

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Santé



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER
Thème

**Isolement de bactéries lactiques et évaluation de leur
activité antifongique à l'égard de souches de *Candida
albicans* de la niche vaginale**

Présenté par :

M^{lle} RABHI Fatima et M^{lle} KHAROUNI Manel

Soutenu le : 07 juillet 2025

Devant le jury composé de :

Nom et prénom	Grade	Qualité
DJOUDER Zina	MAA	Présidente
LADJOUZI Rachid	MAA	Examineur
OUARABI Liza	MCB	Promotrice
BARACHE Nacim	MCA	Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **Dr OUARABI Liza**, notre promotrice, pour son encadrement rigoureux, ses précieux conseils, sa disponibilité et son soutien constant tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos sincères remerciements vont également **Dr BARACHE Nacim**, notre co-encadrant, pour son accompagnement, sa bienveillance et ses orientations pertinentes qui ont grandement contribué à l'avancement de ce mémoire.

Nous remercions chaleureusement **Dr BOUDJOUAN Fares** pour son suivi attentif, ses conseils avisés et l'intérêt qu'il a porté à ce projet.

Nous adressons aussi nos remerciements les plus sincères à **Mme DJOUDER Zina**, Présidente du jury, à **M. LADJOUZI Rachid**, examinateur de ce travail, ainsi qu'aux autres membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail et pour le temps qu'ils y ont consacré.

Enfin, nous remercions tous les enseignants de l'Université de Béjaïa pour la qualité de l'enseignement dispensé tout au long de notre parcours, ainsi que toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire

Dédicaces

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont été présentes tout au long de mon parcours, avec amour, soutien et bienveillance.

*À mes parents, Houcine et Naïma,
Merci pour votre amour inconditionnel, vos sacrifices silencieux et
votre présence rassurante à chaque étape. Ce travail est avant tout le
fruit de tout ce que vous m'avez transmis.*

*À mes frères, Rabah, Racim et Yanis,
Pour votre soutien discret mais précieux, et pour être toujours là,
chacun à votre manière.*

*À mon meilleur ami, Mohamed,
Pour ton amitié sincère, ton soutien fidèle et ton optimisme contagieux
qui m'ont tant aidée.*

*À ma cousine Wissam,
Merci pour ton écoute, ta douceur et ta présence constante, si
réconfortante.*

*À ma meilleure amie, Fériel,
Pour ta patience, ton énergie, et les innombrables moments partagés
qui m'ont portée dans les moments difficiles.*

*À mes amies, Maya et Mélissa,
Merci pour votre bonne humeur, vos encouragements et votre belle
amitié.*

*À ma binôme, Manel
Pour ton sérieux, ta persévérance et l'entraide précieuse qui
nous a unies tout au long de ce travail*

Célia

Dédicaces

Avant toute chose, je rends grâce au Tout-Puissant, source de sagesse, de force et de persévérance, sans qui rien n'aurait été possible.

*Je dédie ce travail avec une profonde reconnaissance :
À mes parents bien-aimés Brahim et Hassiba,
pour leur amour inconditionnel, leurs innombrables sacrifices et leur soutien sans faille. Leur présence constante dans ma vie est une lumière qui me guide, et c'est à eux que je dois la personne que je suis aujourd'hui.*

*À ma sœur Widad,
pour sa tendresse, sa patience et son soutien discret mais si précieux dans les moments difficiles*

*À mon grand-père Ali,
que Dieu ait son âme. Sa mémoire, sa droiture et ses enseignements continuent de m'inspirer à chaque étape de ma vie.*

*À ma grand-mère Baya
dont la sagesse, l'affection et les prières m'accompagnent chaque jour et me donnent la force d'avancer.*

*À ma tante Keltoum mon oncle Hachemi, et mon petit cousin Housseem,
pour leur bienveillance, leurs encouragements et leur affection sincère qui m'ont toujours réchauffé le cœur.*

*À mon meilleur ami Adel,
mon compagnon de route, pour sa fidélité, sa compréhension et sa présence motivante tout au long de ce parcours.*

*À ma binôme et collègue de travail Célia
, pour son engagement, sa rigueur et l'esprit de collaboration qui a enrichi chaque étape de cette aventure scientifique*

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont cru en moi et ont contribué à l'aboutissement de ce travail, recevez ici l'expression de ma gratitude la plus profonde

Manel

Liste des abréviations

A : Absorbance

C : *Candida*

E : *Escherichia*

Lb : *Lactobacillus*

S : Staphylococcus

CVV : Vulvo-Vaginite Candidosique

VP : vin de palme

LM : Lait maternel

Liste des figures

Figure 1: Anatomie de l'appareil reproducteur féminin	4
Figure 2. Frottis vaginal montrant des bacilles de <i>Lactobacillus</i> caractéristiques d'une flore normale (Menard 2009).....	9
Figure 3 : Frottis vaginal montrant une flore polymicrobienne caractéristique d'une dysbiose vaginale (Menard 2009).....	11
Figure 4: caractéristique des souches probiotiques (Ocaña et al. 2006).....	13
Figure 5: Les mécanismes appliqués par les bactéries lactiques dans le maintien de la santé vaginale (ling-ying-wu 2024)	14
Figure 6: Schéma illustratif des étapes de l'isolement	22
Figure 7: Schéma de la réalisation du test des spots sur MH	27
Figure 8 : schéma illustratif de test de spot sur MRS	28
Figure 9: Schéma illustratif de test du puits	29
Figure 15: Aspect macroscopique des bacilles sur gélose MRS	32
Figure 16: Aspect microscopique des bacilles a gram positif	33
Figure 17: résultat de l'activité hémolytique.....	34
Figure 18: Résultat de test d'auto-agrégation.....	35
Figure 19: Résultats du test d'hydrophobicité.....	37
Figure 20 : Résultats du criblage des souches de bactéries lactiques quant à leur capacité d'adhésion sur microplaque en polystyrène.....	38
Figure 21 : Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de sur milieu MH spot	40
Figure 22. Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de spot sur milieu MRS....	41
Figure 23. Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de puits. L'activité anti-adhésive de différentes souches de bactéries lactiques vis-à-vis de deux pathogènes opportunistes : <i>Staphylococcus aureus</i> (en rouge) et <i>Escherichia coli</i> (en bleu). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'adhésion des pathogènes, comparativement à un témoin non traité.	44
Figure 24 : Degrés de co-agrégation (%) entre les bactéries lactiques et <i>C.albicans</i> après 4 h d'incubation.....	45
Figure 25. Pourcentages de co-agrégation (%) entre les bactéries lactiques et les souches pathogènes <i>E.coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figure 26 : Potentiel anti-adhésif des bactéries lactique contre <i>Candida albicans</i> et <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus</i>	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition, localisation et rôles des principaux microbiotes de l'appareil génital féminin	5
Tableau 2. Les cinq principales communautés vaginales CST	10
Tableau 3:composition de lait maternel	17
Tableau 4:composition biochimique et microbiologique de vin de palme	19
Tableau 5. Liste des antibiotiques testés	26
Tableau 7. Classification des souches de bactéries lactiques	37

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

<i>Introduction</i>	
<i>Synthèse bibliographique</i>	3
1.1. Anatomie de l'appareil uro-génital féminin	4
1.2. Communautés microbiennes de l'appareil génital féminin	5
2. Composition de microbiote vaginal	8
2.1. Le microbiote vaginal a l'état d'eubiose.....	8
2.2. Le microbiote vaginal a l'état de dysbiose	10
2.2.1. La vaginose bactérienne.....	10
2.2.2. La vulvo-vaginite candidosique	11
2.2.3. Les infections sexuellement transmissibles (IST)	12
2.2. Facteurs influençant le microbiote vaginal	12
3. Les probiotiques	13
3.1. Critères de sélection des probiotiques vaginaux.....	13
3.2. Mode d'action des probiotiques	14
3.2.1. Production de l'acide organique (l'acide lactique)	15
3.2.2. La sécrétion de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	15
3.2.2. La sécrétion de bactériocines.....	15
3.2.3. La sécrétion de biosurfactants.....	16
3.3. Voies d'administration des probiotiques.....	16
3.4. Diversité écologique et adaptation vaginale	17
3.4.1. Le lait maternel.....	17
3.5. Adaptation des niches conventionnelles et non conventionnelles à la niche vaginale	19
Matérielles et Méthodes	20
1. Matériel biologique.....	21
2. Isolement et purification des isolats.....	21
3. Identification préliminaire des isolats	22
4. Caractérisation des souches sélectionnées	23
4.1. Activité hémolytique.....	23
4.2. Évaluation de l'auto-agrégation des souches lactiques	23
4.3. Détermination de l'hydrophobicité de la paroi cellulaire	24
4.4. Caractérisation des souches isolées pour leur aptitude à adhérer aux surfaces en polystyrène	24

4.5. Résistance aux antibiotiques.....	25
5. Evaluation du potentiel antagoniste des souches lactiques a l'égard des souches vaginales de <i>Candida albicans</i>	26
5.1. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots	26
5.2. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots	28
5.3. Evaluation de la capacité de co-agrégation des souches lactiques	29
5.4. Evaluation de la capacité antiadhésive des souches lactiques	30
<i>Résultats & Discussion</i>	31
1. Isolement et purification des souches	32
2. Identification préliminaire des souches lactiques	32
3. Caractérisation des souches sélectionnées.....	34
3.1.Activité hémolytique.....	34
3.2.Évaluation de l'auto-agrégation des souches lactiques	35
3.3.Détermination de l'hydrophobicité de la paroi cellulaire.....	36
3.4. Caractérisation des souches isolées pour leur aptitude à adhérer aux surfaces en polystyrène	37
3.5. Résistance aux antibiotiques.....	38
4.1. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots	40
4.3. Evaluation de la capacité de co-agrégation des souches lactiques	44
<i>Conclusion</i>	51
<i>Annexes</i>	53

Introduction

Introduction

Le tractus reproducteur féminin constitue un environnement microbiologique essentiel, similaire à d'autres sites muqueux du corps humain, où une diversité significative de communautés microbiennes colonise et prolifère (**Gao et al. 2024**) Le microbiote vaginal est dominé par des Lactobacilles de différentes espèces composant « la flore de Doderleïn » qui est largement reconnu comme un écosystème équilibré, où les espèces de *Lactobacillus* prédominent. Dans des conditions physiologiques normales, cette prédominance des *Lactobacillus* a longtemps été interprétée comme un signe indicatif de la santé vaginale (**Liu et al. 2023**)

Une flore vaginale caractérisée par une diminution de la proportion ou de l'abondance des *Lactobacillus* peut conduire à un déséquilibre du microbiote vaginal, également appelé dysbiose, lequel est associé à des infections vaginales telles que la vaginose bactérienne (VB) et la candidose vulvo-vaginale (CVV) (**Liu et al. 2023**)

Bien que la vaginose bactérienne ait fait l'objet de nombreuses études, la candidose vulvo-vaginale demeure un sujet de grande importance. Il s'agit d'une affection infectieuse multifactorielle affectant l'appareil reproducteur inférieur féminin, caractérisée par des symptômes d'inflammation et une prolifération excessive de la levure *Candida albicans* (**Liu et al. 2023**) Cette espèce est particulièrement fréquente chez les femmes en phase de pré-ménopause, de grossesse ou celles souffrant de CVV aiguë (**Liu et al. 2023**)

Les bactéries lactiques probiotiques ont été employées comme alternatives et compléments aux antibiotiques, contribuant ainsi à atténuer la résistance aux antimicrobiens engendrée par la surutilisation d'antibiotiques dans le traitement des infections (**Liu et al. 2023**)

Dans ce contexte la recherche de solution pour lutter contre les infections fongiques s'inscrit cette étude qui a pour objectifs :

- ✓ Dans un premier temps : Isoler et identifier les souches de bactéries lactiques présentes dans le lait maternel et le vin de palme.
- ✓ Dans un deuxième temps : la caractérisation de ces souches quant à leur pouvoir antagoniste et leur activité antifongique vis-à-vis de souches de *Candida albicans* de la niche vaginale.

Afin de mieux comprendre le contexte de cette étude, une revue bibliographique approfondie a été réalisée. Celle-ci permet de présenter un état des lieux sur le microbiote vaginal normale, les principales infections vaginales ainsi que le rôle des bactéries lactiques au niveau de la muqueuse vaginale. La méthodologie mise en œuvre dans le cadre de ce travail sera ensuite exposée de manière détaillée. Les résultats obtenus seront présentés puis analysés de manière critique à la lumière des données issues de la littérature scientifique. Enfin, les principales conclusions dégagées de cette étude seront formulées, suivies de pistes de réflexion et de perspectives pour de futurs travaux.

Synthèse bibliographique

1. Appareil génital féminin

1.1. Anatomie de l'appareil uro-génital féminin

Chez la femme, les organes sexuels se divisent en deux grandes parties : les organes génitaux externes et internes. Ensemble, ils forment l'appareil reproducteur féminin, qui joue un rôle essentiel dans la sexualité et la reproduction.

Les organes génitaux externes, regroupés sous le nom de vulve, se trouvent au niveau du périnée. Ils comprennent le mont du pubis (ou mont de Vénus), les grandes et petites lèvres, le clitoris, le vestibule vaginal ainsi que les glandes et bulbes vestibulaires.

Les organes génitaux internes sont constitués du vagin, de l'utérus, des trompes utérines (ou trompes de Fallope) et des ovaires. Ces structures assurent des fonctions clés dans le cycle menstruel, la fécondation et la grossesse.

Le vagin est l'organe sexuel interne le plus proche de l'environnement externe chez la femme. Il s'étend de l'utérus jusqu'à la vulve, qui fait partie des organes génitaux externes. Il remplit plusieurs fonctions : il permet l'écoulement des menstruations, les rapports sexuels, ainsi que le passage du nouveau-né lors de l'accouchement. Le vagin est situé en position postérieure, dans la région pelvienne)(Matthieu Thomas).

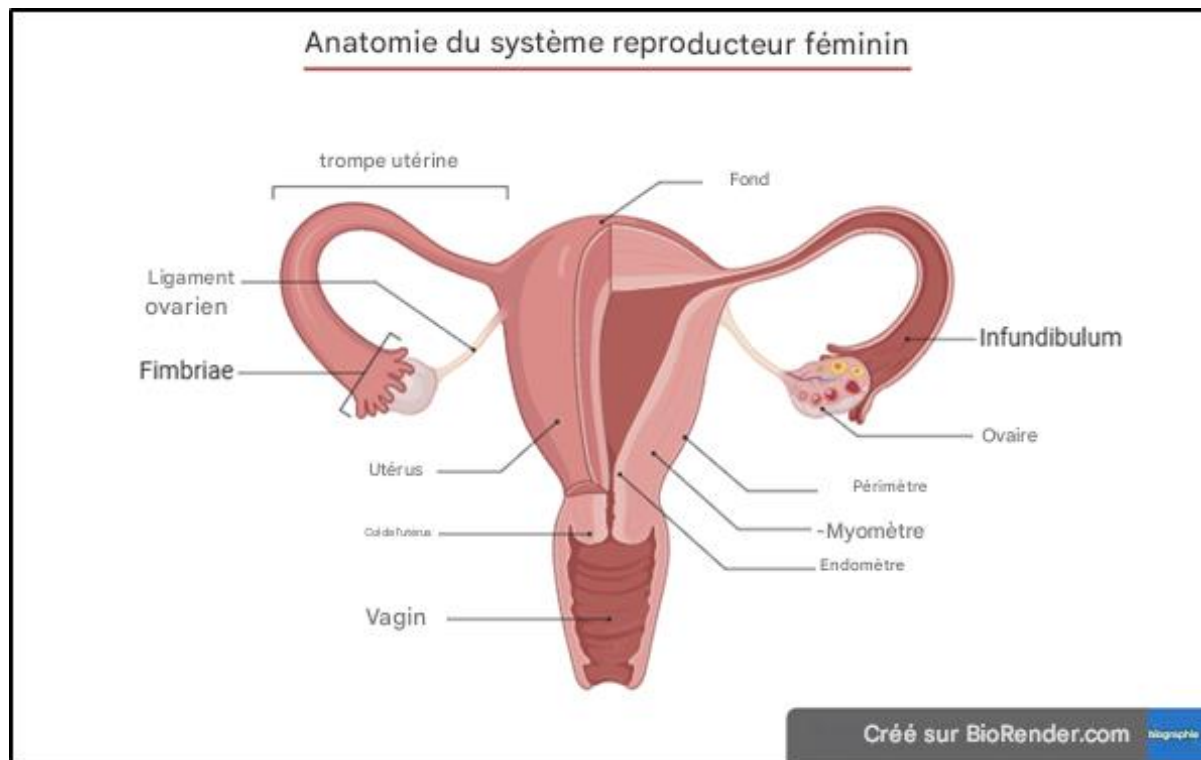


Figure 1: Anatomie de l'appareil reproducteur féminin

Anatomiquement, l'appareil reproducteur féminin se divise en deux parties : l'appareil reproducteur inférieur, comprenant le vagin et le col de l'utérus, et l'appareil reproducteur supérieur, incluant l'utérus, les trompes de Fallope et les ovaires. Ces structures sont en continuité avec l'environnement extérieur. Des études sur le microbiote de cet appareil ont montré qu'il ne s'agit pas d'un environnement stérile, mais bien d'un site colonisé par une communauté microbienne spécifique (Gao et al 2024).

1.2. Communautés microbiennes de l'appareil génital féminin

Le tableau ci-dessous résume les communautés microbiennes situées dans le tractus génital féminin humain.

Tableau 1 : Composition, localisation et rôles des principaux microbiotes de l'appareil génital féminin

Site	Localisation	Implications biologiques	Dominance microbienne	Références
Microbiote endométrial	Cavité utérine (endomètre)	Longtemps considéré comme stérile, l'endomètre abrite un microbiote faiblement abondant mais diversifié. Il pourrait agir comme biomarqueur de la réussite reproductive via des interactions immunomodulatrices et la modulation de la réceptivité endométriale. Densité moyenne=10 ² a 10 ⁴ UFC/MI	<i>Lactobacillus</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Methylobacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Flavobacterium</i> .	((Moreno et al. 2016; Habiba et al. 2021; Chen et al. 2021; Gao et al. 2024)

Microbiote cervical	Col de l'utérus	Présente des caractéristiques spécifiques distinctes du microbiote vaginal. Joue un rôle important dans la protection contre l'infection par le virus du papillome humain (VPH) grâce à la production d'acide lactique et de substances antimicrobiennes, en régulant l'inflammation et la persistance virale. Densité moyenne= 10^4 à 10^6 UFC/mL	Phylum Firmicutes majoritaire (<i>Lactobacillus</i> , notamment : <i>L. crispatus</i>), <i>Prevotella</i> (Bacteroidetes), <i>Gardnerella</i> (Actinobacteria), <i>Sneathia</i> (Fusobacteria).	(Chen et al. 2017; Onywera et al. 2019; Keburiya et al. 2022)
Microbiote tubaire (trompes de Fallope)	Trompes de Fallope	Moins étudié, avec une composition distincte de l'appareil inférieur. La faible proportion de <i>Lactobacillus</i> et un pH légèrement alcalin favorisent des communautés spécifiques pouvant influencer la fécondation ou le risque d'infections ascendantes. Densité moyenne= $<10^2$ UFC/ML	<i>Shigella</i> spp, <i>Bacteroides</i> spp, <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Enterococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> (faible proportion), <i>Prevotella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Faecalibacterium</i> .	(Walther-António et al. 2016; Miles et al. 2017; Pelzer et al. 2018; Zhou et al. 2019; Canha-Gouveia et al. 2023)
Microbiote	Ovaires	Sujet d'étude émergent, en particulier chez les patientes	<i>Corynebacterium</i> , <i>Blautia</i> ,	(Miles et al. 2017; Zhou

ovarien		atteintes de pathologies gynécologiques. La diminution de <i>Lactobacillus</i> et la présence accrue de genres pathogènes pourraient constituer des biosignatures tumorales(le déséquilibre du microbiote pourrait servir d'indice biologique lié à certaine tumeur gynécologique).Composition encore mal caractérisée chez les femmes en bonne santé. Densité moyenne :<10 ² UFC/ML (voire absence dans la plupart des cas)	<i>Escherichia</i> , <i>Trabulsiella</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Chryseobacterium</i> , <i>Burkholderia</i> ; bactéries intracellulaires pathogènes (<i>Chlamydia</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Acinetobacter</i>).	et al. 2019; Gao et al. 2024)Gao et al. (2024)
Microbiote vaginal	Vagin	La niche microbienne la plus dense c'est-à-dire contient la plus grande quantité et diversité de microorganismes et la mieux caractérisée du tractus génital féminin. Maintient un pH acide grâce à la production d'acide lactique, inhibe les pathogènes opportunistes et joue un rôle clé dans la prévention des infections	Forte dominance du genre <i>Lactobacillus</i> .	(Ravel et al. 2011; Chen et al. 2017; The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium et al. 2019)

		sexuellement transmissibles. Densité moyenne : $=10^7$ a 10^9 UFC/MI (Unités formant colonies par millilitre)		
--	--	--	--	--

2. Composition de microbiote vaginal

2.1. Le microbiote vaginal a l'état d'eubiose

En 1892, le gynécologue obstétricien Albert Döderlein a été le premier à décrire le microbiote vaginal normal comme étant homogène, composé uniquement de bacilles Gram positifs, appelés bacilles de Döderlein. À l'époque, on pensait que ces bacilles provenaient de l'intestin, mais aujourd'hui on sait qu'ils appartiennent au genre *Lactobacillus*. **(Amabebe and Anumba 2018)**

A la puberté, le vagin est colonisé par des bactéries lactiques, principalement des lactobacilles, qui représentent environ 90% du microbiote vaginal. **(Nappi et al. 2016)**

Chez les femmes en âge de procréer, le microbiote vaginal est composé de diverses communautés bactériennes. Il est majoritairement dominé par des espèces du genre *Lactobacillus* notamment *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* et *L. iners*. On y retrouve également des bactéries anaérobies, ainsi que d'autres bactéries présentes en quantités variables, telles que *Atopobium*, *Prevotella*, *Parvimonas*, *Sneathia*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* et *Peptoniphilus*. Ces dernières sont plus fréquemment associées aux déséquilibres du microbiote vaginal, notamment à la vaginose bactérienne **(Auriemma et al. 2021)**

À la ménopause, la composition du microbiote vaginal varie beaucoup d'une femme à l'autre est détectée grâce à des techniques d'analyse microbiologique et moléculaire est principalement détectée par le séquençage du gène RNA 16s et la PCR quantitative qui permettent de connaître les espèces présente et leur abondance relative .Ce microbiote joue un rôle important à cette étape de la vie, car il peut influencer le développement de problèmes

fréquents comme la sécheresse vaginale, l'atrophie vulvo-vaginale ou encore une baisse de la santé sexuelle **(Gao et al. 2024)**

En général, la diminution naturelle des bactéries lactiques (LB comme les *Lactobacillus*) chez les femmes ménopausées est considérée comme un phénomène normal lié à cette période



Figure 2. Frottis vaginal montrant des bacilles de *Lactobacillus* caractéristiques d'une flore normale **(Menard 2009)**

Les avancées récentes dans les techniques de séquençage de l'ADN ont montré que les principales espèces de *Lactobacillus* présentes dans le microbiote vaginal sont : *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.iners*, *L.jensenii*. **(Amabebe and Anumba 2018)**. Le microbiote vaginal est également constitué d'autres bactéries, comme *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* et *Prevotella spp*. Ainsi que de champignons tels que *Candida albicans*. Une prolifération excessive de ces micro-organismes peut entraîner divers déséquilibres et infections fongiques telles que la candidose vaginale. **(Nappi et al. 2016)**

Cependant pour mieux comprendre ces phénomènes, les communautés bactériennes vaginales (Community state type (CST)) ont été classées en cinq groupes distincts. Quatre de ces groupes étaient dominés par des espèces *Lactobacillus* telles que *L.iners*, *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.jensenii*, tandis que le cinquième groupe présentait une proportion plus faible des bactéries lactiques et une proportion plus élevée de bactéries anaérobies strictes. **(Ravel et al. 2011)**

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel en formant des biofilms à la surface de la muqueuse vaginale. Ces structures agissent comme des barrières protectrices, contribuant ainsi à la défense de l'écosystème vaginal **(Ravel et al. 2011)**.

Tableau 2. Les cinq principales communautés vaginales CST – Community State Type- (Ravel et al. 2011)

CST	Espèce dominante
CST I	<i>Lactobacillus crispatus</i>
CST II	<i>Lactobacillus gasseri</i>
CST III	<i>Lactobacillus iners</i>
CST IV	<i>Lactobacillus jensenii</i>
CST V	Flore polymicrobienne avec présence de bactéries anaérobies associées à la vaginose bactérienne (<i>Gardnerella</i> , <i>Atopobium</i> , <i>prevotella</i> , <i>Anaerococcus</i>)

2.2. Le microbiote vaginal a l'état de dysbiose

La dysbiose vaginale correspond à une perturbation de l'équilibre du microbiote vaginal, caractérisée par une augmentation de la diversité microbienne et une altération de ces fonctions protectrices.

Ce déséquilibre peut être causé par divers facteurs et avoir de multiples conséquences sur la santé vaginale. La rupture de l'équilibre de la flore de Dodeline conduit plusieurs infection telles que : (Menard 2009)

2.2.1. La vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est un déséquilibre de la flore vaginale, où les lactobacilles, normalement présents en grande quantité, sont remplacés par une flore polymicrobienne.

Cette flore comprend principalement des bactéries comme *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus spp*, ainsi que d'autres bactéries anaérobies telles que : *Bacteroides spp*, *prevotella spp*, *veillonella spp* (Menard 2009).

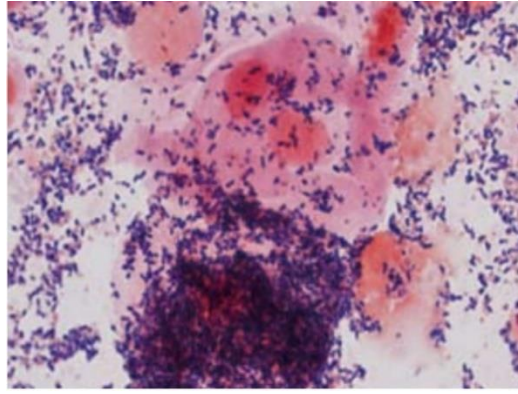


Figure 3 : Frottis vaginal montrant une flore polymicrobienne caractéristique d'une dysbiose vaginale (Menard 2009).

2.2.2. La vulvo-vaginite candidosique

La vulvo-vaginite candidosique résulte généralement d'une multiplication excessive de levures déjà présentes chez 10 à 20 % des femmes en tant que portage naturel. Cette prolifération est favorisée par une augmentation des hormones œstrogéniques, notamment en cas de grossesse ou de prise d'œstroprogestatifs, ainsi que par certains traitements médicaux comme les antibiotiques et les corticoïdes, (comment l'antibiothérapies, en particulier lorsqu'elle est à large spectre, peut favoriser la survenue en perturbant l'équilibre du microbiote vaginal. En effet, la destruction des lactobacilles, entraîne une augmentation de pH vaginal et une diminution des défenses locales. Ce déséquilibre crée un environnement propice à la prolifération de *candida albicans* habituellement présent à l'état commensal conduisent ainsi au développement d'une infection mycosique). De plus, des facteurs liés à l'état de santé général de la patiente, tels que l'immunodépression ou le diabète, peuvent également contribuer à son développement.(Le Blanc, 2009)

La prise en charge de la candidose vulvo-vaginale repose principalement sur les antifongiques azolés, notamment le fluconazole, efficace contre *Candida albicans*, la souche la plus fréquente. Ce traitement, administré en cure aiguë ou en entretien pour les formes récidivantes, est apprécié pour sa simplicité et son bon profil de sécurité. Cependant, l'utilisation répétée du fluconazole peut favoriser l'émergence de résistances, bien que rares chez *C.albicans* (la résistante aux antifongiques reste moins fréquente que la résistance bactérienne en raison d'une moindre pression de sélection, de la complexité des cellules fongiques eucaryotes et de la rareté des mécanismes de transfert génétique entre champignons). Des cas de résistance ont été rapportés, surtout après des expositions prolongées, entraînant une augmentation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et une efficacité réduite.

Certaines espèces comme *Candida glabrata* présentent une sensibilité naturellement faible ou une résistance intrinsèque au fluconazole, compliquant le traitement. Dans ces cas, des alternatives comme l'amphotéricine B ou les polyènes sont nécessaires, mais elles sont plus complexes à administrer et peuvent provoquer des effets secondaires, rendant la gestion des candidoses récidivantes particulièrement difficile pour les cliniciens. **(Donders et al. 2022)**

2.2.3. Les infections sexuellement transmissibles (IST)

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont des infections contractées principalement par l'échange de fluides corporels lors de rapports sexuels oraux, anaux ou génitaux. Elles peuvent être bactériennes, virales ou parasitaires **(Sheldon R, 2023)** Leur traitement dépend de l'agent en cause : antibiotiques pour les IST bactériennes et antiviraux pour les IST virales. Cependant, l'émergence de résistances complique la prise en charge, représentant un véritable enjeu de santé publique. Il est essentiel de traiter aussi les partenaires sexuels pour éviter les réinfections et limiter la propagation. Certaines IST virales, comme l'herpès génital ou le VIH, ne peuvent pas être guéries mais peuvent être contrôlées grâce aux antiviraux, ce qui améliore la qualité de vie des patients **(Sheldon R, 2023)**. En l'absence de diagnostic et de traitement précoces (qui repose sur l'administration des mêmes antibiotiques que ceux utilisés pour les formes plus évoluées), les IST peuvent évoluer vers des complications graves comme des atteintes cardiovasculaires et neurologiques (syphilis), des infections opportunistes et certains cancers liés au VIH, ainsi que des cancers anogénitaux et oropharyngés induits par le HPV **(Sheldon R ceux 2023)**.

2.2. Facteurs influençant le microbiote vaginal

Le microbiote vaginal, composé principalement de bactéries lactiques, varie selon le cycle menstruel, l'âge et divers facteurs comme les hormones, l'environnement, l'hygiène intime et la vie sexuelle **(Nappi et al. 2016)** Les œstrogènes jouent un rôle clé en stimulant la production de glycogène, favorisant ainsi le développement des *Lactobacillus spp.*, essentiels pour la protection vaginale. À la puberté, la flore se stabilise sous l'effet des œstrogènes. Pendant les menstruations, l'élévation du pH vaginal (7.4) réduit temporairement la densité des lactobacilles. En grossesse, l'augmentation hormonale de l'œstrogène renforce la prolifération des *lactobacilles* grâce à l'accumulation de glycogène vaginal. Cependant, ce même glycogène constitue une source de carbone pour *candid albicans*, qui peut proliférer d'autant plus que l'immunité locale est diminuée, mais nécessite une vigilance face à *Candida albicans*. À la ménopause, la baisse des œstrogènes entraîne une diminution des lactobacilles, exposant à un risque accru d'infection **(Mei and Li 2022)**.

L'hygiène intime influence également le microbiote : un manque d'hygiène favorise les infections, tandis qu'un excès de lavages altère la flore protectrice, augmentant les risques de vaginose et de candidose. Le tabagisme perturbe aussi cet équilibre en abaissant les œstrogènes et en favorisant la prolifération des bactériophages attaquant les lactobacilles. Le stress chronique, en affaiblissant l'immunité et réduisant le glycogène vaginal, favorise la prolifération de *C. albicans* (Bonnal 2023). Enfin, les antibiotiques, en particulier à large spectre, altèrent le microbiote en éliminant les lactobacilles, ce qui favorise la survenue de candidoses vulvo-vaginales. Rapporte une fréquence accrue de ces infections, entre 28 % et 33 %, après antibiothérapie. (Bonnal 2023).

3. Les probiotiques

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>

3.1. Critères de sélection des probiotiques vaginaux.

Plusieurs critères doivent être pris en considération lors de la sélection d'une souche de *Lactobacillus* probiotique sure (Ocaña et al. 2006).

La sélection des souches probiotiques repose sur plusieurs critères essentielle garantissant leur efficacité et leur sécurité d'utilisation.

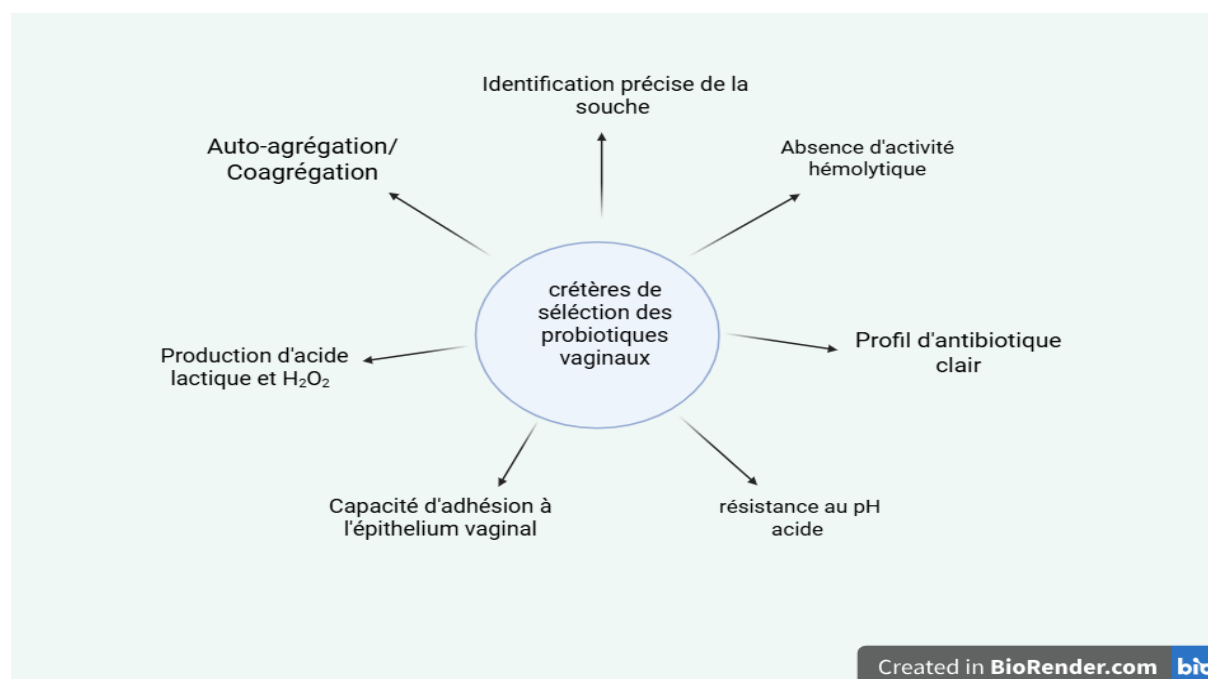


Figure 4:caractéristique des souches probiotiques (Ocaña et al. 2006)

3.2. Mode d'action des probiotiques

Les probiotiques contribuent au maintien de l'équilibre du microenvironnement vaginal et renforcent les défenses immunitaires. Dans le vagin, les bactéries lactiques sont les micro-organismes les plus présents et jouent un rôle clé dans la protection de la barrière muqueuse. En s'attachant à l'épithélium vaginal, ils peuvent limiter la colonisation des agents pathogènes en entrant en compétition avec eux. Ils produisent également des composés comme les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui inhibent la croissance des micro-organismes nuisibles et aident à maintenir un pH acide dans le vagin (Mei and Li 2022)

Les bactéries lactiques, en particulier les souches de genre *Lactobacillus*, exercent plusieurs mécanismes essentiels pour le maintien de la santé vaginale .comme illustrée dans la figure

Elles métabolisent le glycogène libéré par les cellules épithéliales sous l'influence des œstrogènes pour produire de l'acide lactique, maintenant ainsi un pH vaginal acide (3.5-4.5) défavorable à la croissance des agents pathogènes. Elles synthétisent également du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines, qui possèdent une activité antimicrobienne contre divers microorganismes nuisibles.

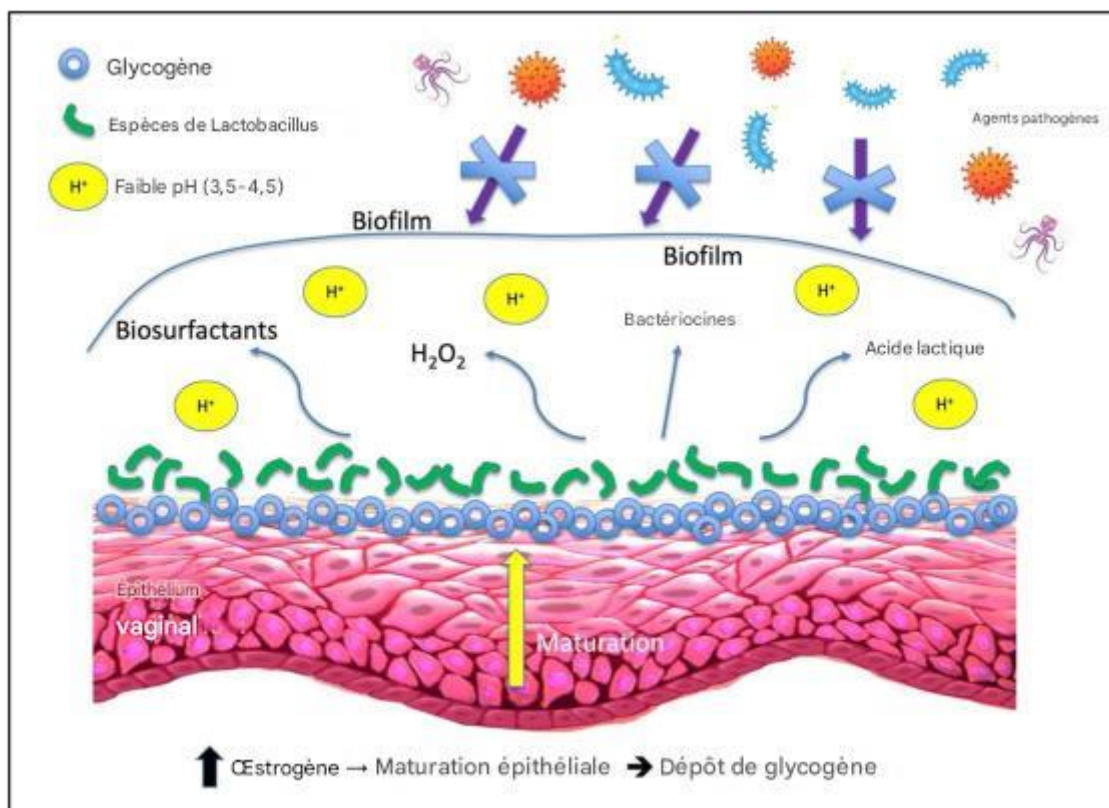


Figure 5: Les mécanismes appliqués par les bactéries lactiques dans le maintien de la santé vaginale (ling-ying-wu 2024)

3.2.1. Production de l'acide organique (l'acide lactique)

L'une des fonctions clé des probiotiques sur le microbiote vaginal est la production d'acides organiques telles que l'acide lactique ce qui baisse le pH vaginal d'environ 3.8 à 4.5 contribuant à l'inhibition de la croissance de nombreux agents pathogène.

Les lactobacilles sont des bactéries anaérobies aérotoles. Elles métabolisent le glucose par fermentation pour produire de l'acide lactique, contribuant ainsi à l'acidification de leur environnement. Un environnement vaginal riche en glycogène favorise la croissance des lactobacilles. Ces bactéries transforment le glycogène en acide lactique, ce qui abaisse le pH vaginal et crée un milieu acide. Cet environnement acide est essentiel pour inhiber la prolifération des agents pathogènes et maintenir une flore vaginale saine (Amabebe and Anumba 2018). L'acidité atteinte par *L. crispatus* étant, en moyenne, la plus élevée par rapport à *L. iners*, *L. jensenii* et *L. gasseri*. L'acide lactique présent dans le vagin se compose des isomères L et D, principalement synthétisés par les lactobacilles. Les cellules épithéliales vaginales contribuent à moins de 15 % de la production totale d'acide L-lactique. (Tachedjian et al. 2017)

3.2.2. La sécrétion de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Les bactéries lactiques vaginales produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), une substance antimicrobienne essentielle pour maintenir un environnement vaginal sain. Cette production de H₂O₂ est caractéristique des souches de lactobacilles ayant un métabolisme anaérobie facultatif. Des études montrent que les lactobacilles producteurs de H₂O₂ sont fréquemment présents chez les femmes avec une flore vaginale normale, tandis que leur absence est souvent associée à des infections vaginales telles que la vaginose bactérienne. (Miko and Barakonyi 2023)

3.2.2. La sécrétion de bactériocines

Ces probiotiques synthétisent des toxines protéiques sécrétoires, les bactériocines, qui aident à détruire les agents pathogènes (Mahreen UI Hassan et al ,2020)

Les bactériocines agissent principalement en formant des pores dans la membrane cytoplasmique des micro-organismes cibles, ce qui entraîne une déstabilisation membranaire et conduit à leur mort cellulaire. En plus de leur activité contre diverses bactéries pathogènes, elles sont également efficaces contre *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Atopobium vaginae*. Chaque souche de bactéries lactique produit des bactériocines spécifiques, présentant ainsi une diversité d'actions antimicrobiennes. (Jp and V 2002)

3.2.3. La sécrétion de biosurfactants

Les biosurfactants sont des molécules aux propriétés détergentes, comprenant des glycopeptides, des lipopeptides, des acides gras ainsi que de petites substances protéiques. Ils jouent un rôle essentiel dans l'inhibition de l'adhésion des agents pathogènes à la paroi vaginale. Par ailleurs, certains biosurfactants possèdent la capacité de perturber les biofilms formés par des micro-organismes pathogènes, tels que ceux de *Candida albicans*. **(Jp and V 2002)**

3.3. Voies d'administration des probiotiques

Dans le cadre de la santé générale et plus spécifiquement de la santé reproductive, deux principales voies d'administration des probiotiques sont identifiées : la voie orale et la voie vaginale.

➤ La voie orale :

Constitue l'option la plus simple et la moins contraignante pour l'administration de probiotiques. Ceux-ci sont généralement présentés sous forme de gélules, et leur formulation est spécifiquement conçue pour leur permettre de résister partiellement aux conditions hostiles du tractus digestif. Cela est rendu possible grâce à des techniques telles que l'encapsulation ou l'enrobage protecteur. Néanmoins, une déperdition partielle des lactobacilles durant la digestion reste inévitable, bien que les efforts technologiques visent à la minimiser. Il est à noter que, dans la majorité des cas d'infections génitales, le recours à des traitements anti-infectieux systémiques n'est pas toujours recommandé, en raison de leur impact parfois limité sur la flore locale **(Masson 2016)**

➤ La voie vaginale

Représente la voie d'administration privilégiée dans le traitement des déséquilibres du microbiote vaginal, notamment dans les cas de dysbiose. Administrés localement sous forme d'ovules, de capsules ou encore de tampons, les probiotiques vaginaux ont pour objectif de rétablir un équilibre microbien en favorisant la prolifération des bactéries endogènes bénéfiques. Ils agissent à la fois par l'apport direct de souches de lactobacilles et par la modulation de la composition de la flore vaginale **(Grattepanche 2022)**

3.4. Diversité écologique et adaptation vaginale

Les souches probiotiques isolées du lait maternel et du vin de palme représentent des exemples d'adaptabilité microbienne à des niches écologiques variées.

3.4.1. Le lait maternel

Le lait maternel est une niche conventionnelle riche en bactéries lactiques, principalement *Lactobacillus spp.* (Notamment *L. gasseri*, *L. fermentum* et *L. salivarius*), qui jouent un rôle essentiel dans la protection immunitaire du nourrisson, la régulation du microbiote intestinal et la prévention des infections pathogènes. Il contient des facteurs de croissance et des prébiotiques qui favorisent la croissance des bactéries bénéfiques

(Dombrowska-Pali et al. 2024)

Parmi les genres les plus couramment utilisés à des fins probiotiques, *Lactobacillus spp.* occupe une place prépondérante en raison de ses propriétés bénéfiques, notamment son activité antimicrobienne. Une source intéressante de *Lactobacillus spp.* Provient du lait maternel, reconnu pour sa richesse en micro-organismes bénéfiques. L'origine humaine de ces souches bactériennes constitue un critère essentiel, car elle pourrait garantir une meilleure compatibilité et efficacité de ces micro-organismes lorsqu'ils sont utilisés dans des produits destinés à la consommation humaine. En ce sens, le lait maternel pourrait représenter une source plus fiable de souches probiotiques pour une utilisation thérapeutique ou préventive chez l'homme, en comparaison avec des sources animales ou autres **(Mustakim et al. 2019)**.

Tableau 3: composition de lait maternel (Dombrowska-Pali et al. 2024).

Lait maternel		
nutriments	Bioactifs	microbiote
Eau	Cytokines	Virus
Oligosaccharides	Immunoglobulines	Bactéries
Lipides	HMO	Levures
Acides gras	Cellules sanguines	Staphylococcus
Vitamines	MiARN	Streptococcus
Minéraux	Enzymes	Bifidobactérium
		Lactobacillus
		Pseudomonas

Le lait maternel (LM) renferme une grande diversité de composants fonctionnels non nutritifs, tels que les immunoglobulines, les oligosaccharides spécifiques du lait maternel (HMO), les micro-organismes et les cytokines. Ces éléments jouent un rôle essentiel dans le soutien du système immunitaire du nouveau-né, en favorisant notamment le développement d'une réponse immunitaire tolérogène adaptée (Ozen et al. 2023)

3.4.2. Vin de palme

Le vin de palme, une boisson alcoolisée traditionnelle largement consommée en Afrique de l'Ouest, est produit par la fermentation naturelle de la sève de divers palmiers

La sève de palmier, riche en sucres et en nutriments, constitue un milieu favorable au développement d'une flore microbienne diversifiée,

La récolte de la sève de palmier, essentielle à la production du vin de palme, peut être réalisée selon deux méthodes : non destructives et destructives. La méthode non destructive consiste à recueillir la sève directement de l'inflorescence du palmier sans endommager l'arbre, tandis que la méthode destructive implique l'incision du méristème apical du tronc du palmier, souvent dans le cadre de pratiques agricoles intensives.

Le microbiote du vin de palme évolue au cours de la fermentation, et cette évolution est étroitement liée à la dynamique des levures et des bactéries. La diversité de ces microorganismes est favorisée par la présence de sucres simples tels que le glucose, le sucrose et le maltose, qui servent de substrats fermentescibles. Au fur et à mesure que la fermentation progresse, la composition du microbiote change, avec des levures et des bactéries spécifiques qui se multiplient à différents stades du processus, influençant les arômes, la texture et la saveur du vin de palme.

Les métabolites produits par ces microorganismes, tels que les acides organiques, les alcools secondaires et les esters, contribuent à la diversité sensorielle du vin de palme

Tableau 4: composition biochimique et microbiologique de vin de palme (Djeni et al. 2020)

Vin de palme	
microbiologique	Biochimiques
Les <i>Lactobacillaceae</i> (47%)	Oligo- élément vitamine B
Les <i>Leuconostocaceae</i> (16%)	Sucre
Les <i>Acetobacteraceae</i> (28%)	Minéraux
<i>Sacharomyces cerevisiae</i> (87%)	Acides organique Ph=3.4

3.5. Adaptation des niches conventionnelles et non conventionnelles à la niche vaginale

Les bactéries lactiques inhibent la colonisation et la prolifération d'agents pathogènes en produisant des sous-produits métaboliques et en acidifiant le microenvironnement vaginal, jouant ainsi un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre écologique vaginal. Parmi ces métabolites, l'acide organique, le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines et les biosurfactants sont particulièrement impliqués dans l'effet antifongique observé

Le genre *Lactobacillus* regroupe des bactéries aux capacités d'adaptation remarquables, leur permettant de coloniser une grande diversité de niches écologiques. Cette polyvalence écologique se manifeste notamment par leur présence dans plusieurs environnements du corps humain, en particulier au niveau du tractus gastro-intestinal et du système urogénital. Mariya 2018

L'étude de (Tarracchini et al. 2023) a montré que *Lactobacillus crispatus* s'adapte à la niche vaginale grâce à des mutations dans son génome. En analysant 241 génomes, les chercheurs ont identifié des variations ponctuelles (SNPs) touchant des gènes partagés par toutes les souches, entraînant des différences fonctionnelles. Par exemple, une mutation dans le gène de la pullulanase de type II influence la croissance et la capacité de compétition des souches dans un modèle reproduisant l'environnement vaginal. Cette microdiversité génétique permet à certaines souches de mieux coloniser la niche vaginale, illustrant l'importance d'une adaptation fine à cet écosystème.

Matériels et méthodes

1. Matériel biologique

L'isolement des souches a été réalisé à partir de différents types d'échantillons biologiques et alimentaires. Trois échantillons de lait maternel ont été collectés auprès de trois femmes allaitantes (l'une ayant un nourrisson âgé de 2 mois et les deux autres ayant des enfants âgés de 2 ans.)

Deux échantillons de vin de palme ont également été prélevés à partir de palmiers situés dans la région d'Oued Souf, durant la période de récolte s'étalant entre février et mars 2025.

Les souches pathogènes utilisées dans cette étude comprennent sept isolats cliniques de *Candida albicans*, obtenus à partir de prélèvements vaginaux. Ces souches, caractérisées dans le cadre d'une étude antérieure menée en laboratoire présentent une activité hémolytique et une résistance aux antifongiques Gynomix® et Ecovar®. Par ailleurs, deux souches bactériennes de référence ont été incluses : *Escherichia coli* ATCC25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC25933.

2. Isolement et purification des isolats

Un volume de 1 ml d'échantillon dans notre cas du lait maternel (LM) ou du vin de palme (VP), a été prélevé puis transféré dans un tube stérile contenant 9 ml de bouillon de Man Rogosa et Sharpe (MRS ; Conda, Espagne). Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures afin de favoriser la croissance des bactéries lactiques. À partir de ces suspensions, et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, des ensemencements en stries ont été réalisés sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS puis incubées à 37 °C pendant 48 à 72 heures pour permettre l'apparition des colonies.

A la fin de l'incubation, une colonie est prélevée sur chaque boîte et transférée dans un tube contenant du bouillon MRS, puis chaque tube est incubé de nouveau pendant 48 heures.

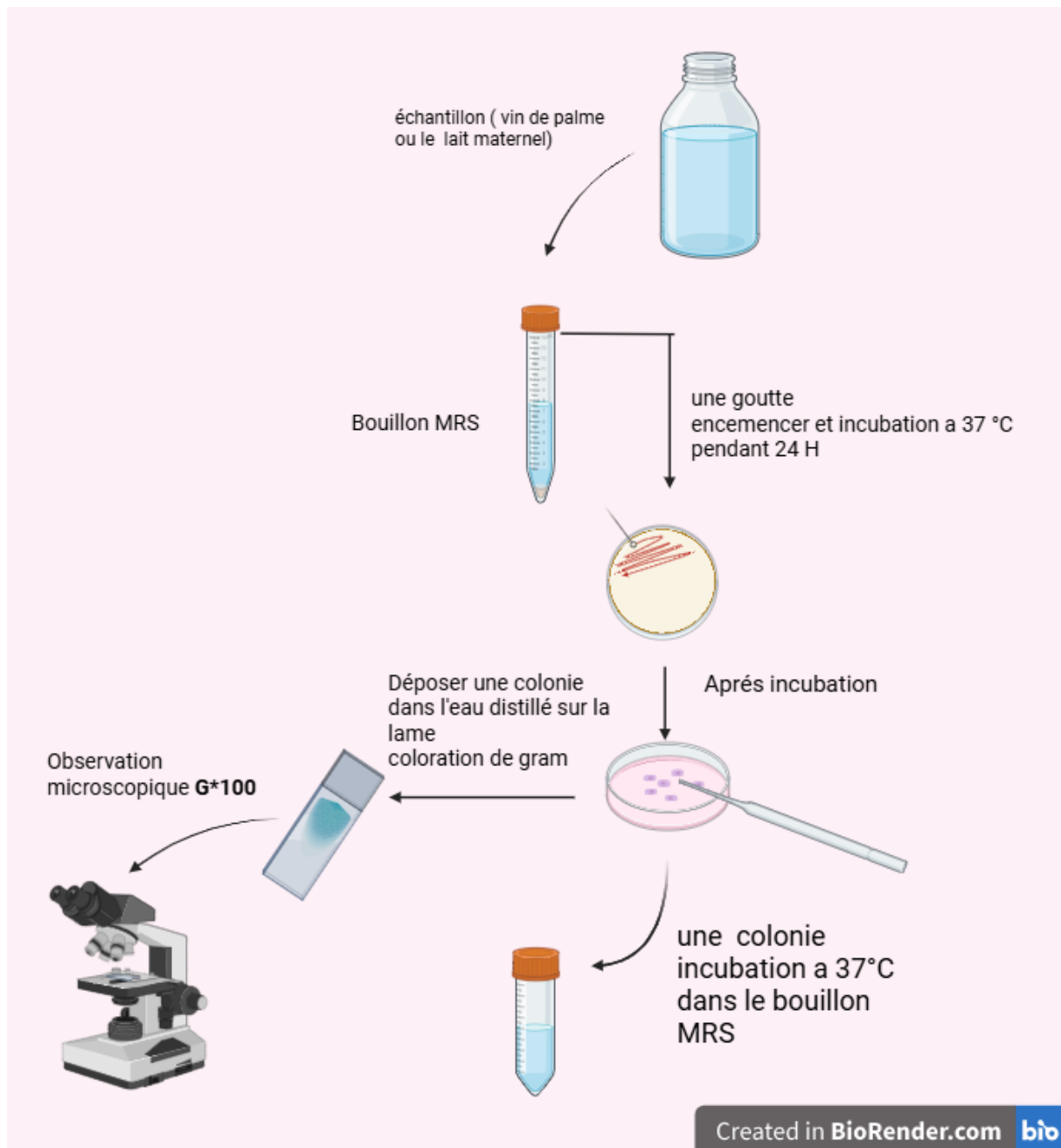


Figure 6: Schéma illustratif des étapes de l'isolement

3. Identification préliminaire des isolats

La purification consiste à faire des repiquages successifs (gélose ↔ bouillon) jusqu'à l'obtention d'une culture pure de colonies caractéristiques et bien isolées en vérifiant séquentiellement la forme, l'organisation cellulaire, le Gram et la présence ou l'absence d'une catalase.

L'identification des souches est réalisée à l'aide d'une étude morphologique et physiologique: l'identification préliminaire est réalisée en se rapportant à certaines conditions de culture (aspect colonial sur milieu spécifique, T° de croissance) et aux résultats de la coloration de

Gram (Gram, forme et organisation cellulaire). Quant à l'étude physiologique, elle consiste à soumettre les souches au test de recherche de la catalase, au test de recherche de la coagulase.

4. Caractérisation des souches sélectionnées

4.1. Activité hémolytique

L'évaluation de l'activité hémolytique des souches lactiques isolées a été réalisée selon le protocole décrit par **(Ait Ouali et al. 2014)**, avec quelques adaptations. Des cultures fraîches (de 18 h) de chaque souche ont été déposées par spot à la surface d'une gélose Columbia (Liofilchem, Italie) supplémentée avec 5 % (v/v) de sang humain, fourni par l'organisme d'accueil. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. À l'issue de l'incubation, les milieux ont été examinés pour détecter la présence éventuelle de zones de lyse autour des spots, témoignant d'une activité hémolytique.

4.2. Évaluation de l'auto-agrégation des souches lactiques

L'évaluation de l'auto-agrégation des souches lactiques a été réalisée selon une méthode adaptée de **(Kos et al. 2003)**. Les souches ont été cultivées dans un bouillon MRS à 37 °C pendant 18 heures. Après incubation, les cellules ont été récoltées par centrifugation à 6000/ rpm pendant 20 minutes à 4 °C. Le culot cellulaire obtenu a été lavé deux fois avec de l'eau physiologique stérile, puis remis en suspension dans la même solution afin d'obtenir une concentration finale de 10⁸ UFC/ml

Des volumes de 10 ml de ces suspensions cellulaires ont été homogénéisés par agitation au vortex pendant 10 secondes, puis incubés à 37 °C. L'auto-agrégation a été évaluée après 2 heures et 4 heures d'incubation. À chaque temps de mesure, 1 ml de la phase supérieure de la suspension a été prélevé avec précaution et l'absorbance a été déterminée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Specord®, Shimadzu, Allemagne) et son but est de permettre aux bactéries lactiques de s'unir entre elles pour mieux s'attacher aux muqueuses résiste aux conditions défavorables et empêcher les pathogènes de s'implanter. Le pourcentage d'auto-agrégation a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Auto-agrégation (\%)} = 1 - A_t / A_0 * 100$$

L'absorbance à chaque moment du test est désignée par A_t tandis que A_0 représente l'absorbance au moment de l'incubation.

4.3. Détermination de l'hydrophobicité de la paroi cellulaire

L'hydrophobicité de la paroi bactérienne a été évaluée selon la méthode d'adhésion des micro-organismes aux hydrocarbures (MATH), décrite par **Rosenberg et al. (1980)**, avec quelques modifications. Des cultures bactériennes de 18 heures, cultivées dans du bouillon MRS, ont été centrifugées à 6000 rpm pendant 20 minutes à 4 °C. Les culots bactériens obtenus ont été lavés deux fois avec de l'eau physiologique stérile, puis remis en suspension dans la même solution afin d'ajuster la concentration bactérienne à 10⁸ UFC/ml.

Par la suite, 1 ml de xylène (est utilisé dans ce test car il sert de phase hydrophobe permettant d'évaluer la capacité des bactéries à adhérer à des surfaces non polaires, ce qui reflète leur potentiel d'adhésion aux cellules hôtes). a été ajouté à 3 ml de la suspension bactérienne. Après agitation vigoureuse au vortex pendant 90 secondes, le mélange a été laissé au repos pendant 15 minutes à température ambiante afin de permettre la séparation des phases aqueuse et organique. Un volume de 1 ml de la phase aqueuse a ensuite été prélevé avec précaution, et son absorbance a été mesurée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage d'hydrophobicité a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Hydrophobicité (\%)} = (1 - A/A_0) \times 100$$

Où A₀ correspond à l'absorbance de la suspension avant l'ajout du xylène, et A à l'absorbance mesurée après la séparation des phases.

4.4. Caractérisation des souches isolées pour leur aptitude à adhérer aux surfaces en polystyrène

L'évaluation de la formation de biofilm a été réalisée à l'aide de microplaques stériles en polystyrène, conformément à la méthode décrite par **O'Toole et Kolter (1998)** et adaptée par (Ait Ouali et al. 2014). Chaque puits a été préalablement rempli de 100 µl de bouillon Tryptic Soy (TSB ; Sigma-Aldrich, Allemagne), puis inoculé avec 100 µl d'une suspension bactérienne fraîche, cultivée pendant 18 heures. L'inoculation a été effectuée en triplicat pour chaque souche bactérienne, sur une même microplaque. L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 heures. Des puits contenant uniquement 200 µl de TSB stérile ont été utilisés en

tant que témoins négatifs, afin de vérifier l'absence de contamination ou d'adhésion non spécifique.

Après incubation, les suspensions dans les puits sont aspirées soigneusement puis ces derniers sont rincés avec 200 µl de TS stérile pendant 10 min sous agitation. Les cellules adhérentes sont fixées avec 200 µl d'Ethanol absolu (Biochem-Cheopharma, Québec) à 96% pendant 20 min puis ce dernier est aspiré et les puits sont laissés sécher stérilement.

Par la suite, les cellules fixées sont colorées avec 200 µl d'une solution de cristal violet (Biochem-Chemopharma, Québec) à 0,1% (m/v) pendant 20 min, puis lavées avec 200 µl de TS stérile jusqu'à l'obtention d'une couleur claire du liquide de lavage. Enfin, le colorant fixé aux cellules est solubilisé en ajoutant 200 µl d'Ethanol 96%. La quantité de colorant fixé, qui reflète indirectement la quantité de cellules fixées, est estimée par la mesure de l'absorbance à 630 nm.

4.5. Résistance aux antibiotiques

Afin d'évaluer la sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques, des cultures de 18 heures ont été ensemencées par écouvillonnage sur des boîtes de gélose MRS. Après séchage, trois disques antibiotiques ont été déposés sur la surface du milieu, incluant notamment l'Augmentin (30 µg), la Pénicilline G (10 UI) et la Tétracycline (30 µg).

Le choix de ces antibiotiques se justifie par le fait que ces antibiotiques appartiennent à des familles différents et présentent des mécanismes d'action variés. La pénicilline et l'amoxicilline, deux B-lactamines, agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne tandis que la tétracycline bloque la synthèse protéique au niveau ribosomique. Leur utilisation permet d'évaluer la sensibilité des souches isolées à des antibiotiques représentatifs de différentes classes, de déterminer leur profil de résistance et de vérifier l'absence de gène de résistance transmissible, ce qui est essentiel pour apprécier la sécurité et le potentiel probiotique des bactéries lactiques étudiées.

Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. À la fin de l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés. Ces mesures ont permis de déterminer le profil de sensibilité des souches selon les critères définis par le Comité européen de l'antibiogramme (EUCAST), version de janvier 2019.

Les souches ont été classées comme sensibles (S) ou résistantes (R) en fonction des seuils d'interprétation disponibles sur le site officiel de l'EUCAST http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_methodology.

Tableau 5. Liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Charge (µg)
Tétracycline	30
Pénicilline-G	10
Amoxicilline clavulanic acid (AUG)	30

5. Evaluation du potentiel antagoniste des souches lactiques a l'égard des souches vaginales de *Candida albicans*

5.1. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots

L'évaluation de l'activité antifongique des souches lactiques a été réalisée à l'égard de sept souches de *Candida albicans* provenant de la niche vaginale ainsi que deux souches bactériennes pathogènes de référence : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* à l'aide du test des spots, selon la méthode adaptée par (Barache et al. 2020).

- **Méthode 01**

De la gélose Mueller-Hinton a été coulé dans des boîtes de Pétri et laissé à solidifier. Des souches de levures provenant d'une culture fraîche de 18 heures ont ensuite été ensemencées à l'aide d'un écouvillon. Les boîtes de Pétri ont été laissées à sécher. En parallèle, 9 ml de bouillon MRS ont été ensemencés avec 1 ml de suspension bactérienne et incubés à 37°C pendant 18 heures afin d'obtenir une culture de 18h. Après la période d'incubation, sur l'agar contenant le tapis de levures a été disposé (5 µl) en gouttes à l'aide d'une micropipette d'une culture fraîche de culture de bactérie lactique. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37°C pendant encore 24 heures.

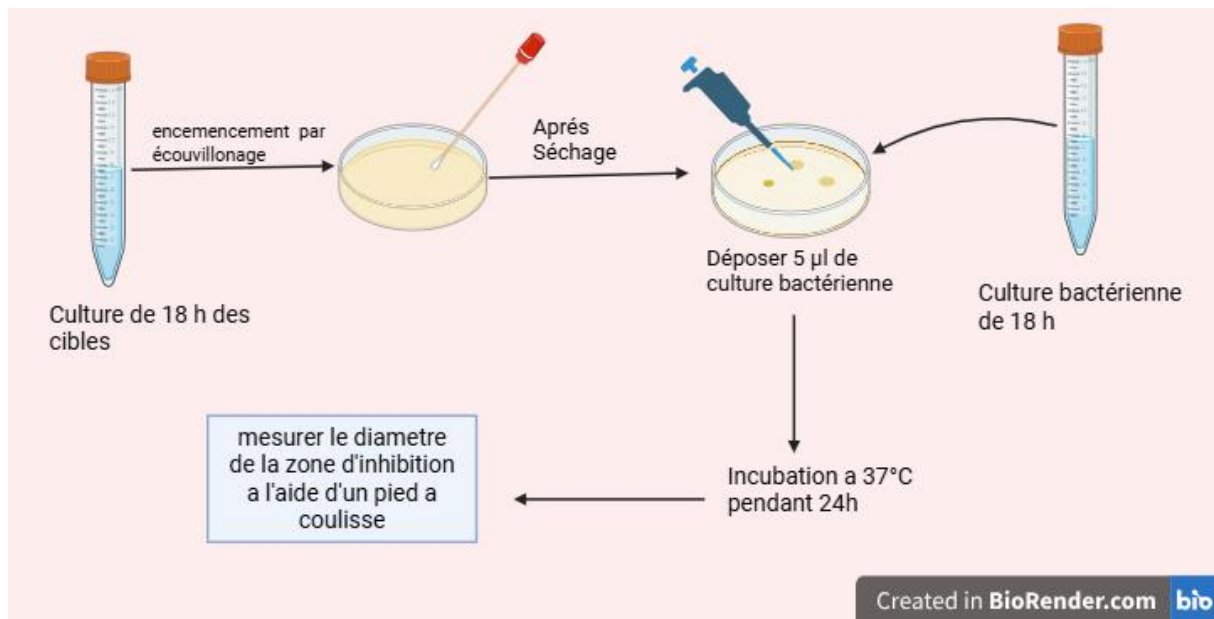


Figure 7:Schéma de la réalisation du test des spots sur MH

- **Méthode 02**

Des boîtes de Pétri ont été remplies avec de la gélose MRS stérile, puis laissées à solidifier et à sécher. Ensuite, 5 µL de cultures de bactéries lactiques (concentration estimée à 10^8 UFC/mL), préalablement incubées pendant 18 heures dans du bouillon MRS, ont été déposés à la surface du milieu solide à l'aide d'une micropipette. Les boîtes ont été laissées à sécher pendant 30 minutes à température ambiante, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures afin de permettre le développement des colonies lactiques. Après cette première incubation, les boîtes ont été recouvertes par 10 ml de gélose Molle Hinton (MH), en surfusion (environ 45 °C), préalablementensemencée avec 1 ml d'une culture fraîche (18 h) de la souche pathogène cible. Les boîtes ont ensuite été réincubées à 37 °C pendant une durée supplémentaire permettant d'observer d'éventuelles zones d'inhibition autour des spots, indicatives d'une activité antibactérienne.

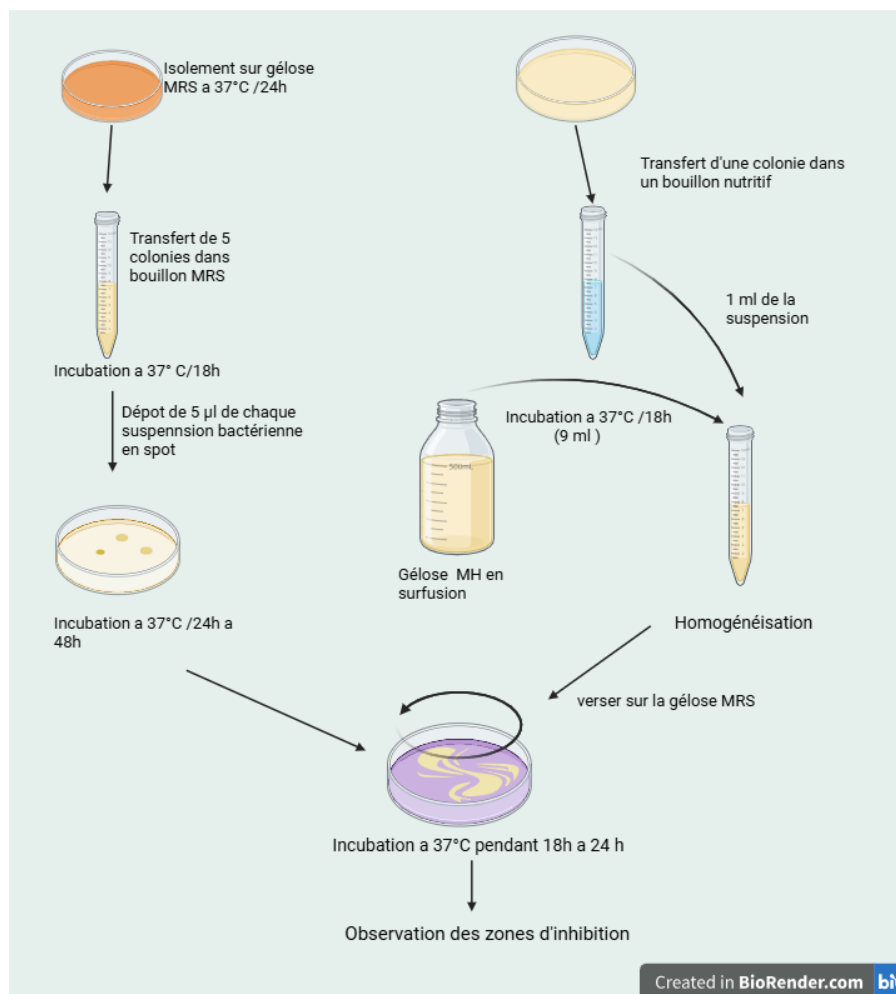


Figure 8 :schéma illustratif de test de spot sur MRS

5.2. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots

Pour la réalisation du test de puits, nous avons suivi la méthode proposée par (**Magaldi et al. 2004**).

Des cultures des bactéries lactiques de 18 heures ont été centrifugées à 6000 tr/min pendant 15 minutes afin d'obtenir les surnageant des bactéries. Des boîtes de Pétri ont été remplies de gélose Mueller-Hinton (MH), laissées à sécher, puisensemencées par étalement avec des suspensions des levures issues de cultures fraîches de 18 heures. Ensuite, quatre puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés sur chaque boîte de Pétri à l'aide de cônes stériles de micropipette de 1000 µl, et un volume de 50 µl a été introduit dans chaque puits. Les boîtes ont ensuite été incubées à 4 °C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des surnageant, puis à 37 °C pendant 24 heures.

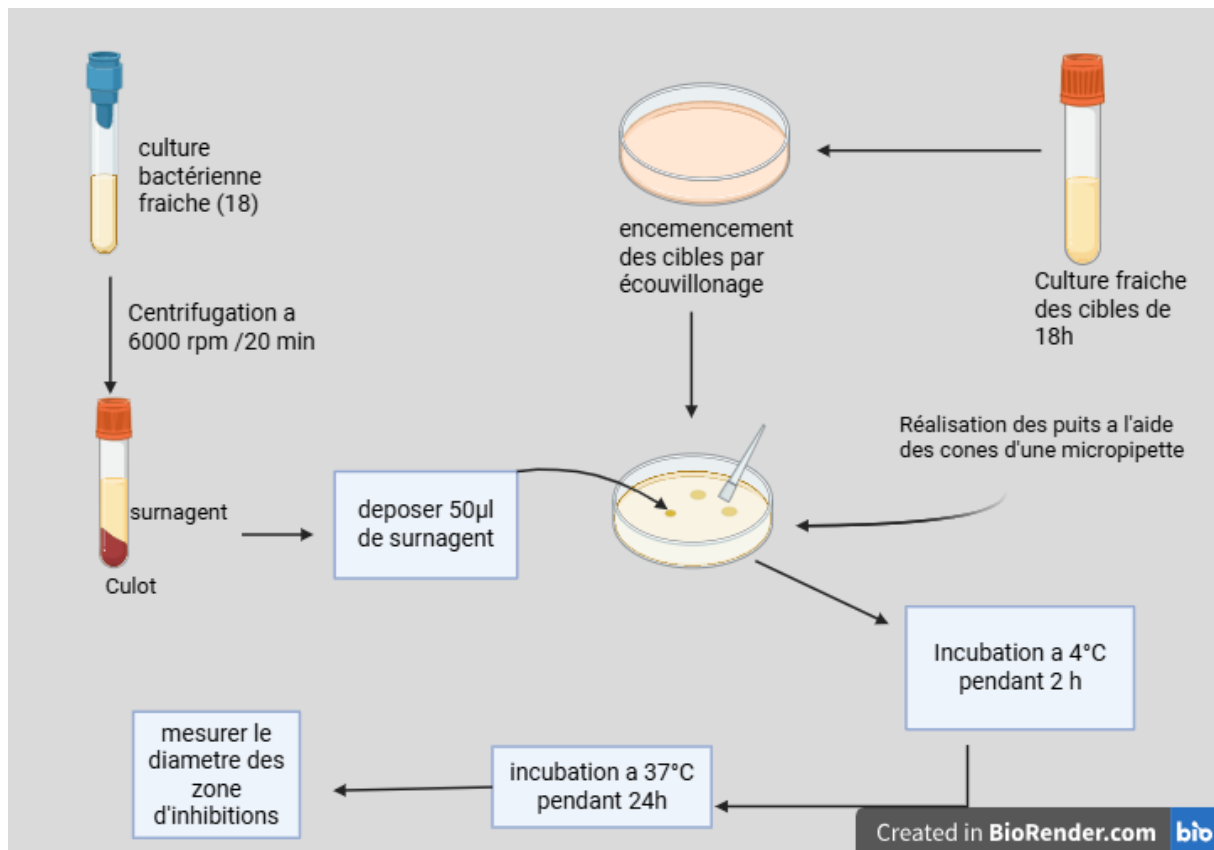


Figure 9: Schéma illustratif de test du puits

5.3. Evaluation de la capacité de co-agrégation des souches lactiques

Le test de co-agrégation a été réalisé selon la méthode décrite par **Kos et al. (2003)**, avec quelques modifications. Les souches lactiques ont été cultivées dans du bouillon MRS, et les souches pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*) dans du bouillon nutritif à 37 °C pendant 18 heures. À l'issue de l'incubation, les cultures ont été centrifugées à 6000 rpm pendant 20 minutes à 4 °C. Les culots bactériens obtenus ont été lavés deux fois avec de l'eau physiologique stérile, puis remis en suspension dans la même solution afin d'obtenir une concentration finale d'environ 10^8 UFC/ml. Des volumes égaux (2 ml) des suspensions de souches lactiques et pathogènes ont été mélangés dans des tubes à essai en verre, puis agités au vortex pendant 30 secondes. Des tubes témoins contenant 4 ml de la suspension de chaque souche (lactique ou pathogène) seule ont également été préparés. L'absorbance (A) des suspensions a été mesurée à 600 nm immédiatement après le mélange, puis après 2 heures d'incubation à 37 °C. Le pourcentage de co-agrégation a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Co-agrégation (\%)} = \left\{ \left[\frac{(A_x + A_y)}{2} - A_{(x+y)} \right] / \left[\frac{(A_x + A_y)}{2} \right] \right\} \times 100$$

Où A_x et A_y représentent respectivement l'absorbance des souches testées seules (lactique et pathogène), et $A_{(x+y)}$ celle du mélange des deux souches

5.4. Evaluation de la capacité antiadhésive des souches lactiques

Ce test vise à évaluer la capacité des bactéries lactiques à perturber l'adhésion des levures pathogènes. L'essai a été réalisé sur des plaques stériles en polystyrène à 96 puits, selon une méthode adaptée du protocole décrit par **(Ait Ouali et al. 2014)** avec quelques modifications.

Les levures ont été cultivées dans un bouillon TSB à 37 °C pendant 18 heures afin d'obtenir des cellules fraîches. Les cultures de bactéries lactiques ont été centrifugées à 6000 tours par minute pendant 15 minutes, puis le surnageant a été récupéré. Ce dernier a été filtré à l'aide d'un filtre stérile sur seringue, afin d'éliminer toute cellule bactérienne résiduelle et d'éviter une croissance non désirée durant l'essai.

Pour chaque puits, à l'exception des témoins, 120 µl de bouillon TSB et 80 µl de surnageant de bactérie lactique ont été ajoutés. Le témoin positif comprenait 100 µl de TSB et 100 µl de culture bactérienne, afin de vérifier l'adhésion bactérienne sans interférence. Le témoin négatif contenait 120 µl de TSB et 80 µl de surnageant de levure, permettant de vérifier l'absence d'effet propre au surnageant de levure. Enfin, le double témoin négatif était constitué de 200 µl de TSB, pour contrôler l'absence de toute contamination.

Chaque condition a été testée en triplicat. Les plaques ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. À l'issue de l'incubation, les puits ont été vidés selon la méthode décrite dans la section 4.4 de matériel et méthodes.

Résultats & Discussion

1. Isolement et purification des souches

L'ensemencement a été réalisé sur milieu MRS afin de favoriser la croissance des bactéries lactiques. La purification des souches lactiques isolées a été réalisée par plusieurs repiquages successifs sur milieu MRS, en alternant entre milieux solides et liquides. Cette méthode a permis un total de trente-six à être obtenu à partir des cinq échantillons (lait maternel et vin de palme).

2. Identification préliminaire des souches lactiques

En milieu MRS liquide, la croissance des bactéries se manifeste par un trouble homogène et légèrement diffus dans le tube. Dans certains cas, ce trouble se concentre au fond du tube, traduisant une recherche de conditions anaérobies.

Ces observations rejoignent celles rapportées par et **(Carr et al. 2002)**

Les isolats cultivés sur milieu MRS solide sont observés à l'œil nu afin de décrire les caractéristiques macroscopiques des colonies, telles que leur forme, leur taille, leur couleur et leur texture, conformément à la méthode de **(Badis et al. 2004)**

Les colonies issues des bacilles isolés apparaissent généralement petites, lisses, de teinte blanchâtre à crème, avec une forme arrondie et un aspect légèrement bombé sur les boîtes de Pétri contenant le milieu MRS (voir Figure 9)

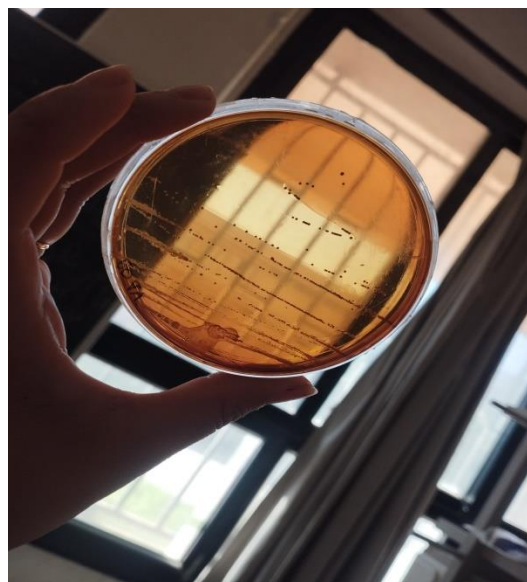


Figure 10: Aspect macroscopique des bacilles sur gélose MRS

D'après **Denis(2007)** les colonies de lactobacilles (Lb) présentent généralement une petite taille, un aspect lisse et brillant, sont non pigmentées et souvent opaques. Ces caractéristiques macroscopiques observées chez les isolats bacillaires sont en accord avec les descriptions culturelles des lactobacilles rapportées dans la littérature, notamment par **(Badis et al. 2004)**

L'étude microscopique est basée sur la coloration de Gram qui a révélé une forme de bacille en bâtonnet et parfois coccobacille d'une couleur violette, dont le mode d'association varie d'une souche à une autre. Ces observations permettent de classer initialement les isolats selon le type de Gram, leur morphologie cellulaire et leur mode d'association.

Parmi les 36 isolats de bactéries lactiques obtenus, 11 isolats se sont révélés catalase négatif. Ces isolats, ne présentant pas de formation de bulles lors du test, ont été retenus pour la suite de l'étude. Les 12 colonies(l'une des boîte on a pris é colonie différente) bactériennes purifiées isolées (Gram positives, bâtonnets, catalase négatives) ont été soumises à une identification plus approfondie en utilisant des méthodes microscopiques, macroscopiques et biochimiques comme décrit dans le manuel de bactériologie déterminative de Bergey **(Holt 1994) et (khushboo 2023)**

L'absence d'activité catalasique suggère que les souches appartiennent à des bactéries strictement anaérobies ou aérotolérantes, ce qui est caractéristique des LAB.

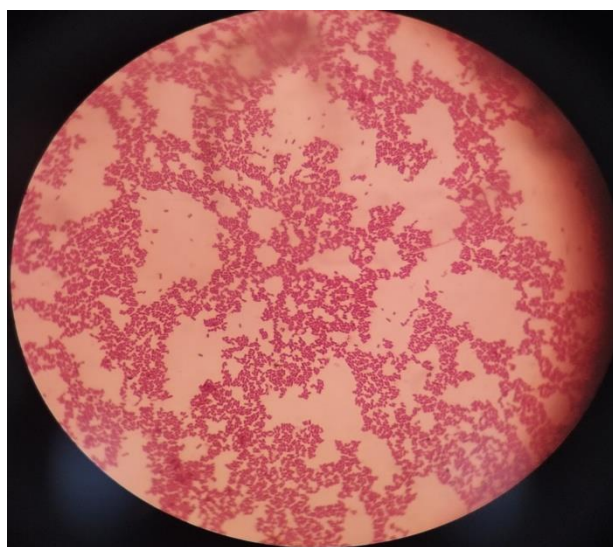


Figure 11:Aspect microscopique des bacilles a gram positif

Concernant la recherche de la coagulase, le test s'est révélé être négatif pour toutes les souches. Cela indique l'absence de production de coagulase, une enzyme typiquement

associée à la virulence de certaines bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus*. Ces résultats confirment le caractère non pathogène probable des souches de bactéries lactiques testées.

3. Caractérisation des souches sélectionnées

3.1. Activité hémolytique

Les 12 souches de bactéries lactiques retenues et testées n'ont montré aucune activité hémolytique sur gélose au sang. L'absence totale de clair halo autour des spots sur gélose au sang humain indique que ces souches ne présentent ni hémolyse α , ni hémolyse β , confirmant ainsi leur caractère non hémolytique. Ces résultats suggèrent un bon profil d'innocuité de ces souches, compatibles avec une utilisation potentielle en tant que probiotiques. (Marroki and Bousmaha-Marroki 2014)

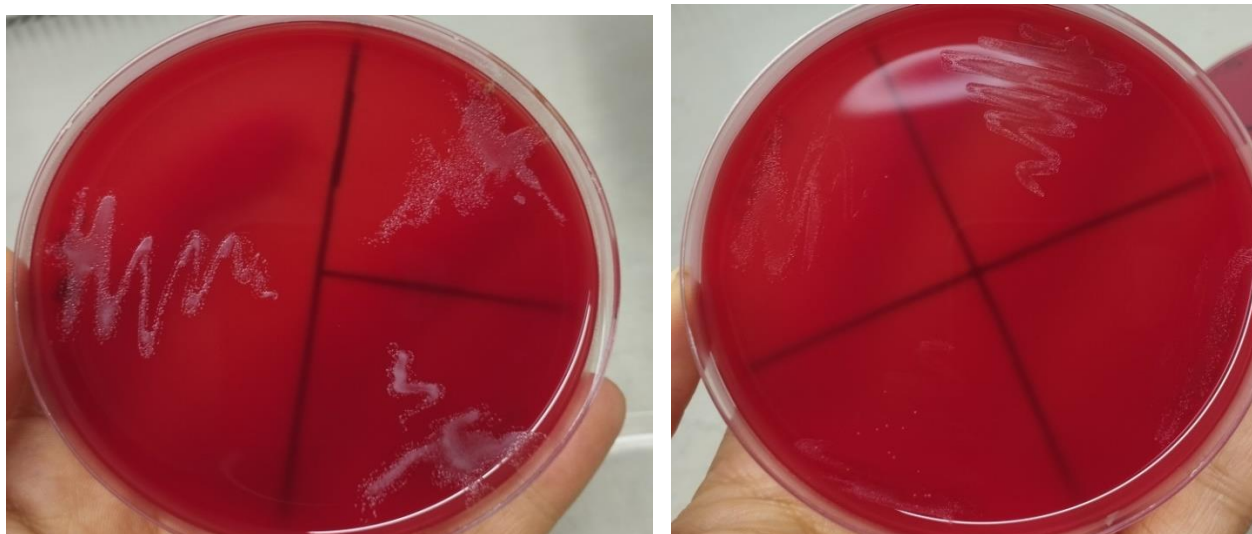


Figure 12: résultat de l'activité hémolytique

L'activité hémolytique des souches a été analysée sur gélose au sang de cheval. Aucune souche n'a présenté d'hémolyse β , ce qui témoigne de l'absence de production de toxines cytolytiques et confirme leur innocuité potentielle pour une application chez l'homme (Marroki and Bousmaha-Marroki 2014)

3.2.Évaluation de l'auto-agrégation des souches lactiques

L'analyse des pourcentages d'auto-agrégation à 2 heures et à 4 heures pour les différentes souches bactériennes isolées révèle une grande variabilité inter-souches. De manière générale, on observe une augmentation du pourcentage d'agrégation au fil du temps pour la majorité des souches, ce qui indique que l'auto-agrégation est un phénomène dynamique et dépendant du temps.

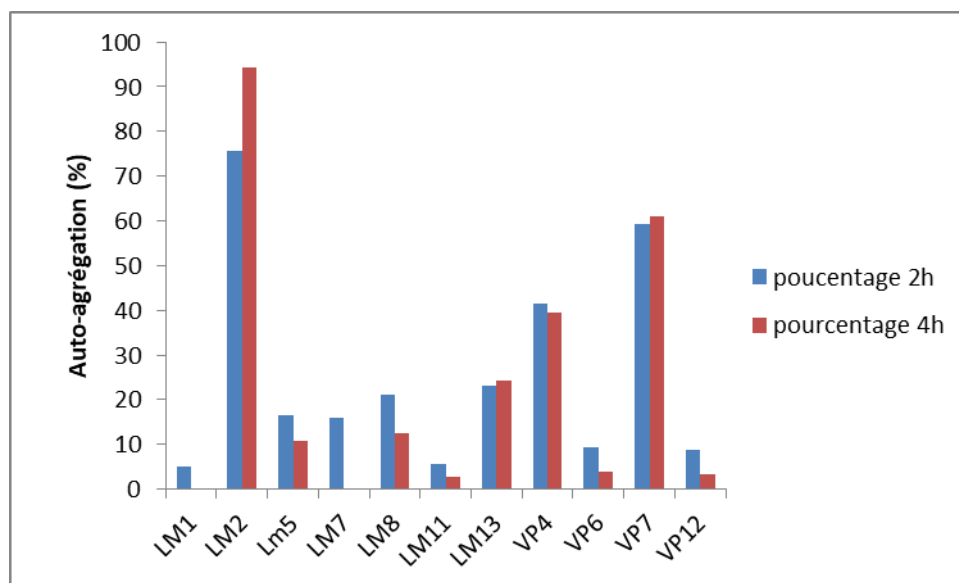


Figure 13:Résultat de test d'auto-agrégation.

Certaines souches se démarquent particulièrement par leur forte capacité à s'auto-agréger. C'est le cas notamment des souches LM2 et qui présentent des pourcentages d'agrégation dépassant 70 % à 2 heures et atteignant environ 90 % à 4 heures. La souche VP7, issue du vin de palme, montre également une agrégation notable, avoisinant les 60 % à la fois à 2 heures et à 4 heures. Ces résultats suggèrent une aptitude marquée à l'auto-agrégation pour ces souches, potentiellement associée à des propriétés probiotiques intéressantes. Cette hétérogénéité est cohérente avec les données de la littérature, par exemple dans l'étude de **(Collado et al. 2008)** l'auto-agrégation de 22 souches de *Lactobacillus* variait entre 7,5 % et 78 % après 4 h d'incubation ce qui correspond à nos résultats.

Abushelaibi et al.(2017) ont rapporté des pourcentages d'auto-agrégation allant de 20 à 85 % pour des bactéries lactiques isolées du lait cru, avec des souches considérées comme hautement auto-agrégantes au-dessus de 70 %. Là encore, nos isolats LM2, et VP7

s'inscrivent dans cette catégorie, et peuvent donc être qualifiés de fortement agrégants, selon ces critères.

D'autres souches telles que LM5, LM8, LM13, VD4 et VD6 présentent des niveaux d'agrégation modérés, généralement compris entre 10 % et 40 %, avec une tendance à l'augmentation après 4 heures d'incubation. En revanche, plusieurs souches, comme LM1, LM7, LM11, VD9, et VD12, affichent une faible capacité d'agrégation, souvent inférieure à 10 %, ce qui pourrait refléter une faible cohésion intercellulaire dans les conditions expérimentales testées.

3.3.Détermination de l'hydrophobicité de la paroi cellulaire

La majorité des souches LM1 à LM13, correspondant aux bactéries lactiques, présentent une hydrophobicité élevée (>80 %), avec un pic notable pour LM11 (près de 100 %). Cela suggère une forte capacité d'adhésion, ce qui est une caractéristique recherchée pour des souches probiotiques, ces résultats significatifs sont confirmés par l'étude de **Darsih et al. (2020)** ont rapporté des taux d'hydrophobicité variant de 78,9 % à 83,5 % chez des souches de *Lactobacillus plantarum* isolées de produits fermentés

Les souches VP4 à VP12 présentent toutes une hydrophobicité très élevée (environ 95 à 100 %). Cette forte hydrophobicité indique une excellente aptitude d'adhésion. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par **(Chen et al. 2020)** où certaines souches lactiques atteignaient des niveaux similaires. Une telle hydrophobicité indique une capacité d'adhésion remarquable, renforçant le potentiel de ces souches dans des applications probiotiques notamment pour la prévention des infections à *Candida albicans*.

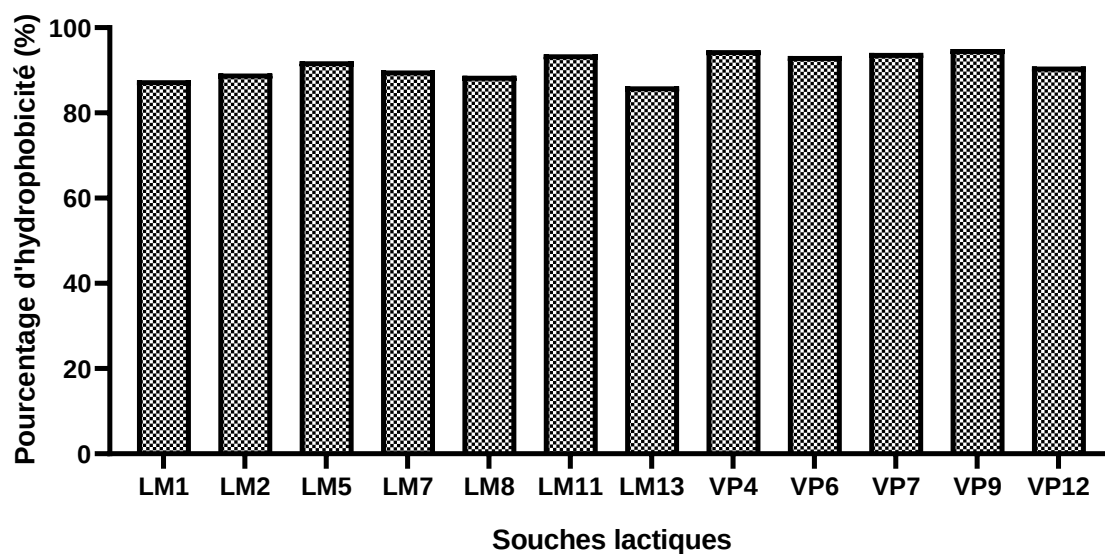


Figure 14: Résultats du test d'hydrophobicité

3.4. Caractérisation des souches isolées pour leur aptitude à adhérer aux surfaces en polystyrène

Les valeurs d'absorbance à 630 nm, obtenues suite à la coloration au cristal violet des cellules bactériennes adhérentes, ont varié de 0 à 0,541 pour les onze souches de bactéries lactiques analysées. Ces variations traduisent des différences dans la capacité d'adhésion des souches, suggérant une hétérogénéité phénotypique en matière d'interaction avec les surfaces.

L'analyse de la formation de biofilm par les souches isolées, selon la classification de **(Mathur et al. 2006)** a révélé que 7 souches (63,6 %) étaient faiblement adhérentes, tandis que 4 souches (36,4 %) présentaient une adhésion modérée. Aucune souche n'a été classée comme fortement adhérente ni non adhérente

Tableau 6. Classification des souches de bactéries lactiques selon **(Mathur et al. 2006)**

$A < 0,161$ (valeur de témoin) Souches non adhérentes	$0,161 \leq A \leq 0,322$ Souches faiblement adhérentes	$0,322 \leq A < 0,644$ Souches moyennement adhérentes
/	LM1 ,LM2 , LM5, LM7, VP6, VP9 , VP12	LM8, LM11, LM13, VP4

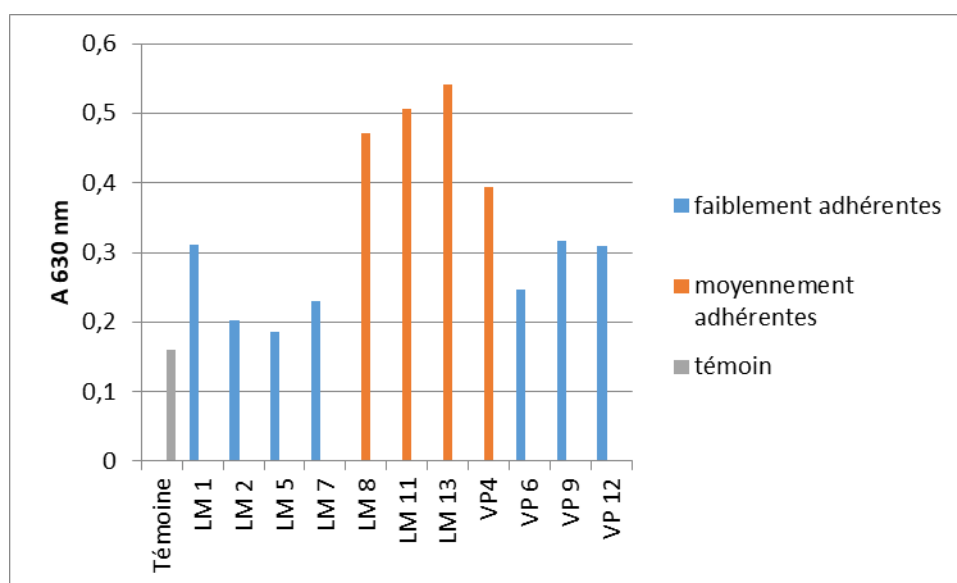


Figure 15 : Résultats du criblage des souches de bactéries lactiques quant à leur capacité d'adhésion sur microplaque en polystyrène

3.5. Résistance aux antibiotiques

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés sur onze souches de bactéries lactiques isolées de deux sources naturelles : le lait maternel (LM) et le vin de palme (VP). Les antibiotiques testés sont la tétracycline (TE), l'amoxicilline (AUG) et la pénicilline (P10), couramment utilisés en milieu clinique. Les tests ont été effectués sur milieu MRS et MH par la méthode de diffusion en disque, et les résultats sont exprimés par la présence ou non d'une zone d'inhibition (ZI).

Les résultats montrent une résistance généralisée à l'amoxicilline et à la pénicilline chez toutes les souches testées, indépendamment de leur origine. Aucune souche n'a montré de sensibilité vis-à-vis de ces deux antibiotiques, ce qui peut indiquer la présence de mécanismes de résistance naturels ou acquis (comme la production de β -lactamases ou des modifications de la cible des antibiotiques β -lactamines). Chez les bactéries Gram-positives, la résistance aux antibiotiques repose principalement sur deux mécanismes. Le premier consiste en la production de β -lactamases, des enzymes capables d'inactiver l'antibiotique en le dégradant. Le second implique une altération de la cible de l'antibiotique, à savoir les protéines de liaison à la pénicilline (PBP). Cette altération peut résulter soit de l'acquisition d'ADN exogène, soit de mutations des gènes codant les PBP d'origine. **(Breijyeh et al. 2020)**

La résistance à la pénicilline s'établit principalement par transfert horizontal de gènes, soit via la propagation de plasmides codant pour des pénicillinases (enzymes qui dégradent la pénicilline), souvent médiée par des bactériophages, soit par l'acquisition de gènes modifiant les protéines de liaison à la pénicilline (PBP).

Concernant la tétracycline, une variabilité de sensibilité a été observée : Certaines souches ont montré une zone d'inhibition modérée, suggérant une sensibilité partielle : par exemple, LM1 (ZI = 16,6 mm), LM5 (15,7 mm), LM7 (16,9 mm), LM8 (14,8 mm), LM11 (16,3 mm), VP4 (19,75 mm), et VP9 (11,1 mm).

En revanche, les souches LM2, LM13, VP6 et VP12 sont résistantes à la tétracycline, ce qui pourrait indiquer l'expression de gènes de résistance tels que tet(M), tet(W) ou autres.

Des études ont signalé la présence des gènes tet (en particulier tet(M), tet(W), parfois tet(L)) qui sont les plus fréquemment détectés chez les lactobacilles résistants à la tétracycline. **Abedi et al, (2021)**. Il est intéressant de noter que la souche VP4 issue du vin de palme présente la plus grande zone d'inhibition à la tétracycline (19,75 mm), ce qui indique une bonne sensibilité, contrairement à d'autres souches du même milieu (VP6, VP9, VP12) qui sont majoritairement résistantes.

Une résistance élevée et généralisée à la pénicilline (P10) a été observée chez l'ensemble des souches testées, qu'elles soient d'origine lactée ou fermentaire. Cette résistance est typique chez de nombreuses souches de bactéries lactiques, en particulier les *Lactobacillus*, connues pour être naturellement résistantes aux β -lactamines.

L'amoxicilline (AUG) a également montré une faible efficacité, avec la plupart des souches qualifiées de résistantes. Seules trois souches (LM1, VP6, VP9) ont présenté des zones d'inhibition (ZI) mesurant entre 3,8 mm et 15,4 mm, ce qui reste insuffisant pour les classer comme sensibles selon les standards CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Concernant la tétracycline (TE), les résultats indiquent également une résistance importante, dans le milieu MRS avec des zones d'inhibition faibles (<10 mm) pour les souches qui ne sont pas totalement résistantes (ex. LM1: 7,3 mm ; LM5: 4,8 mm ; LM7: 6,5 mm ; LM8: 4,2 mm). D'autres souches (LM2, LM11) ont été notées comme résistantes, tandis que plusieurs souches (LM13 à VP12) n'ont pas été testées pour la tétracycline dans cette série. Les souches issues du lait maternel (LM1 à LM13) montrent une tendance générale à la **résistance multidrogue**, avec très peu de zones d'inhibition détectées.

Les souches issues du vin de palme (VP4 à VP12), bien qu'elles présentent également une **forte résistance**, affichent des zones d'inhibition légèrement plus élevées vis-à-vis de l'amoxicilline (VP6 et VP12), indiquant une **sensibilité intermédiaire** dans certains cas.

4. Evaluation du potentiel antagoniste des souches lactiques à l'égard des souches vaginales de *Candida albican*

4.1. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique par la méthode des spots

Les résultats obtenus par le test de spot sur milieu Mueller-Hinton (MH) illustrent l'activité antimicrobienne des souches isolées de lait maternel et de vin de palme vis-à-vis de *Candida albicans*. L'activité antifongique a été évaluée par le diamètre des zones d'inhibition exprimé en (mm) reflétant l'efficacité relative de chaque souche contre les isolats fongique, L1, L3, L4 et L6.

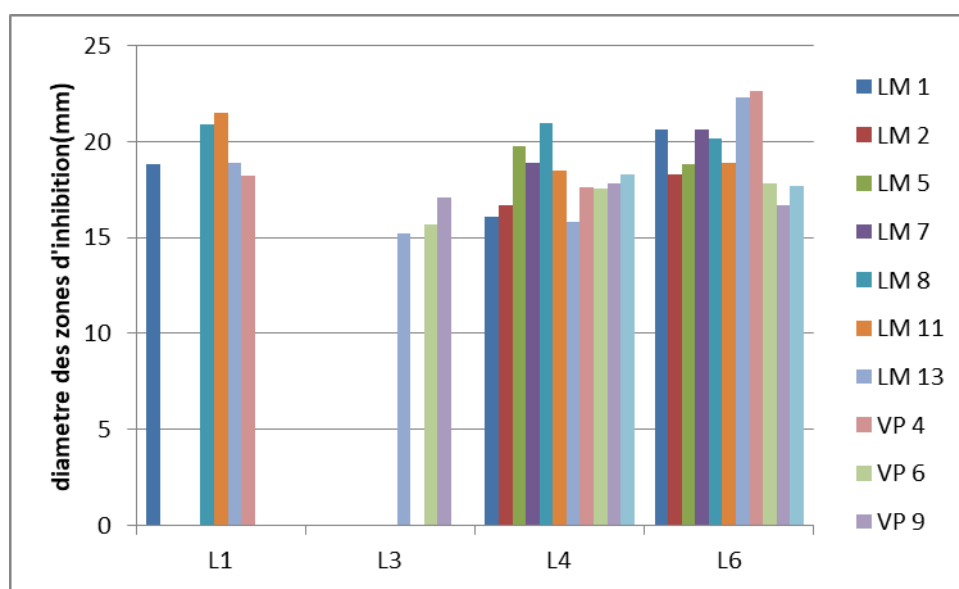


Figure 16 : Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de sur milieu MH spot

On observe que l'ensembles des souches, tant d'origine lactée que fermentaire, présentent une activité inhibitrice contre *Candida albicans*, bien que cette activité varie en fonction de la souche testée et du pathogène ciblé. Pour la L1 les souches LM8 et LM11 se démarquent par une activité particulièrement élevée avec des diamètres d'inhibition supérieure a 21 mm ces résultats suggèrent un potentiel antifongique notable ainsi que pour les souches LM1, LM13 et VP4 représentent des zones d'inhibition qui varient entre 17mm et 18 mm.

Pour L3 semble globalement moins sensible avec des zones d'inhibition au tour 15mm et 17mm, les souches VP6 et VP9 affichent des inhibition comparable au souches lactées indiquant que les le bactéries issue de vin de palme peut aussi exercer un effet antifongique intéressent.les cibles L4 et L6 semble globalement plus sensible vis-à-vis toutes les souches testées on démontre une activité inhibitrice.

La levure 6 c'est la souche de *Candida albicans* presque toutes les souches testées présentent de larges zones d'inhibition souvent supérieur à 20mm.

Le graphique ci-dessus présente les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenues par la méthode du spot sur milieu MRS pour les différentes souches probiotiques isolées du lait maternel (LM2, LM5, LM7, LM8, LM11, LM13) et du vin de palme (VP4, VP6, VP9, VP12), à l'égard de sept souches de *Candida albicans* (L1 à L7) ainsi que d'*Escherichia coli*.

De manière générale, l'ensemble des souches probiotiques testées ont montré une activité antimicrobienne variable mais significative vis-à-vis des pathogènes ciblés, comme en témoignent les diamètres d'inhibition observés, allant d'environ 10 mm à plus de 30 mm pour certaines souches.

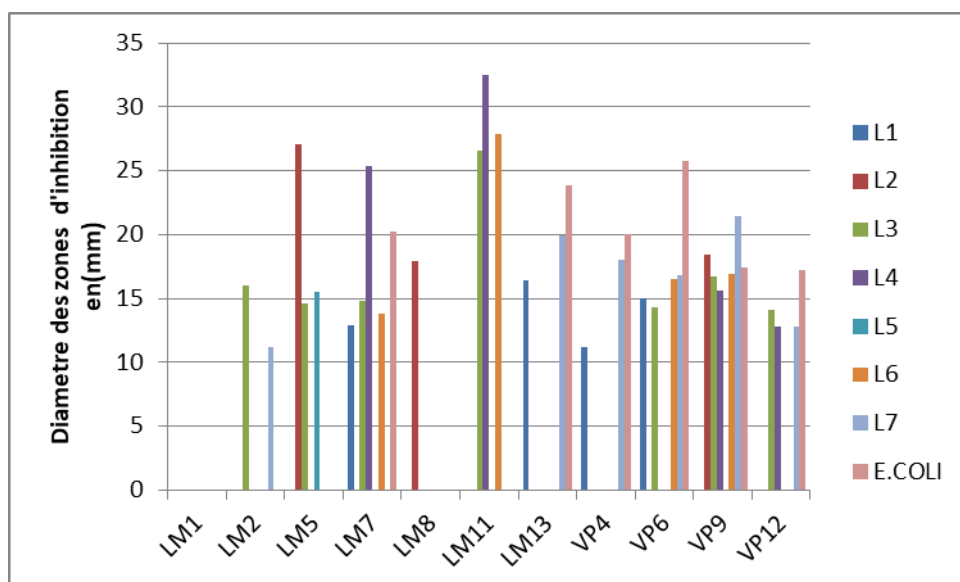


Figure 17. Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de spot sur milieu MRS

Les souches issues du lait maternel se sont distinguées par des activités antagonistes particulièrement marquées. Notamment, la souche LM11 a présenté une forte inhibition,

atteignant un diamètre de 33 mm contre la souche L2, ce qui traduit une activité antifongique élevée. Les souches LM5 et LM8 ont également révélé des zones d'inhibition supérieures à 25 mm contre plusieurs isolats de *C.albicans*, suggérant un potentiel probiotique prometteur. À l'inverse, LM7 a montré une activité plus modérée.

Concernant les souches dérivées du vin de palme, une variabilité est également constatée. La souche VP6 a affiché une activité intéressante, avec des diamètres supérieurs à 20 mm contre certaines levures (notamment L6), tandis que les souches VP9 et VP12 ont présenté des inhibitions plus faibles et hétérogènes, suggérant des capacités antagonistes moindres ou plus spécifiques.

En ce qui concerne *E.coli*, plusieurs souches probiotiques ont démontré une capacité inhibitrice notable. Par exemple, LM11 et VP6 montrent un pouvoir inhibiteur supérieur à 20 mm, ce qui peut être interprété comme une activité antibactérienne efficace. D'autres souches, comme VP9 ou LM7, ont montré une inhibition plus faible (autour de 13 mm), ce qui pourrait refléter une spécificité d'action moindre vis-à-vis des bactéries à Gram négatif.

Ces résultats confirment que les souches probiotiques isolées présentent une activité antagoniste potentiellement utile contre *Candida albicans* et *E.coli*. Cette activité pourrait être attribuée à la production de métabolites antimicrobiens tels que les acides organiques, les bactériocines ou les biosurfactants. Les fortes valeurs observées pour certaines souches suggèrent un intérêt particulier pour une utilisation future comme agents probiotiques dans la prévention ou le traitement des infections vaginale

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'ensemble des souches lactiques testées ont présenté une activité antiadhésive significative contre les souches de *Candida albicans*, avec des pourcentages d'inhibition variant entre 50 % et 90 %. Ces observations confirment les données rapportées dans la littérature, notamment dans les travaux de **(Ceresa et al. 2015)** et de Borelli et al. (2020), qui ont mis en évidence le rôle des biosurfactants produits par les lactobacilles dans l'inhibition de l'adhésion de *Candida*.

Dans l'étude de **Ceresa et al. (2015)** un biosurfactant produit par *Lactobacillus brevis* CV8LAC a permis de réduire jusqu'à 90 % la formation de biofilm de *Candida albicans* sur une surface en silicone médical, sans inhiber la croissance fongique en phase libre. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans la présente étude avec les souches LM7, LM8,

LM13 et VP6, qui ont atteint des taux d'inhibition supérieurs à 85 %, démontrant une efficacité élevée dans la prévention de l'adhésion fongique.

Par ailleurs, l'étude publiée dans Microbial Cell Factories par **Borelli et al(2020)**. montre que le biosurfactant de *Lactobacillus crispatus* BC1, isolé de la flore vaginale, est capable de se lier aux cellules épithéliales humaines (HeLa) et au mucus vaginal, réduisant ainsi de plus de 50 % l'adhésion de différentes espèces de *Candida*, par des mécanismes d'exclusion et de compétition. Cette efficacité modérée est également observée ici avec certaines souches telles que LM5, dont l'activité inhibitrice ne dépasse pas 50 % contre certaines souches fongiques, notamment L4.

Ces comparaisons confirment que les résultats obtenus dans la présente étude sont cohérents avec ceux de la littérature, tant sur le plan des pourcentages d'inhibition observés que des mécanismes impliqués, principalement la production de biosurfactants, la compétition pour les sites d'adhésion, et l'exclusion des pathogènes. Elles soulignent également le rôle central de la variabilité inter-souches, tant du côté bactérien que fongique, dans la modulation de l'effet antiadhésif. Ainsi, les souches LM7, LM8, LM13 et VP6 pourraient être considérées comme de bonnes candidates probiotiques, en raison de leur efficacité comparable à celle de souches de référence étudiées précédemment

4.2. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits

Le profil d'activité antimicrobienne des souches lactiques isolées du lait maternel (LM1, LM2, LM5, LM7, LM8, LM11) et du vin de palme (VP4) a été évalué par la méthode du test de puits contre trois types de microorganismes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et plusieurs souches de *Candida albicans* (L1, L2, L3, L4, L6, L7).

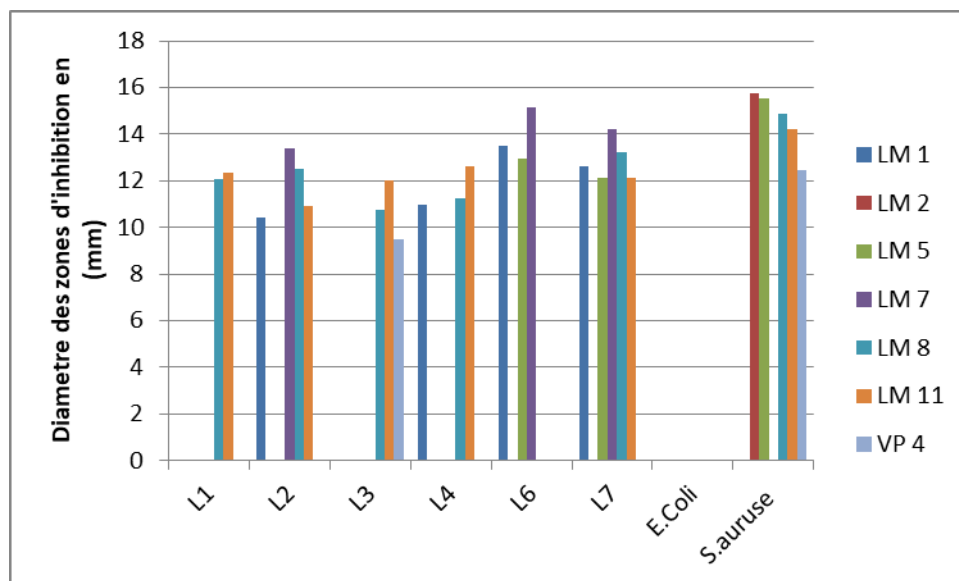


Figure 18. Profil d'activité antimicrobienne de souches lactiques par test de puits.

L'activité anti-adhésive de différentes souches de bactéries lactiques vis-à-vis de deux pathogènes opportunistes : *Staphylococcus aureus* (en rouge) et *Escherichia coli* (en bleu). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'adhésion des pathogènes, comparativement à un témoin non traité.

Les résultats révèlent une capacité variable mais globalement significative d'inhibition de la croissance des agents pathogènes. Les zones d'inhibition mesurées indiquent une activité antimicrobienne plus marquée contre *S.aureus* (jusqu'à 15 mm pour LM2, LM11 et VP4), suivie d'*E.coli* (11–13 mm pour la majorité des souches), et enfin *C.albicans*, pour lequel l'effet reste modéré (8–14 mm), bien que certaines souches telles que LM2 et LM7 présentent une activité antifongique notable.

De manière générale, les souches LM11, LM2 et VP4 se démarquent par leur efficacité antimicrobienne globale, en particulier contre *S.aureus*, suggérant une production potentielle de composés bioactifs comme des bactériocines, des acides organiques ou des biosurfactants. Ces résultats confirment l'intérêt des souches lactiques étudiées comme candidats probiotiques ou agents de biocontrôle, ouvrant des perspectives pour leur valorisation dans des applications thérapeutiques ou agroalimentaires.

4.3. Evaluation de la capacité de co-agrégation des souches lactiques

La faculté de Co-agrégation de onze souches de bactéries lactique d'origine naturelle (LM1 jusqu'à VP12) étudiées avec les sept souches pathogènes de *Candida albicans* (L1 à L7) et les deux bactéries pathogènes (*E.coli* et *Staphylococcus aureus*) à été démontrées et présentées

dans la figure ci-dessus qui illustre les pourcentages(%) de co-agrégation obtenus après 4 heures d'incubation.

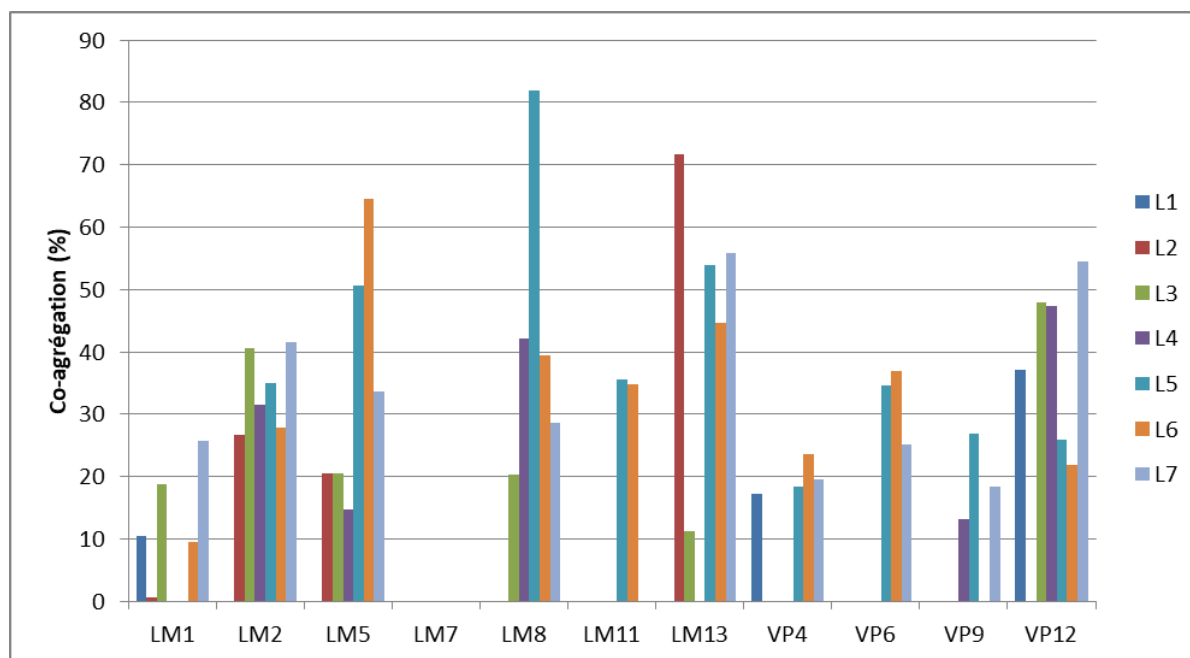


Figure 19 :Degrés de co-agrégation (%) entre les bactéries lactiques et *C.albicans* après 4 h d'incubation

Les résultats révèlent que certaines souches des bactéries lactiques, telles que LM5 et LM8 et LM13, VP12 affichent des taux de co-agrégation particulièrement élevés avec plusieurs souches de *C.albicans*. Par exemple, LM8 atteint un taux supérieur à 80 % avec L5, et LM5 dépasse 60 % avec L6. Ces niveaux élevés de co-agrégation indiquent une forte affinité entre les souches probiotiques et les levures pathogènes, ce qui peut constituer un mécanisme de neutralisation par agrégation et de réduction de la virulence des levures.

En revanche, des souches comme LM1 et VP4 présentent des taux de co-agrégation faibles avec la majorité des souches fongiques testées (< 20 %), ce qui suggère une interaction limitée et donc un potentiel probiotique moins prononcé sur ce critère.

Ces observations sont en accord avec celles rapportées par **Yocheva et al. (2024)** qui ont montré que la souche *Limosilactobacillus fermentum* LLF-01 affichait un taux de co-agrégation de 64,8 % avec *C.albicans*, suivi de plusieurs souches telles que *L. acidophilus* LLA-01 et *L. gasseri* LLG-V74, présentant des taux modérés allant de 17 à 37 %. À l'instar de notre étude, ces auteurs ont souligné la grande variabilité inter-souches et l'importance de la sélection ciblée pour les applications probiotiques.

la co-agrégation pourrait constituer un mécanisme de compétition et de blocage de l'adhésion des levures pathogènes aux cellules de l'hôte, favorisant leur élimination. Ce mode d'action,.

Yocheva et al. (2024)

En Plus des acides organiques, plusieurs métabolites produits par les *lactobacilles*, tels que les biosurfactants, les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les exopolysaccharides et les acides gras, contribuent également à l'inhibition de la croissance de *Candida albicans*.

Yocheva et al. (2024)

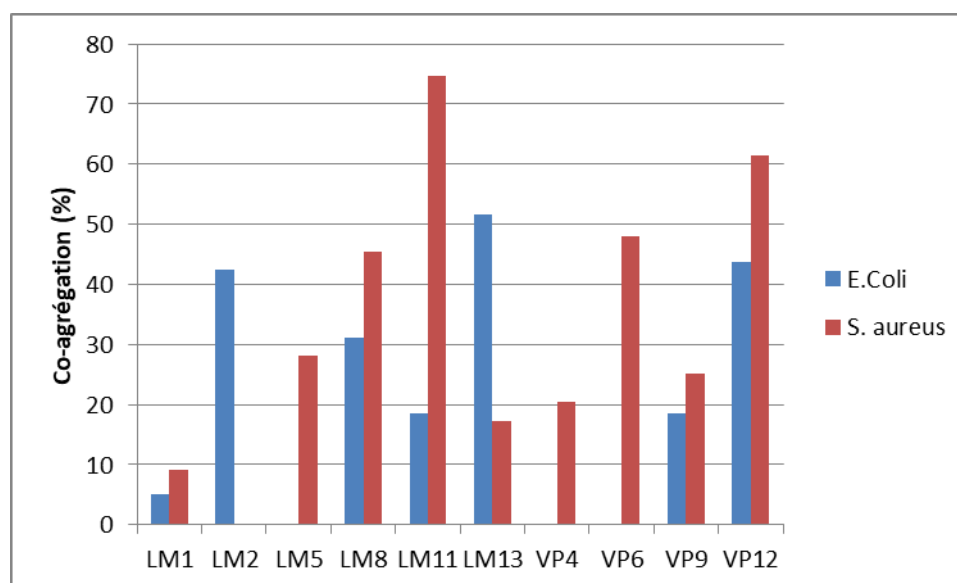


Figure 20. Pourcentages de co-agrégation (%) entre les bactéries lactiques et les souches pathogènes *E.coli* et *Staphylococcus aureus*

Les résultats montrent que certaines souches, notamment LM11 et B11, présentent des pourcentages de co-agrégation particulièrement élevés avec *S.aureus*, atteignant respectivement environ 75 % et 63 %. Ces données suggèrent que ces souches possèdent un fort potentiel d'interaction avec *S.aureus*, ce qui pourrait favoriser leur utilisation comme agents probiotiques à effet antimicrobien.

E.coli, les pourcentages de co-agrégation sont généralement plus modérés, bien que certaines souches telles que LM2, LM8, LM13 et VP12 montrent également des valeurs élevées, avoisinant ou dépassant les 40 %. La souche LM13 en particulier atteint plus de 50 % de co-agrégation avec *E.coli*, ce qui traduit un potentiel d'interférence significatif avec cette bactérie pathogène.

Il est intéressant de noter que certaines souches, comme LM5 et VP4 présentent des niveaux de co-agrégation relativement faibles avec les deux pathogènes testés, ce qui pourrait indiquer

une affinité moindre pour l'interaction interespèces ou une moindre production de substances favorisant l'agrégation.

4.4. Evaluation de la capacité antiadhésive des souches lactiques

Les résultats présentés dans la figure ci-dessus montrent les pourcentages d'inhibition de l'adhésion de sept souches de *Candida albicans* (L1 à L7) par différentes souches de bactéries lactiques d'origine humaine (LM1 à LM13 et VP4 à VP12). L'inhibition de l'adhésion, exprimée en pourcentage, reflète la capacité des bactéries lactiques à empêcher *C.albicans* de s'attacher à une surface, étape essentielle dans la formation de biofilm.

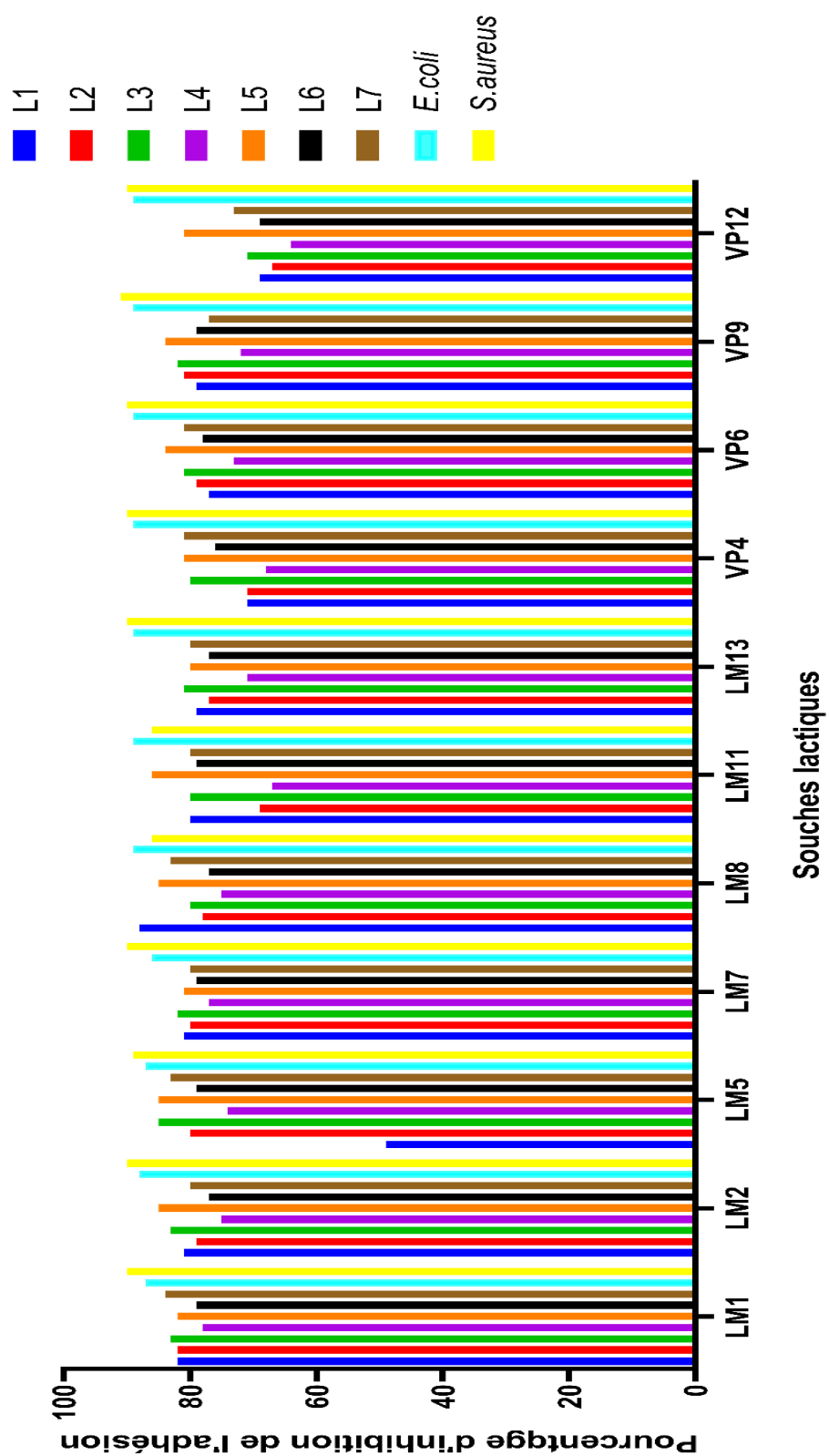


Figure 21 : Potentiel anti-adhésif des bactéries lactique contre *Candida albicans* et *Escherichia coli* et *Staphylococcus*

Dans l'ensemble, toutes les souches lactiques ont démontré une activité antiadhésive significative, avec des pourcentages d'inhibition variant entre environ 50 % et 90 %. Cela suggère une efficacité globale élevée dans la prévention de l'adhésion de *C.albicans* aux surfaces, bien que des différences soient observées selon les combinaisons souche lactique/souche fongique.

Certaines souches lactiques, notamment LM7, LM8, LM13 et VP6, se distinguent par des niveaux d'inhibition supérieurs à 85 % contre plusieurs souches de *C.albicans*, ce qui indique un potentiel probiotique prometteur. À l'inverse, la souche LM5 montre une inhibition plus faible, particulièrement contre la souche L4 de *Candida*, avec un pourcentage d'environ 50 %, ce qui pourrait refléter soit une interaction moins efficace, soit une variabilité de sensibilité entre les souches fongiques.

La souche fongique L7 semble être la plus sensible à l'action des bactéries lactiques, avec une inhibition élevée (>80 %) par la majorité des souches testées. En revanche, les souches L4 et L6 présentent une certaine résistance, traduite par des pourcentages d'inhibition généralement plus bas, quelle que soit la souche bactérienne.

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'ensemble des souches lactiques testées ont présenté une activité antiadhésive significative contre les souches de *Candida albicans*, avec des pourcentages d'inhibition variant entre 50 % et 90 %. Ces observations confirment les données rapportées dans la littérature, notamment dans les travaux de **(Ceresa et al. 2015)** et de Borelli et al. (2020), qui ont mis en évidence le rôle des biosurfactants produits par les lactobacilles dans l'inhibition de l'adhésion de *Candida*.

Dans l'étude de **Ceresa et al. (2015)** un biosurfactant produit par bactéries lactiques, brevis CV8 LAC a permis de réduire jusqu'à 90 % la formation de biofilm de *Candida albicans* sur une surface en silicone médical, sans inhiber la croissance fongique en phase libre. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans la présente étude avec les souches LM7, LM8, LM13 et VP6, qui ont atteint des taux d'inhibition supérieurs à 85 %, démontrant une efficacité élevée dans la prévention de l'adhésion fongique. Par ailleurs, des études montrent que le biosurfactant de *Lactobacillus crispatus BC1*, isolé de la flore vaginale, est capable de se lier aux cellules épithéliales humaines (HeLa) et au mucus vaginal, réduisant ainsi de plus de 50 % l'adhésion de différentes espèces de *Candida*, par des mécanismes d'exclusion et de compétition. Cette efficacité modérée est également observée ici avec certaines souches telles que LM5, dont l'activité inhibitrice ne dépasse pas 50 % contre certaines souches fongiques,

notamment L4. Ces comparaisons confirment que les résultats obtenus dans la présente étude sont cohérents avec ceux de la littérature, tant sur le plan des pourcentages d'inhibition observés que des mécanismes impliqués, principalement la production de biosurfactants, la compétition pour les sites d'adhésion, et l'exclusion des pathogènes. Elles soulignent également le rôle central de la variabilité inter-souches, tant du côté bactérien que fongique, dans la modulation de l'effet antiadhésif. Ainsi, les souches LM7, LM8, LM13 et VP6 pourraient être considérées comme de bonnes candidates probiotiques, en raison de leur efficacité comparable à celle de souches de référence étudiées précédemment

Conclusion

Conclusion

La présente étude a permis l'isolement et la caractérisation de onze souches de bactéries lactiques à partir de deux niches écologiques naturelles : le lait maternel et le vin de palme. Ces souches ont été soumises à une série d'analyses phénotypiques, biochimiques et fonctionnelles visant à évaluer leur potentiel probiotique, leur profil de sécurité et leur activité antimicrobienne.

Sur le plan de l'innocuité, aucune des souches isolées n'a présenté d'activité hémolytique, et les tests de coagulase ont confirmé l'absence de pouvoir pathogène, soutenant ainsi leur profil de sécurité biologique. Par ailleurs, les propriétés probiotiques ont été investiguées à travers l'évaluation de l'hydrophobicité, de l'auto-agrégation, de la co-agrégation avec des pathogènes ainsi que de l'adhésion sur surfaces abiotique, notamment via la formation de biofilm ou son inhibition.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode du spot test et celle de diffusion en puits a mis en évidence une inhibition significative de la croissance de plusieurs agents pathogènes, à savoir *Candida albicans* (sept isolats), *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les diamètres des zones d'inhibition, variant entre 17,5 mm et 21,5 mm, traduisent une activité antagoniste marquée, en particulier vis-à-vis des pathogènes à Gram positif et des levures opportunistes.

Enfin, les tests de résistance aux antibiotiques ont montré une résistance généralisée à l'amoxicilline et à la pénicilline, tandis qu'une sensibilité variable à la tétracycline a été observée, avec quatre souches présentant une résistance.

Dans l'ensemble, plusieurs souches en particulier celles issues du lait maternel se distinguent par un fort potentiel probiotique, conjuguant activité antimicrobienne, capacité d'adhésion, aptitudes de co-agrégation et sécurité microbiologique.

Ces résultats suggèrent que ces souches pourraient être valorisées en tant qu'agents probiotiques pour la prévention ou le traitement des infections urogénitales, ou intégrées à des formulations de bioconservation alimentaire. Des études complémentaires, incluant la caractérisation moléculaire des gènes impliqués et des essais in vivo, seraient nécessaires pour confirmer leur efficacité et leur innocuité en conditions réelles d'application.

Annexes

Annexes 1 : composition des milieux de culture

Tableau 1 : Bouillon MRS (de Man Rogosa et Sharpe)

composants	g/l
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
glucose	20
Tween 80	1ml
phosphatedipotassique	2
Acétate de sodium	3
Citrat triammoniacale	2
Sulfate de magnisium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau 2 : Bouillon nutritif pH 7

Composants	g/l
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2,5
5pepton	5
chlorure de sodium	5
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau 3 : Gélose Columbia pH7

composant	g/l
polypepton	17
peptone pancréatique	3
extrait de levures	3
amidon de maïs	1
chlorure de sodium	5
agar	15
eau distillée	Qsp 1L

Tableau 4 : Gélose Mueller Hinton (MH)

composant	g/l
extrait de viande	2
caséine hydrolysée enzymatiquement	17,5
amidon	1,5
chlorure de sodium	5
Agar	17

Tableau 5 :Bouillon TSB(Trypticase-Soy Broth, pH 7) :

Composant	g/l
Peptone de casein	17
pepetone de soja	3
Glucose	2,5
phosphate dipotassique	2,5
chlorure de sodium	5
Extrait de levure	6
Eau distillé	Qsp 1L

Tableau 6 : Résultats de l'étude microscopique et du test de la catalase des souches retenues à partir de lait maternelle.

N° de la souche	observation microscopique	test de gram	test catalase
LM 1	Des bacilles rond lisse /violet	positif(+)	-
LM 2	des cocci en grappe de raisin/rond	positif(+)	-
LM 3	des cocci en grappe de raisin/rond	négatif(-)	-
LM 4	des cocci en grappe de raisin/rond	négatif(-)	-
LM 5	des cocci en grappe de raisin/rond	positif(+)	-
LM 6	des coccobacilles en rose	négatif(-)	-
LM 7	des coccobacilles et des cocci en rose	positif(+)	-
LM 8	des cocci en chaine /violet	positif(+)	-
LM 9	des cocci en chaine /rose	négatif(-)	-
LM 10	des bacilles en Chain	positif(+)	+
LM 11	des cocci en grappe de raisin/rond	positif(+)	-
LM 12	des cocci	négatif(-)	-
LM 13	Des coccobacilles violet	positif(+)	-
LM 14	levures	positif(+)	+

LM 15	levures	positif(+)	+
LM 16	levures	positif(+)	+
LM 17	levures	positif(+)	+
LM 18	levures	positif(+)	+

Tableau 7 : Résultats de l'étude microscopique et du test de la catalase des souches

Retenues à partir de vin de palme

N° de boîte	observation microscopique	test de gram	test catalase
VP 2	Des bacilles en rose	négatif(-)	-
VP 3	Des cocci en violet	positif(+)	+
VP 4	Des bacilles violets	positif(+)	-
VP 5	Des cocci en chaine/rose	négatif(-)	-
VP 6	cocci en Chain +cristaux /violet	positif(+)	-
VP 7	cocci en chaine/violet	positif(+)	-
VP 8	des coccobacilles /rose	négatif(-)	-
VP9	cocci en chaine /violet	positif(+)	-
VP 10	cocci en chaine /rose	négatif(-)	-
VP 11	des bacilles violets+des cocci en rose	(+)/(-)	+
VP 12	coccobacilles en violet	positif(+)	-
VP 13	coccobacille en violet	positif(+)	+

Tableau 8 : résultat de test d'hémolyse et test de couagulase

les souches	Couagulase	Hémolyse
LM1	-	γ
LM2	-	γ
LM5	-	γ
LM7	-	γ
LM8	-	γ
LM11	-	γ
LM13	-	γ
VP4	-	γ
VP6	-	γ
VP9	-	γ
VP12	-	γ

Tableau 9 : résultat de test de spot avec le diamètre des zone d'inhibition des souches testé (bactéries lactique) sur milieu MRS

la cible	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	<i>E.coli</i>
LM1	00	00	00	00	00	00	00	00
LM2	00	00	16,05	00	00	00	11,25	00
LM5	00	27,1	14,6	00	15,55	00	00	00
LM7	12,9	00	14,8	25,4	00	13,85	00	20,25
LM8	00	17,95	00	00	00	00	00	00
LM11	00	00	26,55	32,5	00	27,9	00	00
LM13	16,45	00	00	00	00	00	19,95	23,85
VP4	11,2	00	00	00	00	00	18	20
VP6	15,05	00	14,35	00	00	16,5	16,8	25,75

VP9	00	18,4	16,7	15,6	00	16,9	21,5	17,4
VP12	00	00	14,1	12,8	00	00	12,8	17,2

Tableau 10 :résultats de test de spot avec le diamètre des zones d’inhibition en (mm) des souches testées sur le milieu MH

la cible	LM										VP
	LM 1	LM 2	LM 5	LM 7	LM 8	LM 11	13	VP 4	VP 6	VP 9	12
L1	18,8	00	00	00	20,85	21,5	18,9	18,2	00	00	00
L3	00	00	00	00	00	00	15,2	00	15,7	17,1	00
L4	16,05	16,7	19,75	18,9	20,95	18,45	15,8	17,6	17,55	17,8	18,25
L6	20,6	18,25	18,8	20,63	20,15	18,85	22,3	22,6	17,8	16,65	17,7

Tableau 11 : résultat de test des puits avec le diametre des zones d’inhibition en (mm)

les cibles	LM 1	LM 2	LM 5	LM 7	LM 8	LM 11	VP 4
L1	00	00	00	00	12,05	12,35	00
L2	10,45	00	00	13,4	12,5	10,9	00
L3	00	00	00	00	10,75	12	9,5
L4	11	00	00	00	11,25	12,6	00
L6	13,5	00	12,95	15,15	00	00	00
L7	12,6	00	12,1	14,2	13,25	12,15	00
<i>E.coli</i>	00	00	00	00	00	00	00
<i>S.aureus</i>		15,75	15,55	00	14,85	14,2	12,45

Tableau 12 : Diamètres de zones d'inhibition et profil de sensibilité aux antibiotiques des souches testées

	Tétracycline (TE)		Amoxiciline (AUG)		Penicilline(P ¹⁰)	
Lm1	16.6 (MH)	7,3 (MRS)	Résistante (MH)	5,5 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm2	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm5	15.7 (MH)	4,8 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm7	16.9 (MH)	6,5 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm8	14.8 (MH)	4,2 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm11	16,3 (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
Lm13	Résistante (MH)	/	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
VP4	19,75 (MH)	/	Résistante (MH)	Résistante (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
VP6	Résistante (MH)	/	Résistante (MH)	15,1 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
VP9	11,1 (MH)	/	Résistante (MH)	3,8 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)
VP12	Résistante (MH)	/	Résistante (MH)	15,4 (MRS)	Résistante (MH)	Résistante (MRS)

Référence Bibliographiques

- Abushelaibi A, Al-Mahadin S, El-Tarabily K, et al (2017) Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT - Food Sci Technol* 79:316–325.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.041>
- Ait Ouali F, Al Kassaa I, Cudennec B, et al (2014) Identification of lactobacilli with inhibitory effect on biofilm formation by pathogenic bacteria on stainless steel surfaces. *Int J Food Microbiol* 191:116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.011>
- Amabebe E, Anumba DOC (2018) The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Front Med* 5:181. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00181>
- Auriemma RS, Sciarati R, Del Vecchio G, et al (2021) The Vaginal Microbiome: A Long Urogenital Colonization Throughout Woman Life. *Front Cell Infect Microbiol* 11:686167.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.686167>
- Badis A, Guetarni D, Moussa-Boudjemâa B, et al (2004) Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiol* 21:343–349. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00072-8](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00072-8)
- Barache N, Ladjouzi R, Belguesmia Y, et al (2020) Abundance of *Lactobacillus plantarum* Strains with Beneficial Attributes in Blackberries (*Rubus* sp.), Fresh Figs (*Ficus carica*), and Prickly Pears (*Opuntia ficus-indica*) Grown and Harvested in Algeria. *Probiotics Antimicrob Proteins* 12:1514–1523. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09632-z>
- Bonnal V (2023) Dysbioses du microbiote vaginal : causes, conséquences et prise en charge. 77
- Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R (2020) Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules* 25:1340.
<https://doi.org/10.3390/molecules25061340>
- Canha-Gouveia A, Pérez-Prieto I, Rodríguez CM, et al (2023) The female upper reproductive tract harbors endogenous microbial profiles. *Front Endocrinol* 14:1096050.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1096050>
- Carr FJ, Chill D, Maida N (2002) The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit Rev Microbiol* 28:281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
- Ceresa C, Tessarolo F, Caola I, et al (2015) Inhibition of *Candida albicans* adhesion on medical-grade silicone by a *Lactobacillus*-derived biosurfactant. *J Appl Microbiol* 118:1116–1125.
<https://doi.org/10.1111/jam.12760>
- Chen C, Song X, Wei W, et al (2017) The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun* 8:875.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>
- Chen T, Wang L, Li Q, et al (2020) Functional probiotics of lactic acid bacteria from Hu sheep milk. *BMC Microbiol* 20:228. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01920-6>
- Chen T, Xia C, Hu H, et al (2021) Dysbiosis of the rat vagina is efficiently rescued by vaginal microbiota transplantation or probiotic combination. *Int J Antimicrob Agents* 57:106277.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106277>

- Collado MC, Meriluoto J, Salminen S (2008) Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *Eur Food Res Technol* 226:1065–1073. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0632-x>
- Denis F (2007) *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Masson
- Dombrowska-Pali A, Wiktorczyk-Kapischke N, Chrustek A, et al (2024) Human Milk Microbiome—A Review of Scientific Reports. *Nutrients* 16:1420. <https://doi.org/10.3390/nu16101420>
- Donders G, Sziller IO, Paavonen J, et al (2022) Management of recurrent vulvovaginal candidosis: Narrative review of the literature and European expert panel opinion. *Front Cell Infect Microbiol* 12:934353. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.934353>
- Gao H, Liu Q, Wang X, et al (2024) Deciphering the role of female reproductive tract microbiome in reproductive health: a review. *Front Cell Infect Microbiol* 14:1351540. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1351540>
- Grattepanche ACE (2022) Probiotiques gynécologiques en officine. 83
- Habiba M, Heyn R, Bianchi P, et al (2021) The development of the human uterus: morphogenesis to menarche. *Hum Reprod Update* 27:1–26. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa036>
- Holt JG (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins
- Jp L, V R (2002) [Protective role of the Doderlein flora]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 31:
- Keburiya LK, Smolnikova VYu, Pripitnevich TV, et al (2022) Does the uterine microbiota affect the reproductive outcomes in women with recurrent implantation failures? *BMC Womens Health* 22:168. <https://doi.org/10.1186/s12905-022-01750-w>
- khushboo (2023) Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. In: ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/370526772_Characterization_and_selection_of_probiotic_lactic_acid_bacteria_from_different_dietary_sources_for_development_of_functional_foods. Accessed 30 Jun 2025
- Kos B, Susković J, Vuković S, et al (2003) Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J Appl Microbiol* 94:981–987. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01915.x>
- ling-ying-wu (2024) The role of probiotics in women's health: An update narrative review - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1028455923003017>. Accessed 29 Jun 2025
- Liu P, Lu Y, Li R, Chen X (2023) Use of probiotic lactobacilli in the treatment of vaginal infections: In vitro and in vivo investigations. *Front Cell Infect Microbiol* 13:1153894. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1153894>
- Magaldi S, Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, et al (2004) Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis* 8:39–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002>

- Marroki A, Bousmaha-Marroki L (2014) Lactobacilli isolated from Algerian goat's milk as adjunct culture in dairy products. *Braz Arch Biol Technol* 57:410–420. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132014005000003>
- Masson E Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. In: EM-Consulte. <https://www.em-consulte.com/article/77757/flores-vaginales-normales-vaginites-et-vaginoses-b>. Accessed 30 Jun 2025
- Mathur T, Singhal S, Khan S, et al (2006) DETECTION OF BIOFILM FORMATION AMONG THE CLINICAL ISOLATES OF STAPHYLOCOCCI: AN EVALUATION OF THREE DIFFERENT SCREENING METHODS. *Indian J Med Microbiol* 24:25–29. [https://doi.org/10.1016/S0255-0857\(21\)02466-X](https://doi.org/10.1016/S0255-0857(21)02466-X)
- Matthieu Thomas (2024) Appareil génital féminin. In: Kenhub. <https://www.kenhub.com/fr/library/anatomie/appareil-genital-feminin>. Accessed 30 Jun 2025
- Mei Z, Li D (2022) The role of probiotics in vaginal health. *Front Cell Infect Microbiol* 12:963868. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.963868>
- Menard B (2009) Déséquilibre microbiologique de la flore vaginale chez la femme enceinte. Controverse sur le dépistage de la vaginose bactérienne asymptomatique |. <https://www.edimark.fr/revues/la-lettre-du-gynecologue/334-septembre-2008/desequilibre-microbiologique-de-la-flore-vaginale-chez-la-femme-enceinte-controverse-sur-le-depistage-de-la-vaginose-bacterienne-asymptomatique>. Accessed 29 Jun 2025
- Miko E, Barakonyi A (2023) The Role of Hydrogen-Peroxide (H₂O₂) Produced by Vaginal Microbiota in Female Reproductive Health. *Antioxid Basel Switz* 12:1055. <https://doi.org/10.3390/antiox12051055>
- Miles SM, Hardy BL, Merrell DS (2017) Investigation of the microbiota of the reproductive tract in women undergoing a total hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. *Fertil Steril* 107:813-820.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.11.028>
- Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al (2016) Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol* 215:684–703. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075>
- Mustakim M, Sinawat S, Salleh SN, et al (2019) Human milk as a potential source for isolation of probiotic lactic acid bacteria: a mini review. *Food Res* 4:274–285. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(2\).307](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(2).307)
- Nappi RE, Palacios S, Panay N, et al (2016) Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. *Climacteric J Int Menopause Soc* 19:188–197. <https://doi.org/10.3109/13697137.2015.1107039>
- Ocaña V, Silva C, Nader-Macías ME (2006) Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic Vaginal Lactobacilli. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2006:018182. <https://doi.org/10.1155/IDOG/2006/18182>
- Onywera H, Williamson A-L, Mbulawa ZZA, et al (2019) The cervical microbiota in reproductive-age South African women with and without human papillomavirus infection. *Papillomavirus Res* 7:154–163. <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2019.04.006>

- O'Toole GA, Kolter R (1998) Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol* 28:449–461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
- Ozen M, Piloquet H, Schaubeck M (2023) *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716: Clinical Potential of a Probiotic Strain Isolated from Human Milk. *Nutrients* 15:2207. <https://doi.org/10.3390/nu15092207>
- Pelzer ES, Willner D, Buttini M, et al (2018) The fallopian tube microbiome: implications for reproductive health. *Oncotarget* 9:21541–21551. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25059>
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al (2011) Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci* 108:4680–4687. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>
- Sheldon R M (2023) Présentation des infections sexuellement transmissibles (IST) - Infections. In: Man. MSD Pour Gd. Public. <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-sexuellement-transmissibles-ist/présentation-des-infections-sexuellement-transmissibles-ist>. Accessed 29 Jun 2025
- Tachedjian G, Aldunate M, Bradshaw CS, Cone RA (2017) The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Res Microbiol* 168:782–792. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.04.001>
- Tarracchini C, Argentini C, Alessandri G, et al (2023) The core genome evolution of *Lactobacillus crispatus* as a driving force for niche competition in the human vaginal tract. *Microb Biotechnol* 16:1774–1789. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14305>
- The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, Proctor LM, Creasy HH, et al (2019) The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* 569:641–648. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>
- Walther-António MRS, Chen J, Multinu F, et al (2016) Potential contribution of the uterine microbiome in the development of endometrial cancer. *Genome Med* 8:122. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0368-y>
- Yocheva L, Tserovska L, Danguleva-Cholakova A, et al (2024) In Vitro Inhibitory Effects and Co-Aggregation Activity of *Lactobacilli* on *Candida albicans*. *Microbiol Res* 15:1576–1589. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15030104>
- Zhou B, Sun C, Huang J, et al (2019) The biodiversity Composition of Microbiome in Ovarian Carcinoma Patients. *Sci Rep* 9:1691. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38031-2>

