles courts ou allongés, observés isolément, en amas ou en palissades. Le second est constitué de coques disposées en paires, en tétrades, en amas ou en courtes chaînes. Les bactéries lactiques (BL) se caractérisent par leur nature Gram positive et par une morphologie pouvant se présenter

sous forme de coques ou de bâtonnets (Mokoena, 2017, cité dans Stephen et Saleh, 2023). Ces observations concordent avec la description classique des BL, considérées comme des microorganismes immobiles et asporulés (Huligere *et al.*, 2023).

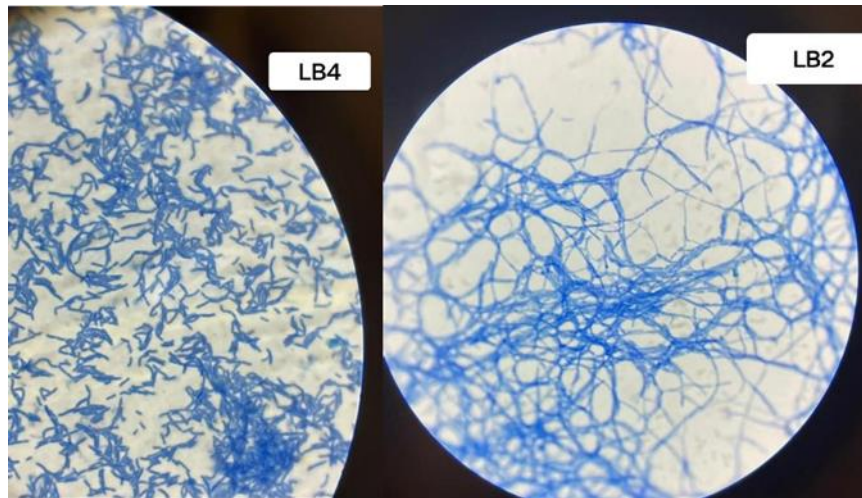


Figure 7 : Observation microscopique des souches *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4) et *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2) après coloration simple, à un grossissement de G×100

3. Conservation des souches

L'ensemble des souches isolées a été conservé avec succès à -20°C dans du bouillon MRS additionné de 18 % (v/v) de glycérol, conformément au protocole décrit par (Kaur *et al.*, 2023). Les tests de viabilité réalisés par repiquage sur gélose MRS ont montré une reprise normale de la croissance après décongélation pour toutes les souches. Aucune modification morphologique ou culturelle n'a été observée, ce qui indique une bonne stabilité des isolats ainsi qu'une conservation efficace de leurs caractéristiques durant la période d'étude.

4. Identification biochimiques et physiologiques des isolats

Cette section regroupe l'ensemble des tests biochimiques et physiologiques réalisés afin de caractériser les isolats et de confirmer leur appartenance au groupe des bactéries lactiques.

L'identification repose sur une approche polyphasique combinant des critères phénotypiques, métaboliques et physiologiques permettant une différenciation fiable des souches étudiées (Safi, 2023).

4.1. Test de Gram (KOH)

L'ensemble des isolats retenus a présenté une réaction Gram positive au test au KOH à 3 %. Seules les souches Gram positives présentant une morphologie de coques ou de bacilles

ont été conservées pour la suite de l'identification phénotypique. Les isolats se caractérisaient par une morphologie bacillaire, une réaction Gram positive ainsi que l'absence d'activité catalase, confirmant leur appartenance au groupe des bactéries lactiques (**Huligere et al., 2023**).

4.2. Test de catalase

Toutes les souches testées ont présenté une réaction catalase négative, mise en évidence par l'absence d'effervescence après l'ajout de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les bactéries lactiques sont reconnues pour être catalase négatives et oxydase négatives (**Mokoena, 2017, Stephen et Saleh, 2023**). Ce résultat confirme l'absence de l'enzyme catalase, caractéristique biochimique essentielle permettant de différencier les bactéries lactiques d'autres groupes bactériens (**Huligere et al., 2023**).

4.3. Test d'oxydase

L'ensemble des isolats s'est révélé oxydase négatif, traduisant l'absence de l'enzyme cytochrome oxydase. Ce résultat est cohérent avec le profil métabolique des bactéries lactiques, lesquelles ne possèdent pas de chaîne respiratoire complète. Les bactéries lactiques sont caractérisées par leur nature Gram positive ainsi que par des réactions négatives à la catalase et à l'oxydase (**Mokoena, 2017, Stephen et Saleh, 2023**).

4.4. Type fermentaire

Le type fermentaire a été déterminé à l'aide d'un milieu liquide équipé d'une cloche de Durham. Aucune des souches étudiées n'a produit de gaz, ce qui permet de les classer comme homofermentaires.

Les bactéries lactiques homofermentaires produisent principalement de l'acide lactique à partir du glucose via la voie glycolytique d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), tandis que les bactéries lactiques hétérofermentaires utilisent conjointement les voies EMP et phosphocétolase (PKP), entraînant la production de sous-produits tels que l'acétate, le CO_2 , l'éthanol ou le mannitol lors de la fermentation du fructose (**Stephen et Saleh, 2023**).

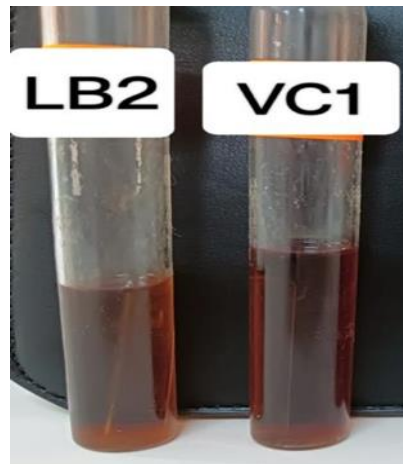


Figure 8 : Croissance de quelques souches homofermentaires dans le milieu liquide MRS

4.5. Croissance à différentes températures

La tolérance thermique constitue un critère taxonomique important permettant de différencier les bactéries lactiques mésophiles des thermophiles. Les isolats ont été testés à différentes températures (4, 10, 37, 45 et 50 °C) (Huligere *et al.*, 2023). Dans la présente étude, toutes les souches ont montré une croissance à 30 °C. La majorité a également présenté une croissance à 15 °C et à 45 °C, tandis que certaines souches ont montré une croissance plus limitée selon les températures testées. Au total, 52 souches ont démontré une capacité de croissance sur l'ensemble de la gamme thermique évaluée.

Les souches capables de croître à 45 °C sont considérées comme thermophiles, tandis que celles présentant une croissance optimale autour de 30 °C sont classées comme mésophiles (Huligere *et al.*, 2023 ; Safi, 2023).



Figure 9 : Résultats du test de croissance de quelques souches bactériennes à différentes températures dans le milieu liquide MRS

4.6. Croissance à différents pH

La capacité de croissance des isolats a été évaluée à pH 4,4 et pH 9,6. La majorité des souches a montré une croissance à pH 4,4. Une proportion importante s'est également développée à pH 9,6.

Certaines espèces appartenant au genre *Enterococcus* sont capables de survivre dans une large gamme de pH, allant de 2,0 à 9,5, et la croissance observée à pH 9,6 est fréquemment associée à ce genre (Safi, 2023).

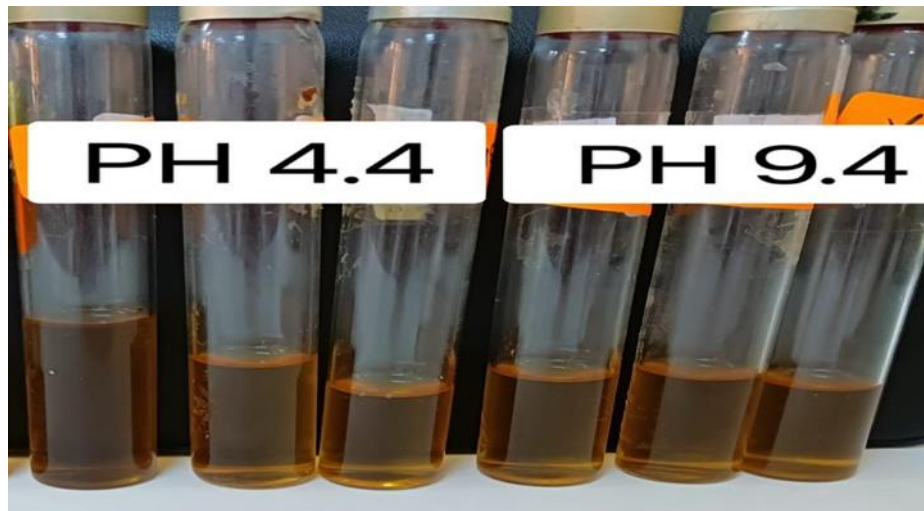


Figure 10 : Croissance de quelques souches bactériennes dans le milieu liquide MRS à pH 4,4 et à pH 9,6

4.7. Croissance à différentes concentrations en NaCl

Les souches ont été testées en présence de 4 % et 6,5 % de NaCl. La majorité d'entre elles a montré une bonne tolérance aux deux concentrations salines. La capacité de l'ensemble des isolats à résister à des concentrations élevées en NaCl (4 à 6,5 %) témoigne de leur aptitude à survivre dans des conditions environnementales défavorables (Jha *et al.*, 2022). Cette tolérance est notamment caractéristique des genres *Enterococcus* et *Pediococcus*, tandis que les genres *Lactococcus* et *Streptococcus* sont généralement plus sensibles à de fortes concentrations salines (Ndiaye *et al.*, 2024).

4.8. Test de sporulation

L'examen microscopique des 46 isolats après coloration de **Schaeffer-Fulton** n'a révélé la présence d'aucun endospore. Toutes les cellules observées présentaient une coloration rouge à rose, correspondant aux cellules végétatives, sans présence de structures vertes intra- ou extracellulaires caractéristiques des spores. Ainsi, l'ensemble des isolats (100 %) a été

identifié comme non sporulant.

Ce résultat est conforme aux caractéristiques phénotypiques des bactéries lactiques, connues pour être des bactéries Gram positives non sporulantes. L'absence de sporulation confirme l'appartenance probable des souches étudiées au groupe des bactéries lactiques et permet d'exclure la présence de bactéries sporulantes telles que les genres *Bacillus* et *Clostridium*. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Huligere et al., (2023)** et **Ndiaye et al., (2024)**, qui ont également observé l'absence d'endospores chez des bactéries lactiques isolées de produits fermentés traditionnels

5. Étude des caractéristiques biotechnologiques

5.1. Pouvoir acidifiant

L'activité acidifiante constitue l'une des fonctions majeures des bactéries lactiques et joue un rôle déterminant dans la coagulation du lait. Ce processus peut résulter soit de la fermentation du lactose en acide lactique, entraînant une diminution du pH et la coagulation du lait, soit de l'intervention de systèmes enzymatiques, notamment des enzymes protéolytiques, contribuant indirectement à ce phénomène.

Ce test permet une estimation qualitative de l'activité acidifiante. Un résultat positif se manifeste par un changement de coloration du milieu, passant du pourpre au jaune, en raison de l'acidification liée à la production d'acide lactique. Cette réaction s'accompagne également de l'apparition d'un halo jaunâtre autour des colonies préalablement ensemencées en stries ou en plages. La lecture des résultats est réalisée après une incubation de 24 à 48 heures à 30 °C (**Guiraud, 1998**).

Selon **Bourgeois et Larpent, (1996)**, l'acidité titrable correspond à l'expression de l'acidité développée dans le lait à la suite de la fermentation du lactose en acide lactique.

Dans la présente étude, les conditions de fermentation ont été maintenues identiques pour l'ensemble des souches. Par conséquent, les différences observées au niveau du pouvoir acidifiant reflètent la spécificité intrinsèque de chaque souche. Cette variabilité inter-souches a également été rapportée par (**Badis et al., 2004**), soulignant que l'activité acidifiante dépend fortement du potentiel métabolique propre à chaque isolat.

5.2. Étude de l'activité protéolytique

Les résultats obtenus révèlent une importante variabilité de l'activité protéolytique entre les souches, traduisant des capacités enzymatiques différenciées. En effet, certaines souches

présentent une activité élevée (+++), tandis que d'autres affichent une activité moyenne (++), faible (+) ou nulle (-). Cette hétérogénéité est en accord avec les travaux de (**Giraffa *et al.*, 2001**) et (**Domingos *et al.*, 2017**), qui ont mis en évidence que le pouvoir protéolytique des bactéries lactiques constitue un caractère fortement variable, aussi bien entre espèces qu'au sein d'une même espèce.

Sur le plan technologique, l'activité protéolytique représente une fonction majeure chez les bactéries lactiques. Le système protéolytique assure l'hydrolyse des protéines du lait en peptides et en acides aminés, indispensables à la croissance bactérienne dans des milieux pauvres en azote assimilable. Par ailleurs, cette activité contribue de manière significative au développement des caractéristiques sensorielles des produits fermentés, notamment la texture, l'arôme et la saveur.

En outre, les peptides issus de l'hydrolyse protéique peuvent présenter diverses propriétés biologiques, telles que des activités antihypertensives, antioxydantes, immunomodulatrices ou antimicrobiennes, conférant ainsi une valeur fonctionnelle aux aliments fermentés. Ainsi, les souches présentant une activité protéolytique élevée pourraient être valorisées en tant que cultures starters ou candidates probiotiques, en raison de leur potentiel à améliorer à la fois les qualités nutritionnelles et sensorielles des produits fermentés.

Enfin, l'apparition d'une coloration jaunâtre du milieu traduit une acidification, associée à la production d'acide lactique, reflétant ainsi l'activité acidifiante des souches étudiées.

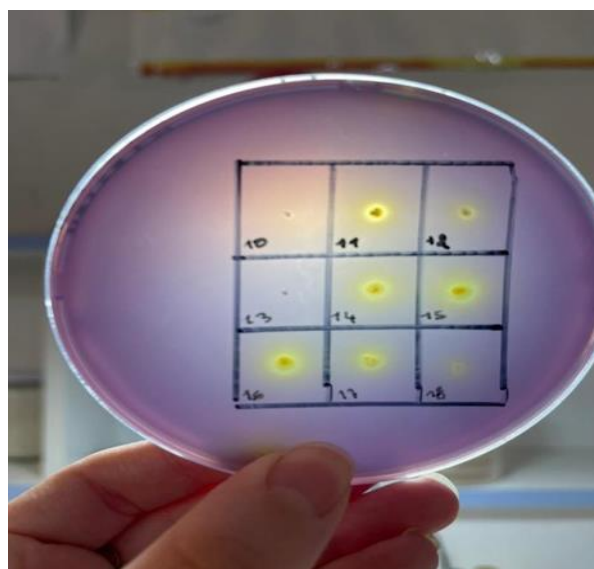


Figure 11 : Résultats de test de l'activité protéolytique et acidifiante de quelques souches testées

Tableau 6 : Répartition des souches selon leur niveau d'activité protéolytique et acidifiante

Niveau d'activité	Souches
Activité élevée (+++)	VA11, VC1, VC2, FA1, FA6, FO1
Activité moyenne (++)	VA1, VA2, VA3, VA4, VA6, LB1, LCT1
Activité faible (+)	VA9, LC6, VC3, LA1
Activité nulle (–)	VA5

5.3. Étude de l'activité lipolytique

L'activité lipolytique a été recherchée sur milieu MRS supplémenté en Tween 80 (1 % v/v). Les souches ont été inoculées à la surface du milieu puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. Aucune modification macroscopique n'a été observée autour des colonies après incubation, notamment sous forme de halos opaques, de précipités cristallins ou de zones d'éclaircissement. Ainsi, l'ensemble des 46 souches testées s'est révélé dépourvu d'activité lipolytique.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Pakroo *et al.* (2022)**, qui ont observé l'absence d'activités lipolytique, protéolytique et amylolytique chez plusieurs bactéries lactiques isolées de produits fermentés traditionnels, suggérant leur aptitude à être utilisées dans les fermentations alimentaires sans altérer la qualité des produits. De même, **Bouchibane *et al.* (2023)** ont montré que la majorité des bactéries lactiques isolées de produits laitiers artisanaux algériens étaient dépourvues d'activité lipolytique, seules quelques souches présentant une hydrolyse notable des lipides. Des observations similaires ont été rapportées par **Bensoltane *et al.* (2022)** lors de l'évaluation du potentiel biotechnologique de souches de bactéries lactiques isolées de différentes sources laitières algériennes.

L'absence d'activité lipolytique est généralement considérée comme un caractère technologique favorable pour les cultures starter et les souches probiotiques, car elle limite l'hydrolyse excessive des matières grasses susceptible d'entraîner l'apparition de composés responsables d'altérations organoleptiques indésirables. Ce résultat constitue ainsi un élément supplémentaire en faveur de l'innocuité et de l'aptitude technologique des souches étudiées pour des applications alimentaires potentielles.

Ces résultats suggèrent que ces souches pourraient présenter un intérêt technologique potentiel pour les applications fermentaires et la valorisation des produits laitiers.

5.4. Étude de la production des exopolysaccharides (EPS)

Les exopolysaccharides (EPS) jouent un rôle important dans les propriétés immunomodulatrices des bactéries lactiques et contribuent également aux caractéristiques technologiques des produits laitiers fermentés, notamment la texture et la viscosité (**Zannini et al., 2016**). Ainsi, leur production constitue un critère fonctionnel essentiel dans la sélection des souches à potentiel probiotique (**Tiwari et Srivastava, 2008**).

Les résultats obtenus sur gélose Rouge Congo ont mis en évidence une variabilité importante de la capacité de production d'EPS et de formation de biofilm entre les souches étudiées. Certaines souches ont présenté des colonies noires à aspect rugueux, indiquant une forte production d'exopolysaccharides et une capacité élevée de formation de biofilm. À l'inverse, d'autres souches ont développé des colonies rouges et lisses, traduisant une production d'EPS limitée.

Ces observations suggèrent que les souches présentant une forte production d'EPS pourraient posséder un meilleur potentiel d'adhésion et de colonisation des surfaces biologiques, renforçant ainsi leur intérêt en tant que candidates probiotiques.

5.5. Production de biofilm

Les résultats obtenus par la méthode au cristal violet mettent en évidence une variabilité importante de la capacité de formation de biofilm entre les souches étudiées. La souche LC6 présente la valeur d'absorbance la plus élevée à 570 nm (0,807), indiquant une forte capacité de formation de biofilm. À l'inverse, les souches VA1 et LC8 (*Enterococcus faecium*) présentent des valeurs faibles (0,097 et 0,072), suggérant une capacité d'adhésion limitée. Les souches FO2, FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) et LB6 affichent également de faibles niveaux de biofilm, traduisant une production réduite de matrice extracellulaire.

Ces résultats mettent en évidence l'hétérogénéité des propriétés d'adhésion et de production de substances extracellulaires chez les bactéries lactiques étudiées. Cette variabilité inter-souches est largement rapportée dans la littérature et constitue une caractéristique majeure des bactéries lactiques. Ainsi, **Yao et al. (2025)** ont montré que, parmi 90 isolats de bactéries lactiques issus d'aliments fermentés traditionnels, seules huit souches présentaient une forte capacité de formation de biofilm, confirmant l'existence d'une importante diversité phénotypique au sein de ce groupe bactérien.

Les faibles valeurs observées pour les souches d'*Enterococcus faecium* sont cohérentes avec les travaux de **Schaffer et Hutchison (2023)** ainsi que de **Nair et al. (2024)**, qui ont rapporté une forte variabilité de la capacité de formation de biofilm chez les entérocoques. Ces auteurs soulignent que cette propriété dépend non seulement de la souche mais également des conditions environnementales et de l'expression de facteurs d'adhésion spécifiques.

De même, la faible capacité de formation de biofilm observée chez la souche FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) est en accord avec les résultats de **Radziwill et al. (2016)**, qui ont montré que l'adhésion de cette sous-espèce dépend de déterminants moléculaires de surface spécifiques. L'absence ou la faible expression de ces facteurs peut expliquer les faibles niveaux d'adhésion observés chez certains isolats.

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que certaines espèces de bactéries lactiques, notamment *Lactocaseibacillus rhamnosus* et *Lactiplantibacillus plantarum*, possèdent généralement une aptitude élevée à former des biofilms. **Rezaei et al. (2021)** ont montré que ces espèces développent des biofilms capables de renforcer leur activité antagoniste vis-à-vis de microorganismes pathogènes. De même, **Huijboom et al. (2024)** ont souligné que la structure du biofilm et la résistance au stress chez *L. plantarum* sont fortement influencées par les caractéristiques propres à chaque souche. **Yao et al. (2025)** ont également identifié un isolat de *Lactiplantibacillus plantarum* parmi les meilleurs producteurs de biofilm issus de produits fermentés traditionnels.

Concernant les souches du genre *Leuconostoc*, la littérature rapporte également une importante diversité phénotypique. **Joshi et al. (2026)** ont mis en évidence des différences significatives entre isolats quant à la production d'exopolysaccharides (EPS), à l'architecture du biofilm et aux mécanismes d'assemblage de la matrice extracellulaire. Ces observations confirment que la capacité de formation de biofilm est un caractère fortement dépendant de la souche.

Enfin, la formation de biofilm est considérée comme un avantage adaptatif majeur pour les bactéries lactiques. Selon **Mgomi et al. (2023)**, les biofilms favorisent la persistance des bactéries dans différents environnements, améliorent leur résistance aux stress et renforcent leur potentiel antimicrobien. Ainsi, les souches présentant une forte capacité de formation de biofilm pourraient être particulièrement intéressantes pour des applications probiotiques ou technologiques, en raison de leur meilleure aptitude à coloniser les surfaces et à survivre dans des conditions environnementales défavorables.

Tableau 7 : Évaluation de la formation de biofilm des souches sélectionnées par la méthode de coloration au cristal violet (OD 570)

Souche	OD570
LC6	0.807
VA11	0.097
LC8	0.072
FO2	0.045
FA3	0.03
LB6	0.021

5.6. Pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante des souches étudiées, évaluée par la méthode du radical libre DPPH décrite par (**Brand-Williams *et al.*, 1995**), a mis en évidence une variabilité importante entre les isolats. Les pourcentages d'inhibition obtenus révèlent des différences significatives dans la capacité des souches à neutraliser les radicaux libres.

Parmi les souches testées, FO1 (93,5 %), LB6 (93,4 %) et FA1 (89,4 %) présentent les activités antioxydantes les plus élevées, traduisant une forte capacité de piégeage des espèces radicalaires. À l'inverse, les souches LB3 (12,8 %) et VC2 (*Levilactobacillus brevis*l). (27,4 %) affichent des activités nettement plus faibles. La souche VA10 présente une activité intermédiaire (59,3 %), indiquant un potentiel antioxydant modéré. (**Annexe 5**).

Ces résultats suggèrent que certaines bactéries lactiques possèdent des mécanismes efficaces de neutralisation du stress oxydatif, probablement liés à la production de métabolites bioactifs et de composés capables de réduire les espèces réactives de l'oxygène. La méthode DPPH, largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante, a été initialement décrite par (**Brand-Williams *et al.*, 1995**) et demeure une référence dans ce type d'analyses. Ces observations sont en accord avec plusieurs études rapportant le potentiel antioxydant de certaines bactéries lactiques présentant un intérêt technologique et probiotique.

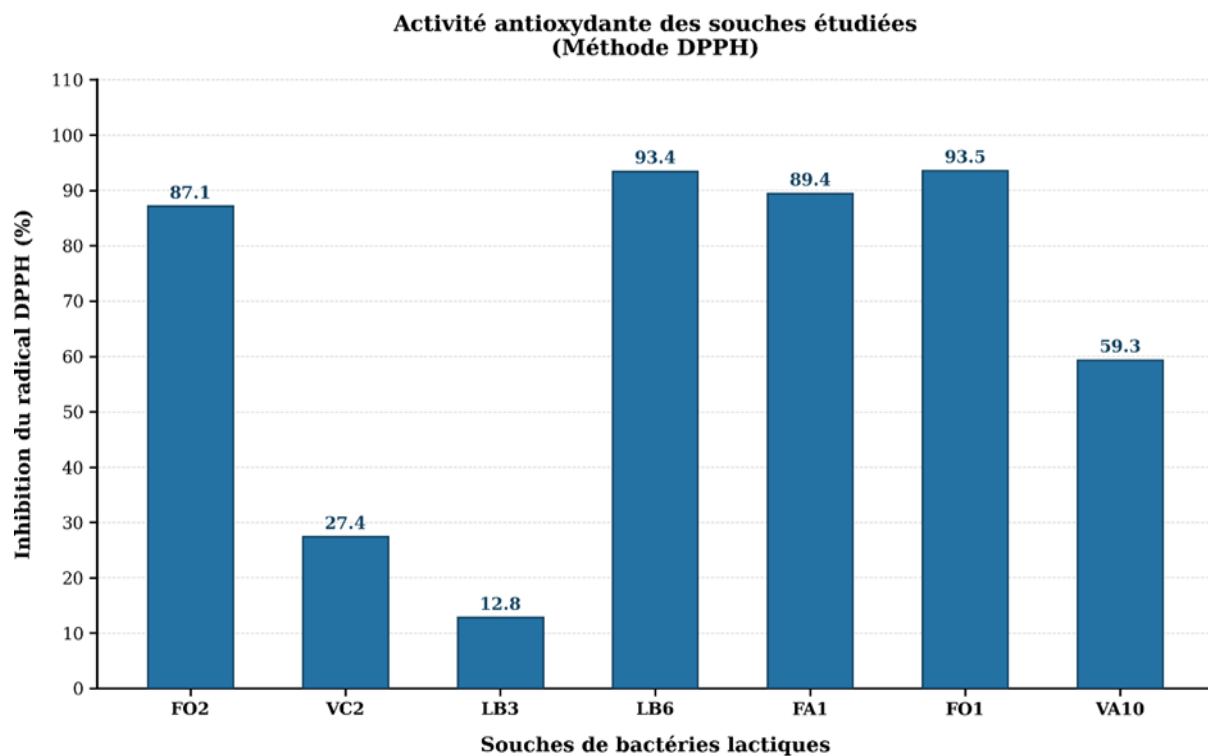


Tableau X. Activité antioxydante des souches étudiées (DPPH).

Figure 12 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les souches sélectionnées

6. Évaluation des propriétés probiotiques in vitro

6.1. Résistance aux conditions gastro-intestinales

L'évaluation du potentiel probiotique constitue une étape essentielle dans le processus de sélection des bactéries lactiques destinées à des applications fonctionnelles. Pour qu'une souche soit considérée comme probiotique, elle doit répondre à un ensemble de critères fonctionnels établis par les organismes scientifiques internationaux, notamment la FAO et l'OMS (Hill *et al.*, 2014).

Parmi ces critères, la capacité à survivre aux conditions physiologiques du tractus gastro-intestinal représente un facteur déterminant, car elle conditionne directement la viabilité des microorganismes et leur aptitude à atteindre leur site d'action en quantité suffisante pour exercer leurs effets bénéfiques (Campana *et al.*, 2017).

Par ailleurs, la révision taxonomique récente du genre *Lactobacillus* a permis une caractérisation plus précise des espèces présentant un intérêt probiotique (Zheng *et al.*, 2020). Dans ce contexte, l'évaluation de la résistance aux conditions gastro-intestinales constitue un critère fondamental pour l'identification et la sélection de souches potentiellement probiotiques.

Les résultats présentés dans les sous-sections suivantes permettent d'apprécier la capacité des souches isolées à résister aux contraintes physiologiques rencontrées au cours du transit digestif et d'évaluer leur potentiel probiotique *in vitro*.

6.1.1. Tolérance à l'acidité

La résistance à l'acidité gastrique constitue l'un des critères fondamentaux dans la sélection des souches probiotiques, puisqu'elle conditionne leur capacité à survivre au passage dans l'estomac et à atteindre l'intestin en quantité suffisante pour exercer leurs effets bénéfiques (Sivamaruthi *et al.*, 2019). Dans la présente étude, les résultats obtenus mettent en évidence une variabilité importante de la tolérance à l'acidité entre les souches testées, confirmant le caractère fortement souche-spécifique de cette propriété.

Parmi les 45 souches évaluées, 66,67 % ont conservé leur viabilité après 3 heures d'incubation en milieu acide, tandis que 40 % ont présenté une très bonne capacité de survie. À pH 3, les taux de survie les plus élevés ont été observés chez les souches VC2 (*Levilactobacillus brevis*1) (154,40 %), LA1 (151 %) et FA3 (104 %). Lorsque les conditions ont été rendues plus sévères à pH 2, les souches FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), LA1, LB6, FA1 et VC2 (*Levilactobacillus brevis*1) ont maintenu des taux de survie particulièrement élevés, atteignant respectivement 153,33 %, 136,99 %, 133,33 %, 133,33 % et 104,17 %. À l'inverse, les souches VA9 et VC6 se sont révélées plus sensibles au stress acide, avec des taux de survie respectifs de 21 % et 25 %.(Annexe 4).

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Kim *et al.* (2022), qui ont montré que la survie des bactéries lactiques en conditions acides dépend à la fois du pH du milieu, de la durée d'exposition et des caractéristiques intrinsèques de chaque souche. De même, (Chen *et al.*, 2025) ont observé chez *Lactiplantibacillus plantarum* L168 un taux de survie de 65,61 % à pH 3, démontrant une bonne adaptation aux conditions gastro-intestinales simulées. Cette observation rejoint les performances enregistrées pour plusieurs souches de la présente étude, notamment VC2 (*Levilactobacillus brevis*1), LA1 et FA3.

Par ailleurs, Mirzaei *et al.* (2023) ont rapporté une excellente résistance de *Lactiplantibacillus plantarum* et *Lacticaseibacillus rhamnosus* à pH 2, avec une diminution limitée de la charge bactérienne après 120 minutes d'exposition. Cette résistance a été attribuée à la capacité de ces bactéries à former des biofilms protecteurs limitant les effets délétères du stress acide. Dans notre étude, les souches *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4) et *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2) ont également montré une bonne résistance aux

conditions acides, ce qui confirme le potentiel probiotique reconnu de ces espèces.

Selon **Hassan *et al.* (2023)**, la survie des bactéries lactiques à faible pH repose sur plusieurs mécanismes adaptatifs, notamment le maintien de l'homéostasie du pH intracellulaire, l'activation des systèmes d'expulsion des protons, la modification de la composition membranaire et la synthèse de protéines de réponse au stress. Ces mécanismes pourraient expliquer les taux de survie élevés observés chez les souches FA3, LA1, LB6, FA1 et VC2 .

Nos résultats concordent également avec ceux de **Grygorenko *et al.* (2024)**, qui ont rapporté que plus de 88 % des souches étudiées conservaient une viabilité supérieure à 75 % après trois heures d'exposition à pH 2,5. Cette étude souligne l'importance des mécanismes physiologiques d'adaptation dans la résistance gastrique des bactéries lactiques.

Dans l'ensemble, les souches FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), LA1, LB6, FA1 et VC2 (*Levilactobacillus brevis*) apparaissent comme les plus prometteuses au regard de leur forte résistance au stress acide. Cette propriété constitue un atout majeur pour leur sélection en tant que candidates probiotiques, puisque leur capacité à survivre aux conditions gastriques représente une étape essentielle pour l'expression de leurs effets bénéfiques au niveau intestinal.

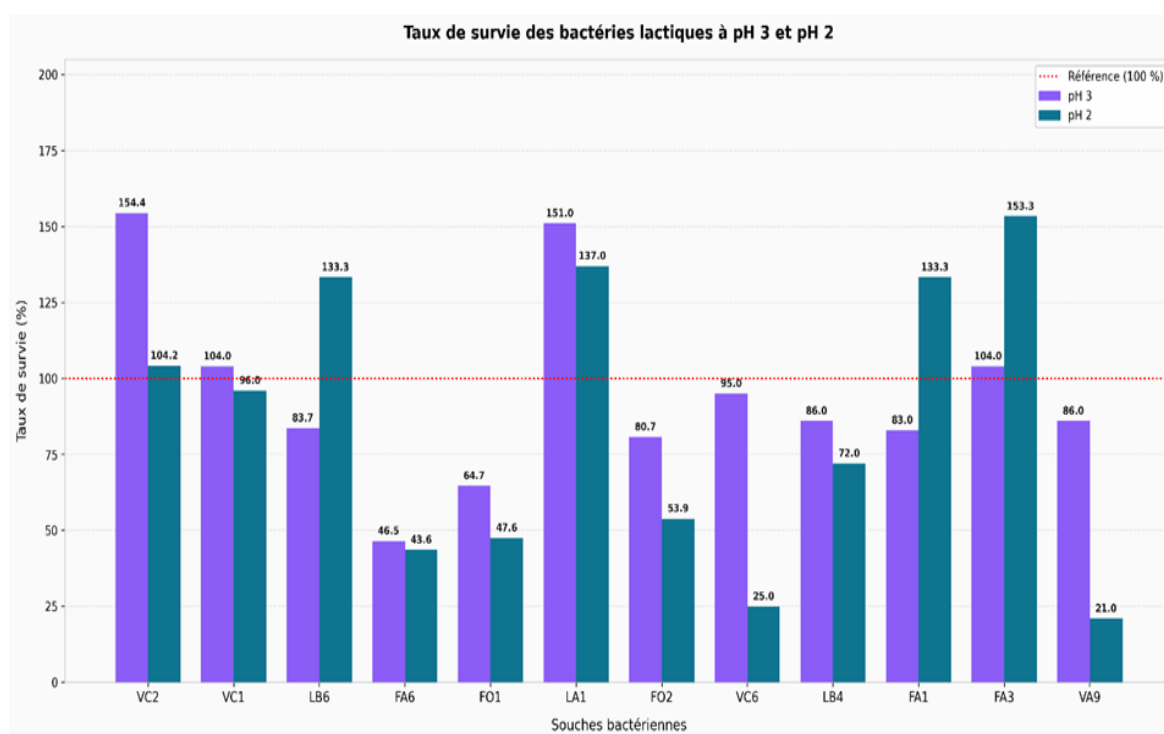


Figure 13 : Pourcentage de survie de quelques souches sélectionnées après exposition à des conditions acides (pH 2 et pH 3)

6.1.2. Tolérance aux sels biliaires

La tolérance aux sels biliaires constitue un critère essentiel dans la sélection des souches probiotiques, puisque les concentrations physiologiques de bile présentes dans l'intestin humain varient généralement entre 0,3 % et 0,5 % (**Wan et al., 2019**). La capacité des bactéries lactiques à résister à ces conditions est déterminante pour leur survie, leur implantation et l'expression de leurs effets bénéfiques dans le tractus intestinal (**Gueimonde et al., 2013**).

Les résultats obtenus aux différents temps d'incubation (4 h, 8 h et 24 h) montrent que les souches étudiées ont présenté des niveaux de résistance variables en présence de concentrations croissantes de sels biliaires (0,1 %, 0,3 % et 0,5 %). Cette variabilité confirme que la tolérance à la bile constitue une propriété fortement dépendante de la souche. Malgré l'effet inhibiteur des sels biliaires, plusieurs isolats ont maintenu une viabilité satisfaisante, témoignant de leur capacité à s'adapter aux conditions intestinales simulées. (**Annexe 4**).

Les résultats de la simulation gastro-intestinale réalisée selon le protocole INFOGEST ont également mis en évidence des différences significatives entre les souches quant à leur aptitude à survivre aux phases gastrique et intestinale successives. La souche FO1 a présenté la meilleure survie après exposition aux conditions digestives simulées, tandis que la souche LC6 a également conservé une viabilité élevée. Cette résistance suggère la présence de mécanismes adaptatifs efficaces permettant de faire face simultanément au stress acide, à l'action des enzymes digestives et à l'effet détergent des sels biliaires.

La forte viabilité observée chez la souche FO1 pourrait être liée à plusieurs mécanismes physiologiques, notamment des modifications de la composition membranaire, l'activation de systèmes de réponse au stress, la synthèse de protéines protectrices ou encore la présence d'enzymes telles que les hydrolases des sels biliaires (BSH), fréquemment impliquées dans la détoxification des sels biliaires chez les bactéries probiotiques (**Gueimonde et al., 2013**).

À l'inverse, la souche FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*) a montré une diminution plus importante de sa viabilité après 24 heures d'exposition, suggérant une sensibilité plus élevée aux conditions digestives simulées. Cette réduction pourrait être attribuée à une moindre capacité d'adaptation aux stress combinés induits par l'acidité gastrique et les sels biliaires.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par (**Minekus et al., 2014**) et (**Brodkorb et al., 2019**), qui ont démontré que les bactéries lactiques capables de résister aux

conditions digestives simulées conservent généralement une viabilité suffisante pour atteindre l'intestin et exercer leurs effets probiotiques. De même, (Argyri *et al.*, 2013) ont observé que plusieurs souches appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* et *Leuconostoc* maintenaient une forte viabilité après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées. Par ailleurs, (Franz *et al.*, 2011) ont montré que certaines souches d'*Enterococcus faecalis* possèdent une remarquable capacité de survie dans les environnements digestifs grâce à leurs mécanismes d'adaptation physiologique.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus indiquent que les souches FO1 et LC6 présentent une bonne résistance aux conditions gastro-intestinales simulées. Cette propriété constitue un critère majeur en faveur de leur sélection comme candidates probiotiques, puisqu'elle favorise leur survie durant le transit digestif et leur permet potentiellement d'atteindre l'intestin en quantité suffisante pour exercer leurs effets bénéfiques sur l'hôte.

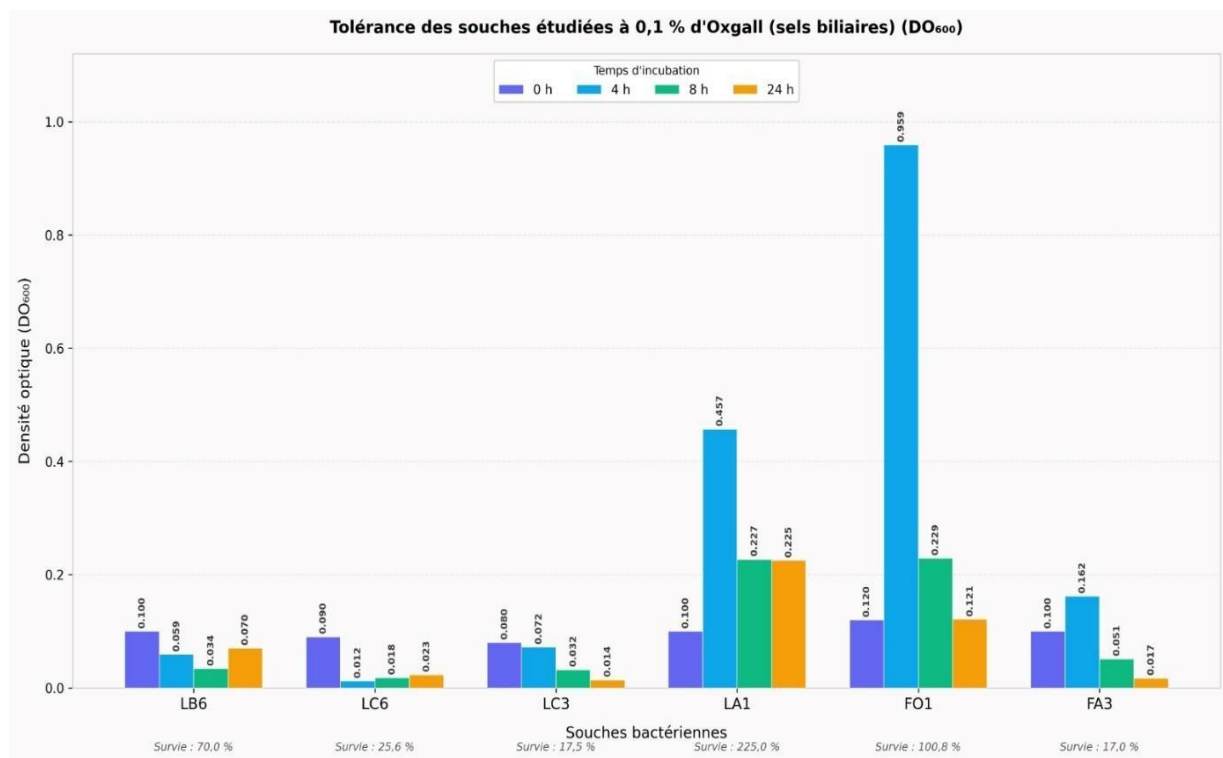


Figure 14 : Tolérance des souches étudiées à 0,1 % de sels biliaires (OD600)

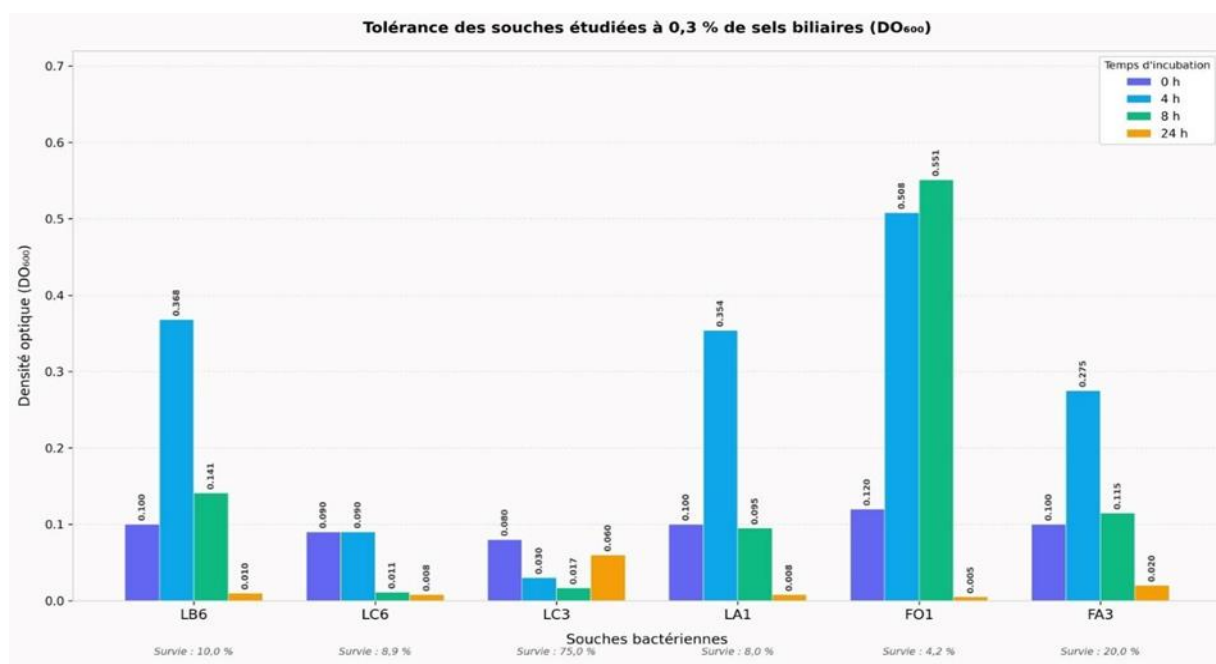


Figure 15 : Tolérance des souches étudiées à 0,3% de sels biliars (OD600)

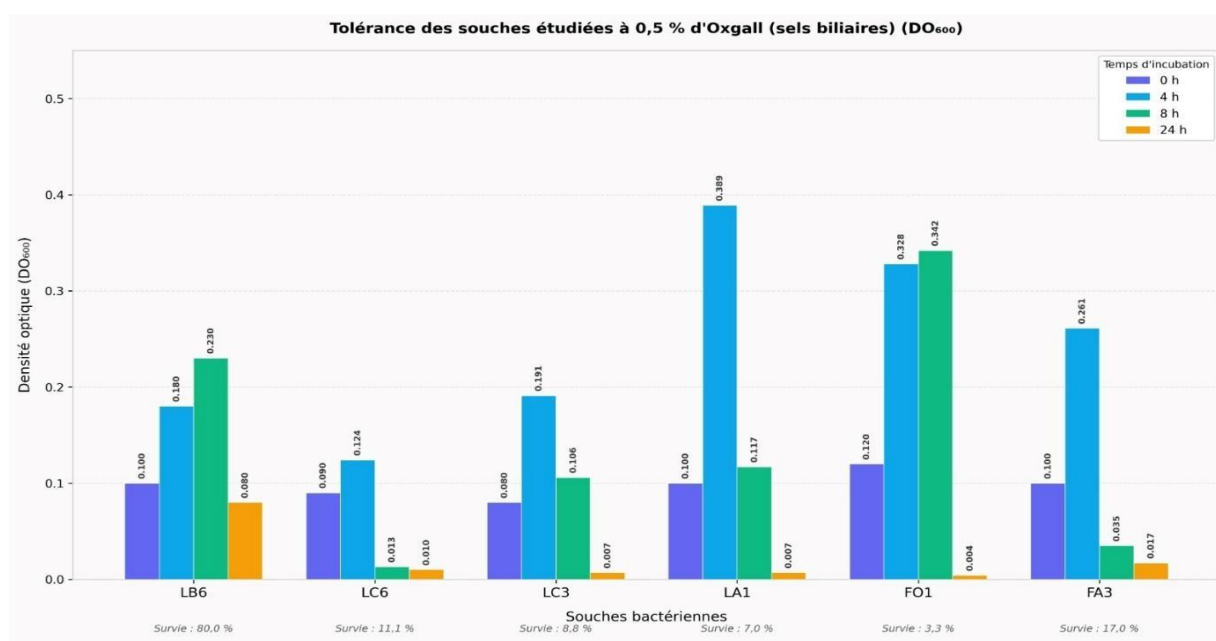


Figure 16 : Tolérance des souches étudiées à 0,5 % de sels biliars (OD600)

6.1.3. Simulation gastro-intestinale (modèle INFOGEST)

L'évaluation séparée de la résistance à l'acidité et aux sels biliars fournit des informations importantes sur le potentiel probiotique des bactéries lactiques. Toutefois, ces essais ne reproduisent pas fidèlement la succession des contraintes physiologiques rencontrées au cours du transit digestif. Dans ce contexte, les modèles de digestion *in vitro* permettent une évaluation plus réaliste de la survie bactérienne en reproduisant de manière séquentielle les

phases gastrique et intestinale du tractus gastro-intestinal (Minekus *et al.*, 2014).

Le protocole INFOGEST, reconnu comme la méthode de référence internationale pour la simulation de la digestion gastro-intestinale, repose sur un modèle statique standardisé comprenant les phases orale, gastrique et intestinale, avec l'utilisation d'enzymes physiologiquement représentatives telles que la pepsine et la pancréatine (Brodkorb *et al.*, 2019). Cette approche permet d'obtenir une vision globale de la robustesse des souches face aux différentes contraintes digestives et d'évaluer plus précisément leur potentiel probiotique.

Les résultats obtenus révèlent des différences significatives entre les souches étudiées quant à leur capacité à résister aux conditions digestives simulées. Lors de l'exposition à la pepsine, les souches LC3 (175 %), LB6 (155,5 %), LO1 (152,6 %) et LC6 (107,6 %) ont présenté les taux de survie les plus élevés, traduisant une excellente résistance aux conditions gastriques simulées. La souche LA1 a montré une survie modérée de 63,6 %, tandis que la souche FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) a enregistré le taux de survie le plus faible (48,8 %), indiquant une sensibilité plus marquée à l'action de la pepsine.

Concernant la phase intestinale simulée, les souches LC3 (150 %) et LC6 (141,8 %) ont présenté les taux de survie les plus élevés après exposition à la trypsine. Ces valeurs supérieures à 100 % suggèrent non seulement une bonne résistance au stress enzymatique, mais également le maintien d'une activité métabolique favorable au cours de l'incubation. La souche LO1 a également montré une bonne tolérance avec un taux de survie de 87,0 %, tandis que LB6 a conservé une viabilité satisfaisante de 60,8 %. En revanche, les souches LA1 (41,8

%) et FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*) (13,8 %) ont présenté les plus faibles pourcentages de survie, traduisant une sensibilité accrue à l'action protéolytique de la trypsine. (Annexe 4).

Dans l'ensemble, les souches LC3, LC6, LO1 et LB6 apparaissent comme les plus performantes face aux conditions gastro-intestinales simulées. Leur forte capacité de survie suggère l'existence de mécanismes adaptatifs efficaces, notamment le maintien de l'intégrité membranaire, la synthèse de protéines de stress, la régulation du pH intracellulaire ainsi que l'activation de systèmes de protection contre les agressions enzymatiques et chimiques du tractus digestif.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par (Sun *et al.*, 2022), qui ont montré que plusieurs souches de *Lactiplantibacillus plantarum* isolées d'aliments fermentés traditionnels conservaient une viabilité élevée après exposition successive à un suc gastrique simulé

contenant de la pepsine puis à un suc intestinal simulé contenant de la pancréatine. De même, (Xie *et al.*, 2025) ont rapporté un taux de survie gastrique de 69,95 % et un taux de survie intestinale de 50,44 % chez *Lacticaseibacillus rhamnosus* J3205, démontrant une bonne tolérance aux enzymes digestives.

Des observations similaires ont été décrites par (Zhang *et al.*, 2023), qui ont montré que *Lacticaseibacillus rhamnosus* X253 présentait une résistance satisfaisante aux conditions gastriques et intestinales simulées, avec des performances comparables à celles de la souche probiotique de référence *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG. Par ailleurs, (Fízel *et al.*, 2024) ont observé des taux de survie pouvant atteindre 91,8 % après digestion simulée selon le modèle INFOGEST 2.0, soulignant la capacité de certaines bactéries probiotiques à résister efficacement aux contraintes digestives.

Les performances observées chez les souches LC3, LC6, LO1 et LB6 sont comparables, voire supérieures, à celles rapportées dans plusieurs études récentes. Ces résultats confirment leur aptitude à traverser les barrières gastriques et intestinales tout en maintenant une viabilité élevée, condition indispensable à l'expression de leurs effets probiotiques.

Ainsi, les souches LC3, LC6, LO1 et LB6 peuvent être considérées comme des candidates probiotiques particulièrement prometteuses. Leur forte résistance aux conditions gastro-intestinales simulées suggère qu'elles seraient capables d'atteindre l'intestin en quantité suffisante pour exercer des effets bénéfiques sur l'hôte.

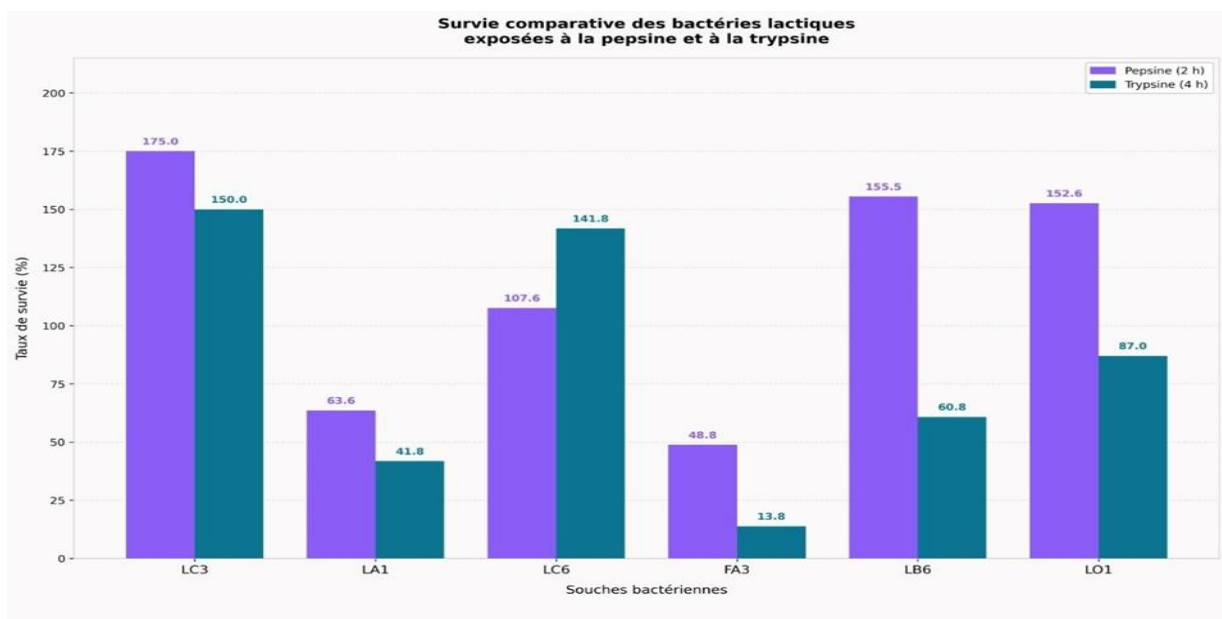


Figure 17 : Comparaison de la tolérance des souches lactiques aux enzymes digestives (pepsine et trypsine)

7. Capacité d'adhésion

L'adhésion aux cellules épithéliales intestinales constitue une propriété fonctionnelle essentielle des bactéries probiotiques, car elle favorise leur colonisation transitoire du tractus gastro-intestinal et prolonge leur interaction avec l'hôte. Cette capacité dépend principalement des caractéristiques de surface bactérienne, lesquelles sont étroitement liées à la composition de la paroi cellulaire ainsi qu'aux molécules qui y sont associées, telles que les protéines de surface, les polysaccharides et les acides lipoteichoïques (**Papadimitriou *et al.*, 2016**). Les résultats obtenus pour les différentes souches sélectionnées sont présentés dans les sous-sections suivantes.

7.1. Hydrophobicité cellulaire

L'hydrophobicité cellulaire des souches sélectionnées a été évaluée par la méthode BATH (*Test d'adhésion des bactéries aux hydrocarbures*), largement utilisée pour estimer indirectement la capacité d'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales intestinales. Cette propriété est considérée comme un indicateur préliminaire important du potentiel probiotique des souches (**Todorov *et al.*, 2019**).

Les résultats obtenus révèlent une importante variabilité entre les souches étudiées. Les valeurs d'hydrophobicité les plus élevées vis-à-vis du xylène ont été observées chez les souches LA1 (95,5 %), FO1 (92,8 %) et LB6 (79,8 %). Concernant le chloroforme, les souches LA1 (95,3 %), FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*) (92,8 %) et LB6 (74,5 %) ont présenté les affinités les plus élevées.

Selon **Guan *et al.* (2023)**, des valeurs d'hydrophobicité supérieures à 70 % sont généralement associées à un fort potentiel d'adhésion aux surfaces biologiques. Les résultats obtenus dans cette étude sont comparables, voire supérieurs, à ceux rapportés par **Reuben *et al.* (2020)**, qui ont observé des taux d'hydrophobicité compris entre 42 % et 89 % chez des bactéries lactiques isolées de lait cru traditionnel. Ces auteurs ont également montré que les souches les plus hydrophobes présentaient les meilleures caractéristiques probiotiques, notamment en termes d'adhésion et de persistance dans le tractus gastro-intestinal.

Les fortes valeurs enregistrées pour les souches LA1, FO1, FA3 et LB6 suggèrent ainsi une capacité élevée d'adhésion aux cellules épithéliales intestinales et un potentiel accru de colonisation du tractus digestif. Cette propriété est particulièrement recherchée chez les probiotiques, car elle favorise leur maintien temporaire dans l'intestin et augmente leurs interactions bénéfiques avec l'hôte.

À l'inverse, les souches LC3 et LC6 ont présenté des niveaux d'hydrophobicité plus faibles. La souche LC3 a affiché des valeurs de 34 % vis-à-vis du xylène et de 10 % vis-à-vis du chloroforme, tandis que LC6 a montré des valeurs respectives de 35 % et 66,7 %. Ces résultats traduisent une surface cellulaire plus hydrophile et suggèrent un potentiel d'adhésion plus limité. Toutefois, l'hydrophobicité ne constitue qu'un indicateur indirect de l'adhésion bactérienne. En effet, cette dernière dépend également d'autres facteurs, tels que la présence de protéines d'adhésion spécifiques, la production d'exopolysaccharides (EPS) et la capacité de formation de biofilm (Monteagudo *et al.*, 2019 ; Reuben *et al.*, 2020).

Dans l'ensemble, les souches LA1, FO1, FA3 et LB6 apparaissent comme les candidates probiotiques les plus prometteuses au regard de leurs fortes valeurs d'hydrophobicité. Ces caractéristiques, associées à leurs performances observées lors des essais de résistance aux conditions gastro-intestinales, renforcent leur potentiel pour une utilisation dans le développement de cultures probiotiques destinées aux applications alimentaires et fonctionnelles (Reuben *et al.*, 2020 ; Guan *et al.*, 2023).

Hydrophobicité des souches bactériennes

Comparaison des pourcentages d'adhésion au xylène et au chloroforme.

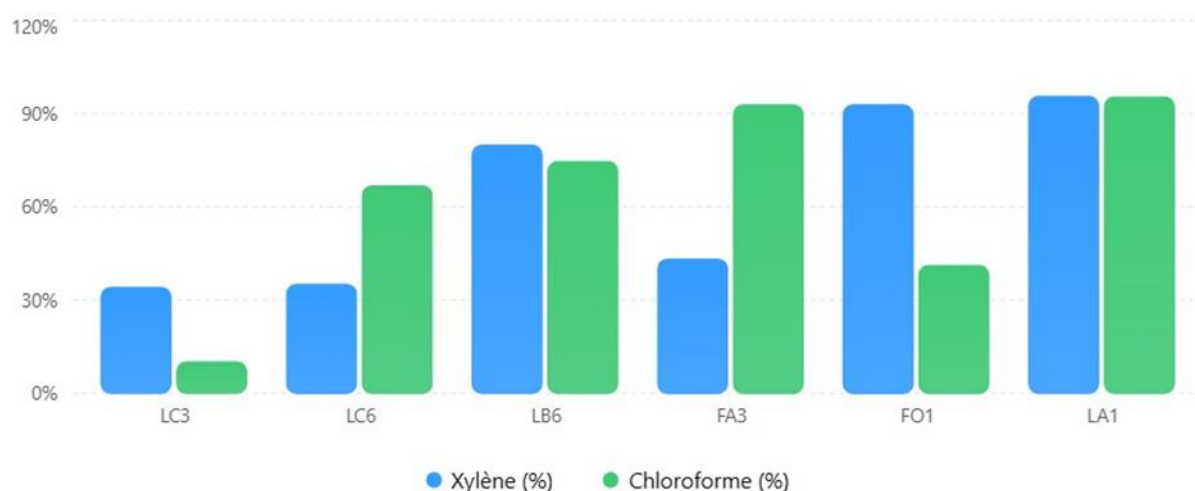


Figure 18 : Évaluation de l'hydrophobicité de surface des souches par test d'adhésion au xylène et au chloroforme

7.2. Auto-agrégation

L'auto-agrégation constitue une propriété fonctionnelle importante des bactéries probiotiques, car elle favorise l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales, la formation de microcolonies ainsi que l'exclusion compétitive des microorganismes pathogènes. Un fort pouvoir d'auto-agrégation est généralement associé à une meilleure capacité de colonisation

du tractus gastro-intestinal (**Krausova et al., 2019 ; Mousavi et al., 2019**). Les résultats obtenus montrent une variabilité importante entre les souches étudiées au cours du temps d'incubation, traduisant des différences significatives dans les propriétés de surface cellulaire.

Les souches FA1 et FO1 ont présenté les taux d'auto-agrégation les plus élevés à T4, dépassant 91 %, ce qui témoigne d'une excellente aptitude à former des agrégats cellulaires stables. La souche LB3 a également montré une forte capacité d'auto-agrégation avec une valeur finale de 84,19 %, malgré une légère diminution observée à T3.

Les souches VA10 et VC2 (*Levilactobacillus brevis*1) ont présenté une augmentation progressive de leur capacité d'auto-agrégation, atteignant respectivement 75,28 % et 70 % à T4, indiquant une bonne aptitude au regroupement cellulaire et un potentiel probiotique intéressant. La souche LB6 a affiché un comportement intermédiaire, avec une augmentation régulière jusqu'à 66,19 %, traduisant une capacité d'auto-agrégation modérée mais stable.

À l'inverse, les souches FO2, VA9 et VC1 ont présenté les valeurs finales les plus faibles (< 45 %), suggérant une capacité limitée à former des agrégats cellulaires durables.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés dans la littérature, où des taux élevés d'auto-agrégation (> 80 %) sont associés à un fort potentiel probiotique. Par exemple, (**Li et al., 2022**) ont montré que des souches de *Lactiplantibacillus plantarum* isolées de lait cru peuvent atteindre des taux compris entre 83,91 % et 90,33 %, confirmant leur excellente aptitude à la formation d'agrégats cellulaires stables. De même, **Navale et al. (2024)** ont rapporté chez *Lactococcus lactis* des valeurs supérieures à 87 %, soulignant que cette propriété est fortement liée à la capacité de colonisation intestinale.

Les valeurs intermédiaires (65–80 %) observées chez les souches VA10, VC2 (*Levilactobacillus brevis*1). et LB6 sont également en accord avec les résultats de **Skrzypczak et al. (2025)**, qui ont mis en évidence des capacités d'agrégation modérées à élevées chez *Lactocaseibacillus rhamnosus*, associées à une bonne aptitude d'adhésion et à une interaction bénéfique avec la microbiote intestinal.

Par ailleurs, une augmentation progressive de l'auto-agrégation au cours du temps a également été rapportée chez plusieurs bactéries lactiques, notamment chez *Lactiplantibacillus plantarum*, où les valeurs peuvent augmenter significativement entre 3 et 24 heures d'incubation (**Liao et al., 2022 ; Li et al., 2022**). Ce comportement dynamique suggère une adaptation progressive des propriétés de surface et une meilleure organisation cellulaire au fil du temps.

Dans l'ensemble, les souches FA1, FO1 et LB3 apparaissent comme les plus performantes en termes d'auto-agrégation, suivies des souches VA10, VC2 (*Levilactobacillus brevis*) et LB6 présentant un profil intermédiaire. Ces caractéristiques renforcent leur intérêt potentiel en tant que candidates probiotiques, en raison de leur capacité à former des agrégats cellulaires favorisant la colonisation du tractus intestinal et l'exclusion compétitive des pathogènes.

7.3. Co-agrégation avec les bactéries pathogènes

La capacité de co-agrégation des souches sélectionnées a été évaluée vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, deux bactéries pathogènes fréquemment utilisées comme modèles pour l'évaluation du potentiel probiotique. Les résultats obtenus mettent en évidence une variabilité importante entre les souches étudiées, traduisant des différences dans leurs propriétés d'interaction cellulaire.

Vis-à-vis de *Escherichia coli*, les taux de co-agrégation observés varient de 26,6 % à 47,2 %. La souche FO2 a présenté la valeur la plus élevée (47,2 %), suivie des souches LC8 (*Enterococcus faecium*) (45,0 %) et LC6 (44,6 %). Les souches VA1 et FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*) ont montré des capacités intermédiaires avec des taux respectifs de 38,4 % et 38,0 %, tandis que la souche (*Lactiplantibacillus plantarum*) LB4 a enregistré la plus faible valeur (26,6 %).

Concernant *Staphylococcus aureus*, les pourcentages de co-agrégation varient entre 21,0 % et 49,0 %. La souche VA1 a présenté la meilleure capacité de co-agrégation (49,0 %), suivie des souches LC8 (*Enterococcus faecium*) (36,8 %) et (*Lactiplantibacillus plantarum*) LB4 (35,2

%). Les souches FO2 et FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*) ont affiché des valeurs intermédiaires de 34,0 % et 25,4 %, respectivement, tandis que la souche LC6 a montré la plus faible capacité de co-agrégation (21,0 %) vis-à-vis de ce pathogène.

Ces résultats suggèrent une interaction spécifique souche–pathogène, probablement liée à la variabilité des structures de surface impliquées dans les mécanismes d'adhésion et de reconnaissance cellulaire. (**Annexe 5**).

Par ailleurs, les taux obtenus dans la présente étude s'inscrivent dans la gamme des valeurs rapportées dans la littérature. En effet, **Mahmoudi et al. (2024)** ont rapporté des taux de co-agrégation de 38,6 à 75,2 % avec *E. coli* et de 40,6 à 68,2 % avec *S. aureus*, chez des bactéries lactiques présentant un fort potentiel probiotique. De même, **Kalhor et al. (2023)**

ont observé des valeurs plus larges, variant de 7 à 71 % selon les souches et les pathogènes testés, confirmant la forte variabilité de cette propriété.

Ainsi, les souches FO2, LC8 et LC6 apparaissent comme les plus actives vis-à-vis de *E. coli*, tandis que VA1 montre une meilleure affinité pour *S. aureus*. Ces résultats suggèrent un potentiel intéressant d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par co-agrégation, ce qui constitue un mécanisme important dans l'effet probiotique.

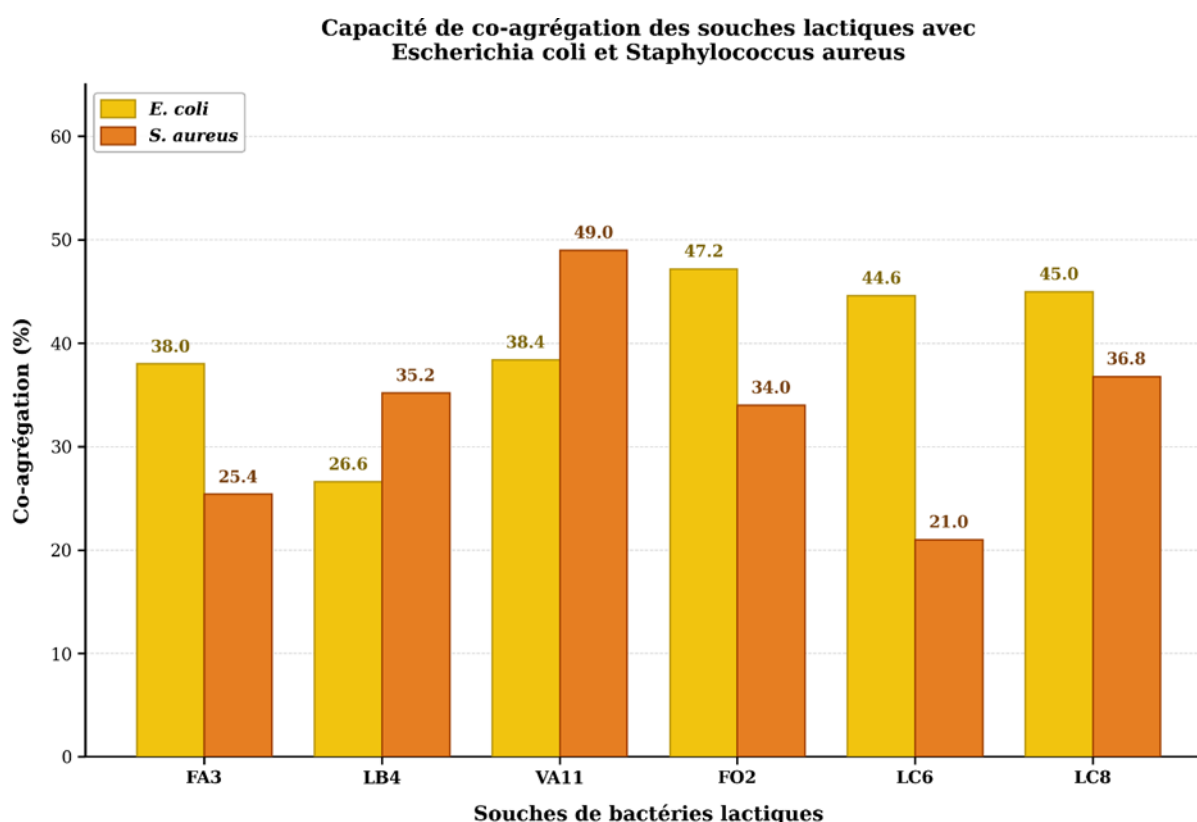


Tableau X. Capacité de co-agrégation des souches lactiques avec *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Figure 19 : Capacité de co-agrégation des souches lactiques avec *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

8. Étude des critères de sécurité des souches

8.1. Test d'hémolyse

L'évaluation de l'activité hémolytique constitue un critère essentiel dans la sélection des bactéries lactiques à potentiel probiotique. Les résultats obtenus sur gélose au sang montrent que l'ensemble des souches étudiées ne présente aucune activité hémolytique, indiquant l'absence de lyse des globules rouges.

Ces résultats sont conformes aux exigences de sécurité recommandées pour les micro-organismes probiotiques et sont en accord avec les observations de Cirat *et al.*, (2024), qui

ont rapporté que les bactéries lactiques dépourvues d'activité hémolytique présentent un profil de sécurité favorable pour les applications alimentaires et probiotiques. Ainsi, l'ensemble des souches étudiées peut être considéré comme sûr sur la base de ce critère.

8.2. Test de sensibilité aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques constitue un enjeu majeur de santé publique. Dans le cadre de l'évaluation de l'innocuité des souches probiotiques, il est indispensable de vérifier l'absence de résistances acquises potentiellement transférables aux bactéries pathogènes (*Van et al., 2014*).

Les résultats obtenus mettent en évidence une variabilité importante des profils de sensibilité aux antibiotiques parmi les souches de bactéries lactiques étudiées. Une sensibilité complète au chloramphénicol (30 µg) a été observée chez l'ensemble des souches, avec des diamètres d'inhibition compris entre 23 et 34 mm. Une sensibilité majoritaire à l'érythromycine (15 µg) a également été enregistrée. Toutefois, la souche VA1 a présenté une sensibilité intermédiaire, tandis que les souches FO2, LB2 et VC3 se sont révélées résistantes à cet antibiotique.

Une résistance généralisée à la vancomycine (30 µg) a été observée chez toutes les souches testées. Cette résistance est généralement considérée comme intrinsèque chez de nombreuses bactéries lactiques et résulte de particularités structurales de leur paroi cellulaire, notamment de modifications des précurseurs du peptidoglycane réduisant l'affinité de la vancomycine pour sa cible. Contrairement aux résistances acquises, cette résistance intrinsèque n'est habituellement pas associée à des gènes transférables et présente donc un faible risque de dissémination. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Danielsen et Wind (2003)**, qui ont décrit une résistance naturelle à la vancomycine chez plusieurs espèces de bactéries lactiques.

Concernant l'ampicilline (10 µg), une résistance a été observée chez l'ensemble des souches étudiées. Les antibiotiques de la famille des aminosides, notamment la streptomycine, la gentamicine et la kanamycine, ont également montré une efficacité limitée, avec une prédominance de profils résistants ou intermédiaires. De même, les résultats obtenus avec la tétracycline (30 µg) révèlent une forte variabilité intersouches, plusieurs isolats présentant une résistance ou une sensibilité intermédiaire.

Dans l'ensemble, les souches FO1, LB6 et LC6 ont présenté les profils de sensibilité les plus favorables, caractérisés par une sensibilité à l'érythromycine et au chloramphénicol

ainsi qu'une moindre fréquence de résistances multiples. À l'inverse, les souches VA1, LB2 et VC3 ont montré les profils de résistance les plus marqués.

Ces observations sont cohérentes avec la littérature, qui rapporte une sensibilité fréquente des bactéries lactiques au chloramphénicol et à l'érythromycine, tandis que des profils plus variables sont souvent observés vis-à-vis de la tétracycline et des aminosides (Soleimani *et al.*, 2025). Par ailleurs, la résistance généralisée à la vancomycine est largement décrite comme un caractère intrinsèque des bactéries lactiques, lié à des modifications structurales du peptidoglycane, notamment la substitution du motif D-Ala-D-Ala par D-Ala-D-Lac ou D-Ala-D-Ser (Osarugwe *et al.*, 2023).

Enfin, la variabilité observée pour certains antibiotiques peut être attribuée à différents mécanismes de résistance intrinsèques ou acquis, parfois associés à des éléments génétiques mobiles (Refaat *et al.*, 2025). Ces profils hétérogènes soulignent l'importance d'une caractérisation approfondie de la résistance aux antibiotiques dans le cadre de l'évaluation de la sécurité des souches destinées à des applications probiotiques ou industrielles.

Tableau 8 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de LAB

Antibiotiques	FO 1	LC 6	LC 5	VA 1	FA 1	FA 3	FO 2	LB2	LB 6	VC 3	LC 8
Ampicilline (10 µg)	XR	15 ^R	4R	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	15 ^R
Streptomycine(300µg)	17 ^I	20 ^I	16 ^I	XR	15 ^R	11 ^R	7R	1R	17 ^I	4R	16 ^I
Gentamicine (10 µg)	1R	18 ^I	2R	XR	12 ^R	XR	XR	XR	XR	XR	11 ^R
Kanamycine (30 µg)	XR	16 ^I	3R	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	10 ^R
Érythromycine(15µg)	38 ^S	28 ^S	30 ^S	18 ^I	27 ^S	29 ^S	5R	1R	27 ^S	XR	30 ^S
Vancomycine(30µg)	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR	XR
Tétracycline(30µg)	16 ^I	9R	XR	14 ^R	XR	8R	13 ^R	10 ^R	18 ^I	18 ^I	XR
Chloramphénicol (30µg)	28 ^S	34 ^S	33 ^S	23 ^S	27 ^S	27 ^S	28 ^S	24 ^S	29 ^S	25 ^S	34 ^S

R : résistante ; I : intermédiaire ; S : sensible ; X : absence de halo d'inhibition. Les valeurs correspondent à la moyenne des diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres (mm).

8.3. Activité antimicrobienne des isolats lactiques contre des souches pathogènes

L'évaluation de l'activité antimicrobienne constitue une étape clé dans la sélection de souches probiotiques ou bioprotectrices, en raison de leur potentiel d'utilisation dans la conservation des aliments et comme alternatives naturelles aux conservateurs chimiques (**Şanlıbaba et Tezel, 2021 ; Daba et al., 2021**). Les bactéries lactiques sont reconnues pour produire divers métabolites antimicrobiens contribuant à l'inhibition des microorganismes pathogènes, notamment les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (**Todorov et Dicks, 2005 ; Kalhor et al., 2023**).

Dans la présente étude, les résultats obtenus montrent une variabilité importante de l'activité inhibitrice des souches vis-à-vis des bactéries indicatrices. Les souches FO1, FO2, FA3 (*Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*), LC6, LC8 (*Enterococcus faecium*) et LB6 ont présenté les activités antimicrobiennes les plus marquées, suggérant une forte capacité de production de composés inhibiteurs diffusibles et un potentiel bioprotecteur élevé.

Cette variabilité inter-souches est largement documentée dans la littérature. En effet, **Rahman et al. (2025)** ont montré que des souches de bactéries lactiques isolées d'aliments fermentés présentent des zones d'inhibition variables contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, pouvant atteindre jusqu'à 23 mm et 20 mm selon la souche. De même, **Ait Chait et al. (2024)** ont rapporté que *Lactiplantibacillus plantarum*F2 exerce une activité antimicrobienne large spectre contre plusieurs pathogènes alimentaires avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 29 mm, confirmant le fort potentiel bioprotecteur de certaines souches.

L'activité inhibitrice observée dans les surnageants de culture est généralement attribuée à la production de métabolites extracellulaires. Les acides organiques (acide lactique, acétique), le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl ainsi que les bactériocines jouent un rôle majeur dans l'inhibition de la croissance microbienne (**Fatoba et al., 2025**). Ces composés agissent soit par acidification du milieu, soit par altération de l'intégrité membranaire des cellules pathogènes, ou encore par inhibition de processus métaboliques essentiels (**Msemwa et al., 2025**).

Par ailleurs, l'utilisation de surnageants de culture (CFS), notamment natifs, neutralisés

et traités à la protéinase K, permet de distinguer les mécanismes d'inhibition impliqués. Cette approche a été largement utilisée pour confirmer le rôle des bactériocines et des composés protéiques dans l'activité antimicrobienne (Leal *et al.*, 2023 ; Gancheva *et al.*, 2025).

Les résultats de cette étude sont également en accord avec ceux de Mokoena (2021) et Tenea et Ortega (2023), qui ont montré que les bactéries lactiques issues de matrices alimentaires fermentées possèdent une activité antagoniste significative contre des pathogènes alimentaires majeurs. De plus, des études récentes ont confirmé que les CFS de bactéries lactiques peuvent inhiber non seulement la croissance bactérienne, mais aussi la formation de biofilms, renforçant ainsi leur potentiel bioconservateur (Mao *et al.*, 2023).

Enfin, les souches les plus actives de cette étude peuvent être considérées comme des candidates prometteuses pour des applications probiotiques et de bioconservation alimentaire, en raison de leur capacité à produire des métabolites antimicrobiens efficaces et diversifiés contre les pathogènes testés.

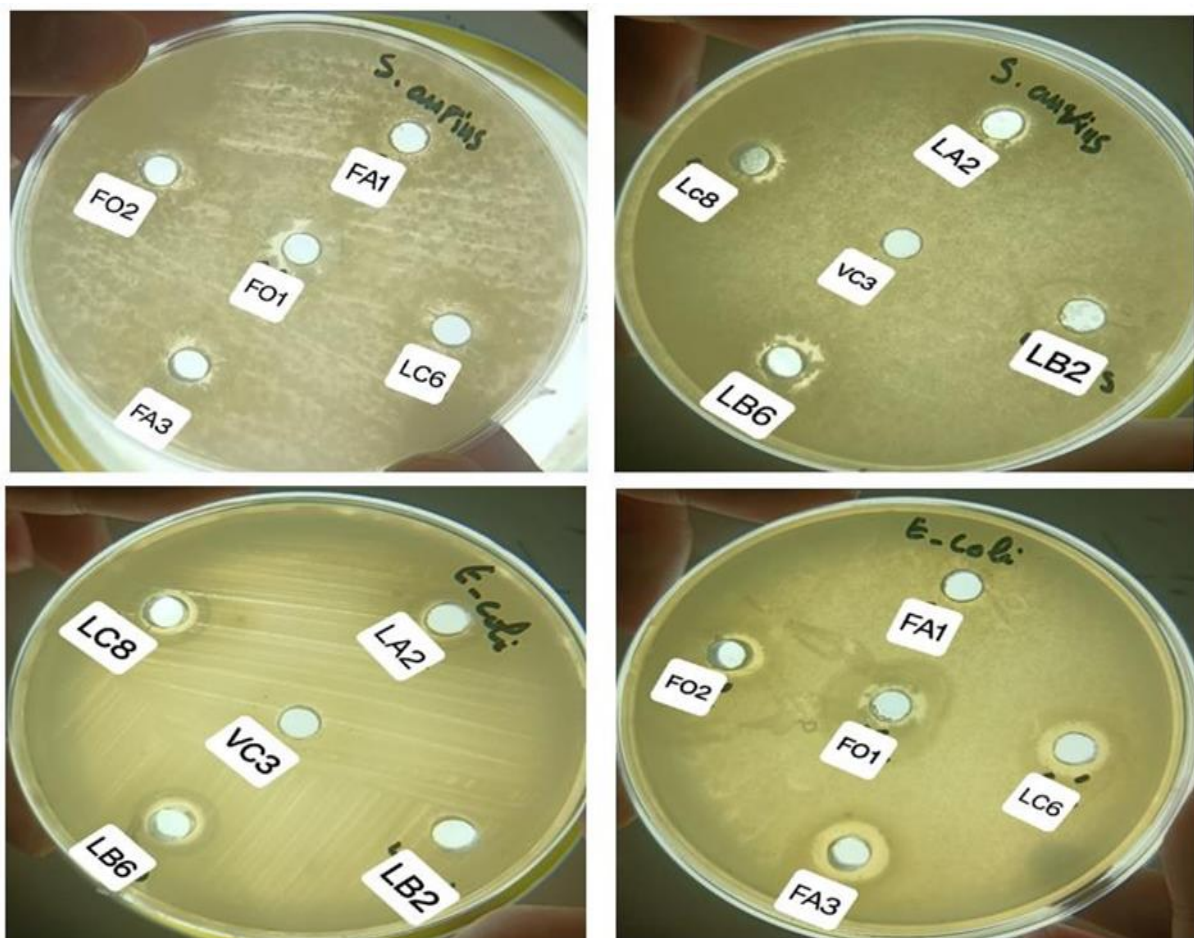


Figure 20 : Spectre d'activité antimicrobienne des bactéries lactiques (Méthode de diffusion en puits)

9. Identification par les galeries API 50 CHL et API 20 STREP

9.1. Galerie API 50 CHL

L'identification biochimique des souches a été réalisée à l'aide de la galerie **API 50 CHL**, basée sur l'étude du profil de fermentation des hydrates de carbone. Cette méthode permet de caractériser les bactéries lactiques en fonction de leurs capacités métaboliques et d'établir leur appartenance taxonomique à partir de profils enzymatiques et fermentaires spécifiques.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence plusieurs espèces appartenant aux bactéries lactiques, notamment *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2), *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4) et *Levilactobacillus brevis*1 (VC2). Ces espèces sont largement reconnues comme des bactéries lactiques d'intérêt, fréquemment isolées à partir de produits laitiers fermentés traditionnels, et présentant des propriétés technologiques et probiotiques importantes (Holzapfel et Wood, 2014 ; Zheng *et al.*, 2020).

Ces résultats confirment la diversité métabolique des souches étudiées et leur appartenance à des espèces connues pour leur implication dans les fermentations alimentaires et leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé humaine.

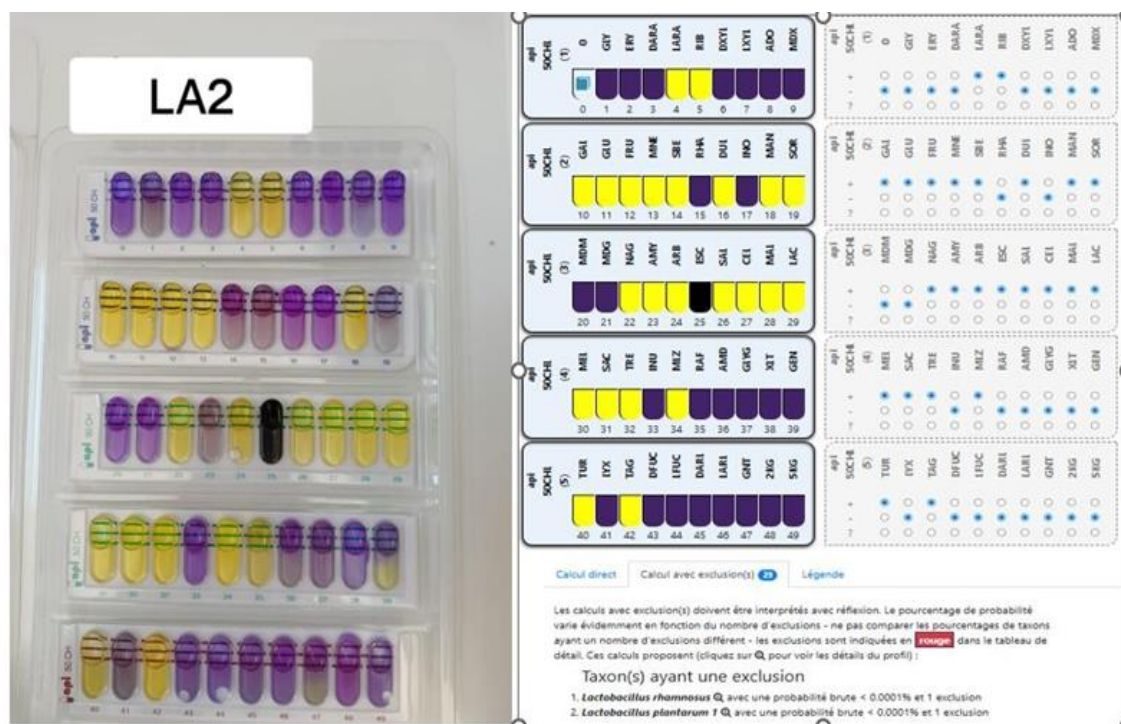


Figure 21 : Résultats du Profil Fermentaire de la souche *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LA2) sur la galerie API 50 CHL après 48h d'incubation

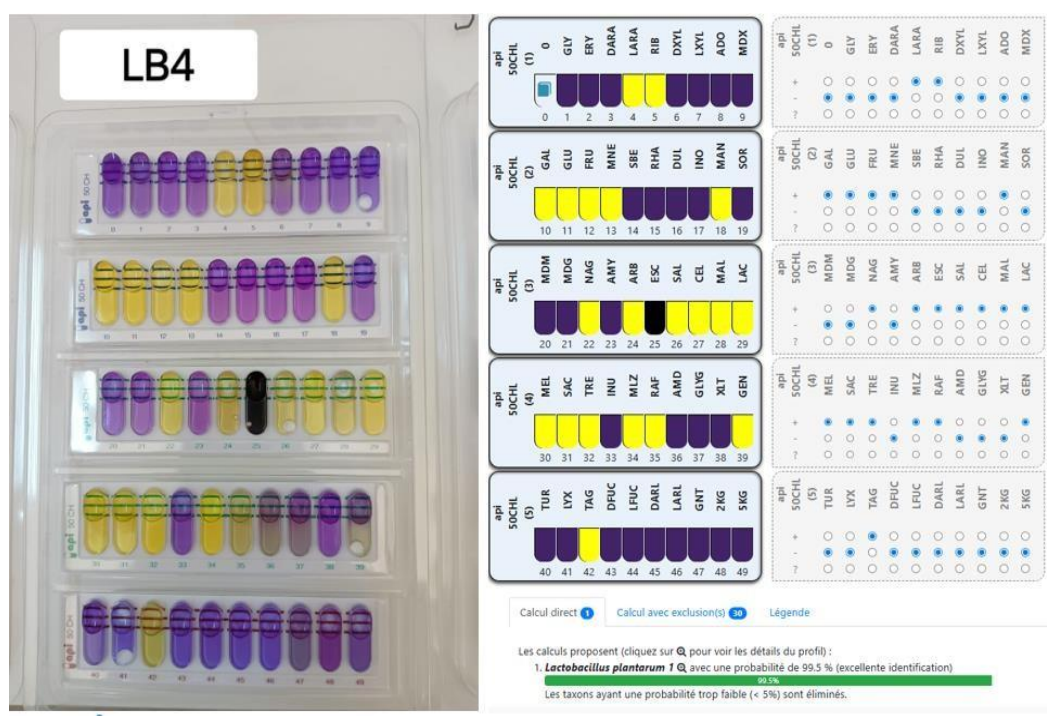


Figure 22 : Résultats du Profil Fermentaire de la souche *Lactiplantibacillus plantarum* (LB 4) sur la galerie API 50 CHL après 48h d'incubation

9.2. Identification par API 20 STREP

L'identification complémentaire réalisée à l'aide de la galerie **API 20 STREP**, associée à la plateforme d'identification **UPMB (Figure 23-24)**, a permis d'affiner la caractérisation des souches.

Les résultats obtenus indiquent que les isolats appartiennent principalement aux espèces *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Leuconostoc spp.* et *Enterococcus faecium*. Ces bactéries sont également reconnues pour leur implication dans les fermentations lactiques traditionnelles, notamment dans les produits laitiers et carnés fermentés.

Les résultats détaillés sont présentés dans le **Tableau 9**, confirmant la diversité taxonomique des isolats étudiés et leur appartenance globale au groupe des bactéries lactiques d'intérêt technologique.

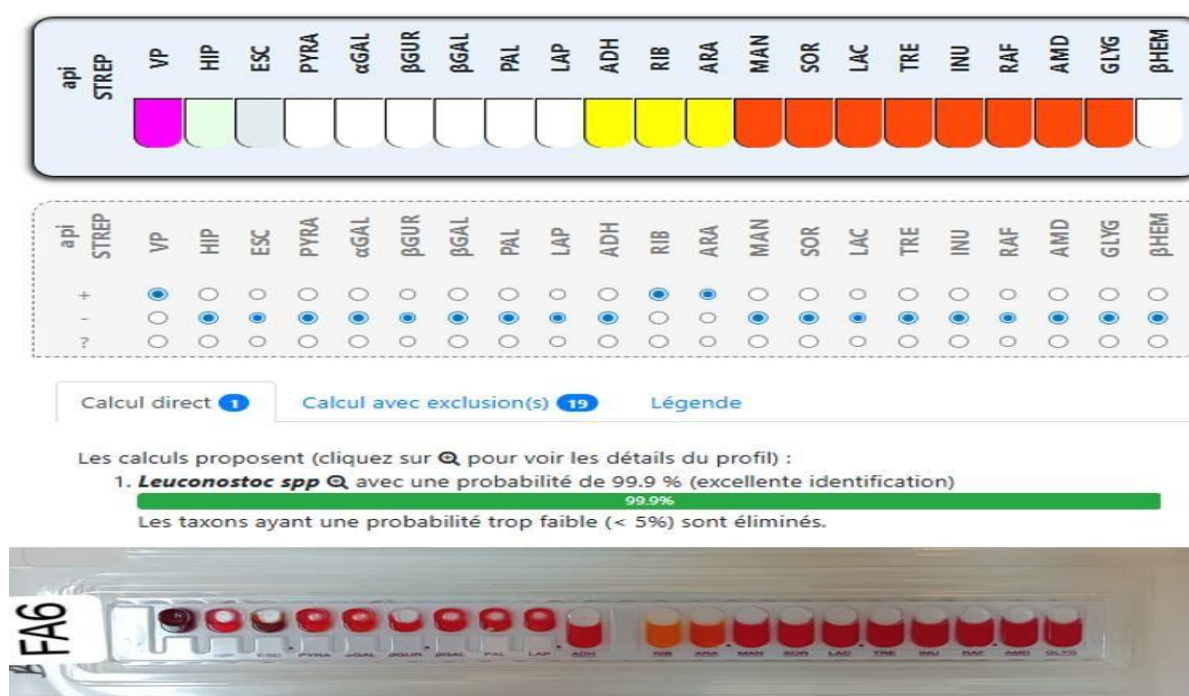


Figure 23 : Résultat de l'identification phénotypique de la souche FA6 *Leuconostoc spp.* obtenu à l'aide de la galerie API 20 STRE

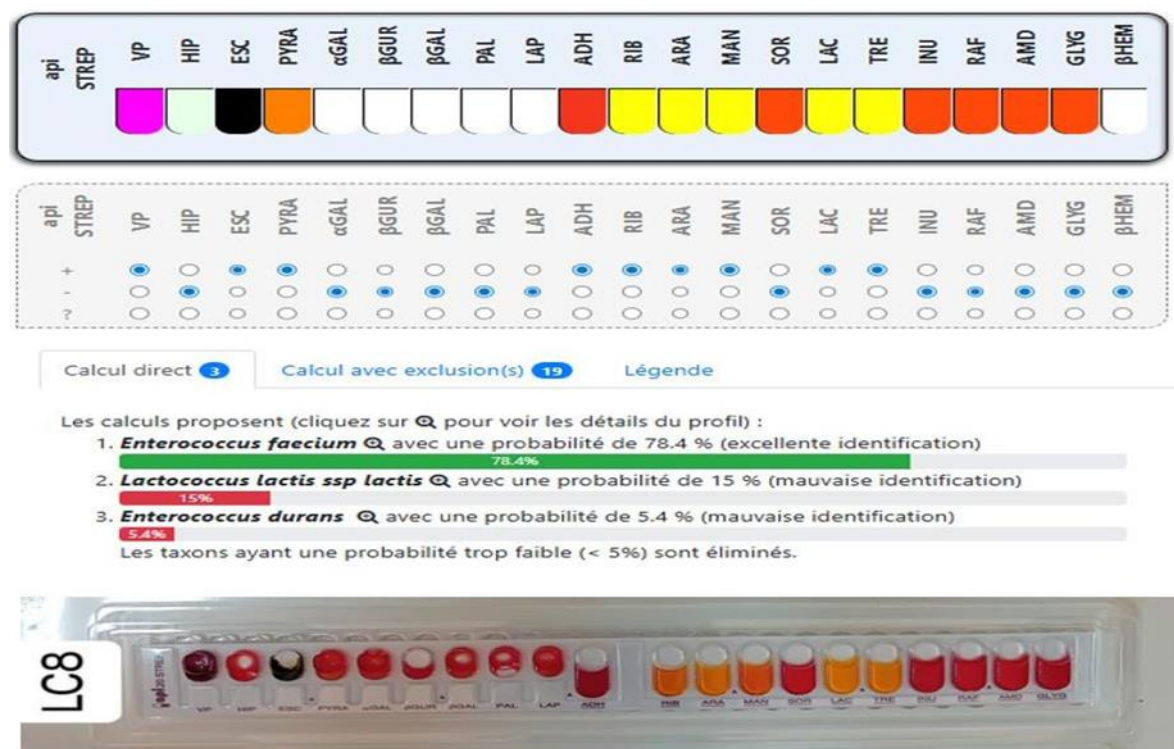


Figure 24 : Résultat de l'identification phénotypique de la souche LC8 *Enterococcus faecium* obtenu à l'aide de la galerie API 20 STRE

Tableau 9 : Identification phénotypique des souches lactiques isolées par galerie API 50 CHL
et API 20 STREP

Souche	Genre / Espèce identifié	Pourcentage d'identification
FA3	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>	89,50 %
FA6	<i>Leuconostoc</i> spp.	99,90 %
LC8	<i>Enterococcus faecium</i>	78,40 %
LCT1	<i>Leuconostoc</i> spp.	99,50 %
LA2	<i>Lactiseibacillus rhamnosus</i>	99.90%
VC2	<i>Levilactobacillus brevis</i> l	99.90%
LB4	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99.50%

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude avait pour ambition d'explorer la richesse microbiologique des produits fermentés traditionnels algériens en tant que réservoir naturel de bactéries lactiques (BL) à fort potentiel technologique et probiotique. L'isolement de 46 souches à partir de huit types de produits collectés dans cinq régions distinctes (Aïn Témouchent, Chlef, Biskra, Oran et Tougourt) a permis de constituer une collection microbienne représentative et diversifiée, caractérisée sur les plans morphologique, biochimique, physiologique et fonctionnel.

La sélection préliminaire, fondée sur les critères classiques d'appartenance au groupe des bactéries lactiques coloration Gram positive, catalase négative, oxydase négative et absence de sporulation a été validée pour l'ensemble des isolats. Tous se sont révélés homofermentaires stricts, sans production de gaz à partir du glucose, conférant une valeur technologique immédiate pour les applications en fermentations alimentaires. L'analyse phénotypique a mis en évidence une diversité notable : des souches mésophiles et thermophiles ont été identifiées, et plusieurs isolats ont manifesté une tolérance remarquable aux conditions environnementales défavorables (pH bas, fortes concentrations salines).

Sur le plan des propriétés technologiques, l'évaluation des activités protéolytique, acidifiante et lipolytique a révélé une variabilité inter-souches significative. Les souches VA11, VC1, VC2, FA1, FA6 et FO1 se sont distinguées par une activité protéolytique et acidifiante élevée, leur conférant un intérêt majeur comme cultures starter pour les fermentations laitières. L'absence totale d'activité lipolytique pour l'ensemble des 46 isolats représente un atout technologique considérable, limitant tout risque d'altération organoleptique. La production d'exopolysaccharides s'est avérée hétérogène entre souches, et la formation de biofilm, évaluée par la méthode au cristal violet, a identifié la souche LC6 comme la plus performante ($DO_{570} = 0,807$), un caractère favorable à la persistance intestinale.

L'évaluation des propriétés fonctionnelles par le test DPPH a révélé des potentiels antioxydants très contrastés. Les souches FO1 (93,5 %), LB6 (93,4 %) et FA1 (89,4 %) ont affiché des taux d'inhibition comparables à ceux d'antioxydants de référence, suggérant une capacité réelle de neutralisation des radicaux libres et un potentiel de protection contre le stress oxydatif intestinal.

L'évaluation des propriétés probiotiques constitue le résultat le plus saillant de ce travail. La résistance aux conditions gastro-intestinales simulées a permis d'identifier des profils de survie contrastés mais globalement prometteurs. À pH 2, les souches FA3 (153,3 %), LA1 (137,0 %), LB6 (133,3 %) et FA1 (133,3 %) ont confirmé leur robustesse face au

stress acide sévère. Face à la pepsine et à la trypsine, LC3 s'est révélée la plus performante (175,0 % et 150,0 % respectivement), témoignant d'une résistance exemplaire au transit digestif complet. La tolérance aux sels biliaires a mis en évidence le profil exceptionnel de LB6, avec un taux de survie remarquable de 570,0 % à 0,3 % d'Oxgall et de 80,0 % à la concentration la plus sévère (0,5 %), révélant une capacité de prolifération active en présence de bile. Les analyses d'hydrophobicité de surface et d'auto-agrégation ont confirmé le potentiel d'adhésion et de colonisation des souches LA1, FO1 et LB6, tandis que les tests de co-agrégation avec les pathogènes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont mis en évidence des profils d'inhibition compétitive variables, avec des taux atteignant 47,2 % et 49,0 % respectivement pour les meilleures souches.

Sur la base de l'ensemble de ces critères, quatre souches se dégagent comme candidates probiotiques prioritaires : LB6, présentant le profil le plus complet et le plus régulier ; LC3, particulièrement adaptée aux formulations ciblant le transit intestinal ; LA1, remarquable pour sa tolérance gastro-intestinale globale ; et FO1, pour son activité antioxydante exceptionnelle. Les souches FA1 et FA3 complètent ce répertoire fonctionnel dans une perspective de consortium probiotique multifonctionnel. L'analyse morphologique, physiologique et biochimique a révélé une diversité notable parmi les isolats collectés. L'identification réalisée à l'aide des galeries API 50 CHL et API 20 STREP a permis de mettre en évidence plusieurs espèces appartenant aux bactéries lactiques, notamment *Lactocaseibacillus rhamnosus* (LA2), *Lactiplantibacillus plantarum* (LB4), *Levilactobacillus brevis* (VC2), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (FA3), *Leuconostoc* spp. (FA6 et LCT1) et *Enterococcus faecium* (LC8). Cette diversité taxonomique témoigne de la richesse microbiologique des produits fermentés traditionnels algériens et souligne leur potentiel en tant que réservoir naturel de souches fonctionnelles présentant un intérêt technologique et probiotique.

Sélection des souches candidates : Sur la base de l'ensemble de ces critères, plusieurs souches se dégagent comme candidates probiotiques à fort potentiel :

- **LB6** affiche le profil le plus polyvalent et le plus régulier : tolérance biliaire exceptionnelle sur les trois concentrations testées, résistance marquée à pH 2, activité antioxydante très élevée (93,4 %) et bonne résistance à la pepsine (155,5 %). Elle constitue la candidate probiotique la plus complète de l'étude.

- **LC3** se distingue par une résistance supérieure aux enzymes digestives (pepsine : 175,0 % ; trypsine : 150,0 %), ce qui en fait une candidate idéale pour les formulations ciblant le transit intestinal.

- **LA1** présente une tolérance remarquable à l'Oxgall 0,1 % (225,0 %), associée à une bonne survie à pH 2 (137,0 %) et pH 3 (151,0 %), conférant un profil adapté aux conditions gastro-intestinales complètes.
- **FO1** se démarque par l'activité antioxydante la plus élevée de l'étude (93,5 %), une bonne tolérance à Oxgall 0,1 % et une résistance satisfaisante à la pepsine (152,6 %).
- **FA1** et **FA3** complètent ce panel par leurs activités antioxydantes élevées et leurs performances biliaires modérées, pouvant intégrer un consortium probiotique multifonctionnel.
- Les résultats de cette étude ouvrent des perspectives multiples et prometteuses, tant sur le plan scientifique qu'appliqué.

1. Identification moléculaire et génomique des souches candidates

Les souches les plus performantes, notamment LB6, LC3, LA1, FO1, FA1 et FA3, devront faire l'objet d'une identification moléculaire approfondie par séquençage du gène de l'ARNr 16S afin de confirmer leur statut taxonomique. Pour les souches présentant le meilleur potentiel probiotique, notamment LB6, LC3, LA1 et FO1, un séquençage génomique complet (Whole Genome Sequencing, WGS) permettra d'identifier les gènes impliqués dans l'adaptation au tractus gastro-intestinal, la production de métabolites bénéfiques, la résistance au stress ainsi que l'éventuelle présence de gènes de virulence ou de résistance aux antibiotiques.

2. Évaluation de l'innocuité et du statut GRAS/QPS

Avant toute valorisation industrielle, les souches LB6, LC3, LA1, FO1, FA1 et FA3 devront être soumises à une évaluation approfondie de leur innocuité. Cette démarche inclura les tests d'hémolyse, la détermination du profil de sensibilité aux antibiotiques, la recherche de gènes de virulence et l'évaluation du risque de transfert horizontal de gènes de résistance. Ces analyses sont indispensables pour envisager l'obtention d'un statut de sécurité compatible avec des applications alimentaires ou pharmaceutiques.

1. Études in vitro approfondies

Les excellentes performances de LB6, LA1, LC3 et FO1 justifient la réalisation d'études complémentaires portant sur leur capacité d'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (Caco-2 et HT-29), leur pouvoir de compétition avec les microorganismes pathogènes tels qu'*Escherichia coli*, *Salmonella* spp. et *Listeria monocytogenes*, ainsi que

leur aptitude à produire des bactériocines et autres substances antimicrobiennes. Ces travaux permettront de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans leurs effets probiotiques.

3. Développement de formulations probiotiques

Les souches LB6, LC3, LA1 et FO1 constituent les meilleures candidates pour le développement de formulations probiotiques innovantes. Leur incorporation sous forme lyophilisée, encapsulée ou microencapsulée pourrait améliorer leur stabilité au stockage et leur survie lors du transit digestif. L'utilisation de matrices protectrices à base d'alginate, de chitosane ou d'amidon résistant représente une approche particulièrement prometteuse pour préserver leur viabilité.

4. Valorisation dans les fermentations traditionnelles algériennes

Les souches présentant les meilleures propriétés technologiques, notamment FO1, FA1, FA6, VC1, VC2 et LB6, pourraient être utilisées comme cultures starters dans la fabrication de produits fermentés traditionnels algériens tels que le lben, le rayeb, la klila, le jben ou la bzina. Leur utilisation contribuerait à la standardisation des procédés de fabrication, à l'amélioration de la sécurité microbiologique des produits et à l'enrichissement de leurs propriétés fonctionnelles.

5. Validation in vivo des propriétés probiotiques

Les effets bénéfiques observés in vitro pour LB6, LC3, LA1 et FO1 devront être confirmés par des études in vivo sur modèles animaux. Ces travaux permettront d'évaluer leur capacité à moduler le microbiote intestinal, à stimuler les réponses immunitaires, à réduire l'inflammation et à protéger l'hôte contre les infections intestinales. Les résultats obtenus constitueront une étape essentielle avant d'envisager des essais cliniques chez l'Homme.

6. Exploration du potentiel biotechnologique

Les souches isolées, en particulier FO1, FA1, FA6, VC1 et VC2, pourraient également être valorisées pour leurs propriétés technologiques. Des études complémentaires pourraient porter sur la production de protéases, d'exopolysaccharides, d'acides organiques et d'autres molécules bioactives susceptibles d'être exploitées dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique ou biotechnologique.

7. Approches métagénomiques et écologie microbienne

Enfin, une étude métagénomique des produits fermentés traditionnels algériens ayant permis l'isolement de ces souches permettrait d'approfondir la compréhension des interactions microbiennes au sein de ces écosystèmes complexes. Cette approche contribuerait à identifier de nouvelles bactéries d'intérêt technologique ou probiotique encore non cultivables par les méthodes conventionnelles et à mieux comprendre les mécanismes de succession microbienne au cours des fermentations traditionnelles.

8. Valorisation des exopolysaccharides et des propriétés d'adhésion

Les souches productrices d'exopolysaccharides ainsi que la souche LC6, caractérisée par sa forte capacité de formation de biofilm, méritent des investigations complémentaires afin d'évaluer leur potentiel dans l'amélioration de la texture des aliments fermentés, la protection contre les stress environnementaux et la colonisation du tractus gastro-intestinal.

En définitive, cette étude confirme que les produits fermentés traditionnels algériens constituent un réservoir microbiologique exceptionnel, encore insuffisamment exploré, dont les richesses pourraient contribuer significativement au développement de nouvelles solutions probiotiques adaptées aux défis de la santé intestinale contemporaine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- "Abo-Amer, A. E., Shobrak, M. Y., & Altalhi, A. D. (2020). Isolation and probiotic potential of lactic acid bacteria from milk and traditional dairy products. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(17), 21627–21637."
- "Ait Chait, Y., Gunenc, A., Hosseinian, F., & Bendali, F. (2024). A novel bioprotective strain of *Lactiplantibacillus plantarum* F2 — physiological, genetical, and antimicrobial characterization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 16(5), 1724–1737."
- "Andi Sukainah, A., Nur, H., & Rais, M. (2019). Characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented cocoa beans. *Journal of Physics: Conference Series*, 1244(1), 012015."
- "Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., & Momin, A. (2023). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented milk products. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1068298."
- "Arakawa, K. (2019). Basic antibacterial assay to screen for bacteriocinogenic lactic acid bacteria and to elementarily characterize their bacteriocins. *Methods in Molecular Biology*, 1887, 15–22."
- "Awah, J. I., Ukwuru, M. U., & Alum, E. A. (2018). Bio-preservative potential of lactic acid bacteria metabolites against fungal pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 12(39), 896–903."
- "Ayesha, I. E., Monson, N. R., Klair, N., Patel, U., Saxena, A., Patel, D., & Venugopal, S. (2023). Probiotics and their role in the management of type 2 diabetes mellitus (short-term versus long-term effect): A systematic review and meta-analysis. *Cureus*, 15(10), e46741."
- "Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Claro da Silva, R., & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202–232."
- "Bajwa, A. A., Iqbal, S., Sohaib, M., Nasir, M., & Anjum, A. A. (2023). Impact of galacto-oligosaccharides on prebiotic potential in the intestinal microbiota fermentation and health status in an animal model. *Food Science and Technology*, 43."
- "Bekhouche, F., Bensoltane, A., Chentouf, A., & Kihal-Mouni, Z. (2022). Investigating the biotechnological potential of lactic acid bacteria strains isolated from different Algerian dairy and farm sources. *Archives of Microbiology*, 204, 204–220."
- "Belaïd, A. Y., Almeida, O. G. G., Gatto, V., Torriani, S., Del Río, B., Ladero, V.,

Redruello, B., Bensalah, F., & Álvarez, M. A. (2022). Investigating the biotechnological potential of lactic acid bacteria strains isolated from different Algerian dairy and farm sources. *Archives of Microbiology*, 204, 220.",

- "Belay, W., Ayalew, H., Tadese, D. A., & Assefa, A. (2026). Evaluation of the antimicrobial

- "Benameur, F., Belkaaloul, K., & Kheroua, O. (2024). Isolation of 60 strains from fermented milk of mares and donkeys in Algeria and identification by 16S rRNA sequencing of lactobacilli: Assessment of probiotic skills of important strains and aromatic productivity power. *Veterinary World*, 17(4), 829–841.",

- "Benzekri, I., Aissaoui, N., Hamdi, S., & Boudjella, H. (2024). Exploration of the biodiversity of the lactic flora of a traditional Algerian cheese (type: Jben) from the steppe zones of Djelfa. *Journal of Arid Environments*."

- "Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., Deng, Y., Blennerhassett, P. A., Fahnestock, M., Moine, D., Berger, B., Huizinga, J. D., Kunze, W., McLean, P. G., Bergonzelli, G. E., Collins, S. M., & Verdu, E. F. (2011). The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterology & Motility*, 23(12), 1132–1139.",

- "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (2009). The Firmicutes (2nd ed., Vol. 3). Springer.",

- "Berkes, E. A., Liao, Y.-H., Neef, D. W., Grandalski, M., & Monsul, N. T. (2020). Potentiated in vitro probiotic activities of *Lactobacillus fermentum* LfQi6 biofilm biomass versus planktonic culture. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3), 1012–1025.",
"Borthakur, D. N., Sharma, B. K., & Upadhye, V. J. (2025). Probiotic and aroma-producing *Bacillus* sp. isolates from teles, a traditional fermented fish from Assam, India: Functional characterisation and potential application in fermented foods. *BMC Microbiology*, 25, 112.",
"Bouguerra, A. (2021). Évaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle (Thèse de doctorat). Université Ferhat Abbas Sétif 1.",
"Boumediene, K., Bendimerad, N., Khiri, Z., Benamar, I., Anntar, A. C., & Moussa-Boudjemaa, B. (2025). Characterization of Jben: Microbiological and physicochemical analysis of traditional raw cow's milk cheese with dried lamb rennet from Ain Sefra, Algeria. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 44(3), 356–361.",

- "Bernardeau, M., Vernoux, J. P., Henri-Dubernet, S., & Guéguen, M. (2006). Safety

assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 278–285.",

- "Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.",

- "Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A. R., Martins, C., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C. N., Souchon, I., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., & Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014.",

- "Buda, B., Rozner, T., Gergics, M., Dányi, I., Vértessy, B. G., & Tóth, E. (2022). Alarming antibiotic resistance of *Lactobacillus* isolated from probiotic preparations and dietary supplements. *Microorganisms*, 10(11), 2233.",

- "Byakika, S., Mukisa, I. M., Byaruhanga, Y. B., & Muyanja, C. (2019). A review of criteria and methods for evaluating the probiotic potential of microorganisms. *Food Reviews International*, 35(5), 427–466.",

- "Campana, R., van Hemert, S., & Baffone, W. (2017). Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion. *Gut Pathogens*, 9, 12.",

- "Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, R. P., Hill, C., & O'Toole, P. W. (2022). Antibiotic resistance in wild and commercial non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria strains of dairy origin: An update. *International Dairy Journal*, 128, 105307.",

- "Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131–149.", "Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, 28(2), 203–209.",

- "Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021).

Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. *Foods*, 10(11), 2639.",

- "Cela, L., Brindisi, G., Gravina, A., Pastore, F., Semeraro, A., Bringheli, I., Marchetti, L., Morelli, R., Cinicola, B., & Capponi, M. (2023). Molecular mechanism and clinical effects of probiotics in the management of cow's milk protein allergy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 9781.",

- "Chandel, D., Sharma, M., Chawla, V., & Rishi, P. (2019). Isolation, characterization and identification of antigenotoxic and anticancerous indigenous probiotics and their prophylactic

- "Chen, H., Li, Y., Yang, H., Xiong, T., & Xie, M. (2025). Probiotic characteristics and whole genome sequence analysis of *Lactiplantibacillus plantarum* L168. *Food Bioscience*, 67, 106118.",

- "Christensen, L. F., Jensen, H., Sørensen, K. I., & Ardö, Y. (2023). Comparative structure analysis of the multi-domain cell-envelope proteinases of lactic acid bacteria.

- "Cirat, M., Tirtouil, A., Mellouk, H., & Benbouzid, H. (2024). Characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian fermented milk. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(1), 481–494.",

- "Codex Alimentarius. (2003). Standard for fermented milks (CXS 243-2003). FAO/WHO.", "Codex Alimentarius. (2011). Code of hygienic practice for milk and milk products (CXC 57-2004). FAO/WHO.",

- "Cotter, P. D., Beresford, T. P., Coton, M., Desmasures, N., Irlinger, F., Le Fleche-Mateos, A., Ogier, J.-C., & Coton, E. (2021). Microbiology of fermented foods and beverages.

- "Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggar, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., & Dinan, T. G. (2019). The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*, 99(4), 1877–2013.",

- "Daba, G. M., Elkhateeb, W. A., & Thomas, P. W. (2021). Bacteriocins of lactic acid bacteria as biotechnological tools. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102130.", "Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology &*

Hepatology, 16(8), 461–478.",

- "Danielsen, M., & Wind, A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82(1), 1–11.",

- "Dasriya, V. L., Samtiya, M., Ranveer, S., Dhillon, H. S., Devi, N., Sharma, V., Nikam, P., Puniya, M., Chaudhary, P., & Chaudhary, V. (2024). Modulation of gut microbiota through probiotics and dietary interventions to improve host health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.",

- "De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23(1), 130–135.",

- "Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). Gut instincts: Microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *The Journal of Physiology*, 595(2), 489–503.", "Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, R. P., Silva, C. C. G., & Fino, C. R. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal dairy products. *Food Microbiology*, 63, 178–190.",

- "dos Santos, E. A., Nascimento, J. S., Costa, M. P., & Magnani, M. (2020). Lactic acid bacteria with antimicrobial, proteolytic and lipolytic activities isolated from ovine dairy products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 40, e10119.",

- "Ebel, B. (2012). Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz (Thèse de doctorat). Université de Bourgogne–AgroSup Dijon.",

- "EFSA FEEDAP Panel. (2018). Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or production organisms. *EFSA Journal*, 16(3), e05206.",

- "EFSA FEEDAP Panel. (2021). Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the consumer. *EFSA Journal*, 19(11), e06913.",

- "El Hage, R., El Hage, J., Snini, S. P., Ammoun, I., Touma, J., Rachid, R., & El Rayess, Y. (2022). The detection of potential native probiotics *Lactobacillus* spp. against *Salmonella enteritidis*, *Salmonella infantis* and *Salmonella kentucky* ST198 of Lebanese chicken origin. *Antibiotics*, 11(9), 1147.",

- "Enaud, R., Prevel, R., Ciarlo, E., Beaufile, F., Wieërs, G., Guery, B., & Delhaes, L. (2020). The gut-lung axis in health and respiratory diseases. *International Journal of*

Molecular Sciences, 21(21), 1–25.",

- "Endo, A., Tanizawa, Y., Maeno, S., & Arita, M. (2024). Isolation and identification of lactic acid bacteria from environmental samples. In M. Kanauchi (Ed.), *Lactic acid bacteria: Methods in molecular biology* (Vol. 2851). Humana Press.",

- "Fan, Z., Xie, Q., Zhang, Y., Liu, C., Guo, F., & Wu, Q. (2024). Isolation, identification, and

- "FAO. (2023). *Milk and dairy products in human nutrition*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.",

- "FAO/WHO. (2001). *Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live acid bacteria*. FAO/WHO.",

- "FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. FAO/WHO.", "Fatoba, H. R., Adesanya, J. O., Emele, F. C., Iweriebor, B. C., Fasakin, A. O., & Obi, L. C. (2025). Toward safer and sustainable food preservation: A comprehensive review of bacteriocins in the food industry. *Microbiology Spectrum*, 13(5), e02408-24.",

- "Feng, X., Li, L., Yan, L., Yan, Z., Xu, Z., Fan, Y., Madjirebaye, P., & Wu, X. (2025). Probiotics attenuate food allergy via short-chain fatty acids-mediated immune modulation and gut barrier restoration. *Foods*, 14(22), 3953.",

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

- "Fízel, M., Bystrický, P., Greifová, H., Capcarová, M., & Partridge, J. (2024). The effect of food matrix taken with probiotics on the survival of commercial probiotics in simulation of gastrointestinal digestion. *Microorganisms*, 12(10), 2058.",

- "Fusco, V., Chieffì, D., Fanelli, F., Montemurro, M., Rizzello, C. G., & Franz, C. M. A. P. (2023). The *Weissella* and *Periweissella* genera: Up-to-date taxonomy, ecology, safety, biotechnological, and probiotic potential. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1289937.", "Gagnon, M. (2007). *Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale : analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins* (Thèse de doctorat).

- "Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898.", "Gancheva, A., Zheleva, N., Baev, M., Staikova, T., Boteva, E., & Georgieva, M.

(2025).

- "Gao, F., Sui, L., Mu, G., Qian, F., & Zhu, X. (2021). Screening of potential probiotics with
- "Gao, Y., Liu, X., Zhang, H., Wang, L., Chen, J., Li, Y., & Zhao, Q. (2022). Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented dairy products. *LWT – Food Science and Technology*, 154, 112770.",
- "Giraffa, G., Picchioni, N., Neviani, E., & Carminati, D. (2001). Production and stability of bacteriocins in milk-based media. *Food Microbiology*, 21(4), 399–406.",
- "Glogauer, A., Martini, V. P., Faoro, H., Couto, G. H., Müller-Santos, M., Monteiro, R. A., & Pedrosa, F. O. (2011). Identification and characterization of a new true lipase isolated through a metagenomic approach. *Microbial Cell Factories*, 10, 54.",
- "Goa, T., Beyene, G., Mekonnen, M., & Gorems, K. (2022). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from fermented milk produced in Jimma Town, Southwest Ethiopia, and evaluation of their antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria. *International Journal of Food Science*, 2022, 2076021.",
- "Grygorenko, V., Zabolotna, I., & Polishchuk, G. (2024). Recent advances in the understanding of stress resistance mechanisms in probiotics: Relevance for the design of functional food systems. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 16, 1820–1838.",
- "Gu, Q., Zhang, C., Song, D., Li, P., & Zhu, X. (2022). Bacteriocin from *Lactocaseibacillus rhamnosus* sp. A5: Isolation, purification, characterization, and antibacterial evaluation for sustainable food processing. *Sustainability*, 14(15), 9571.",
- "Guan, R., Yuan, L., Li, P., & Gu, Q. (2023). Probiotic properties of lactic acid bacteria from yak milk. *Food Science & Nutrition*, 11(3), 1524–1535.",
- "Guan, X., Zhao, D., Yang, Y., Huang, J., Lin, B., Zheng, Y., & Wang, Q. (2023). Characterization and in vitro assessment of probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* BXM2 from fermented honey passion fruit beverage. *Food Frontiers*, 4(3), 1372–1381.",
- "Gueimonde, M., Sánchez, B., de los Reyes-Gavilán, C. G., & Margolles, A. (2013). Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4, 202.", "Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). Lactic acid bacteria: Probiotic characteristic, selection criteria, and its role in human health. *International Journal of Emerging Technologies and*

Innovative Research, 5(10), 411–424.",

- "Hassan, H. A., Abdelmotilib, N. M., Abd El-Aziz, H. G., & Awad, A. A. (2023). Probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from Egyptian fermented food. *Scientific Reports*,

- "Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition: A review. *Lipids in Health and Disease*, 6(1), 25.",

- "Hierro, E., Hospital, X. F., Mano, S. B., & Fernández, M. (2023). In vitro and in-model evaluation of antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *Methods and Protocols in Food Science*, 125–136.",

- "Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514.",

- "Hu, G., Jiang, H. X., Zong, Y., & Zhang, Y. (2022). Characterization of lactic acid-producing bacteria isolated from rumen. *Fermentation*, 8(8), 385.",

- "Hu, Y., Zhang, L., Wen, R., Chen, Q., & Kong, B. (2022). Role of lactic acid bacteria in flavor development in traditional Chinese fermented foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(10), 2741–2755.",

- "Huang, J., & Cheng, H. (2025). Effects of *Bifidobacterium* on metabolic parameters in overweight or obesity adults: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1633434.",

- "Huang, Y. J., Marsland, B. J., Bunyavanich, S., O'Mahony, L., Leung, D. Y. M., Muraro, A., & Fleisher, T. A. (2022). The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 149(3), 857–871.", "Huijboom, L., Rashtchi, P., Tempelaars, M., Boeren, S., van der Linden, E., Habibi, M., & Abee, T. (2024). Phenotypic and proteomic differences in biofilm formation of two *Lactiplantibacillus plantarum* strains in static and dynamic flow environments. *Biofilm*, 7, 100197.",

- "Huligere, S. S., Kumari VB, C., Desai, S. M., Wong, L. S., Firdose, N., & Ramu, R. (2023). Investigating the antidiabetic efficacy of dairy-derived *Lacticaseibacillus paracasei* probiotic strains: Modulating alpha-amylase and alpha-glucosidase enzyme functions.

Frontiers in Microbiology, 14, 1288487."

- "Hyland, N. P., & Stanton, C. (2023). The evolution of the probiotic concept and its applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 82, 102950.",

- "Islam, R., Hossain, M., Alam, M., Uddin, M., Rony, M. H., Imran, M., & Sayeed, A. (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. *Advances in*

- "Jaafar, N. A. I., Mohamad, S. A. S., & Razak, W. R. W. A. (2019). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from stingless bee gut. *Malaysian Journal of Microbiology*.", "Jain, M. S., & Saleh, A. M. (2023). Homofermentative lactobacilli from organic sources.

- "Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2002). Bacterial identification for publication. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(6), 1887–1891.",

- "Joshi, S., Bruni, G. O., Zimmerman, T., Terrell, E., Salter, J., Kashem, M. N. H., & Nam, S. (2025). Phenotypic variation in growth and biofilm formation of *Leuconostoc* spp. from sugar beet factories. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1745936.",

- "Kaktcham, P. M., Zambou, N. F., Tchatio, A. C. M., de Brum Vieira, P. C., Temgoua, J. B., & Togoizou, S. B. (2019). Bacteriocinogenic *Lactobacillus* isolates from Nigerian fermented milk. *Journal of Food Protection*, 82(4), 591–600.",

- "Kalhor, D. H., Yin, Y., Kalhor, M. S., Raza, M. A., Bhutto, K. R., Soomro, F., & Soomro,

- "Kang, M., & Yao, P. (2024). Biofilm formation in probiotic lactic acid bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1342512.",

- "Kathiriya, M. R., Prajapati, J. B., Hati, S., & Vekariya, Y. V. (2018). Significance of growth rate, acceptability of fermented milk and release of peptides by lactic cultures. *Research & Reviews: Journal of Dairy Science and Technology*, 5(1), 31–40.",

- "Kaur, H., Kaur, G., & Ali, S. A. (2023). Probiotic characterization of LAB. *Current Research in Food Science*, 6, 100441.",

- "Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927–939.", "Khodja, B. (2018). Caractérisation phénotypique et moléculaire des

souches de bactéries lactiques productrices de bactériocine (Thèse de doctorat). Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès.",

- "Khushboo, Karnwal, A., & Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods.
- "Kim, H., Kim, H., Jang, J., Kim, B., Oh, S., & Chon, J. (2022). Antioxidant activity and
- "Kim, S. A., Baek, E. H., & Oh, S. (2022). Optimizing conditions in the acid tolerance test for potential probiotics using response surface methodology. *Microbiology Spectrum*, 10(5), e01625-22.",
- "Kouker, G., & Jaeger, K. E. (1987). Plate assay for bacterial lipases. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(1), 211–213.",
- "Koutnikova, H., Genser, B., Monteiro-Sepulveda, M., Faurie, J. M., Rizkalla, S., Schrezenmeir, J., & Clément, K. (2019). Impact of bacterial probiotics on obesity, diabetes and non-alcoholic fatty liver disease related variables: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 9(3), e017995.",
- "Krausova, G., Hyrslova, I., & Hynstova, I. (2019). In vitro evaluation of adhesion capacity, hydrophobicity, and auto-aggregation of newly isolated potential probiotic strains.
- "Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In E. Stackebrandt & M. Goodfellow (Eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* (pp. 115–175). Wiley.",
- "Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T.,
- "Leal, M. V., Morales, J., Reyes, K., Latorre, M., & Pérez, E. (2023). In vitro effect of the cell-free supernatant of the *Lactobacillus casei* strain IMAU60214 against the different pathogenic properties of diarrheagenic *Escherichia coli*. *Microorganisms*, 11(5), 1324.", "Lee, H.-J., Lee, J.-B., Park, S.-Y., Choi, I.-S., & Lee, S.-W. (2023). Antimicrobial activity of *Ligilactobacillus animalis* SWLA-1 and its cell-free supernatant against multidrug-resistant bacteria and its potential use as an alternative to antimicrobial agents. *Microorganisms*, 11(1), 182.",
- "Lepecka, A., & Kołozyn-Krajewska, D. (2025). Antioxidant properties of food-derived lactic acid bacteria: A review. *Microbial Biotechnology*, 18(9), e70229.",

- "Lepecka, A., Szymanski, P., & Okon, A. (2025). Isolation, identification, and evaluation of the antioxidant properties of lactic acid bacteria strains isolated from meat environment.
- "Li, Y., Xia, J., Wang, K., Peng, T., Guo, Y., Fan, M., Li, T., Jiang, L., & Qian, H. (2022).
- "Li, Y., Xia, Q., Shi, T., He, X., Li, Y., & Lin, H. (2023). Lactic acid bacteria with a strong antioxidant function isolated from Jiangshui, pickles, and feces. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1163662."
- "Liao, W., Liu, Y., & Chen, C. (2022). Probiotic of *Lactiplantibacillus plantarum* NWAUFU-BIO-BS29 isolated from Chinese traditional fermented milk and its potential therapeutic applications based on gut microbiota regulation. *Microorganisms*, 10(12), 2466."
- "Mahmoudi, I., Ben Moussa, O., Khaldi, T. E. M., Kebouchi, M., Soligot-Le Clerre, C., Le Roux, Y., & Hassouni, H. (2024). In vitro evaluation of probiotic properties and anti-pathogenic effects of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains as potential probiotics.
- "Mahmud, M. R., Akter, S., Tamanna, S. K., Mazumder, L., Esti, I. Z., Banerjee, S., Bonny,
- "Mao, Y., Wang, Y., Luo, X., Chen, X., & Wang, G. (2023). Impact of cell-free supernatant of lactic acid bacteria on *Staphylococcus aureus* biofilm and its metabolites. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1184989."
- "Marion, M. (2018). Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l'officine (Thèse de doctorat en pharmacie). Université de Caen Normandie."
- "Markowiak, P., & Slizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021."
- "Mechai, A., Debabza, M., & Kirane, D. (2014). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal*, 21(6), 2451–2458."
- "Mechai, A., Kirane, D., & Karam, N. E. (2014). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products.
- "Melia, S., Juliyarsi, I., Kurnia, Y. F., Rossi, E., & Alzahra, H. (2022). Selection of potential lactic acid bacteria as a candidate probiotic on cheese-making by-product whey. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 10(7), 1633–1640."

- "Meng, Y., Qin, Z., Behan, A. A., Ahmed, S., Arain, M. A., Malikli, N., Budar, J. A., & Hassanien, H. (2026). *Lactobacillus acidophilus* postbiotics differentially modulate nutrient sensing, intestinal barrier integrity, and inflammatory signaling in broiler. *Comprehensive Physiology*, 16(2).",
- "Merzouk, Y., Chahrour, W., Zarour, K., & others. (2013). Physico-chemical and microbiological analysis of Algerian raw camel's milk and identification of predominating thermophilic lactic acid bacteria. *Journal of Life Sciences*, 7(12), 1254–1261.",
- "Mgomi, F. C., Yang, Y. R., Cheng, G., & Yang, Z. Q. (2023). Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. *Biofilm*, 5, 100118.", "Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., & Brodkorb, A. (2014). A standardized static in vitro digestion method suitable for food: An international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113–1124.",
- "Mirzaei, H., Mohammadi, M., Shirkhan, F., & Zomorodi, S. (2023). Preparation of milk-based probiotic lactic acid bacteria biofilms: A new generation of probiotics. *Journal of Dairy Science*, 106(6), 3924–3937.",
- "Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255.", "Mokoena, M. P. (2021). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 26(9), 2745.", "Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2019). Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(16), 6463–6472.",
- "Morais, L. H., Schreiber, H. L., & Mazmanian, S. K. (2021). The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology*, 19(4), 241–255.", "Mousavi Gargari, S. L., & others. (2019). Probiotic properties of LAB from cheese. *Journal of Food Safety*, 39(4), e12657.",
- "Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Olszewska-Widdrat, A., & López-Gómez, J. P. (2020). Multiproduct lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, 6(1), 23.",

- "Msemwa, B., Chang, C.-C., & Ndwandwe, D. (2025). Lactic acid bacteria-derived secondary
- "Nair, et al. (2024). Study on biofilm formation among Enterococcus isolates and association with their antibiotic resistance patterns. *Cureus*, 16(2), e53594.",
- "Nami, Y., Abdullah, N., Haghshenas, B., & Khosroushahi, A. Y. (2026). Probiotic potential of lactic acid bacteria from dairy products. *Veterinary World*, 19(3), 539–553.",
- "Navale, V. D., Vamkudoth, K. R., & Kontham, R. (2024). Probiotic evaluation, adherence capability and safety assessment of *Lactococcus lactis* strain isolated from an important herb *Murraya koenigii*. *Scientific Reports*, 14, 17263.",
- "Ndiaye, M., Thiaw, M., Diop, M. B., & Gueye, N. S. (2024). Lactic acid bacteria from West African fermented foods: Technological and probiotic properties. *Food Science & Nutrition*, 12(3).",
- "Nectoux, H. (2022). Probiotiques : état des lieux des connaissances, rôles thérapeutiques actuels et à venir (Thèse de doctorat en pharmacie). [Université non précisée].",
- "Net, N. P., Keat, T. K., & Somashekar, D. (2021). Technological properties of lactic acid bacteria isolated from fermented foods. *Food Bioscience*, 42, 101148.",
- "Nikolic, M., López, P., Strahinic, I., Suárez, A., Kojic, M., Fernández-García, M., Topisirovic, L., & Golic, N. (2012). Characterization of the exopolysaccharide-producing *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11 and its exopolysaccharide. *Food Microbiology*, 32(2), 399–408.",
- "Nissen, L., Casciano, F., & Gianotti, A. (2023). Probiotic properties and antioxidant activity in vitro of lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 11(5), 1264.",
- "Okoye, C. O., Wei, Z., Jiang, H., Wu, Y., Wang, Y., Gao, L., Li, X., & Jiang, J. (2023). Metagenomics analysis reveals the performance of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria in alfalfa silage fermentation, bacterial community, and functional profiles. *Journal of Animal Science*, 101, skad163.",
- "Omeonu, F. C., Onilude, A. A., Azuh, V. O., & Laba, S. A. (2022). Phylogenetic identification and some physiological properties of lactic acid bacteria isolated from the oral cavities of selected students from the University of Ibadan, Nigeria. *Journal of Advances in Microbiology*, 22(8), 70–83.",

- "Osarugwe, S. A., Iweriebor, B. C., Obi, L. C., & Okoh, A. I. (2023). Antibiotic resistance in potential probiotic lactic acid bacteria of fermented foods and human origin from Nigeria.
- "Papadimitriou, K., Alegría, A., Bron, P. A., De Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., Lemos, J. A., Linares, D. M., Ross, P., Stanton, C., Turrone, F., van Sinderen, D., Varmanen, P., Ventura, M., Zuniga, M., & Tsakalidou, E. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837–890."
- "Park, C. H., Kim, K. T., & Paik, H. D. (2021). Antioxidant activity and short-chain fatty acid production of lactic acid bacteria isolated from Korean individuals and fermented foods.
- "Pasolliet, E. (2020). Large-scale genome-wide analysis links lactic acid bacteria from food with the gut microbiome. *Nature Communications*, 11, 2610."
- "Pejcz, E. (2024). Les facteurs influents sur l'efficacité des probiotiques tout au long de la chaîne de production. *Revue Européenne de Biotechnologie Alimentaire*, 19(1), 112–119.", "Peng, M., Biswas, D., & Biswas, D. (2022). Transcriptomic analysis revealed antimicrobial mechanisms of *Lactobacillus rhamnosus* SCB0119 against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15159.", "Pereira, W. A., Mendonça, C. M. N., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. T., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., Villalobos, E. F., Romero, J., & Oliveira, R. P. (2022). Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture. *Microorganisms*, 10(9), 1–22.", "Piquepaille, C. (2013). Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales (Thèse de doctorat). Université de Limoges."
- "Qadi, W. S. M., Mediani, A., Kasim, Z. M., Misnan, N. M., Sani, N. A., & Jamar, N. H. (2023). Biological characterization and metabolic variations among cell-free supernatants produced by selected plant-based lactic acid bacteria. *Metabolites*, 13(7), 849."
- "Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., & others. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698."
- "Radziwill-Bienkowska, J. M., Le, D. T. L., Szczesny, P., Duviau, M. P., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Loubière, P., & Kowalczyk, M. (2016). Adhesion of the genome-sequenced *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* IBB477 strain is mediated by specific molecular determinants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(22), 9605–9617."

- "Rahman, M. S., Islam, M. R., Hossain, M. I., Sarkar, M. A. R., & Sikdar, M. H. A. (2025). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* spp. isolated from fermented foods and their inhibitory effect against foodborne pathogens. *PeerJ*, 13, e18541.",
- "Rahman, M. S., Soltani, S., LaPointe, G., Karboune, S., & Fliss, I. (2025). Lactic acid bacteria: Beyond fermentation to bio-protection against fungal spoilage and mycotoxins in
- "Rakhmanova, A., Khan, Z. A., & Shah, K. (2018). A mini review fermentation and preservation: Role of lactic acid bacteria. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(5), 414–417.",
- "Raman, J., Kim, J. S., Choi, K. R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y. J., & Kim, S. J. (2022).
- "Refaat, B. M., Al-Hussaini, I., Al-Rasheed, N., & AlGhamdi, H. (2025). Assessing the antibiotic resistance in food lactic acid bacteria: Risks in the era of widespread probiotic use. *Food Science & Nutrition*, 13(4), e70740.",
- "Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. S. M. R. U., & Jahid, I. K. (2020).
- "Rezaei, Z., Khanzadi, S., & Salari, A. (2021). Biofilm formation and antagonistic activity of *Lactocaseibacillus rhamnosus* (PTCC1712) and *Lactiplantibacillus plantarum* (PTCC1745). *AMB Express*, 11, 163.",
- "Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., & Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12(2–3), 163–171.",
- "Safi, N. (2023). Isolement et caractérisation des bactéries lactiques (Thèse de doctorat). Université d'Oran 1.",
- "Sagyman, Z., Xiao, H., Anapiyayev, B. B., & others. (2021). Bacterial diversity analysis in Kazakh fermented milks Shubat and Ayran by combining culture-dependent and culture-independent methods. *LWT – Food Science and Technology*, 141, 110877.",
- "Salveti, E., Harris, H. M. B., Felis, G. E., & O'Toole, P. W. (2018). Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(7), 2408–2415.",
- "Sanchez-Rodriguez, E., Egea-Zorrilla, A., Plaza-Díaz, J., Aragón-Vela, J., Muñoz-Quezada, S., Tercedor-Sánchez, L., & Gil, A. (2020). The gut microbiota and its implication

in cardiovascular diseases. *Nutrients*, 12(3), 605."

- "Sanlibaba, P., & Tezel, B. U. (2021). Bacteriocin-producing LAB. *Journal of Food Quality*, 2021, 5536620."

- "Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. J. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria-gut-brain signals. *Trends in Neurosciences*, 39(11), 763–781."

- "Schaffer, S. D., & Hutchison, C. A. (2023). Diverse *Enterococcus faecalis* strains show heterogeneity in biofilm properties. *Research in Microbiology*, 174(1–2), 103986."

"Sharma, H., Özogul, F., Bartkiene, E., & Rocha, J. M. (2023). Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(21), 4819–4841."

"Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A., & Youssef, M. M. (2016). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol-lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 65–75."

- "Shokr, M. M., Eladawy, R. M., Azar, Y. O., & Al Raish, S. M. (2025). Probiotics and the gut-brain axis: Emerging therapeutic strategies for epilepsy and depression comorbidity.

- "Shokryzdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., & Ho, Y. W. (2017). Probiotics: From isolation to application. *Journal of the American College of Nutrition*, 36(8), 666–676."

"Sibanda, T., Marole, T. A., Thomashoff, U. L., Thantsha, M. S., & Buys, E. M. (2024).

- "Silva, D. R., Sardi, J. D. C. O., de Souza Pitangui, N., Roque, S. M., da Silva, A. C. B., & Rosalen, P. L. (2020). Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: Current reality and future directions. *Journal of Functional Foods*, 73, 104080."

- "Silva, Y. P., Bernardi, A., & Frozza, R. L. (2020). The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 25."

- "Singh, K., & Rao, A. (2021). Probiotics: A potential immunomodulator in COVID-19 infection management. *Nutrition Research*, 87, 1–12."

- "Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., & Chaiyasut, C. (2019). A review of the role of probiotics in dental caries prevention. *Biomedicines*, 7(2), 37."

- "Skrzypczak, K., Gustaw, W., Jabłońska-Ryś, E., Radzki, W., Kazimierczak, W., & Michalak-Majewska, M. (2025). Phenotypic and genetic characterization and production abilities of *Lactocaseibacillus rhamnosus* strain 484. *Microorganisms*, 13(6), 1380."

"Solieri,

L., Sola, L., Vaccalluzzo, A., Randazzo, C. L., Martini, S., & Tagliazucchi, D.

- "Soleimani, S., Mahjoory, H., Meimandipour, A., Bahonar, A., & Mahjoory, M. (2025). Identification, safety evaluation and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 429, 110988.",
- "Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891–899.",
- "Stephen, J., & Saleh, F. A. (2023). LAB from fermented dairy products. *Fermentation*, 9(4), 345.",
- "Strandwitz, P. (2018). Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Research*, 1693(Pt B), 128–133.",
- "Sun, Y., Zhang, S., Li, H., Zhu, J., Liu, Z., Hu, X., & Yi, J. (2022). Assessments of probiotic potentials of *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional fermented food: Phenotypic and genomic analysis. *Frontiers in Microbiology*, 13, 895132.",
- "Suthar, D. B., & Patel, V. (2026). *Enterococcus faecium* as probiotic candidate. *Applied Research*, 5(1), e70062.",
- "Tadesse, M. T., Abebe, B., Getachew, Y., & Assefa, A. (2022). Lactic acid bacteria isolated from fermented milk in Ethiopia: Technological and probiotic characterization. *International Journal of Microbiology*, 2022, 9767724.",
- "Tahlaiti, H. (2019). Étude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté (Thèse de doctorat en microbiologie). Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.",
- "Tang, W. H. W., & Hazen, S. L. (2017). The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *Journal of Clinical Investigation*, 127(1), 293–300.",
- "Tanyi Bobga, P., Kouam, J., Fokou, P. V. T., & Ngogang, J. Y. (2022). Anti-diabetic potential of *Lactobacillus fermentum* isolated from fermented foods. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology*, 7(10), 382–391.",
- "Tenea, G. N., & Ortega, C. (2023). Probiotic lactic acid bacteria as bioprotective cultures in food preservation: Current applications and future perspectives. *Microorganisms*,

11(5), 1184.",

- "Terzaghi, B. E., & Sandine, W. E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their

- "Thangavel, G., & Subramaniam, T. (2019). Microorganisms isolated from stored meat in India, with potential antimicrobial activity against food pathogens. *Food Science and Animal Resources*, 39(4), 677–685.",

- "Tiwari, S. K., & Srivastava, S. (2008). EPS-producing *Lactococcus lactis*. *Journal of Basic Microbiology*, 48(6), 431–439.",

- "Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T. (2005). Bacteriocins from LAB. *Journal of Basic Microbiology*, 45(4), 312–322.",

- "Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., Wiid, I. J. F., & Vaz-Velho, M. (2019). Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from smoked salmon and their antimicrobial properties. *Journal of Applied Microbiology*, 128(2), 423–438.",

- "Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., Wiid, I. J., & Dicks, L. M. T. (2019). The probiotic potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. *Food Research International*, 125, 108559.",

- "Tsvetanova, E., Georgieva, A., Alexandrova, A., Alexandrov, A., & Dragomanova, S. (2026). Antioxidant potential of probiotics and postbiotics derived from lactic acid bacteria and their impact on foods. *Foods*, 15(7), 1253.",

- "Tulini, F. L., Hymery, N., Haertlé, T., Le Blay, G., & De Martinis, E. C. P. (2016). Screening for antimicrobial and proteolytic activities of lactic acid bacteria isolated from cow, buffalo and goat milk and cheeses marketed in the southeast region of Brazil. *Journal of Dairy Research*, 83(1), 115–124.",

- "Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2014). Global trends in antimicrobial use in food animals. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(8), 742–750.",

- "Wan, M. L. Y., Chen, S., & El-Nezami, H. (2019). Interactions between probiotics and pathogens: Implications for host health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(20), 3320–3333.",

- "Wang, C., Fu, L., Tan, J. S., Singh, L. R., & Chuprom, J. (2025). Proteolytic lactic

acid bacteria for food safety and One Health: Degradation of cow's milk allergens and prospects for hypoallergenic dairy development. *Veterinary World*, 18(9), 2918.",

- "Wang, J., Bai, X., Peng, C., Yu, Z., Li, B., Zhang, W., Sun, Z., & Zhang, H. (2020). Fermented milk containing *Lactobacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* V9 alleviated constipation symptoms through regulation of intestinal microbiota,

- "Westfall, S., Lomis, N., Kahouli, I., Dia, S. Y., Singh, S. P., & Prakash, S. (2017). Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: Deciphering the gut-brain axis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(20), 3769–3787.",

- "Wieërs, G., Belkhir, L., Enaud, R., Leclercq, S., de Foy, J. M. P., & Dequenne, I. (2020). How probiotics affect the microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 454.",

- "Wouters, J. T. M., Ayad, E. H. E., Hugenholtz, J., & Smit, G. (2021). Occurrence and virulence of *Enterococcus* spp. in traditional fermented dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 340, 109033.",

- "Xie, S., Wang, C., Song, J., Zhang, Y., Wang, H., Chen, X., & Suo, H. (2025). In vitro evaluation of the probiotic properties and whole genome sequencing of *Lacticaseibacillus rhamnosus* J3205 isolated from home-made fermented sauce. *Microorganisms*, 13(7), 1643.", "Xu, J., Tu, M., Fan, X., Guo, Y., Zhang, T., Zeng, X., Cai, Z., Wu, Z., & Pan, D. (2023). A

- "Xu, Y., Zhou, T., Tang, H., Li, X., Chen, Y., Zhang, L., & Zhang, J. (2020). Probiotic potential and amylolytic properties of lactic acid bacteria isolated from Chinese fermented cereal foods. *Food Control*, 111, 107057.",

- "Yadav, M. K., Singh, B., & Tiwari, S. K. (2019). Screening of bacteriocin-producing LAB. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(2), 687–695.",

- "Yao, P., Kang, M., & Effarizah, M. E. (2025). Characterization of biofilm-forming lactic acid bacteria from traditional fermented foods and their probiotic potential. *Foods*, 14(24), 4299.",

- "Yerlan, A., Sadykova, A., Abzhalelov, A., & Omarov, B. (2023). Safety assessment of lactic acid bacteria intended for probiotic use. *Microorganisms*, 11(6), 1482.",

- "Yildiz, F., Issa, A., & Ortakci, F. (2026). The role of lactic acid bacteria in enhancing

- "You, L., Yang, C., Jin, H., Li, X., Zhang, Y., & Wang, R. (2024). Shotgun metagenomic analysis of microbiota dynamics during long-term backslopping fermentation of traditional fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 107(5), 2845–2860."
- "Yu, D., Xia, Y., Ge, L., Tan, B., & Chen, S. (2021). Effects of *Lactococcus lactis* on the intestinal functions in weaning piglets. *Frontiers in Nutrition*, 8, 713256."
- "Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1121–1135."
- "Zerucka, D., & Rampal, P. (2019). Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections. *World Journal of Gastroenterology*, 25(18), 2188–2203."
- "Zhang, J., Zhao, J., Jin, H., Lv, R., Yang, B., Ross, R. P., Stanton, C., Chen, W., & Zhang, H. (2023). Assessing the safety and probiotic characteristics of *Lacticaseibacillus rhamnosus* X253 via complete genome and phenotype analysis. *Microorganisms*, 11(1), 140."
- "Zhao, J., Li, X., Wang, Y., Chen, L., Zhang, H., Liu, Y., & Huang, J. (2024). Lactic acid bacteria with probiotic potential isolated from sour meat products. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1421285."
- "Zhao, M. M., Wang, X., Li, J., Zhang, Y., Chen, H., Liu, Q., & Sun, Z. (2023). Genome analysis and probiotic characterization of *Pediococcus acidilactici*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1179953."
- "Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P.,
- "Zhou, Y., Cui, Y., & Qu, X. (2019). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate Polymers*, 207, 317–332."
- "Zhou, Y., Zeng, L., & Fu, X. (2022). Indole lactic acid from *Lactobacillus* inhibits *Candida albicans* biofilm formation. *mBio*, 13(2), e03342-21."
- "Zi, Y., Zhou, S., Li, Y., Zhao, J., Yue, T., & Wang, Z. (2025). Screening and whole-genome
- (2022). Characterization of cell-envelope proteinases from two *Lacticaseibacillus casei*

strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Biology*, 11(1), 139."

- 13, 16601."
- Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: Mechanism of action, health benefits and their application in food industries.
- analysis of probiotic lactic acid bacteria with potential antioxidants from yak milk and dairy products in the Qinghai-Tibet Plateau. *Microorganisms*, 13(2), 442."
- anti-*Helicobacter pylori* activity from infant feces through principal component analysis. *Food Bioscience*, 42, 101045."
- Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: Advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7784."
- *Applied Sciences*, 11(8), 3515."
- bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29(6), 807–813."
- *Bifidobacterium* species viability in dairy-based probiotic foods: Challenges and innovative approaches for accurate viability determination and monitoring of probiotic functionality.
- *Bioscience and Biotechnology*, 11(2), 49–59."
- *BMC Microbiology*, 23, 148."
- Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1223–1237."
- digestibility and flavor profile of alternative protein matrices and cultivated-meat scaffolds. *Food Measurement*, 20, 4024–4036."
- Elsevier."
- evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from traditional fermented sour meat. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1421285."
- *Fermentation*, 5(4), 100."
- food systems. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1580670."
- *Foods*, 14(17), 2926."

- *Frontiers in Microbiology*, 14, 1170725.",
- *Frontiers in Microbiology*, 14, 1216674.",
- *Frontiers in Microbiology*, 14, 1297036.",
- *Frontiers in Microbiology*, 15, 1327010.",
- *Frontiers in Microbiology*.",
- Hatami, S., Sharifan, A., & Beheshti, M. (2022). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented foods and evaluation of their probiotic properties. *Food Bioscience*, 49, 101953.
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22, 401–407.
- inflammation, and metabolic pathways. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11025–11038.", "Wang, Y. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285.", "Wang, Y., Zhang, C., Liu, F., Jin, Z., & Xia, X. (2023). Ecological succession and functional characteristics of lactic acid bacteria in traditional fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(22), 5841–5855.",
- *International Food Research Journal*, 21(6), 2451–2458.",
- metabolites: Emerging natural alternatives for food preservation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17, 1687–1704.",
- *Microorganisms*, 11(9), 2256.",
- *Microorganisms*, 12(7), 1443.",
- novel strain of *Levilactobacillus brevis* PDD-5 isolated from salty vegetables has beneficial effects on hyperuricemia through anti-inflammation and improvement of kidney damage.
- O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & 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.",

- PLOS ONE, 20(7), e0327225.",
- potential in experimental colon carcinogenesis. Scientific Reports, 9(1), 14769.",
"Chandrasekaran, P., Weiskirchen, S., & Weiskirchen, R. (2024). Effects of probiotics on gut microbiota: An overview. International Journal of Molecular Sciences, 25(11), 6022.",
"Charnchai, P., Jantama, S. S., & Jantama, K. (2022). Acid and bile tolerance of potentially probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional fermented Thai foods. Microorganisms, 10(9), 1808.",
- Potential of fermented food-derived Lactiplantibacillus cell-free supernatants to control Staphylococcus aureus growth and biofilm development. Microorganisms, 13(4), 760.",
"Gänzle, M. G., & Zheng, J. (2022). After the storm—Perspectives on the taxonomy of Lactobacillaceae. JDS Communications, 3(3), 222–227.",
- probiotic properties of lactic acid bacteria. Fermentation, 8(1), 29.",
- properties of potential probiotic lactic acid bacteria from raw and fermented cow milk. Scientific Reports, 16, 5423.",
- raw milk. Frontiers in Microbiology, 13, 918774.",
- S. A. (2023). Antimicrobial activities and biopreservation potential of lactic acid bacteria (LAB) from raw buffalo (Bubalus bubalis) milk. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2023, 8475995.",
- Screening and evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from local Holstein
- T. S., & others. (2022). Impact of gut microbiome on skin health: Gut-skin axis observed through the lenses of therapeutics and skin diseases. Gut Microbes, 14(1), 2096995.",
"Mangia, N. P., Garau, G., Murgia, M. A., & others. (2014). Influence of autochthonous lactic acid bacteria and enzymatic yeast extracts on the microbiological, biochemical and sensorial properties of Lben generic products. Journal of Dairy Research, 81(2), 223–230.",
- Université Laval.",

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de culture et des solutions utilisées

Tableau 1.1 : Composition du milieu MRS

Composition du milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) utilisé pour l'isolement et la culture des bactéries lactiques

Composants	Quantité
Peptone	10 g
Extrait de viande	8 g
Extrait de levure	4 g
Glucose	20 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate d'ammonium	2 g
Phosphate dipotassique (K_2HPO_4)	2 g
Sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,2 g
Sulfate de manganèse ($MnSO_4 \cdot H_2O$)	0,05 g
Tween 80	1 mL
Agar (milieu solide)	15 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	6,2 $\pm$ 0,2

Tableau 1.2 : Composition du milieu M17

Composition du milieu M17 utilisé pour la culture des streptocoques lactiques et des lactocoques

Composants	Quantité
Peptone	5 g
Peptone de caséine (tryptone)	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Extrait de viande	5 g
Lactose	5 g
β -glycérophosphate de sodium	19 g

Ascorbate de sodium	0,5 g
Sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,25 g
Sulfate ferreux ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,1 $\pm$ 0,2

Tableau 1.3 : Composition de la gélose Mueller-Hinton

Composition de la gélose Mueller–Hinton utilisée pour les tests de sensibilité aux antibiotiques

Composants	Quantité
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Extrait de viande de bœuf	2 g
Amidon	1,5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,3 $\pm$ 0,1

Tableau 1.4 : Composition de la gélose au sang

Composition de la gélose au sang utilisée pour l'évaluation de l'activité hémolytique des souches bactériennes

Composants	Quantité
Peptone	10 g
Extrait de viande	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Sang défibriné de mouton	5 % (v/v)
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,3 $\pm$ 0,2

Tableau 1.5 : Composition de la gélose au sang

Composition du milieu Dextrose Tryptone Agar (DTA)

Composants	Quantité (g/L)
Tryptone	10,0
Dextrose (glucose)	5,0
Pourpre de bromocrésol	0,04
Agar	15,0
Eau distillée	1000 mL
pH final	6,7 ± 0,2

Tableau 1.6 : Composition de la solution saline physiologique

Composition de la solution saline physiologique utilisée pour les dilutions et la préparation des suspensions bactériennes

Composants	Quantité
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,0 ± 0,2

Tableau 1.7 : Composition de la solution d'Oxgall à 0,3 %

Composition de la solution d'Oxgall à 0,3 % utilisée pour l'évaluation de la tolérance aux sels biliaires

Composants	Quantité
Oxgall (sels biliaires)	0,3 g
Bouillon MRS	100 mL

Tableau 1.8 : Composition de la solution de pepsine

Composition de la solution de pepsine utilisée pour la simulation des conditions gastriques

Composants	Quantité
Pepsine	3 g/L
Solution saline ajustée à pH 2,0–3,0	1000 mL

Tableau 1.9 : Composition de la solution de trypsine

Composition de la solution de trypsine utilisée pour la simulation des conditions intestinales

Composants	Quantité
Trypsine	1 g/L
Tampon phosphate stérile (pH 8,0)	1000 mL

Annexe 2 : Composition des solutions tampons et réactifs

Tableau 2.1 : Composition de la solution PBS (pH 7,4)

Composition de la solution PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7,4)

Composés	Concentration (g/L)
NaCl	8,0
KCl	0,2
Na ₂ HPO ₄	1,44
KH ₂ PO ₄	0,24

Tableau 2.2 : Composition de la solution électrolytique pour la phase intestinale simulée (SIF)

Composition de la solution électrolytique pour la phase intestinale simulée (SIF) selon le protocole INFOGEST

Composés	Concentration finale (mM)
KCl	6,8
KH ₂ PO ₄	0,8
NaHCO ₃	85
NaCl	38,4
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,33
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,3

Annexe 3 : Répartition et origine des souches bactériennes isolées

Répartition des souches bactériennes selon le produit d'origine et la région de prélèvement

Produit d'origine	Région	Souches isolées
Lait de vache fermenté	Aïn Témouchent	VA1 à VA11
Lait de vache fermenté	Chlef	VC1 à VC7
Lben	Chlef	LC1 à LC10
Lben	Aïn Témouchent	LA1, LA2
Lait de brebis	Biskra	LB1 à LB6
Fromage frais	Aïn Témouchent	FA1 à FA6
Fromage frais	Oran	FO1, FO2
Lait de chamelle	Touggourt	LCT1, LCT2

Annexe 4 : Résultats détaillés des tests de tolérance et de survie en conditions gastro-intestinales simulées

Tableau 4.1 : Tolérance à l'acidité gastrique (pH 3)

Tolérance des souches bactériennes à l'acidité gastrique (pH 3) après 2 h d'incubation

Souche	T0 (DO₆₀₀)	T2 (DO₆₀₀)	Tolérance (%)
VC1	0,024	0,005	20,8
VC2	0,005	0,272	54,4
VC6	0,004	0,007	175,0
VC4*	0,047	0,005	10,6
VC3	0,002	0,001	50,0
VA11	0,243	0,070	29,0
VA9	0,477	0,410	86,0
VA4	0,014	0,012	85,7
LB3	0,533	0,300	56,0
LB6	0,300	0,251	83,7
LB1 / LB4	0,001	0,004	65,2
FA1	0,012	0,013	108,3
FA2	0,008	0,009	112,5
FA3	0,024	0,025	104,2
FA5	0,504	0,251	49,8
FA6	0,504	0,218	43,3
FO1	0,187	0,121	64,7
FO2	0,026	0,021	80,8
LA1	0,146	0,513	351,4
LA2	0,341	0,259	76,0
LCT1	0,010	0,003	30,0
LCT2	0,017	0,011	64,7

Tableau 4.2 : Tolérance à l'acidité gastrique (pH 2)

Tolérance des souches bactériennes à l'acidité gastrique (pH 2) après 3 h d'incubation

Souche	T0 (DO ₆₀₀)	T3 (DO ₆₀₀)	Tolérance (%)
VC1	0,024	0,025	104
VC2	0,005	0,005	109
VC6	0,004	0,001	25
LB6	0,003	0,013	433
LB1 / LB4	0,001	0,001	100
FA1	0,012	0,028	233
FA3	0,024	0,116	483
FA6	0,504	0,228	44
FO1	0,187	0,090	48
FO2	0,026	0,014	54
LA1	0,146	0,345	237
VA9	0,477	0,001	0,2

Tableau 4.3 : Tolérance à la pepsine

Tolérance des souches bactériennes à la pepsine après 2 h d'incubation

Souche	T0 (DO ₆₀₀)	T1 (DO ₆₀₀)
LC3	0,004	0,007
LA1	0,011	0,007
LC6	0,486	0,523
FA3	0,246	0,120
LB6	0,364	0,566
LO1	0,363	0,554

Tableau 4.4 : Tolérance à la pepsine

Tolérance des souches bactériennes à la trypsine après 4 h d'incubation

Souche	T0 (DO₆₀₀)	T1 (DO₆₀₀)
LC3	0,036	0,331
LA1	0,184	0,077
LC6	0,363	0,515
FA3	0,087	0,012
LB6	0,812	0,494
LO1	0,887	0,772

Tableau 4.5: Croissance en présence de 0,1 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,1 % d'Oxgall (sels biliaires)

Souche	0 h (DO₆₀₀)	4 h (DO₆₀₀)	8 h (DO₆₀₀)	24 h (DO₆₀₀)
LB6	0,100	0,059	0,034	0,070
LC6	0,090	0,012	0,018	0,023
LC3	0,080	0,072	0,032	0,014
LA1	0,100	0,457	0,227	0,225
FO1	0,120	0,959	0,229	0,121
FA3	0,100	0,162	0,051	0,017

Tableau 4.6 : Croissance en présence de 0,3 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,3 % d'Oxgall (sels biliaires)

Souche	0 h (DO₆₀₀)	4 h (DO₆₀₀)	8 h (DO₆₀₀)	24 h (DO₆₀₀)
LB6	0,100	0,368	0,141	0,010
LC6	0,090	0,090	0,011	0,008
LC3	0,080	0,030	0,017	0,060
LA1	0,100	0,354	0,095	0,008
FO1	0,120	0,508	0,551	0,005
FA3	0,100	0,275	0,115	0,020

Tableau 4.7 : Croissance en présence de 0,5 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,5 % d'Oxgall (sels biliaires)

Souche	0 h (DO₆₀₀)	4 h (DO₆₀₀)	8 h (DO₆₀₀)	24 h (DO₆₀₀)
LB6	0,100	0,180	0,230	0,080
LC6	0,090	0,124	0,013	0,010
LC3	0,080	0,191	0,106	0,007
LA1	0,100	0,389	0,117	0,007
FO1	0,120	0,328	0,342	0,004
FA3	0,100	0,261	0,035	0,017

Annexe 5 : Résultats complémentaires de caractérisation fonctionnelle des souches probiotiques

Tableau 5.1 : Capacité de co-agrégation avec *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Capacité de co-agrégation des souches de bactéries lactiques avec *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Souche	Co-agrégation avec <i>E. coli</i> (%)	Co-agrégation avec <i>S. aureus</i> (%)
FA3	38,0	25,4
LB4	26,6	35,2
VA11	38,4	49,0
FO2	47,2	34,0
LC6	44,6	21,0
LC8	45,0	36,8

Tableau 5.2 : Pouvoir antioxydant évalué par le test DPPH

Pouvoir antioxydant des souches de bactéries lactiques sélectionnées évalué par le test du DPPH

Souche	Absorbance	Inhibition (%)
FO2	0,063	87,1
VC2	0,541	27,4
LB3	0,658	12,8
LB6	0,013	93,4
FA1	0,045	89,4
FO1	0,012	93,5
VA10	0,286	59,3

