REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par :

SAHNOUNE Fatma Zohra

AMEUR Nour El Houda

Thème :

Activité antifongique et antioxydante des bactéries lactiques isolées des Produits laitiers artisanaux

Soutenue publiquement le : 24/06/2024., Devant le jury composé de :

TOUMI Selma	**MAB**	U. Médéa	Présidente
BOUMEDIENE Farida	**MCB**	U. Médéa	Examinatrice
BOUCHIBANE Malika	**MAB**	U. Médéa	Encadreur
TOUZOUT Nabil	**MAB**	U. Médéa	Co-Encadreur
BENTAIBA Karima	**MAB**	U. Mostaganem	Invité

Année universitaire 2023/2024

Remerciement

Nous remercions Dieu le généreux qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas et de nous avoir donné le courage et la patiente pour terminer ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier nos parents pour leur soutien permanent et le réconfort qu'ils nous ont prodigé tout au long de notre cursus universitaire.

Nous remercions notre encadreur BOUCHIBANE Malika, Maître assistante B à l'université Dr. Yahia Fares de Médéa, pour la confiance qu'elle nous a accordée en acceptant de diriger ce mémoire. Elle a gentiment accepté de prendre en charge et de nous guider tout au long de son élaboration. Nous lui sommes très reconnaissants pour ses conseils, sa disponibilité et son sérieux dans le travail.

Nous remercions notre Co-encadreur Monsieur TOUZOUT Nabil, Maître assistante B à l'université Dr. Yahia Fares de Médéa.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury:

TOUMI Selma (Maître assistante B à l'université de Médéa), La Présidente du jury.

BOUMEDIENE Farida (Maître De Conférence B à l'université de Médéa), Examinatrice.

BENTAIBA Karima (Maître assistante B à l'université de Mostaganem), invitée.

Merci chères enseignantes d'avoir accepter d'évaluer notre travail .

Merci à toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie de nous voir aidés. Très sincères remerciements.

Nous remercions aussi les étudiants de nous promotion de la spécialité Microbiologie Appliquée.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

وإن لم نتمكن من النفير فلنجعل كل نفير فلسطينيا

À ceux qu'Allah a renforcés par l'Islam et qui n'accepteront aucune autre gloire, aux hommes de la nation islamique et aux protecteurs de son honneur, à ceux qui ont créé un miracle par leur constance grâce à Allah, à ceux qui ont caché leurs visages sur le terrain mais qu'Allah connaît, à la fierté de la nation islamique et à son seul espoir, aux soldats d'Allah, aux serviteurs vertueux d'Allah, à la vraie semence et à la plante forte, aux descendants de Yassine, aux porteurs d'AlYassine, à la couronne de la tête, nos moudjahidines à Gaza.

À celui dont la vision est une victoire et une guérison pour les cœurs, à notre leader au keffieh rouge, dont la voix fait se dresser le monde sur une jambe au son de sa voix, et dont l'honneur de la nation islamique dépend de son héroïsme, à celui dont les yeux sont le déluge, l'index le volcan, et la voix le tremblement de terre débordant de dignité, Gloire à Dieu qui a planté en lui le prestige, la force et l'acceptation, Dieu te protège et te donne la victoire, notre fierté.

Au leader de notre nation islamique, qu'Allah perpétue son ombre, à l'inspiration et à l'espoir de la nation, au commandant en chef de l'armée qui entrera dans la mosquée Al-Aqsa en tant que conquérant et libérateur, si Dieu le veut, Abu Khaled Mohammed Al-Deif. À celui sur les épaules duquel repose un fardeau que les montagnes ne peuvent porter, au prisonnier libéré, au combattant de la résistance et au dirigeant poursuivi Yahya Sinwar, que Dieu le protège et fasse de lui une épine dans la gorge des ennemis. À notre leader au keffieh noir Abu Hamza. Et à tous les dirigeants de notre vaillante résistance.

Au martyr al-Sajid, Muhannad 'Halil Ya Al-Dwairi', Omar al-Dahdouh et à tous les martyrs de notre résistance, ainsi qu'à tous les héros, martyrs et blessés en ce grand jour de la traversée du 7 octobre.

À toutes les personnes honorables de Gaza, à Sham et à tous les enfants de Gaza, à tous les étudiants et étudiantes de Gaza. À Saleh Al-jafarawi, Wael al-Dahdouh, Anas Al-Sharif, Aboud Battah et à tous les honorables journalistes et militants de Gaza.

Au Dr Mohammed Lehya et à tous les médecins de Gaza, au Dr Mohammed Abu Selmiya et au Dr Mohammed Abu Moussa et à tous nos valeureux prisonniers. À Malek Haniya, Hind

Rajab, Ruh Al-Ruh, Youssef aux cheveux bouclés, et à tous nos enfants martyrs. Et à tous nos martyrs de Gaza.

Je dédie ce travail à ma chère famille et à tous ceux que j'aime.

A mon bien le plus précieux, à tout mon amour, à la lumière de mes yeux, à mon cher père et à ma chère mère. À mes deuxièmes parents, mon cher grand-père et ma chère grand-mère. À mes frères, Ali et Alaà Eddine, la lumière de mes yeux et mon soutien dans la vie. Au battement de mon cœur et de mon âme, mon cher neveu Anas, et à ma chère nièce Miral. À ma cousine, amie, amante et sœur Dania. À mon oncle et ma tante bien-aimés. A Chère Zineb. À mes cousins, ma chère Tassnim, ma chère Aseel, ma chère Ritadj, mes chers Hamoudi et Adam, et mon petit Amir. A la femme de mon oncle, et le mari de ma tante.

À mon amie et partenaire bien-aimée mon binôme Nour qui a partagée avec moi tous les moments de ce travail, et sa famille. A mes encadreurs Mme Bouchibane Malika et Mr Touzout Nabil. Et bien sûr à tous la promotion de master 2.

Enfin, je me dédie ce travail à moi-même.

FATMA ZOHRA

Dédicaces

Avant tous mes plus sincère remerciements à Dieu «Allah» pour la volonté, la patiente, la force et le courage qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade et pour réaliser ce travail.

Le devoir de reconnaissance m'oblige de dédier ce modeste à tous ceux qui me sont chers, ce sont ceux à qui dois de mon succès.

A mon très cher père

À l'épaule solide et au cœur généreux, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime ,le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ce travail est le fruits des sacrifices immenses que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Ta sagesse et ton soutien inébranlable ont été des piliers sur lesquels j'ai pu m'appuyer tout au long de mon parcours.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour et de ma gratitude infinie. Puisse Dieu, le tout-puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Je t'aime, papa.

A ma chère mère

A ma très chère mère, honorable et aimable vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage pour réussira. Vos prières et vos bénédictions ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tout ce que je peux vous offrir ne pourra jamais exprimer pleinement l'amour et la reconnaissance que j'ai pour vous .Pour moi, vous êtes la lumière qui me guide vers le chemin de ma réussite.

En témoignage, je vous offre ce modeste travail pour vous remercier de vos sacrifices consentis et de l'affection dont vous m'avez toujours témoignée. Que Dieu vous accorde une longue vie, vous protège et vous garde en bonne santé.

Je t'aime, Mama.

A mes merveilleux frères. Hamza, Saddem, Karim et Walid

À ceux qui m'ont soutenu , et ils ont été la meilleure aide.

Chacun de vos sourires a illuminé mon chemin.

Chaque mot d'encouragement a nourri mes rêves.

À travers ce travail, je célèbre notre lien indéfectible.

Merci d'avoir été mes anges gardiens. Cette réussite est aussi la votre

À les femmes de mes frères. Hadjer, khouloud

Pour leur soutien moral, leur générosité, et leur bienveillance

À les petites anges

Abd el rahmane, Nourssine, Ibrahim

À toute les membres de ma grande famille, mes tantes ,mes oncles, mes cousins et mes cousines.

A ma chère binôme

Notre collaboration a été un pilier essentiel de ce travail, la contribution a été essentielle à la réussite.

A mes encadreurs Mme BOUCHIBANE MALIKA et Mr TOUZOUTE NABIL

A tous mes amis

Chaque moment passé avec vous est un trésor dont je suis reconnaissante. Votre amitié illumine mon parcours et enrichis cette expérience. Merci d'etre toujours là.

À tous ceux qui sont proches de mon cœur et qui m'encouragent et me soutiennent pour donner le meilleur de moi-même.

Et enfin, je me remercie pour ma patience, ma détermination et ma persévérance. Me voici aujourd'hui en train de conclure tout ce que j'ai vécu avec fierté et succès. Dieu merci avant et aprés, en espérant que Dieu me profite de ce qu'il m'a appris, des chemins à la hauteur de nos ambitions, et une arrivée à la hauteur de nos efforts.

Nour El Houda

ملخص

يعد الإجهاد التأكسدي والفطريات مسؤولان عن تدهور المنتجات الغذائية المختلفة، مما يشكل تهديدًا كبيرًا لصحة الإنسان .في السنوات الأخيرة أصبح البحث عن مركبات مضادة للفطريات والأكسدة أكثر أمانًا وطبيعية من المصادر البيولوجية أمرًا بالغ الأهمية من أجل استبدال المضادات الاصطناعية .تُعتبر بكتيريا حمض اللاكتيك مضادات طبيعية لهذه الكائنات الحية الدقيقة الضارة، وذلك بفضل إنتاجها للعديد من هذه المركبات.

هذا العمل هو جزء من دراسة النشاط المضاد للفطريات وخصائص مضادات الأكسدة في المختبر لعشرة أنواع من بكنيريا حمض اللاكتيك المعزولة من مختلف منتجات الألبان الحرفية والمحددة وراثياً وهي *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis, Enterococcus faecium.*

تمت دراسة النشاط المضاد للفطريات للأنواع المدروسة ضد الرشاشيات البرازيلية ATCC16404 والمبيضات البيضاء ATCC10231 كما تم إجراء اختبارين) اختبار FRAP واختبار (DPPHلدراسة التأثير المضاد للأكسدة .تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن السلالات التي تم اختبارها أظهرت نشاطًا مضادًا للفطريات مثيرًا للاهتمام، حيث تراوحت أقطار المناطق بين 2.121 ± 12.5 إلى 1.414 ± 24 ملم . وبالمثل، كان لدى جميع السلالات القدرة على احتجاز DPPH، بنسب تتراوح بين 59.23% إلى .93.57% وبقدرة اختزال معتدلة حيث تراوحت نسبة الامتصاص من 0.167 إلى.0.219

وقد أثبتت أنواع حمض اللاكتيك التي خضعت للدراسة إمكانية استخدامها في التطبيقات الغذائية كمضادات طبيعية للفطريات والأكسدة.

الكلمات المفتاحية :بكتيريا حمض اللاكتيك، مضاد للفطريات، مضادات الاكسدة *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis spp lactis, Enterococcus faecium.*

Résumé

Le stress oxydatif et les champignons sont à l'origine de la dégradation de différents produits alimentaires, ce qui constitue un danger majeur pour la santé humaine.. Au cours des dernières années, la recherche de composés antagonistes et d'antioxydants plus sécurisés et plus naturels que les sources biologiques est devenue cruciale afin de substituer les antioxydants synthétiques. Les bactéries lactiques (BL) sont considérées comme des antifongiques naturels de ces microorganismes nuisibles, grâce à la synthèse de nombreux composés antifongiques et antioxydants.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de l'activité antifongique et les propriétés antioxydante *in vitro* de dix espèces lactiques isolées des divers dérivés laitiers artisanaux et identifiées génétiquement, à savoir : *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis et Enterococcus faecium.* L'activité antifongique des espèces a été étudiée contre *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 et *Candida albicans* ATCC10231. Et les deux tests ont été réalisé (test de FRAP et test DPPH) pour étudier l'effet antioxydant. Les résultats obtenus indiquent que les souches testées présentaient une activité antifongique intéressante, avec des diamètres des zones variant de12.5±2.121 à 24±1.414 mm. De même, toutes les souches ont la capacité de piégeage du DPPH, et les taux varient de 59,23% à 93,57%. Et avec un pouvoir réducteur modéré, avec une absorbance qui varie de 0, 167 à 0,219.

Les espèces lactiques étudiées ont démontré qu'elles pourraient être employées dans des applications nutritionnelles en tant qu'antifongiques et antioxydantes naturels.

Mots clés : Bactéries lactiques, antifongique, antioxydante, *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis, Enterococcus faecium.*

Abstract

Oxidative stress and fungi are responsible for the degradation of various food products, posing a major threat to human health... In recent years, the search for antagonistic compounds and antioxidants that are safer and more natural than biological sources has become crucial in order to substitute synthetic antioxidants. Lactic acid bacteria (LAB) are considered natural antifungals for these harmful microorganisms, thanks to their synthesis of numerous antifungal and antioxidant compounds.

This work is part of the study of the *in vitro* antifungal activity and antioxidant properties of ten lactic acid species isolated from various artisanal dairy derivatives and genetically identified, namely: *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis and Enterococcus faecium*. The antifungal activity of the species was studied against *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 and *Candida albicans* ATCC10231. And both tests were performed (FRAP and DPPH tests) to study the antioxidant effect. The results obtained indicate that the strains tested displayed interesting antifungal activity, with zone diameters ranging from 12.5±2.121 to 24±1.414 mm. Similarly, all the strains were able to trap DPPH, with rates ranging from 59.23% to 93.57%. And with moderate reducing power, with absorbance ranging from 0.167 to 0.219.

The lactic acid species studied demonstrated that they could be used in nutritional applications as natural antifungals and antioxidants.

Key words: Lactic acid bacteria, antifungal, antioxidant, *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis, Enterococcus faecium.*

Liste des abréviations

LAB : Bactéries lactiques

LB : *Lactobacillus*

LC : *Lactococcus*

A : *Aspergillus*

C : *Candida*

E : *Enterococcus*

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNr : ARN ribosomique

ATP : Adénosine-Triphosphate

NaCl : Chlorure de sodium

Abs : Absorbance

CO_2 : Dioxyde de carbone

DPPH : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle

Fe^{2+} : Fer ferrique

Fe^{3+} : Fer ferreux

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

MRS : Milieu de Man Rogosa Sharpe

PDA : Potato dextrose agar

PBS : Phosphate buffered saline (tampon phosphate salin)

ROS : Espèce réactive de l'oxygène

TCA : Acide trichloracétique

°C : Degré Celsius

FeCl3 : Chlorure ferrique

Liste des tableaux

Tableau 01: Différentes utilisation des bactéries lactiques en alimentation……..**4**

Tableau 02 : Principales divisions au sein du genre Lactobacillus basées sur les caractéristiques phénotypiques…….**11**

Tableau 03 : LAB sélectionnés pour leurs métabolites antifongiques, et leur spectre d'activité fongique……**21**

Tableau 04 : Origine et identification des souches des bactéries lactiques…….**33**

Tableau 05 : Souches fongiques testées……...**34**

Tableau 06 : Résultats de l'activité antifongique vis-à-vis *Candida albicans* ATCC10231...**41**

Tableau 07 : Résultats de l'activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404…….**43**

Liste des figures

Figure 01 : Principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques et de bactéries gram-positives apparentées avec des mols G+C faibles (partie supérieure) et élevés (partie inférieure) dans l'ADN……**6**

Figure 02 : Bactéries lactiques observé au microscope électronique à transmission……**7**

Figure 03 : Schéma de la voies homolactique chez les bactéries lactiques……...**8**

Figure 04 : Schéma de la voie hétérofermentaire chez les bactéries lactiques……..**9**

Figure 05 : Micrographies à contraste de phase (A-E) et électroniques (F) montrant différentes morphologies cellulaires de lactobacilles……...**10**

Figure 06 : Micrographie électronique à balayage de Lactococcus lactis subsp. lactis Bu2...**12**

Figure 07 : Candida albicans……...**17**

Figure 08 : Représentation graphique montrant une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH due à l'exposition à un antioxydant……..**36**

Figure 19 : Aspect macroscopique de souches lactiques purifiées sur gélose……**38**

Figure 10 : Observation microscopique des souches après une coloration de Gram……...**39**

Figure 11 : Activité antifongique de quelques souches testées vis à vis *Candida albicans* ATCC10231…….……..**42**

Figure 12 : Activité antifongique de quelques souches testées vis-à-vis *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404……...**44**

Figure 13 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique……..**46**

Figure 14 : Résultats de la capacité du DPPH (%) à capturer par les espèces lactiques isolées des produits laitiers artisanaux……..**47**

Figure 15 : Résultats du diminution de l'intensité de la couleur de DPPH pour les espèces testée……..……**48**

Figure 16 : Résultats du pouvoir réducteur(FRAP) des espèces testées……..**51**

Figure 17 : Résultats du virage de la couleur (test FRAP) pour les souches du genre *Lactobacillus*……**52**

Figure 18 : Résultats du virage de la couleur (test FRAP) pour les souches des genres *Lactococcus et Enterococcus*……**53**

Table des matières

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ……..1

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Les bactéries lactiques

I.1. Historique……...……..**3**

I.2. Habitat……...……...**3**

I.3. Classification des bactéries lactiques……..……...**5**

I.3.1. Classification classique.....**5**

I.3.2. Classification moderne.....**5**

I.4. Caractéristiques générales des bactéries lactiques.....**6**

I.4.1. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....**10**

I.4.1.1. Genre Lactobacillus.....**10**

I.4.1.2. Genre Lactococcus.....**12**

I.4.1.3. Genre Enterococcus.....**12**

I.5. l'intérêt des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire.....**13**

I.6. l'intérêt des bactéries lactiques dans le domaine médical.....**13**

II. Activité antifongique des bactéries lactiques

II.1. Les moisissures.....**15**

II.1.1. Généralités.....**15**

II.1.2. Genre *Aspergillus*.....**15**

II.2. Les levures.....**16**

II.2.1. Généralités.....**16**

II.2.2. Genre *Candida*.....**16**

II.3. Etude de l'activité antifongique des LAB.....**17**

II.3.1. Souches des LAB à caractère antifongique.....**17**

II.3.2. Substances antifongiques sécrétées par les LAB.....**19**

III. Activité antioxydante des bactéries lactiques

III.1. Stress oxydatif.....**23**

III.1.1. Définition et origine du stress oxydatif.....**23**

III.1.2. Effets du stress oxydatif sur la structure.....**23**

III.1.3. Effets du stress oxydatif sur la santé.....**24**

III.2. Radicaux libres.....**25**

III.3. Antioxydants.....**26**

III.3.1. Définition.....**26**

III.3.2. Les antioxydants enzymatiques (endogènes).....**27**

III.3.3. Les antioxydants non enzymatiques (exogène).....**27**

III.3.4. Effets des antioxydantes sur les aliments.....**28**

III.3.5. Effets des antioxydantes sur la santé.....**30**

III.4. Etude de l'activité antioxydant des LAB.....**31**

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Lieu et objectif……..……**33**

II.2. Matériel…….…**33**

II.2.1. Matériel biologique……**33**

II.2.2. Matériel non biologique…….…**34**

II.3. Méthodes…….…..**34**

II.3.1. Revivification des souches……..…**34**

II.3.2. Vérification da la pureté des souches lactiques…….**34**

II.3.2.1. Test de catalase……...……**34**

II.3.2.2. Analyse macroscopique……..**35**

II.3.2.3. Analyse microscopique……..….**35**

II.3.2.4. Conservation des souches……..…….**35**

II.3.3. Mise en évidence de l'activité antifongique……..**35**

II.3.4. Etude in vitro du pouvoir antioxydant……...**36**

II.3.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH…….……**36**

II.3.4.2. Test de FRAP……..**37**

Chapitre III. Résultats et Discussion

III.1. Résultats de validation de la pureté des souches de lactiques.....**38**

III.2. Résultats de l'activité antifongique.....**40**

III.3. Résultats du pouvoir antioxydant.....**44**

III.3.1. Piégeage du radical DPPH.....**44**

III.3.2. Test de FRAP.....**49**

Conclusion ……...**54**

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques (LAB) sont des micro-organismes cruciaux qui occupent une place essentielle dans les domaines agro-alimentaire et de la santé. Les LAB sont largement employées dans divers processus de fermentation alimentaire, représentant l'un des principes fondamentaux et les plus respectés de la préservation des aliments (Ayivi et *al.*, 2020). Elles sont largement présentes à travers la nature, se retrouvant dans divers environnements riches en nutriments comme les animaux, les denrées alimentaires, les aliments pour animaux, les humains, les plantes et le sol (Mora-Villalobos et *al.*, 2020). Les LAB sont de plus en plus étudiées pour leurs récentes découvertes métaboliques, notamment leur capacité à transformer les aliments et à offrir des propriétés probiotiques. Les LAB peuvent dégrader les polysaccharides complexes, ce qui non seulement améliore les saveurs mais produit également divers composés bénéfiques tels que des acides gras courts, des amines, des bactériocines, des vitamines et des exopolysaccharides. Ces activités métaboliques sont essentielles pour améliorer le goût des aliments, enrichir leur valeur nutritionnelle, réduire les substances nocives et prolonger leur durée de conservation. En tant que probiotiques, elles jouent un rôle crucial dans la promotion de la santé intestinale et générale(Wang et *al.*, 2021)**.**

Les champignons sont parmi les micro-organismes les plus préoccupants en termes de sécurité alimentaire, posant une menace à la qualité et à la santé des denrées alimentaires, des produits alimentaires et des aliments pour animaux(Nasrollahzadeh et *al.*, 2022). Ils peuvent se développer sur divers types d'aliments. Pour prolonger la durée de conservation des aliments, plusieurs méthodes sont utilisées, comme le traitement thermique, l'irradiation par rayons infrarouges ou micro-ondes, l'utilisation d'atmosphères modifiées lors de l'emballage, ou l'ajout de conservateurs chimiques tels que les acides sorbique, benzoïque et propionique. Cependant, certains champignons peuvent développer une résistance à certains conservateurs. De plus, les consommateurs demandent de plus en plus des produits de haute qualité sans résidus de pesticides chimiques et avec une durée de conservation étendue (Gerez et *al.*, 2013). Au cours des dernières décennies, des études approfondies ont démontré que les LAB sont capables de produire divers composés actifs comme des acides gras, des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, des peptides et de la reutérine. Ces propriétés font des LAB des candidats essentiels en tant que biopréservateurs pour remplacer les conservateurs chimiques antifongiques traditionnels dans la préservation des aliments contre la détérioration et les substances toxiques (Nasrollahzadeh et *al.*, 2022). Pendant la fermentation, les LAB

provoquent rapidement une acidification des matières premières. Cela génère des substances antifongiques qui inhibent la croissance des champignons(Liu et *al.*, 2022).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) se forment généralement lors des processus métaboliques normaux et sont des sous-produits inévitables pour les organismes aérobies. Des niveaux adéquats de ROS sont essentiels pour lutter contre les microbes envahisseurs dans le système immunitaire et pour réguler la communication entre les cellules. Cependant, une surproduction de ROS peut entraîner un stress oxydatif, endommageant les protéines, provoquant la peroxydation des lipides et des dommages à l'ADN (S. Kim et al., 2022). Le stress oxydatif est un phénomène causé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les défenses antioxydantes. Il joue un rôle important dans de nombreux états pathologiques, notamment les maladies rénales chroniques, les troubles neurologiques, les maladies cardiovasculaires, le diabète et le cancer(K.-T. Kim et *al.*, 2021). Les LAB sont largement utilisées dans les aliments fermentés et les boissons, ainsi que comme compléments alimentaires pour les humains et les animaux. Leur popularité est due à leurs nombreuses caractéristiques bénéfiques, souvent liées à leurs propriétés antioxydantes (Feng & Wang, 2020). La plupart des êtres vivants possèdent des systèmes enzymatiques et non enzymatiques qui éliminent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que des mécanismes de réparation pour maintenir l'équilibre face au stress oxydatif. Malgré ces défenses antioxydantes, un déséquilibre entre la production de ROS et les capacités antioxydantes peut entraîner des dommages aux cellules et aux tissus (K.-T. Kim et *al.*, 2021).

Cette étude vise à évaluer l'efficacité antifongique contre *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 et *Candida albicans* ATCC10231, ainsi que les propriétés antioxydantes *in vitro* de dix espèces lactiques isolées des différents dérivés laitiers artisanaux collectés dans cinq régions d'Algérie (Khenchela, Béchar, Naàma, Blida, Médéa) et identifiées génétiquement.

Ce travail est divisé en trois parties distinctes. La première section se concentre sur une revue de littérature détaillant les caractéristiques des LAB, leur potentiel antioxydant et leur activité antifongique. La deuxième partie expose la méthodologie adoptée, incluant les divers équipements et techniques utilisés. Enfin, la dernière partie présente et analyse les résultats obtenus, conduisant à une conclusion finale.

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Les bactéries lactiques

I.1. Historique

La fermentation lactique est la méthode la plus ancienne et la plus largement utilisée pour améliorer la sécurité et la valeur nutritionnelle des aliments. Elle est utilisée depuis les débuts de l'agriculture et de l'élevage pour préserver les céréales, le lait, le poisson et les produits carnés de la contamination bactérienne, prolonger leur durée de conservation et les enrichir avec des souches bactériennes probiotiques (Petrova et *al.*, 2022).

En 1857, par les travaux de Pasteur sur la fermentation, il est établis un lien entre la fermentation lactique et les bactérie. La première culture bactérienne pure fut la culture de *Lactococcus lactis* obtenue et décrite par Joseph Lister en 1873 cité par Penaud,(2006) (Abdelbasset, 2009).

En 1872, Ferdinand Cohn a créé le nom générique Bacillus pour désigner les bactéries en forme de bâtonnets qui se développent en filaments. Quatre ans plus tard, Cohn et Robert Koch ont détecté indépendamment que deux espèces du nouveau genre Bacillus étaient capables de former des stades de repos qui n'étaient pas facilement détruits par la simple ébullition. Ces corps résistants à la chaleur ont été appelés endospores (Fritze & Claus, 1995).

En 1904, Metchnikoff est isolé le « bacille bulgare » (*Lactobacillus delbrueckii spp .bulgaricus*) présent dans le yaourt. Il est étudié les propriétés acidifiantes des bactéries du yaourt et il est développé l'idée que les bactéries contenues dans les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé (Abdelbasset, 2009).

Ces bactéries ont été continuellement transmises de génération en génération à travers le processus de production d'aliments fermentés traditionnels, et certaines d'entre elles ont été exploitées pour être utilisées comme cultures starter dans la fabrication d'aliments fermentés modernes (Li et al., 2024).

I.2. Habitat

Les LAB sont largement répandues dans la nature, présentes sur les plantes, les insectes, dans le sol, l'eau et le lait. Elles sont principalement reconnues pour leur rôle crucial dans la production de plus de 3 500 variétés d'aliments fermentés, de boissons et d'ensilage utilisés dans l'alimentation animale. Par exemple, elles sont indispensables à la fabrication de produits

laitiers fermentés tels que le yaourt et le fromage, de produits à base de viande comme le salami, ainsi que de produits végétaux tels que le kimchi, la choucroute et les olives (Yu et al., 2020)

Les LAB se trouvent soit librement dans l'environnement, soit en association avec un hôte tel que l'homme ou l'animal, notamment dans des écosystèmes bactériens tels que le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères (Maya et *al.*, 2012).

Tableau 01: Différentes utilisation des bactéries lactiques en alimentation (Desmazeaud, 1996)

Aliments	**Espèces**
Produits laitiers :fromages, yaourts, laits fermentés, kéfirs	*Lactococcus lactis subsp. lactis et biovar diacetylactis* *Lc. Lactis subsp. cremoris* *Leuconostoc mesenteroides* *Leuconostoc. lactis* *Streptococcus thermophilus* *Enterococcus faecium* *Lactobacillus helveticus* *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus et subsp. lactis* *Lb. acidophilus* *Lb. casei* *Lb. kefir* *Lb. hilgardii* *Bifidobacterium bifibum* *Bf. longum*
Fermentation des végétaux: <<pickles>>, choucroute, <<miso>>, <<gari>>, olives	*Lactobacillus plantarum* *Lb. brevis* *Leuconostoc mesenteroides* *Pediococcus pentosaceus* *Pd. Damnosus*
Pains spéciaux aux levains	*Lactobacillus plantarum* *Lb. brevis* *Lb. fermentum* *Lb. sanfrancisco*

Fermentation des produits carnés	*Carnobacterium divergens* *Cb. piscicola* *Lactobacillus sake* *Lb. curvatus*
Fermentation des produits de la pêche	*Pediococcus halophilus* *Lactobacillus buchneri* *Lb. brevis* *Leuconostoc mesenteroides*
Boissons : vin, bière, cidre	*Leuconostoc oenos (Oenococcus oeni)* *Lactobacillus delbrueckii*

I.3. Classification des bactéries lactiques

La première classification des bactéries lactiques a été élaborée par Orla-Jensen en 1919. Cette classification repose sur des caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques. Des marqueurs chimiotaxonomiques, tels que la composition des acides gras et les constituants de la membrane cellulaire, ont également été utilisés dans ce processus de classification (BELYAGOUBI, 2014).

I.3.1. Classification classique

En se basant sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques, le mode de fermentation du glucose, la croissance à diverses températures, la production d'acide lactique, la capacité à se développer en présence de concentrations élevées de sel, ainsi que la tolérance aux environnements acides ou alcalins (Khalid, 2011)

Il a été élargi pour englober la structure de la paroi cellulaire, les acides gras cellulaires, les quinones isoprénoïdes et d'autres aspects cellulaires (Stiles & Holzapfel, 1997).

I.3.2. Classification moderne (moléculaire)

Les caractéristiques moléculaires sont désormais des éléments cruciaux pour la taxonomie, incluant la teneur en moles G + C de l'ADN, les propriétés électrophorétiques des produits géniques, les études d'hybridation ADN: ADN, ainsi que les structures et séquences d'ARN ribosomal (ARNr) (Stiles & Holzapfel, 1997). Elle a favorisé la classification de certaines espèces (notamment le regroupement des espèces proches de *Lactobacillus* pour former le

genre *Canobacterium*) tout en permettant la distinction d'autres (comme la séparation du genre *Streptococcus* pour former le *Streptococcus sensu stricto, le Lactococcus et l'Enterococcus*) (MERMOURI, 2018).

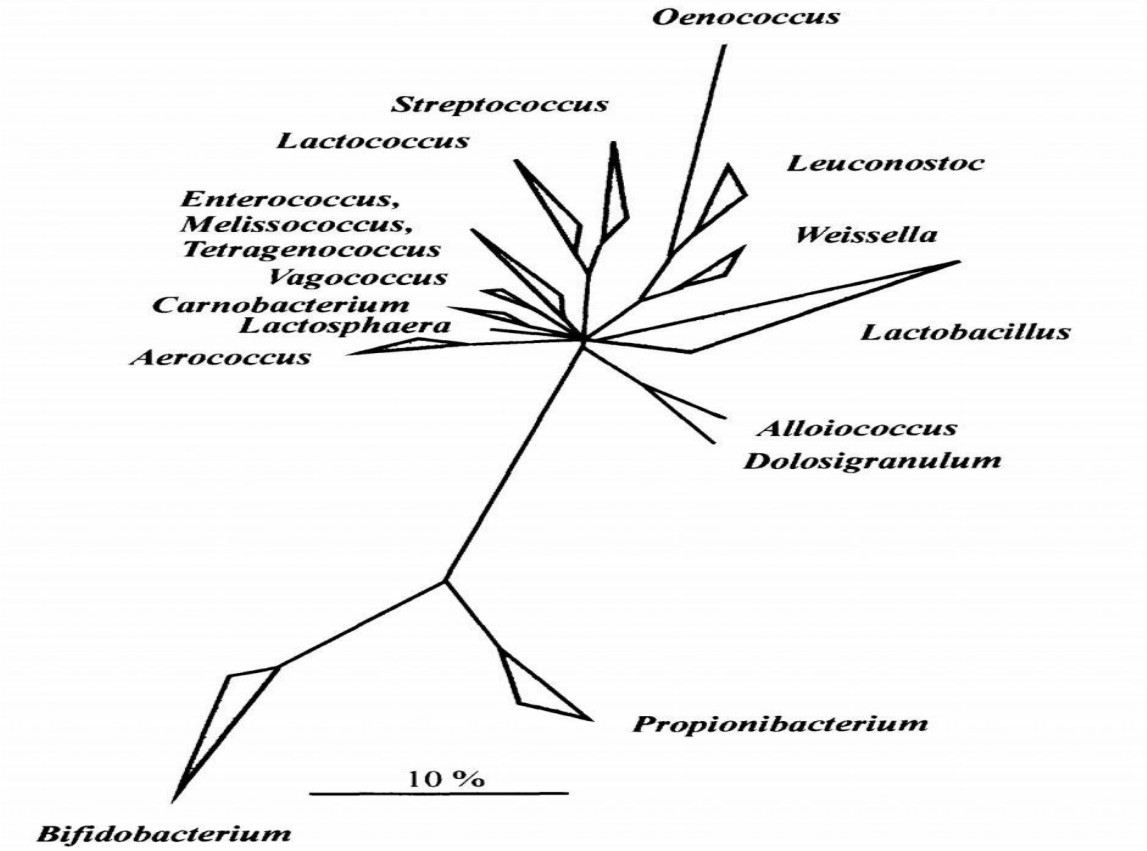


Figure 01 : Principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques et de bactéries gram-positives apparentées avec des mols G+C faibles (partie supérieure) et élevés (partie inférieure) dans l'ADN (Stiles & Holzapfel, 1997).

I.4. Caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif (Gram+), généralement immobiles, aéro-anaérobie facultatives, asporulées, catalase et oxydase négative, nitrate réductase négative, manquent de cytochromes, et la majorité de ces bactéries sont des bactéries généralement non pathogènes (Aguirre & Collins, 1993) (Caplice & Fitzgerald, 1999) . Elles forment un groupe hétérogène composé de cocci (forme sphériques) et de bacilles (forme de bâtonnets) (Muñoz et *al.*, 2011). .

Les bactéries lactiques sont généralement mésophiles et certaines sont psychrotolérantes ou thermotolérantes (se développer à des températures aussi basses que 5° ou aussi élevées que

45°). elles se développent majoritairement à pH 4,0-4,5 et certaines sont actives à pH=9,6 ou pH=3,2 (Caplice & Fitzgerald, 1999).

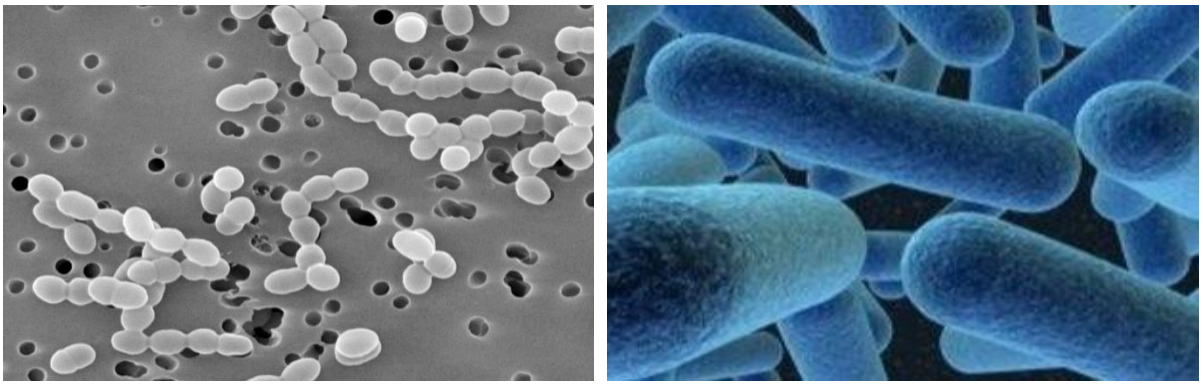


Figure 02 : Bactéries lactiques observé au microscope électronique à transmission (Maya et *al.*, 2012).

La fermentation, une méthode ancestrale de transformation des aliments, implique l'utilisation de micro-organismes tels que bactéries, moisissures et levures. Ces organismes se développent en utilisant une partie des aliments comme substrat, enrichissant celui-ci avec les produits de leur métabolisme. Les enzymes produites par ces micro-organismes, notamment les amylases, les protéases et les lipases, dégradent les polysaccharides, les protéines et les lipides, produisant des composés qui préservent les aliments et modifient ainsi leurs caractéristiques nutritionnelles, technologiques et sensorielles (Emkani et *al.*, 2022).

Les LAB ont été classés en homofermentaires obligatoires, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires obligatoires (Gänzle, 2015). Elles ont la capacité de générer de l'acide lactique par la fermentation des glucides, qui représentent leur principale source de carbone. Ce processus entraîne une acidification rapide du substrat en produisant divers composés organiques tels que l'acide lactique, l'acide acétique, l'éthanol, ainsi que des enzymes et des bactériocines. Notamment, l'acide lactique se distingue en tant que produit principal de cette réaction biochimique (Aguirre-Garcia et *al.*, 2024).

La fermentation de l'acide lactique est un processus simple, économique et écologique qui présente de nombreux avantages. En premier lieu, elle favorise la production d'acides organiques, d'éthanol et de composés antimicrobiens, ce qui améliore la sécurité alimentaire et prolonge la durée de conservation des aliments. Deuxièmement, elle augmente la valeur nutritionnelle des produits alimentaires, les rendant ainsi plus sains et plus bénéfiques pour la santé. Enfin, elle préserve les qualités sensorielles des aliments, garantissant ainsi que leur

texture, leur apparence et leur goût restent inchangés (Z. Liu et *al.*, 2023). Il existe deux voies principales de fermentation lactique :

➢ Voie homofermentaire (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas)

Les bactéries lactiques homofermentaires, comme les *Lactobacillus* des groupes I et II, les entérocoques, les lactocoques, les pédiocoques, les streptocoques, les tétragénocoques et les vagocoques, utilisent la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas, également appelée glycolyse, pour fermenter l'hexose. Cette voie commence par la formation de fructose 1,6-diphosphate (FDP), qui est ensuite scindé par une aldolase FDP en dihydroxyacétone-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate. La fermentation d'une mole de glucose conduit à la formation de 2 moles d'acide lactique et de 2 moles d'ATP (Martínez-Miranda et *al.*, 2022).

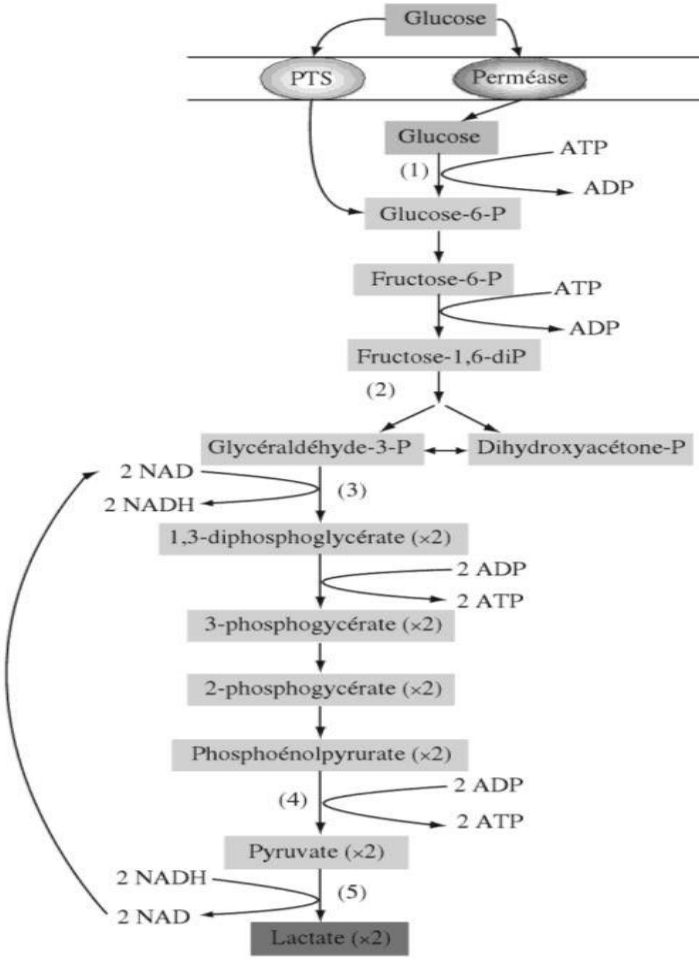


Figure 03 : Schéma de la voies homolactique chez les bactéries lactiques (Hervé et *al.*, 2008). (1) hexokinase ; (2) fructose-1,6-diphosphate aldolase ; (3) glycéraldéhyde-3-phospho-déshydrogénase ; (4) pyruvate kinase ; (5) lactate déshydrogénase.

➢ voie hétérofermentaire (voie de la phosphocétolase)

Les bactéries hétérofermentaires se caractérisent par leur capacité à dégrader à la fois les hexoses et les pentoses. Pour les pentoses, elles utilisent la voie du pentose phosphate, nécessitant des enzymes spécifiques comme la ribose-5P épimérase et la phosphocétolase. Ce processus génère du lactate, du dioxyde de carbone, de l'éthanol ou de l'acétate comme produits de fermentation. Parmi les bactéries hétérofermentaires obligatoires, on retrouve notamment *Limosilactobacillus fermentum*, *Lentilactobacillus buchneri, Lentilactobacillus parabuchneri et Levilactobacillus brevis,* qui sont les plus représentatives des LAB (Aguirre-Garcia et al., 2024).

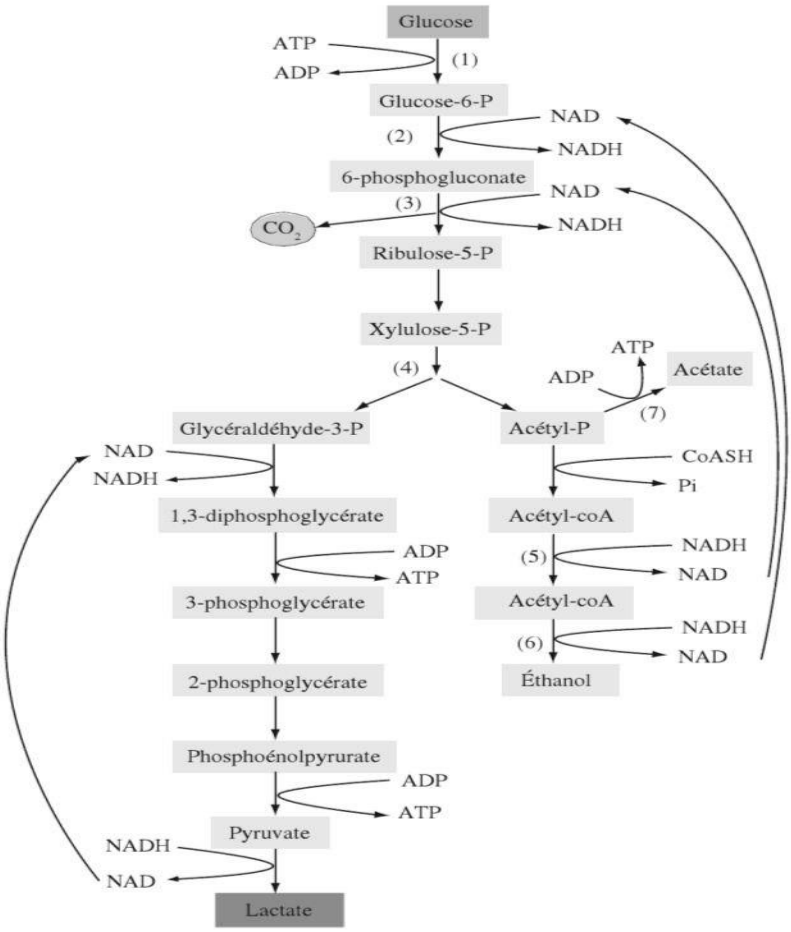


Figure 04 : Schéma de la voie hétérofermentaire chez les bactéries lactiques (Hervé et *al.*, 2008). (1) hexokinase ; (2) glucose-6-phosphate déshydrogénase ; (3) 6-phosphogluconate déshydrogénase ; (4) phosphocétolase ; (5) et (6) acétaldéhyde/éthanol déshydrogénase ; (7) acétate kinase.

I.4.1 Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

I.4.1.1. Genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* comprend un groupe phénotypiquement hétérogène d'organismes anaérobies facultatifs, catalase-négatifs, non sporulés, Gram-positifs, en forme de bâtonnets qui produisent de l'acide lactique comme produit final majeur du métabolisme. Les espèces de *Lactobacillus* possèdent généralement un ADN avec une faible teneur en G+C (environ 33 à 53 % en moles) et actuellement plus de 50 espèces sont reconnues (Falsen et *al.*, 1999). Elle se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. La division classique des lactobacilles était en fonction de leurs caractéristiques fermentaires : (Stiles & Holzapfel, 1997)

- obligatoirement homofermentaires
- facultativement hétérofermentaire
- obligatoirement hétérofermentaire.

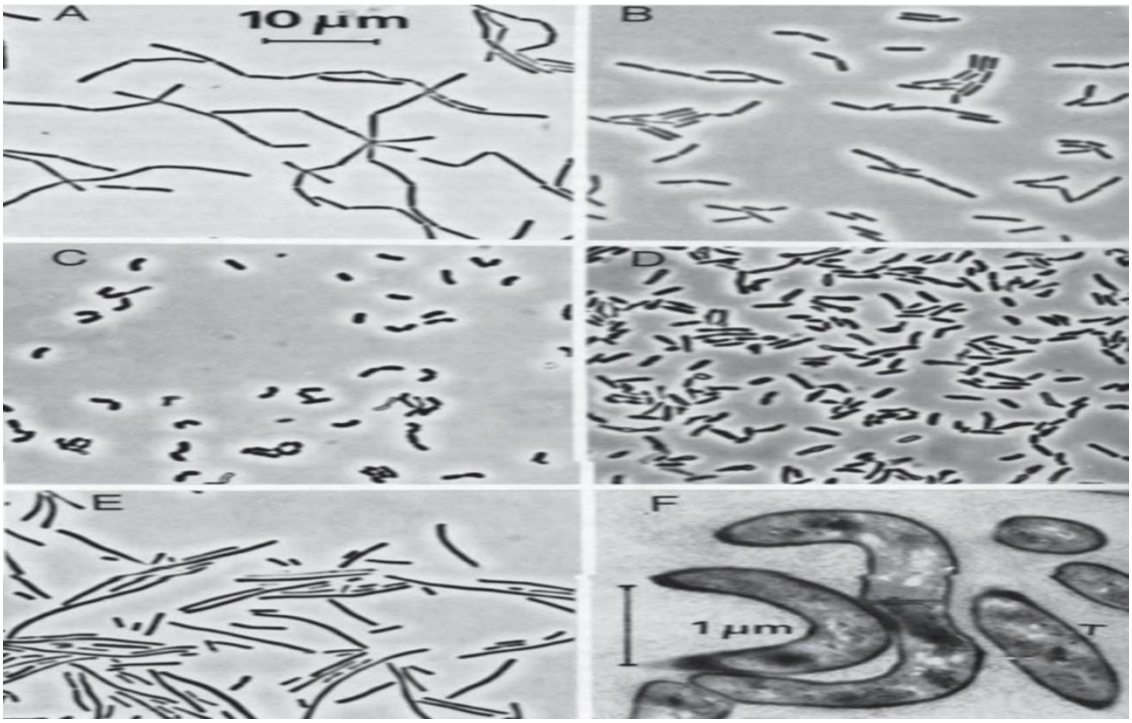


Figure 05 : Micrographies à contraste de phase (A-E) et électroniques (F) montrant différentes morphologies cellulaires de lactobacilles : A*, Lactobacillus gasseri* ; B, *Lactobacillus agilis* ; C, *Lactobacillus curvartus* ; D, *Lactobacillus minor* ; E, *Lactobacillus fermentum* ; et F, forme d'involution des lactobacilles dans une section mince d'un grain de kéfir (Vos et *al.*, 2011).

Tableau 02 : Principales divisions au sein du genre *Lactobacillus* basées sur les caractéristiques phénotypiques (Stiles & Holzapfel, 1997).

Groupe 1	**Groupe 2**	**Groupe 3**
Homofermentaires obligatoires	Hétérofermentaires facultatifs	Hétérofermentaires obligatoires
Lb. acidophilus	*Lb. acetotolerans*	*Lb. brevis*
Lb. amylophilus	*Lb. agilis*	*Lb. buchneri*
Lb. amylovorus	*Lb.alimentarius*	*Lb. collinoides*
Lb. aviarius	*Lb. bifermentans*	*Lb. fermentum*
subsp. araffinosus	*Lb. casei*	*Lb. fructivorans*
subsp. aviarius	*Lb. coryniformis*	*Lb. fructosus*
Lb. crispatus	*Subsp. coryniformis*	*Lb. hilgardii*
Lb. delbrueckii	*Subsp. torquens*	*Lb. kéfir*
subsp. bulgaricus	*Lb. curvatus*	*Lb. malfermentans*
subsp. delbrueckii	*Lb. graminis*	*Lb. oris*
subsp. lactis	*Lb. hamestri*	*Lb. panis*
Lb. farciminis	*Lb . homohiochii*	*Lb. parabuchneri*
Lb. gallinarum	*Lb. Intestinalis*	*Lb. parakefir*
Lb. gasseri	*Lb. murinus*	*Lb. pontis*
Lb. helveticus	*Lb. paracasei*	*Lb. reuteri*
Lb. jensenii	*Subsp. Paracasei*	*Lb. sanfrancisco*
Lb. johnsonii	*Subsp. tolerans*	*Lb. suebicus*
Lb. kefiranofaciens	*Lb. paraplantarum*	*Lb. vaccinostercus*
Lb. kefirgranum	*Lb. pentosus*	*Lb. vaginalis*
Lb. mali	*Lb. plantarum*	
Lb. ruminis	*Lb. rhamnosus*	
Lb. salivarius subsp. salivarius	*Lb. sake*	
Lb. sharpeae		

I.4.1.2. Genres *Lactococcus*

Les lactocoques se présentent en diplocoques ou chaînettes de cocci, non mobiles, à Gram positif, anaérobies mais aérotolérants, catalase négatifs, et une température optimale entre 20 et 30 °C.

Elles a six espèces (*L. garveiae, L. lactis, L. piscium, L. plantarum, L. raffinolactis, L.xyloses*), trois sous-espèces (*L. lactis lactis, L. lactis cremoris, L. lactis hordniae*) et un biovar *(L. lactis lactis diacetyactis*) ont été identifiées à ce jour. Phénotypiquement similaires, la différenciation entre ces bactéries est d'abord faite sur des critères biochimiques, et notamment, par l'étude de l'utilisation des hydrates de carbone qui permet la distinction entre bactéries homo- et hétérofermentaires (Mofredj et *al.*, 2007).



Figure 06 : Micrographie électronique à balayage de *Lactococcus lactis subsp. lactis Bu2* (Vos et *al.*, 2011).

I.4.1.5. Genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* est composé de bactéries Gram positives, facultativement anaérobies, de forme ovoïde. Elles peuvent apparaître sur les frottis sous forme de chaînes courtes, de paires ou de cellules uniques. Comme les streptocoques, ces organismes ne possèdent pas d'enzymes cytochromes et sont donc catalase négatives, bien que certaines souches produisent de la pseudocatalase. Ils peuvent croître dans des conditions extrêmes, comme à 6,5 % de NaCl et à un pH de 9,6, à des températures jusqu'à 45 °C et même survivre à 60 °C pendant 30 minutes (Murray, 1990).

I.5. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire

Les LAB forment un vaste groupe de bactéries étroitement liées qui partagent des caractéristiques communes, notamment la capacité à produire de l'acide lactique par fermentation. Cette méthode de fermentation est largement utilisée dans la préparation des aliments. L'utilisation des LAB dans la fermentation alimentaire vise principalement à améliorer le goût des aliments, à augmenter leur valeur nutritionnelle en favorisant la disponibilité des protéines et des vitamines, tout en offrant des avantages en termes de conservation et de détoxification (Chelule et *al.*, 2010). De plus, ils contribuent à la saveur, et à la texture des aliments fermentés, et sont donc utilisés comme cultures d'appoint. La décomposition des protéines et des lipides ainsi que la formation de différents alcools, aldéhydes, acides, esters et composés soufrés jouent un rôle essentiel dans la création des arômes distinctifs présents dans divers produits alimentaires lors de la fermentation (Bintsis, 2018).

Les propriétés nutritionnelles distinctes des bactéries lactiques, associées à des caractéristiques adaptatives d'adhésion améliorées, permettent aux bactéries de se développer facilement dans différents environnements, tels que les aliments à base de produits laitiers, les aliments fermentés, les légumes, etc. La recherche sur les LAB a confirmé que des souches spécifiques possèdent des propriétés probiotiques et confèrent des caractéristiques sensorielles uniques aux produits alimentaires (Ayivi et *al.*, 2020).

I.6. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine médicale

L'intégration des LAB dans de nombreux produits alimentaires offre plusieurs avantages pour la santé humaine lorsqu'elles sont consommées régulièrement en quantités appropriées. L'émergence des aliments fonctionnels et le concept de nutraceutique soulignent l'importance de rechercher des alternatives pour réduire l'usage de médicaments, encourageant ainsi la consommation fréquente d'aliments fermentés (Ayivi et *al.*, 2020).

Les processus de fermentation impliquant des LAB génèrent fréquemment des sous-produits qui possèdent une activité biologique et offrent divers avantages pour la santé. Ces avantages incluent la protection contre les agents pathogènes, la modulation du système immunitaire, la réduction des réactions allergiques, la lutte contre l'obésité, l'action antioxydante, l'amélioration de l'absorption des vitamines et minéraux, ainsi que la réduction de l'anxiété (Mathur et *al.*, 2020).

Les souches laitières probiotiques traditionnelles de LAB ont une longue histoire d'utilisation sûre. Le probiotique *L. acidophilus* contribue à prévenir la croissance des bactéries nocives tout en préservant l'équilibre des bactéries bénéfiques. *Lactobacillus spp. et Bifidobacterium spp* sont associés à la réduction de l'intolérance au lactose, à l'atténuation de certains cas de diarrhée, à la baisse du taux de cholestérol dans le sang, à la stimulation des réponses immunitaires et à la prévention du cancer (Soomro et *al.*, 2002), ces souches préviennent les maladies infectieuses, guérissent le syndrome du côlon irritable et atténuent les allergies (Dicks & Botes, 2010).

.

.

II. Activité antifongique des bactéries lactiques

II.1. Moisissures

II.1.1. Généralités

Les moisissures sont des champignons qui se développent sous la forme de filaments multicellulaires appelés hyphes et que l'on trouve dans différents environnements : l'air, le sol, les plantes, les animaux et les hôtes humains. Elles sont présentes à l'intérieur et à l'extérieur et se développent dans des endroits très humides (Kraft et *al.*, 2021)**.**

Les moisissures sont capables de se développer dans une large gamme de valeurs d'activité de l'eau (aw), de pH et de températures en utilisant un grand nombre de substrats tels que les hydrates de carbone, les acides organiques, les protéines et les lipides. Par conséquent, Elles sont capables de se développer sur des produits acides tels que les fruits ou les jus de fruits et sur des aliments présentant des niveaux d'humidité intermédiaires tels que le pain et les produits de boulangerie, où d'autres micro-organismes tels que les bactéries ne peuvent pas se développer. Les moisissures peuvent également se développer dans les céréales, les boissons, les produits laitiers et les produits fermentés et sont donc associées à la détérioration d'un large éventail d'aliments (Dagnas & Membré, 2013).

II.1.2. Genre *Aspergillus*

Aspergillus est un champignon filamenteux omniprésent, que l'on trouve dans le monde entier dans le sol, l'eau, les aliments et l'air. Ce genre désigne un champignon ascomycète asexué qui produit des chaînes ou des colonnes de spores rayonnant à partir de structures centrales (Janssens et *al.*, 2024).

Le genre *Aspergillus* comprend 837 espèces, dont certaines sont parmi les champignons les plus communs au monde, se développant sur des matières organiques mortes. Ils peuvent être endophytes ou pathogènes pour les plantes, les animaux et les humains. Certains, comme *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*, sont présents sur divers produits alimentaires, provoquant leur détérioration et la formation de mycotoxines. Le changement climatique pourrait augmenter cette production de mycotoxines. D'autres espèces, telles *qu'Aspergillus oryzae* et *Aspergillus sojae*, sont utilisées dans la fermentation, tandis que des espèces comme *A. niger* et *A. oryzae* sont utilisées comme usines cellulaires pour produire des enzymes et des petites molécules utilisées dans l'industrie alimentaire (Ijadpanahsaravi & Wösten, 2024).

II.2. Levures

II.2.1. Généralités

Les levures sont des micro-organismes unicellulaires appartenant au phylum des champignons (dénomination internationale: Fungi). On sait à présent que leur origine est clairement polyphylétique puisqu'elles se classent dans les deux phyla majeurs des Fungi que sont les Ascomycota (ex: *Schizosaccharomyces pombe, Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans*) et les Basidiomycota (ex: *Cryptococcus neoformans, Rhodotorula glutinis*) (Defosse et *al.*, 2018). Elles sont des organismes particulièrement propices à l'étude des aspects de la biologie moléculaire et cellulaire qui distinguent les cellules eucaryotes des cellules procaryotes (Hartwell, 1970).

Les levures, en tant que micro-organismes vivants eucaryotes, ne sont pas très exigeantes en termes de conditions de vie, elles sont donc considérées comme largement répandues dans l'environnement naturel. Le nombre de levures découvertes augmente chaque année, jusqu'à présent, seules 1500 espèces sont connues (Jach et *al.*, 2022).

II.2.2. Genre *Candida*

Le genre *Candida* est une sorte de fosse taxonomique dans laquelle ont été jetées les levures qui n'ont pas de stade sexuel connu et ne possèdent pas d'autres caractères phénotypiques remarquables. Ses membres sont biologiquement très diversifiés et comprennent des levures d'affinités ascomycètes et basidiomycètes ; il y a actuellement entre 150 et 200 espèces reconnues dans le genre (Odds, 1987)

Les espèces de *Candida* sont responsables de la majorité des infections humaines causées par des pathogènes fongiques. Les membres de ces espèces comprennent la cause la plus fréquente d'infections opportunistes, *Candida albicans*, *Candida glabrata* résistant aux médicaments, la nouvelle menace mondiale pour la santé publique *Candida auris*, et d'autres espèces émergentes telles que *Candida tropicalis, Candida parapsilosis* et *Candida krusei* (Lopes & Lionakis, 2022).

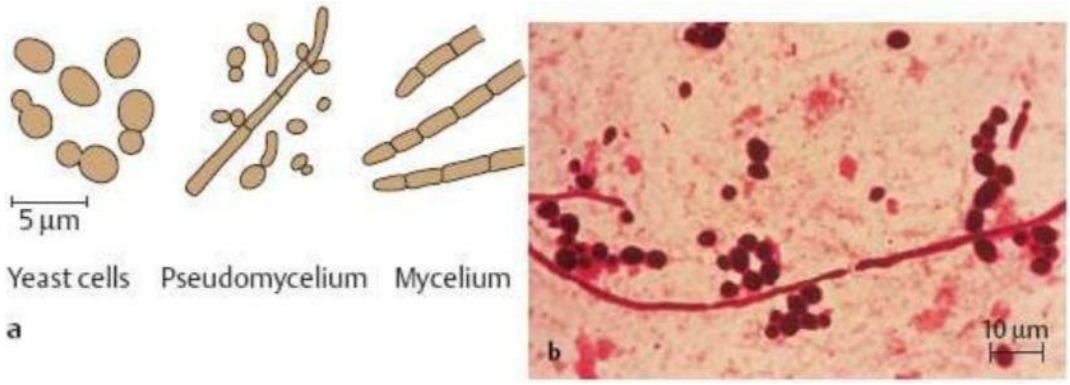


Figure 07 : *Candida albicans.* (a) Formes morphologiques. (b) Coloration de Gram des expectorations : cellules de levure et hyphes Gram-positifs. Diagnostic clinique : candidose des voies respiratoires (Simatupang, 2009).

II.3. Etude de l'activité antifongique des LAB

Les infections fongiques sont causées par des organismes eucaryotes, et il est donc plus difficile de déterminer leur présence et d'appliquer le traitement thérapeutique approprié que dans le cas des infections bactériennes. Les traitements chimiques sont largement efficaces, mais des souches résistantes et des espèces intrinsèquement résistantes peuvent se développer (Nazzaro et *al.*, 2017).

Les bactéries lactiques sont utilisées comme biopréservateurs dans les systèmes d'alimentation humaine et animale. La capacité à produire de nombreuses substances antibactériennes et antifongiques confère aux bactéries lactiques un potentiel de biopréservation. Nombre d'entre elles ont un statut "généralement considéré comme sûr" et sont considérées comme sûres tant du point de vue humain que du point de vue environnemental. Ces bactéries produisent des substances antifongiques, telles que des dipeptides cycliques, des composés protéiques, des acides organiques, des acides gras et de la reutérine (Gajbhiye & Kapadnis, 2016).

II.3.1. Souches des LAB à caractère antifongique

El-Gendy et Marth (1981) ont observé que *Lactobacillus casei* avait un effet inhibiteur sur la croissance et la production d'aflatoxines *d'Aspergillus parasiticus*. Des études initiales ont révélé que *Lactobacillus plantarum* produisait des composés antifongiques comme l'acide phényllactique et l'acide 4-hydrophényllactique. De plus, *L. pentosus* et *L. coryniformis* ont été identifiés comme producteurs de substances de type bactériocine et d'autres composés de faible masse moléculaire (J.-D. Kim, 2005).

Lactoperoxydase et thiocyanate sont présents dans le lait, et lorsque certains LAB sont cultivés dans le lait ou les produits laitiers, le troisième composant nécessaire, le peroxyde d'hydrogène, est ajouté. Fitzsimmons et Berry (1994) ont rapporté l'effet inhibiteur de ce système contre la levure Candida albicans (Schnürer & Magnusson, 2005).

Dans le fromage, *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 a été utilisé comme culture d'appoint dans un système modèle de fromage cheddar contaminé par des spores de *Penicillium expansum*. La présence de la souche a entraîné un retard de quatre jours dans la croissance de *Penicillium* sur le fromage cheddar par rapport au contrôle. *Lactobacillus rhamnosus* A238 s'est également avéré, seul ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis*, inhiber la croissance des moisissures sur le fromage blanc pendant au moins 21 jours à 6 °C. Dans une autre étude, 12 isolats de *L. plantarum* sélectionnés ont été inoculés dans du fromage cottage attaqué par *Penicillium commune*. Tous les isolats ont empêché la croissance évidente de *P. commune* sur le fromage blanc pendant 14 à plus de 25 jours de plus que le contrôle. *Lactobacillus brevis* et *Enterococcus faecium* isolés du "chal", un produit à base de yaourt, ont réduit la croissance de *Rhodotorula glutinis* dans le doogh, un yaourt dilué, pendant 15 jours de stockage (Nasrollahzadeh et *al.*, 2022).

L'étude de Coton et al a évalué la capacité de souches sélectionnées de bactéries *Leuconostoc, Lactobacillus* et *Propionibacterium* à inhiber la croissance des levures. Il a été démontré que le genre *Lactobacillus* se caractérisait par une activité antimicrobienne plus élevée que celle de *Lactococcus* à l'égard des souches sélectionnées. Selon l'étude de Yepez et *al*, *Lactiplantibacillus plantarum* M5MA1 (*Lactobacillus plantarum* M5MA1) s'est avéré être la souche la plus efficace, présentant des effets antagonistes contre notamment *Meyerozyma guilliermondii*. Cette souche a été décrite comme un candidat potentiel constituant une alternative aux conservateurs chimiques. Les bactériocines jouent également un rôle important dans l'inhibition du développement des levures pathogènes. L'acidophiline, produite par la souche *Lactobacillus bulgaricus*, qui a un impact efficace sur *Candida albicans*, en est un exemple (Zapaśnik et *al.*, 2022).

Selon Mäyrä-Mäkinen et *al.* (1994), Mäyrä-Mäkinen et Suomalainen (1995), et Suomalainen et Mäyra-Mäkinen (1999), *L. casei ssp. rhamnosus* DSM 7061 a montré un effet inhibiteur contre *Fusarium spp.* dans les produits laitiers fermentés. Ces études ont été confirmées par les recherches de Miescher Schwenninger et Meile (2003, 2004, 2005, 2011) qui se sont concentrées sur l'activité antifongique de *L. paracasei spp. paracasei* DSM 14514, DSM

14515, et DSM 14516 contre des champignons tels que *Candida pulcherrima, C. magnoliae, C. parapsilosi*, et *Zygosaccharomyces bailii* dans le yaourt et le fromage (Pawlowska et *al.*, 2012).

II.3.2. Substances antifongiques sécrétées par les LAB

LAB sont connues pour produire un certain nombre de composés antimicrobiens et sont importantes dans la biopréservation des denrées alimentaires et des aliments pour animaux. Leur effet conservateur dû à la réduction du pH est principalement lié à la production d'acides organiques, à savoir l'acide lactique et l'acide acétique, à la compétition pour les nutriments et à la production de bactériocines, mais d'autres composés tels que le peroxyde d'hydrogène, l'acide formique, l'acide propionique, l'acétoïne et le diacétyle sont également produits (Lowe & Arendt, 2004).

II.3.2.1. Acides organiques

La production d'acides organiques est censée déterminer les propriétés d'inhibition des champignons mycotoxigènes d'une souche LAB ; le type et la quantité d'acides diffèrent d'une souche à l'autre. Ces acides sont principalement produits par les LAB en tant que sous-produits du processus d'acidification plutôt qu'en tant que synthèse active de composés métaboliques visant à restreindre les champignons (Nasrollahzadeh et al., 2022). Parmi les principaux acides organiques produits par les LAB, on trouve l'acide lactique, l'acide propionique, l'acide acétique, l'acide hydroxyphényllactique, l'acide succinique, l'acide 3-phénylacétique, etc (Krishnan et *al.*, 2024).

II.3.2.1.1. Acide lactique (CH3-CH(OH)-COOH)

L'acide lactique et sa production par les bactéries lactiques ont une longue histoire dans l'industrie alimentaire, et les procédés microbiens de production d'acide lactique ont été établis au début du siècle dernier. L'acide lactique est présent dans de nombreux aliments, à la fois naturellement et en tant que produit de la fermentation microbienne in situ. Il est utilisé comme acidulant, aromatisant, agent de tamponnement du pH et inhibiteur de l'altération bactérienne dans un grand nombre de produits alimentaires. Environ 90 % de la littérature sur la production d'acide lactique se concentre sur la fermentation bactérienne. Les bactéries appartiennent aux espèces *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc et Enterococcus* (Reis et *al.*, 2012).

II.3.2.2. Composés protéiques

L'activité antifongique de certaines cultures bioprotectrices diminue avec l'ajout d'enzymes protéolytiques telles que la trypsine, ce qui indique que des composés protéiques sont impliqués dans l'activité antifongique. Les composés protéiques produits par LAB sont des peptides ribosomiques tels que les bactériocines, des peptides non ribosomiques et des peptides dérivés de l'hydrolyse enzymatique des protéines. La bactériocine a montré une activité antifongique contre la croissance des champignons toxigènes, *Aspergillus parasiticus* (*A. parasiticus*) ITEM11, *Aspergillus carbonarius* ITEM 5010, et sa mycotoxine excrétée. Néanmoins, des études ont rapporté que *Lactococcus, Streptococcus, Lactobacilli* et *Pediococcus* étaient capables de produire des composés protéiques antifongiques pour inhiber la croissance d'un large spectre de champignons associés aux aliments. Parmi ces genres, les *Lactobacillus* sont les isolats les plus fréquemment associés à ces composés protéiques antifongiques (Shi & Maktabdar, 2022).

II.3.2.4. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H2O2) est une espèce réactive de l'oxygène qui est également générée par les bactéries en présence d'oxygène. Le peroxyde d'hydrogène a un puissant effet oxydant sur les cellules microbiennes, causant des dommages irréparables aux structures moléculaires fondamentales des protéines impliquées dans le métabolisme cellulaire. Le H2O2, une fois généré, peut inhiber le développement des micro-organismes psychotropes et pathogènes. Des recherches plus récentes suggèrent toutefois que l'activité antimicrobienne du H2O2 est probablement limitée, car les bactéries n'en créent qu'une petite quantité, et que ses effets sont largement associés à d'autres substances antifongiques (Jaffar et *al.*, 2023).

II.3.2.5. Reutérine

La reutérine est un agent antimicrobien non protéique à large spectre sécrété par Limosilactobacillus reuteri, qui contrôle la croissance des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ainsi que des champignons. Il est soluble dans l'eau, résistant à la chaleur et très stable. Le mécanisme d'inhibition des champignons par la reutérine pourrait être le stress oxydatif induit par la modification des groupes thiol dans les protéines et les petites molécules. La croissance des spores de *Fusarium culmorum, Aspergillus niger* et *Penicillium expansum* a été inhibée par la reutérine produite par *Limosilactobacillus reuteri* R29, le surnageant

acellulaire contenant la plus forte concentration de reutérine a complètement empêché la croissance des trois spores fongiques (A. Liu et *al.*, 2022).

II.3.2.6. Acide gras

Les acides gras sont une classe d'acides organiques caractérisés par la présence d'un groupe carboxyle (-COOH) à une extrémité et d'une chaîne méthyle (CH3) à l'autre (Shi & Maktabdar, 2022). Ces acides perturbent la membrane fongique et la structure ultra structurale de la cellule, ce qui inhibe la croissance de *C. albicans*. Plus précisément, ils provoquent une division des bicouches lipidiques des membranes cellulaires, entraînant une perte d'intégrité et une augmentation de la fluidité et de la perméabilité. Cela conduit à une libération incontrôlée d'électrolytes et de protéines intracellulaires, tout en inhibant la production d'ergostérol - un composant essentiel des membranes cellulaires fongiques -, affectant ainsi l'intégrité de la membrane cellulaire. En outre, ils compromettent la structure des membranes cellulaires en raison de leurs propriétés détergentes (Vazquez-Munoz & Dongari-Bagtzoglou, 2021).

Tableau 03 : LAB sélectionnés pour leurs métabolites antifongiques, et leur spectre d'activité fongique (Nasrollahzadeh et *al.*, 2022).

LAB isolate	**Antifungal compound**	**Activity spectrum**
L. pentosus G004 *L. fermentum* Te007 *L. paracasi* D5 *Pediococcus pentosaceus* Te010	Protein-like compounds	*A. niger* and *A. oryzae*
L. amylovorus DSM 19280	Acetic acid Lactic acid Hydrocinnamic acid Azelaic acid 4-Hydroxybenzoic acid	*P. expansum*
L. plantarum LR/14	Antimicrobial peptides AMPs LR14	*A. niger , Rhizopus stolonifera, M. racemosus and P. chrysogenum*
L. plantarum	Phenolic acids Organic acids	*F. culmorum* *P. expansum MUCL2919240*

L. fermentum, L. plantarum	Phenyllactic acid Organic acids	*A. flavus, Penicillium citrinum, Penicillium griseufulvum, A. niger* and *fumigatus*
L .reuteri	Reuterin	*P. chrysogenum* and *M. racemosus*
L. pentosus, L. plantarum, L. brevis, Lactobacillus delbrueckii, L. fermentum, Lactococcus lactis and Lc. Mesenteroides	Hydrogen sulphide and lactic acid	*Penicillium oxalicum, Fusarium verticillioides* and *A. niger*
Lactobaciullus strains	Organic acids	*P. chrysogenum* and *A. favus*
L. plantarum CECT 749	Gallic, chlorogenic, caffeic and syringic acids	*Fusarium spp. Penicillium spp.* And *Aspergillus spp.*
Number of LAB strains isolated from kimchi	Lactic acid and acetic acid	*Cladosporium sp.* YS1, *Neurospora sp.* YS3, and *P. crustosum* YS2
Leuconostoc spp. L. reuteri and *L. buchneri*	Organic acid such as lactic acid, acetic acid and propionic acid	*Aspergillus, Eurotium, Penicillium, Cladosporium* and *Wallemia spp.*
L. plantarum CH1, *L. paracasei* B20 and *Lc. mesenteroides* L1	Lactic acid and acetic acid	*M. racemosus, Penicillium commune, Yarrowia lipolytica, A. tubingensis, A. flavus* and *Paecilomyces*

III. Activités antioxydant des bactéries lactiques

III.1. Stress oxydatif

Dans la vie aérobie, les composés organiques tels que l'ADN, les protéines, les glucides et les lipides sont susceptibles de subir des dommages structurels en raison de réactions oxydatives, un phénomène courant. Ces réactions oxydatives, causées par les espèces réactives de l'oxygène, sont désignées sous le terme de "stress oxydatif". Pour contrer ces dommages, les systèmes biologiques sont dotés de puissants mécanismes antioxydants, qu'ils soient enzymatiques ou non enzymatiques (Sies, 1986).

III.1.1. Définition et origine du Stress oxydatif

Au cours des trois dernières décennies, le stress oxydatif a connu une croissance exponentielle en tant que concept clé en biologie redox et en médecine (Sies, 2018). Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et le réseau d'antioxydants, en faveur des premières (Preiser, 2012) (état dans lequel l'oxydation dépasse les systèmes antioxydants de l'organisme suite à une perte d'équilibre entre eux) (Yoshikawa & Naito, 2002).

La perturbation de l'équilibre peut être causée par un manque de nutriments ou par une insuffisance en un ou plusieurs antioxydants essentiels fournis par l'alimentation, tels que les vitamines ou les oligo-éléments. L'incapacité à s'adapter correctement peut résulter de mutations génétiques qui altèrent la fonction des protéines, qu'elles soient des enzymes antioxydantes, des synthétiseurs d'antioxydants (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), des régénérateurs d'antioxydants, des participants à la défense énergétique (comme la G6PD), ou des régulateurs des gènes, rendant ainsi ces mécanismes incapables de réagir à un excès de radicaux libres (Favier, 2003).

III.1.2. Effets du stress oxydatif sur la structure

Un excès de radicaux libres et d'oxydants entraîne un phénomène appelé stress oxydatif. Ce processus nocif peut avoir des répercussions négatives sur diverses structures cellulaires, notamment les membranes, les lipides, les protéines, les lipoprotéines et l'ADN (Pizzino et *al.*, 2017).

L'action des espèces réactives de l'oxygène sur les lipides peut causer des dommages aux composants cellulaires, notamment aux membranes phospholipidiques, pouvant conduire à la mort prématurée des cellules (Kandola et *al.*, 2015).Un excès de radical hydroxyle et de peroxynitrite peut causer une oxydation des lipides, endommageant les membranes cellulaires et les lipoprotéines. Cela conduit à la production de malondialdéhyde (MDA) et de composés diéniques conjugués, qui sont toxiques et mutagènes. Cette oxydation, une réaction en chaîne, affecte rapidement de nombreuses molécules lipidiques. De plus, les protéines peuvent être altérées par le stress oxydatif, entraînant une perte ou une altération de leur activité enzymatique (Pizzino et *al.*, 2017).

L'action sur les acides nucléiques, qu'ils se trouvent dans la mitochondrie (ADN mt) ou dans le noyau (ADNn), peut conduire à des mutations susceptibles de causer des cassures de brins d'ADN (Kandola et *al.*, 2015).Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) provoquent des dommages à l'ADN en oxydant la 2'-déoxy-guanosine en 8-hydroxy-2'désoxyguanosine, ce qui est utilisé comme indicateur du stress oxydatif et des lésions de l'ADN. La myricétine, présente dans le thé et les baies, peut causer des dommages à l'ADN en présence de H2O2 et de Cu(I), probablement par la formation de Cu(I)-hydroperoxyde. Certains médicaments anticancéreux, comme la diosgénine, favorisent les lésions de l'ADN dans les cellules cancéreuses via les ROS. Le traitement combiné de diosgénine et de cisplatine entraîne une augmentation des lésions de l'ADN, des ROS et une diminution des enzymes antioxydantes, conduisant à l'apoptose des cellules tumorales (Reddy, 2023).

Lorsqu'il y a une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou un déficit des mécanismes de défense, cela déclenche un stress qui entraîne une oxydation non spécifique et irréversible des molécules biologiques. Cette oxydation conduit à une altération de leur fonction. Les ERO peuvent attaquer ou modifier de nombreuses molécules, en particulier les acides aminés et les protéines, qui sont les cibles principales (Migdal & Serres, 2011).

III.1.3. Effets du stress oxydatif sur la santé

Un surplus de ROS peut entraîner des dommages aux lipides, aux protéines ou à l'ADN des cellules, compromettant ainsi leur fonctionnement habituel. Ce stress oxydatif est associé à l'apparition de diverses maladies chroniques et dégénératives, et il est également soupçonné d'être un facteur déterminant du vieillissement (Prior & Wu, 2013).

Les lésions oxydatives de l'ADN sont l'un des stimuli responsables du développement du cancer. Le cancer peut être provoqué et/ou favorisé par des anomalies chromosomiques et l'activation d'oncogènes déterminés par le stress oxydatif. Les bases d'ADN hydrolysées sont des sous-produits courants de l'oxydation de l'ADN et sont considérées comme l'un des événements les plus importants de la cancérogenèse chimique (Pizzino et *al.*, 2017).

Le cerveau, en raison de sa sensibilité au stress oxydatif, devient particulièrement vulnérable avec l'âge lorsque les défenses antioxydantes diminuent. La structure lipidique du cerveau est facilement endommagée par la peroxydation lipidique, ce qui affecte la fluidité membranaire et endommage les protéines. Ces dommages compromettent les récepteurs, les enzymes et les canaux ioniques, menaçant ainsi la fonction neuronale et l'activité cérébrale. La peroxydation lipidique peut également causer la mort des cellules neuronales en perturbant l'intégrité de la membrane (Bouayed & Bohn, 2012).

Chez les patients atteints de la maladie de Parkinson, plusieurs indicateurs ont été repérés, dont la peroxydation des lipides et la diminution des niveaux de glutathion, suggérant ainsi que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) jouent un rôle dans le développement de cette maladie. De plus, les ROS peuvent endommager les constituants cellulaires du cartilage en perturbant les réponses des chondrocytes aux facteurs de croissance, et en migrer vers les zones de lésions cartilagineuses, contribuant ainsi à l'arthrose (Chaitanya et *al.*, 2010).

III.2. Radicaux libres

Les radicaux libres se composent de molécules ou de fragments de molécules possédant un électron solitaire non apparié. En général, ces entités sont hautement réactives sur le plan chimique, avec certains, comme HO-, exhibant une réactivité extrême. Cependant, il existe des types de radicaux libres moins réactifs, tels que les radicaux nitroxyles, ainsi que des radicaux stables grâce à des caractéristiques stériques ou de délocalisation. Quelques-uns, comme le diphenyl picryl hydrazyl, présentent même une stabilité suffisante pour être cristallisés et stockés à des températures supérieures à 0ºC (Slater, 1988).

Ils sont générés dans les cellules en tant que sous-produits du métabolisme ou de manière intentionnelle, comme lors de la phagocytose. Dans le contexte de la biochimie cellulaire, les principaux agents responsables sont l'oxygène et ses dérivés (tels que le superoxyde et le radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et les métaux de transition. Pour contrer ces effets néfastes, les cellules ont évolué avec un arsenal complet de défenses antioxydantes,

comprenant des enzymes qui neutralisent les peroxydes, des protéines qui captent les métaux de transition et divers composés qui neutralisent les radicaux libres. Ces radicaux libres peuvent oxyder les biomolécules, entraînant ainsi la mort cellulaire et des dommages tissulaires. Toutefois, il est souvent difficile de déterminer leur rôle exact dans la pathogenèse d'une maladie, en raison de leur courte durée de vie (Cheeseman & Slater, 1993).

III.3. Antioxydants

III.3.1. Définition

Depuis le début du XXe siècle, l'industrie s'est focalisée sur les antioxydants, également connus sous le nom d'antioxygènes, des composés qui peuvent atténuer les effets nocifs de l'oxygène, notamment sur la corrosion des métaux. Dans le domaine de la biologie, les premières études sur les antioxydants ont démontré leur capacité à diminuer l'oxydation des acides gras insaturés, prévenant ainsi leur altération par le rancissement (Defraigne & Pincemail, 2008).

Les antioxydants sont des molécules stables capables de neutraliser les radicaux libres, réduisant ainsi leur potentiel de dommage cellulaire. Leur capacité à piéger les radicaux libres leur permet d'interrompre les réactions en chaîne qui pourraient endommager les molécules vitales. Des antioxydants de faible poids moléculaire, tels que le glutathion, l'ubiquinol et l'acide urique, sont produits naturellement par le métabolisme de l'organisme, contribuant ainsi à la protection contre les dommages oxydatifs (Lobo et *al.*, 2010).

Les antioxydants artificiels comme le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et le propylgallate (PG) possèdent une forte capacité antioxydante contre divers processus d'oxydation. Cependant, leur utilisation dans les aliments est limitée ou interdite dans certaines régions en raison des risques potentiels pour la santé. Les antioxydants naturels sont probablement préférables à ceux de synthèse chimique (Abubakr et *al.*, 2012).

Des études antérieures ont fait état des propriétés antioxydantes des LAB et des effets bénéfiques de ces espèces bactériennes sur le stress oxydatif. Divers types de lactobacilles tels que *Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helveticus et Lactobacillus rhamnosus* ont été considérés comme des probiotiques utiles (DÜz et *al.*, 2020).

III.3.2. Antioxydants enzymatiques (endogènes)

Superoxyde dismutase (SOD) : est une métalloenzyme qui catalyse la réaction de dismutation du radical anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Bryukhanov et *al.*, 2022).

$$2O^{-}_{2}+2H^{+} \longrightarrow H_2O_2+O_2$$

Glutathion : est un tripeptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. Deux enzymes jouent un rôle important dans le métabolisme du glutathion. La glutathion peroxydase (GSHPx) catalyse la conversion du glutathion réduit en sa forme oxydée, et la glutathion réductase régénère le glutathion réduit (Wang et *al.*, 2021).

Catalase (CAT) : est une enzyme antioxydante qui agit comme un catalyseur pour la conversion du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Jeeva et *al.*, 2015). LA CAT est constituée de 4 groupes ferriprotoporfirinici par molécule, elle est connue comme l'enzyme la plus efficace car elle n'est jamais saturée par la présence de H2O2. Elle réagit avec l'H2O2 et avec les donneurs de protons (ROOH) en produisant de l'H2O. La CAT protège les cellules de la production de H2O2, jouant un rôle important dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydatif en tant que réponse adaptative des cellules (Lubrano & Balzan, 2015).

III.3.3. Antioxydants non enzymatiques (exogène)

Acide ascorbique (vitamine C) : La plupart des organismes eucaryotes produisent de l'acide ascorbique (AsA ou vitamine C), un puissant antioxydant soluble dans l'eau, en tant que piégeur de ROS pour prévenir ou au moins atténuer les effets délétères causés par les ROS (Ahmad et *al.*, 2009).

Vitamine E : agit comme antioxydant en inhibant les peroxydations lipidiques et participe ainsi à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène (FROs), notamment les radicaux libres. Son rôle est important dans les mécanismes de défense contre les FROS (Cuvelier et *al.*, 2003).

Glutathion : est un peptide contenant de la cystéine que l'on trouve dans la plupart des formes de vie aérobie. Il n'est pas nécessaire dans l'alimentation et est synthétisé dans les cellules à partir des acides aminés qui le composent (Lobo et *al.*, 2010). Il est le thiol intracellulaire le plus abondant, c'est-à-dire un composant contenant du soufre, et il est donc

présent en plus grandes quantités. Il possède des propriétés antioxydantes en reconstituant les groupes thiols (-SH) dans les protéines, qui peuvent être éliminés en cas de stress oxydatif. Le glutathion protège également les membranes cellulaires de l'oxydation des lipides et empêche la formation d'oxygène libre (Walczak–Jedrzejowska et *al.*, 2013).

Acide urique : représente environ la moitié de la capacité antioxydante du plasma. En fait, l'acide urique pourrait avoir remplacé l'ascorbate au cours de l'évolution humaine. Cependant, comme l'ascorbate, l'acide urique peut également intervenir dans la production d'espèces actives de l'oxygène (Lobo et *al.*, 2010).

Caroténoïdes : sont des pigments présents dans les plantes et les micro-organismes, avec plus de 600 variétés connues. Leur activité antioxydante découle de leur capacité à délocaliser les électrons non appariés, en particulier chez le ß-carotène, qui peut neutraliser l'oxygène singulet sans se dégrader. De plus, le ß-carotène réagit avec des radicaux libres tels que ROO, OH et O, protégeant ainsi les lipides contre la peroxydation à des concentrations élevées (Ahmad et *al.*, 2010).

III.3.4. Effets des antioxydantes sur les aliments

L'utilisation croissante d'antioxydants comme additifs alimentaires est une pratique répandue dans l'industrie alimentaire. Cependant, la préoccupation grandissante des consommateurs à l'égard des additifs synthétiques a poussé l'industrie et les chercheurs à explorer des sources naturelles d'antioxydants. De plus, l'accent mis sur l'ingestion adéquate de nutriments et de composés bioactifs pour prévenir les maladies non transmissibles renforce la demande pour des additifs alimentaires d'origine naturelle qui offrent également des bénéfices pour la santé (Lorenzo et *al.*, 2018). L'addition d'antioxydants se distingue comme la méthode la plus efficace, pratique et économique pour prévenir l'oxydation dans la transformation alimentaire parmi les différentes approches disponibles (Yang et *al.*, 2018).

La capacité antioxydante du lait et des produits laitiers est principalement due à la présence d'acides aminés soufrés, de protéines de lactosérum comme la ß-lactoglobuline, et de vitamines telles que A, E, C et le ß-carotène. Les processus de fermentation ou de maturation du fromage libèrent des peptides bioactifs, améliorant ainsi le statut antioxydant du produit. L'ajout de souches probiotiques augmente également cette capacité. En outre, l'utilisation d'additifs naturels dans l'alimentation des animaux ou lors de la transformation du lait peut modifier le statut antioxydant des produits laitiers (Stobiecka et *al.*, 2022).

Les caséines, principales protéines du lait de vache et de brebis, se présentent sous forme d'agrégats macromoléculaires. Leur teneur en phosphate varie, ce qui affecte leurs propriétés antioxydantes. Les caséines ont démontré une capacité à capturer les espèces réactives de l'oxygène et à inhiber l'autoxydation lipidique. Leur structure primaire agit comme un piège pour les radicaux libres. De plus, les phosphopeptides issus des caséines peuvent lier le fer et retarder le brunissement des aliments. Les revêtements à base de caséine sont utilisés commercialement à cet effet. Comparativement, la poudre de protéine de lactosérum présente une meilleure activité antioxydante en raison de son profil d'acides aminés différent (Khan et *al.*, 2019).

Certains antioxydants se trouvent naturellement dans les aliments, tels que l'acide ascorbique, également appelé vitamine C, présent dans des fruits tels que le jus de citron et l'orange, ainsi que d'autres sources, les tocophérols, ou vitamine E, que l'on trouve dans les huiles végétales, l'acide lactique, que l'on retrouve dans les yaourts, et l'acide citrique, provenant des agrumes (Lidon & Silva, 2016). Il a été suggéré que l'incorporation de ces composés dans les aliments pourrait renforcer leur capacité à protéger contre les dommages causés par les ROS et à réduire le risque de maladies chroniques. Parmi les produits commercialisés pour leur haute valeur ORAC et leurs bénéfices antioxydants, on trouve des aliments entiers et des boissons tels que les baies d'açaï, les baies de goji et le thé vert, ainsi que des substances isolées principalement vendues sous forme de compléments alimentaires, comme la vitamine C, le lycopène et le sélénium, ou ajoutées aux aliments, comme la vitamine E (Finley et al., 2011).

Il y a deux principaux processus d'oxydation à considérer : l'autoxydation des acides gras insaturés et l'oxydation qui est catalysée par les enzymes oxydatives. L'autoxydation des acides gras insaturés résulte de la réaction entre l'oxygène moléculaire (O) et les liaisons doubles CC des acides gras. Ces réactions engendrent des radicaux libres, des espèces oxygénées très réactives, qui sont à l'origine des odeurs désagréables et du rancissement des aliments. Les antioxydants, qui réduisent les taux d'oxydation, agissent en neutralisant les radicaux libres, diminuant ainsi le processus d'autoxydation. Parmi ces antioxydants, on compte les tocophérols (E306 à E309), des antioxydants naturels, ainsi que des antioxydants artificiels, comme le butylhydroxyanisole (E320) et le butylhydroxytoluène (E321), qui fonctionnent de manière similaire (Lidon & Silva, 2016).

Les huiles végétales, souvent riches en acides gras polyinsaturés, sont sensibles à la peroxydation des lipides. Pour éviter cela, elles sont enrichies en antioxydants comme les

tocophérols et les tocotriénols (formes de vitamine E) pour protéger les lipides contre l'oxydation (Yang et *al.*, 2018).

Certaines recherches indiquent que l'abus de PG, BHA, BHT et TBHQ, des antioxydants artificiels intégrés aux produits alimentaires, pourrait causer une diminution de la valeur nutritionnelle et potentiellement générer des composés toxiques (André et *al.*, 2010).

III.3.5. Effets des antioxydantes sur la santé

Des études épidémiologiques ont démontré une corrélation entre la consommation d'antioxydants naturels et l'amélioration de la santé humaine (Hrelia & Angeloni, 2021). Le terme « antioxydants » est fréquemment utilisé dans la presse grand public et par l'industrie des compléments alimentaires pour suggérer des effets bénéfiques sur la santé, y compris la prévention de diverses maladies, allant du rhume aux maladies chroniques, comme le cancer et le vieillissement (Yang et *al.*, 2018).

Les antioxydants peuvent exercer leur rôle protecteur contre les radicaux libres par divers mécanismes, notamment : (a) les systèmes catalytiques qui neutralisent ou détournent les ROS, (b) la liaison ou l'inactivation des ions métalliques pour prévenir la génération de ROS par la réaction de Haber-Weiss, (c) les antioxydants suicidaires et briseurs de chaîne qui capturent et détruisent les ROS, et (d) l'absorption de l'énergie, des électrons et l'extinction des ROS (Sen & Chakraborty, 2011).

La vitamine C est essentielle pour prévenir le vieillissement cutané car elle agit comme cofacteur dans les réactions qui modifient les acides aminés proline et lysine dans le collagène. Ces réactions, catalysées par la prolylhydroxylase et la lysylhydroxylase, permettent au collagène de former sa structure en triple hélice. Ainsi, la vitamine C est cruciale pour le développement et le maintien du tissu cicatriciel, des vaisseaux sanguins et du cartilage. De plus, l'application de vitamine C sur la peau semble améliorer les niveaux de certains composants du collagène ainsi que de leurs enzymes et inhibiteurs dans le derme humain (Hajhashemi et *al.*, 2010).

Les polyphénols ont une importance particulière pour le diabète, le cancer, le vieillissement et les maladies neurodégénératives en raison de leur effet sur certaines enzymes qui modifient de façon post-traductionnelle le système d'acctylation des protéines histones (E Obrenovich et *al.*, 2011).

La vitamine E joue plusieurs rôles cruciaux dans la prévention et le combat contre le cancer. En plus de son action en tant qu'antioxydant, elle renforce les réponses immunitaires du corps lorsqu'elle est consommée en quantité importante. De plus, elle entrave la conversion des nitrates en nitrosamines dans l'estomac, des composés connus pour favoriser le cancer (Bagchi & Puri, 1998).

III.4. Etude de l'activité antioxydant des LAB

L'activité des antioxydants dans un organisme se résume en fin de compte à l'inhibition des effets des processus d'oxydation. Il existe des preuves scientifiques du rôle significatif des espèces réactives de l'oxygène sur le microbiote humain, et donc du stress oxydatif, dans la pathogenèse des maladies humaines. En raison du développement des maladies de civilisation, il est nécessaire de rechercher des antioxydants non toxiques capables d'augmenter la capacité antioxydante de l'organisme (Łepecka et *al.*, 2023).

Les bactéries lactiques ont été largement étudiées pour leur activité antioxydante en utilisant différentes approches expérimentales. Leur effet antioxydant a été démontré et comprend des capacités d'élimination des radicaux libres, des capacités d'inhibition de la peroxydation des lipides et des capacités de chélation des métaux, ainsi qu'une variété d'activités enzymatiques antioxydantes (Vougiouklaki et *al.*, 2023).

Parmi les bactéries lactiques, les *Lactobacillus* ont attiré beaucoup d'attention pour leurs effets probiotiques potentiels sur la santé humaine. Il a été démontré que certains lactobacilles possèdent une activité antioxydante et sont capables de réduire le risque d'accumulation de ROS pendant l'ingestion d'aliments (Zhang et *al.*, 2011).

Il a été signalé que les membres des genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* réduisent les niveaux de radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et 2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) (Vougiouklaki et *al.*, 2023).

Il a été démontré que les bactéries appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, et *Enterococcus* durans LAB 18 réduisent les niveaux de radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et 2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS). Dans une étude précédente, il a été confirmé que *L. salivarius* MG242, *L. plantarum* MG989, *B. bifidum* MG731 et *B. lactis* MG741 tués à la chaleur réduisaient le stress oxydatif en inhibant la production de NO par une diminution de l'expression des gènes iNOS/COX-2 dans les cellules RAW264.7 activées par le LPS (S. Kim et *al.*, 2022).

Les mécanismes antioxydants de l'*Oenococcus* oeni pourraient être attribués à la capacité de piégeage du 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), à la capacité de piégeage des espèces réactives de l'oxygène (ROS), à la chélation des ions fer (FE), au système du glutathion, à la capacité de réduction ferrique du plasma (FRAP), à l'activité de réduction (RA), à l'inhibition de l'oxydation ascorbique (TAA) et à l'oxydation de l'acide linoléique (TLA) (Su et *al.*, 2015).

Chapitre II : Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Lieu et objectif

L'étude a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie, un laboratoire pédagogique de l'université Yahia farès à Médéa, de Mars à Mai de 2024. L'objectif de notre étude est de tester d'une part l'activité antifongique de quelques souches lactiques isolées des produits laitiers artisanaux, et d'évaluer leur activité antioxydante *in vitro* d'autre part.

II.2. Matériel

II.2.1. Matériel biologique

Au cours de cette étude, 10 souches de bactéries lactiques isolées localement (Tableau 04) ont été employées. Les différentes souches ont été isolées, purifiées et identifiées à l'aide d'une méthode moléculaire (Spectrométrie de masse MALDI-TOF MS) et d'une méthode génétique (séquençage de l'ARN 16S), dans une étude préalable (Bouchibane et al., 2022) ; (Bouchibane et al., 2023).

Le tableau 05 présente deux souches fongiques qui ont été testées

Tableau 04 : Origine et identification des souches des bactéries lactiques

Code des souches	Origine	Région	Score d'identification MALDI-TOF MS	Identification
JKS8	J'ben Chèvre	Khenchela	2.119	*Limosilactobacillus fermentum*
JBES1		Bechar	2.129	
JAS1	J'ben Vache	Naama	2.152	*Lactiplantibacillus plantarum*
JAS14			2.289	
JBS6		Blida	2.289	
SCS4	Smen Chèvre	Bechar	2.431	*Enterococcus faecium*
JBS26	J'ben Vache	Blida	2.369	
SMS2	Smen Vache	Médéa	2.262	
JME9S2	J'ben vache	Médéa	2.359	*Lactococcus lactis ssp lactis*
JME10S1		Médéa	2.364	

Tableau 05 :Souches fongiques testées.

Souches	Code
Aspergillus brasiliensi	ATCC16404
Candida albicans	ATCC10231

Les souches fongiques testées sont obtenus à partir de laboratoire d'hygiène de Blida.

II.2.2. Matériel non biologique

Milieux de culture et Appareillage (Annexe).

II.3. Méthodes

II.3.1. Revivification des souches

Les souches lactiques préalablement conservées dans le glycérol sont revivifiées par deux repiquages sur les bouillons MRS et M17 à une température de 37oC pendant une période de 24 heures.

Les souches fongiques préexistantes dans le glycérol sont réactivées sur le bouillon nutritif à une température de 37oC pendant une période de 24 heures.

II.3.2. Vérification de la pureté des souches lactiques

La pureté des souches lactiques a été vérifiée en utilisant un ensemencement en strie sur les géloses MRS et M17, puis elles ont été incubées à 37oC pendant 48 à 72 heures en anaérobiose et en aérobiose. Pour confirmer leur pureté, un test de catalase ainsi qu'un examen macroscopique et microscopique ont été effectués.

On a procédé à la vérification de la pureté des souches fongiques en ensemencement en strie chaque espèce dans son milieu spécifique, puis les boîtes ont été incubées à une température de 28°C pendant une période de 3 à 5 jours.

II.3.2.1. Test de catalase

La catalase est détectée par l'émulsion de la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volume. La présence d'un dégagement de gaz témoigne de la décomposition de l'eau oxygénée par l'enzyme à tester.

II.3.2.2. Analyse macroscopique

L'analyse macroscopique a été réalisée en examinant la taille, la forme et la couleur des colonies présentes sur les géloses, ainsi qu'en observant un problème sur les bouillons.

II.3.2.3. Analyse microscopique

Les colonies ont été examinées microscopiquement en utilisant la coloration de Gram afin de déterminer le type de Gram, leurs morphologies et leur mode de regroupement.

La coloration de Gram a été faite selon la technique suivante :

L'utilisation du colorant violet de gentiane permet de colorer l'intérieur des bactéries. Quelques gouttes ont été appliquées sur un frotti fixé et laissées pendant une minute. Après avoir rincé avec de l'eau distillée, quelques gouttes de la solution Lugol ont été appliquées et laissées pendant 30 secondes plus tard. Ensuite, on les décolore à l'alcool à 90o et on les rince à l'eau distillée. Selon. Pour visualiser les bactéries Gram (-), on recolore avec de la fuchsine de Ziehl (rose) ont été versées sur la lame et laissées pendant 30 secondes. La couleur des bactéries à Gram positif est violette, tandis que celle des bactéries à Gram négatif est rose (Larpent et Larpent, 1990).

II.3.2.4. Conservation des souches

Chaque espèce a été soumise à une conservation à longue durée en tube Eppendorf à une température de -20 C°, en utilisant le bouillon MRS d'une culture de 18 heures, avec une addition de 30% de glycérol (Samelis et *al.*, 1994).

II.3.3. Mise en évidence de l'activité antifongique

Neuf souches de BL ont été testées vis-à-vis deux souches d'*Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 et *Candida albicans* ATCC10231. La méthode des puits décrite par Magnusson et *al.* (2001) a été mise en œuvre avec des modifications légères : Les souches indicatrices (*Aspergillus brasiliensi et Candida albicans*) sont inondées dans les boîtes de pétri contenant

la gélose PDA, qui ont été préalablement coulées et solidifiées. Des puits de 6 mm de diamètre sont confectionnés sur la gélose. Les boîtes ont reçu 100 µl d'une culture lactique jeune. Ensuite, les boîtes ont été placées à 4 °C pendant une durée de 2 à 3 heures. Après une incubation de 24h à28 ° C, une zone d'inhibition a été observée autour des puits. Deux répétitions ont été effectuées.

II.3.4. Etude *in vitro* du pouvoir antioxydant

II.3.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'un des premiers radicaux utilisés pour étudier la relation entre la structure et l'activité antioxydante des substances est le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). En présence des capteurs de radicaux libres, ce composé de couleur violette se transforme en jaune en réduisant sa forme non radicalaire en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) (Figure 08). En acceptant un atome d'hydrogène, son absorbance diminue. La cinétique de décoloration est observée à 517nm (Sánchez-Moreno, 2002).

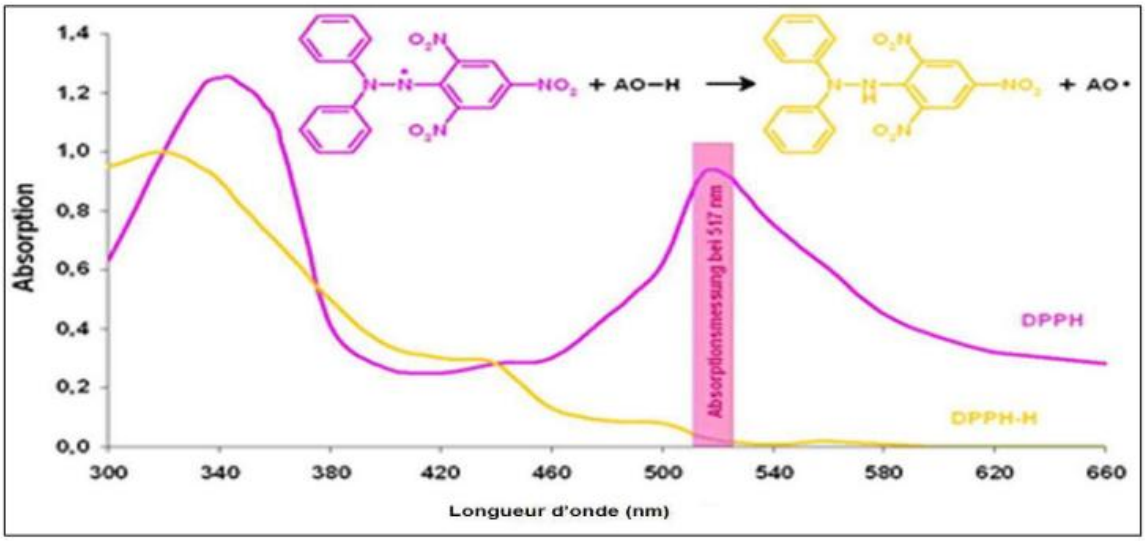


Figure 08: Représentation graphique montrant une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH due à l'exposition à un antioxydant (Pérez et Aguilar, 2013).

Mode opératoire

La technique décrite par Shi et al. (2019**)** a été appliqué avec des modifications : Les cultures de souches lactiques jeunes ont été géométriquement diluées à partir de 10^8 UFC/ml. Par la suite, à partir de chaque dilution (10^8, 10^4,10^2), 1 ml est mélangé avec 1 ml de solution

éthanoïque fraîche de DPPH (0,2mM). Parallèlement, le test négatif a été réalisé en mélangeant 1 ml de l'éthanol avec 1 ml de solution de DPPH. Le contrôle positif est représenté par la solution d'acide ascorbique préparé à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le test est répété trois fois pour chaque souche. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$I\% = (A_{controle} - A_{souche}) / A_{controle} \times 100.$$

II.3.4.2. Test de FRAP

Ce test consiste à vérifier que les souches lactiques sont capables de transformer le fer ferrique (Fe3+) du complexe ferrocyanure de potassium (K3Fe (CN)6) en fer ferreux (Fe2+), ce qui entraîne le virage de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert de fer ferreux

Mode opératoire

La détermination du pouvoir réducteur des souches a été réalisée en suivant le protocole recommandé par Bae et al.(2010), un volume de 2.5mL de solution tampon phosphate, et de 2.5mL de ferrocyanure du potassium K3Fe(CN)6 à 1% est mélangé avec 1mL de chaque culture jeunes lactiques à différentes dilutions. Le mélange est incubé à 50°C au bain-marie pendant 20min, puis refroidi à température ambiante, 2.5mL d'acide trichloracétique (10%) a été ajouté pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé à une vitesse de 2500 ×g pendant 5 minutes, puis 2.5mL de surnageant est mélangé avec 2.5mL d'eau distillée et 0.5mL d'une solution de FeCl3 (0.1%). Après 10min d'incubation l'absorbance des solutions a été mesurée à 700nm, en utilisant l'eau distillée comme blanc. Le pouvoir réducteur a été évalué selon les valeurs de la densité optique.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de la validation de la pureté des souches de lactiques

Une fois que les souches lactiques ont été revivifiées sur bouillon MRS et que le résultat a été apprécié par l'apparition d'un trouble après 24 heures d'incubation à 37°C, l'étape de purification qui a suivi a montré des colonies visibles, de forme circulaire et bombée, de couleur blanchâtre. Les souches lactiques purifiées sur gélose MRS sont présentées dans la figure 09.

La coloration de Gram et le test de catalase, qui sont des tests indispensables pour pré-identifier, ont été utilisés pour vérifier la pureté des souches lactiques analysées. Elles sont toutes de couleur blanche et dépourvu de catalase. L'examen microscopique a révélé que certaines souches avaient une forme de bâtonnet isolé et en chaîne, tandis que d'autres présentaient une apparence de cocci, avec des associations en paires, en amas et en courtes chaînes, comme illustré la figure 10. Toutes les souches que nous avons étudiées ont montré un gram positif et un catalase négatif.

Les résultats obtenus par Bouchibane et *al.*, (2023) confirment que les colonies sur gélose et l'apparence des cellules après coloration sont similaires.

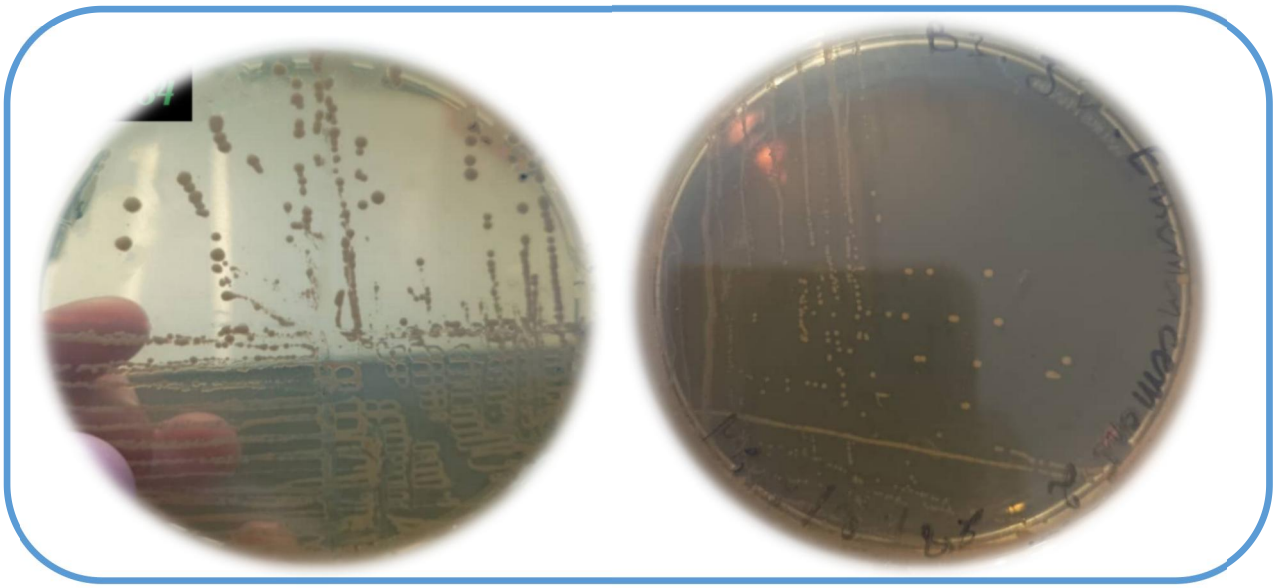


Figure 09 : Aspect macroscopique de souches lactiques purifiées sur gélose.

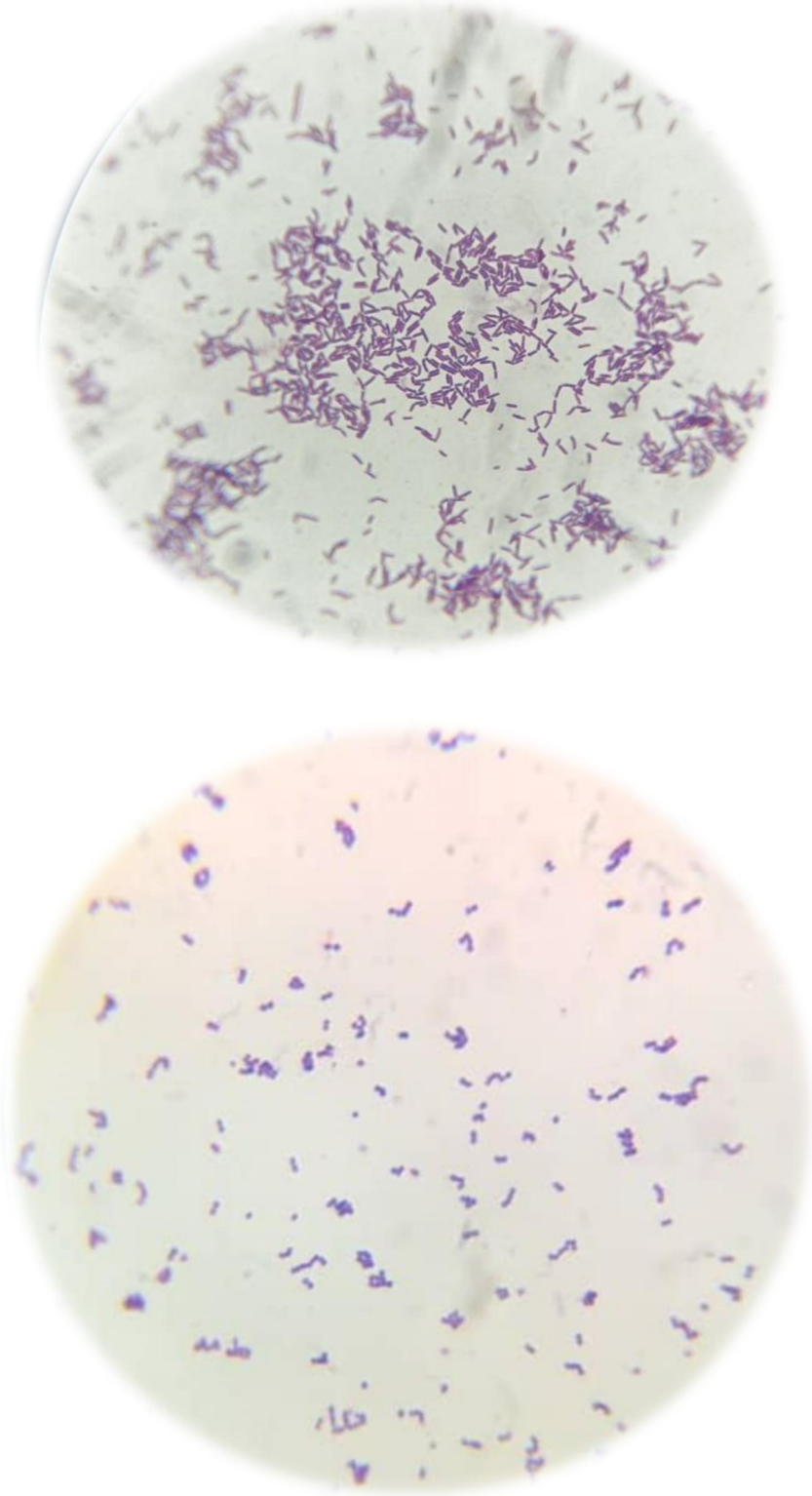


Figure 10 : Observation microscopique des souches après une coloration de Gram.

III.2.Résultats de l'activité antifongique

L'activité antifongique se manifeste par l'apparition de zone claire autour des puits (figures 11 et 12). Les résultats des diamètres obtenus sont résumés dans les tableaux 06 et 07.

Il en ressort du tableau que toutes les souches étudiées présentent une activité antifongique contre les deux souches indicatrices d'*Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 et *Candida albicans* ATCC10231, avec des diamètres se situant entre12.5±2.121 et 26.5±2.121mm.

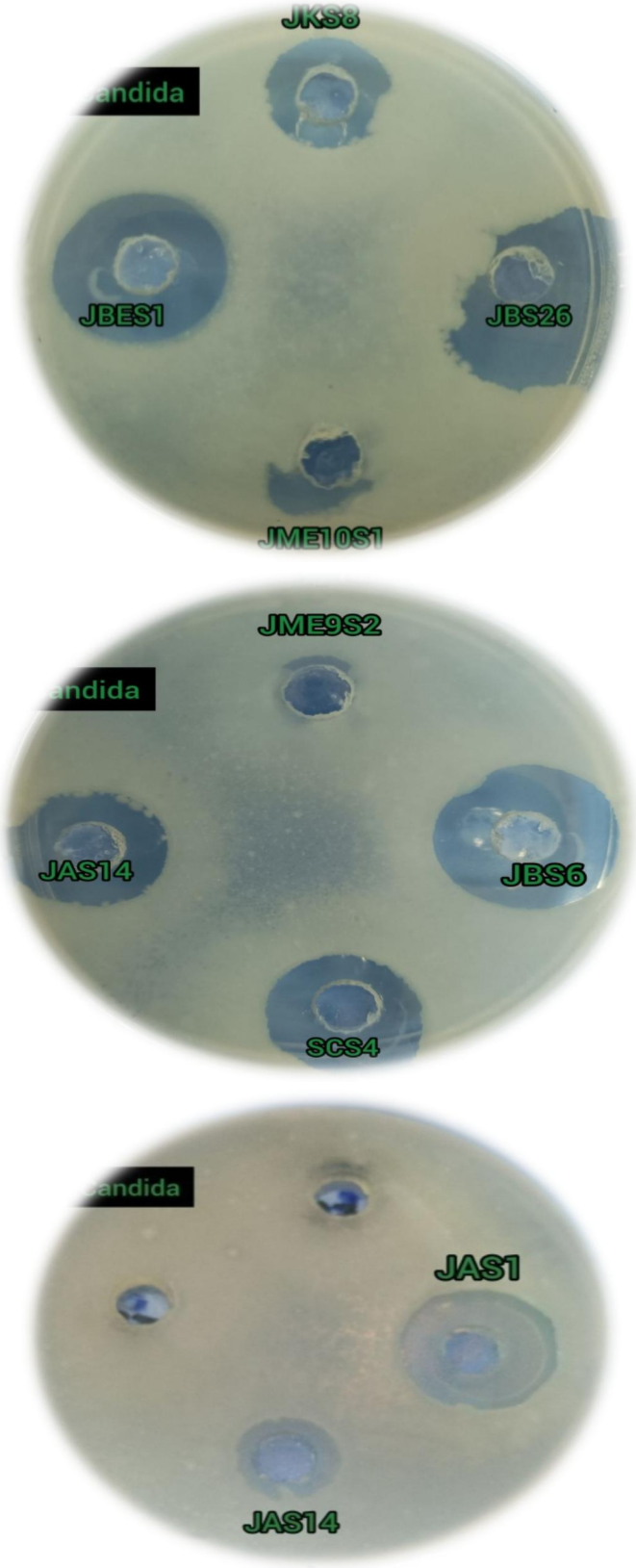
En se basant sur les résultats mentionnés dans les tableaux, nous avons fait ressortir qu'une variation des diamètres des zones d'inhibitions exprimées par les différentes espèces lactiques a été observée par rapport aux deux souches indicatrices étudiées. Cela suggère que les souches fongiques réagissent de manière différente avec les différentes espèces testées, et nous avons observé que les résultats varient d'une espèce à l'autre et même au sein d'une même espèce.

Les souches appartiennent au espèce *Lactiplantibacillus plantarum* ont montrée des halos d'inhibitions plus importants que celles de *Limosilactobacillus fermentum,* , le plus grand diamètre a été visualisé autour des puits *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 ***(*****26.5±2.121mm*****)*** ***et a*** été enregistrées chez les souches codées par JAS1 et JBS6 isolées à partir du J'ben vache,, En revanche, Les souches appartiennent au *Lactococcus lactis ssp lactis* ont montrée des zones d'inhibitions moins importantes que celles de *Enterococcus faecium,* avec un diamètre des zones varie de 11.5±0.707 à18±8.485 mm .En plus, nous avons trouvé que presque la totalité de nos souches isolées sont douées de propriétés antifongique très appréciées vis-à-vis *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404. L'activité antifongique a été suggérée peut-être due à la production des souches lactiques d'un métabolite actif (les acides organiques) et à la production des protéines (Bazukyan et *al.*, 2018 ; Nora Laref et *al*, 2021).

Nos résultats sont moins importants à ceux trouvés par Sevgi et Tsveteslava, (2015) qui ont signalé que les souches de *Lactiplantibacillus plantarum* présente une forte activité avec des zones variés de32.49 et 35.85 mm. Toutefois , sont relativement comparables à ceux d'autres études évaluant l'activité antifongiques des souches lactiques (Riolo et *al* ,2023; Bulgasem et *al.* 2016 ; Zabouri et *al*, 2021)**.**

Tableau 06 : Résultats de l'activité antifongique vis-à-vis *Candida albicans* ATCC10231

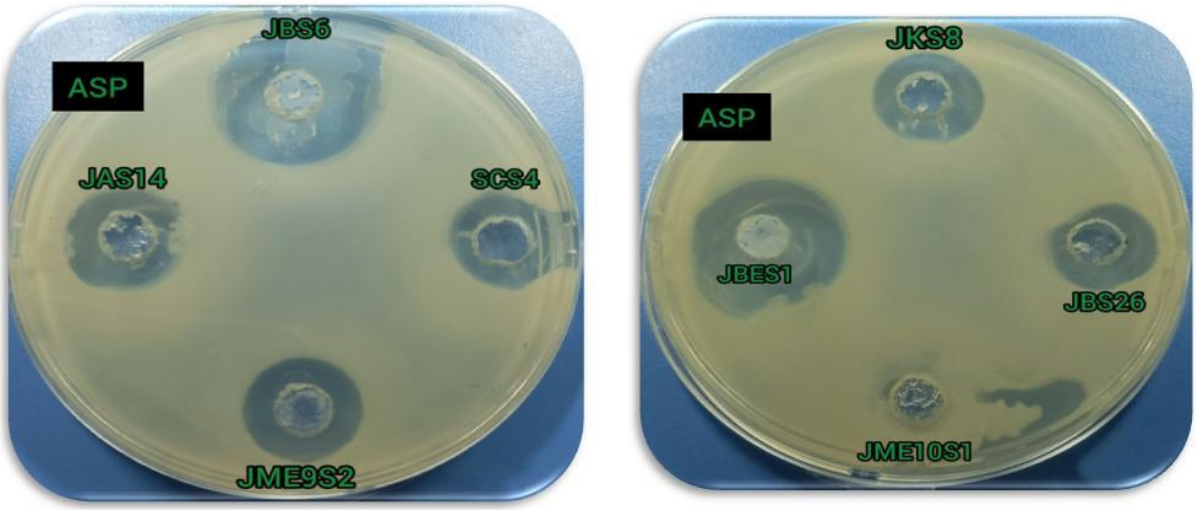
Souches	Diamètres de l'activité antifongiques (mm)
Lactiplantibacillus plantarum	
JAS1	24±1.414
JAS14	17±4.242
JBS6	24±1.414
Limosilactobacillus fermentum	
JKS8	16.5±3.535
JBES1	20±7.071
Lactococcus lactis ssp lactis	
JME9S2	18±8.485
JME10S1	12.5±2.121
Enterococcus faecium	
SCS4	16.5±6.363
JBS26	19.5±10.606
SMS2	19.5±10.606



Figures 11 : Activité antifongique de quelques souches testées vis à vis *Candida albicans* ATCC10231.

Tableau 07: Résultats de l'activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404

Souches	Diamètres de l'activité antifongiques (mm)
Lactiplantibacillus plantarum	
JAS1	26.5±2.121
JAS14	15±5.656
JBS6	26.5±2.121
Limosilactobacillus fermentum	
JKS8	16±4.242
JBES1	20±7.071
Lactococcus lactis ssp lactis	
JME9S2	18.5±0.707
JME10S1	11.5±0.707
Enterococcus faecium	
SCS4	19±00
JBS26	15±2.828
SMS2	15±2.828



Figures 12 : Activité antifongique de quelques souches testées vis-à-vis *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404.

III.3.Résultats du pouvoir antioxydante

Le pouvoir antioxydant dessouches lactiques isolées à partir des produits laitiers artisanaux est évalué par deux méthodes complémentaires : piégeage des radicaux libres DPPH, et la réduction de fer FRAP.

III.3.1. Piégeage du radical DPPH

L'évaluation de la capacité des espèces « *Lactiplantibacillus plantarum* , *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Enterococcus faecium* » à piéger le radical libre de DPPH, a été effectuée par la mesure de son absorbance et en suivant sa cinétique de décoloration en présence de différentes concentrations des souches, une diminution de l'intensité de la couleur de DPPH indique la présence des molécules antiradicalaires dans le milieu. Parallèlement aux différentes souches, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 13,14 et 15.

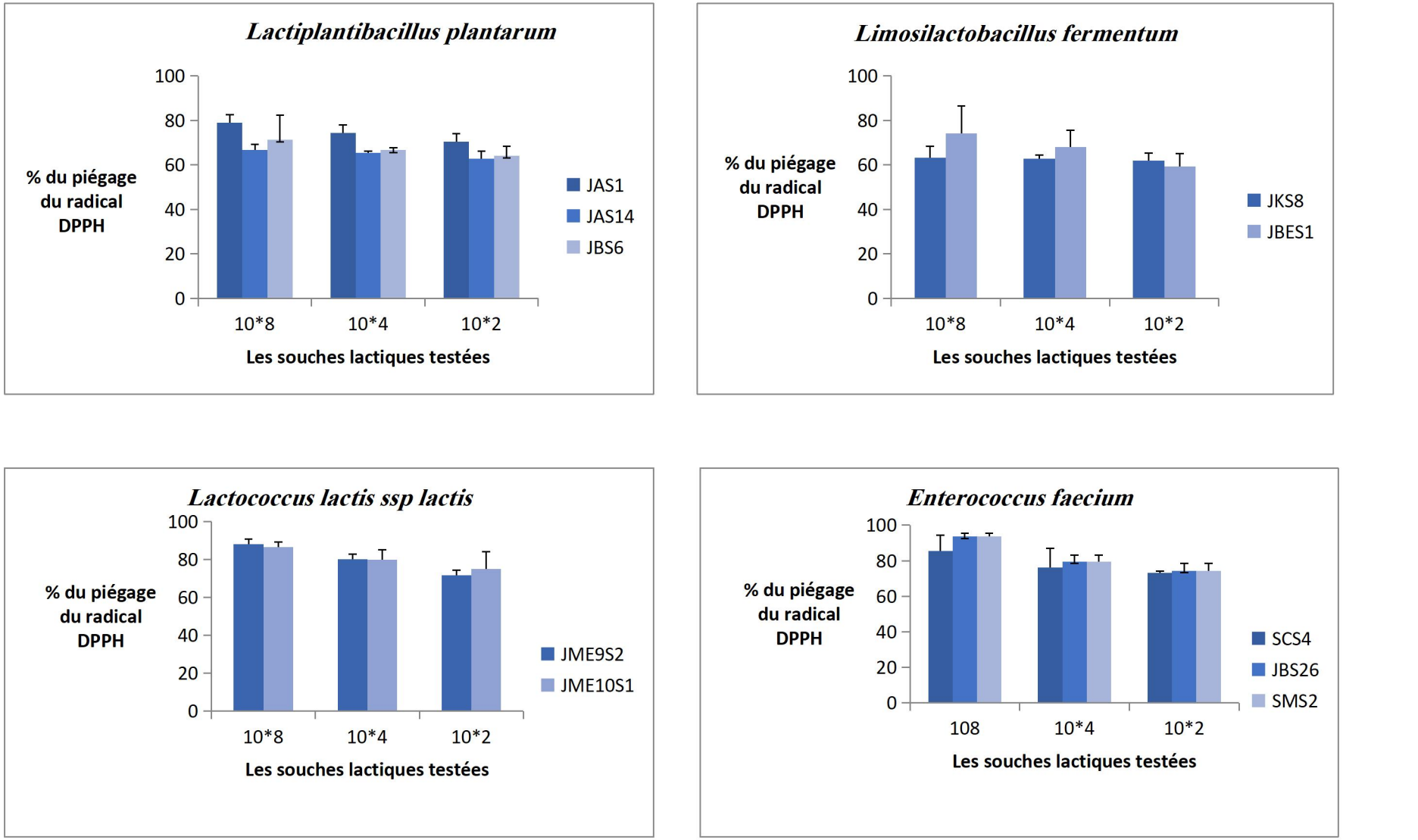


Figure 13 : Résultats de la capacité du DPPH (%) à capturer par les espèces lactiques isolées des produits laitiers artisanaux

À la lecture des résultats trouvés pour ce potentiel illustrés dans les Figures ci-dessous, il est évident que toutes les souches possèdent une capacité de piégeage des radicaux libres très élevée. Une variation du pourcentage d'inhibitions exprimées par les différentes espèces lactiques étudiées a été observée, avec un pourcentage variant de 63.16% à 93.57% pour une densité (10^8 UFC/ml), 62.83% à 80.26% pour (10^4 UFC/ml), et 59.23% à 74.21% pour (10^2 UFC/ml). Les valeurs les plus élevées ont été enregistré chez *Enterococcus faecium* JBS26, SMS2, , *Lactococcus lactis ssp lactis* JME10S1 , *Lactiplantibacillus plantarum JAS1 et Limosilactobacillus fermentum JBES1* avec 93.57% à une densité bactérienne (10^8 UFC/ml), 86.66% à (10^8 UFC/ml), 79.07% à (10^8 UFC/ml), et 74.09 à (10^8 UFC/ml),respectivement. Cela indique que ces souches présentes l'activité antioxydante la plus significative, Néanmoins, la souche codée par JKS8 appartient au *Limosilactobacillus fermentum et isolée du* J'ben khenchela a donnée la valeur la plus faible (59.23%) à (10^2 UFC/ml).Il ressort que toutes les souches qui appartiennent aux *Enterococcus faecium et Lactococcus lactis ssp lactis* présentent une activité plus importante dans les trois densités testées (10^8 , 10^4 , 10^2 UFC/ml) comparativement aux *Lactiplantibacillus plantarum et Limosilactobacillus fermentum.* De même, les valeurs du pourcentage d'inhibition les plus élevées ont été trouvées à une densité (10^8 UFC/ml) chez toutes les espèces. Selon Ural ,(2016), une densité bactérienne de 10^{11} UFC /ml a été utilisée et a révélé que l'activité de piégeage du radical DPPH de l'espèce appartenant au *Lactobacillus* était variable de 56,3% à 78,5%. En plus, Wang et *al*, (2009) ont signalé que la capacité antioxydante des bactéries lactiques augmentait en fonction de la concentration et ont trouvé que les densités bactériennes (10^6 et 10^9 UFC / ml) chez l'espèce *Limosilactobacillus fermentum* ont démontré une capacité antioxydante puissante .Des résultats moins importantes aux nôtres ont été enregistré par Baruah et *al.*(2016) ; Chaudhary et *al.*(2020) avec *Lactiplantibacillus plantarum.* Tandis que, nos résultats de l'espèces *Limosilactobacillus fermentum* sont supérieurs à ceux trouvés par Mishra et *al.*(2015) qui ont mentionné un taux d'inhibition de 87.89%. D'autre part, sont relativement comparables à ceux d'autre étude évaluant l'activité antioxydante des espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactiplantibacillus plantarum.* (Wang & Li;2022 ; DÜz et *al.*, 2020)**).** En outre, L'activité antioxydante de l'acide ascorbique utilisé comme antioxydants dans les nutriments a été réalisé dans les mêmes conditions en adoptant le même mode opératoire, le piégeage du radical DPPH de ce dernier a été observé avec des pourcentages de 61.35 % à une concentration la plus élevée. Nos espèces *Enterococcus faecium et Lactococcus lactis ssp*

lactis ont manifesté un potentiel plus puissant sur le radical libre DPPH par rapport au l'acide ascorbique. Néanmoins, les valeurs enregistrées chez *Lactiplantibacillus plantarum et Limosilactobacillus fermentum* étaient similaires aux valeurs de l'acide ascorbique. Toutefois, plusieurs études ont signalé que l'effet antioxydant des espèces lactiques pourrait être associé à la production de composés de surface cellulaire tels que les polysaccharides extracellulaires produits par des souches comme *Lactococcus lactis subsp. Lactis* et l'acide lipotéichoïque (Pan & Mei 2010), (Yi et *al.* 2009). Il faut de noter qu'il est difficile de comparer les données de piégeage de radical DPPH avec celles enregistrés dans la littérature tant que différents modes opératoires, différentes parties et unités d'expression ont été utilisées.

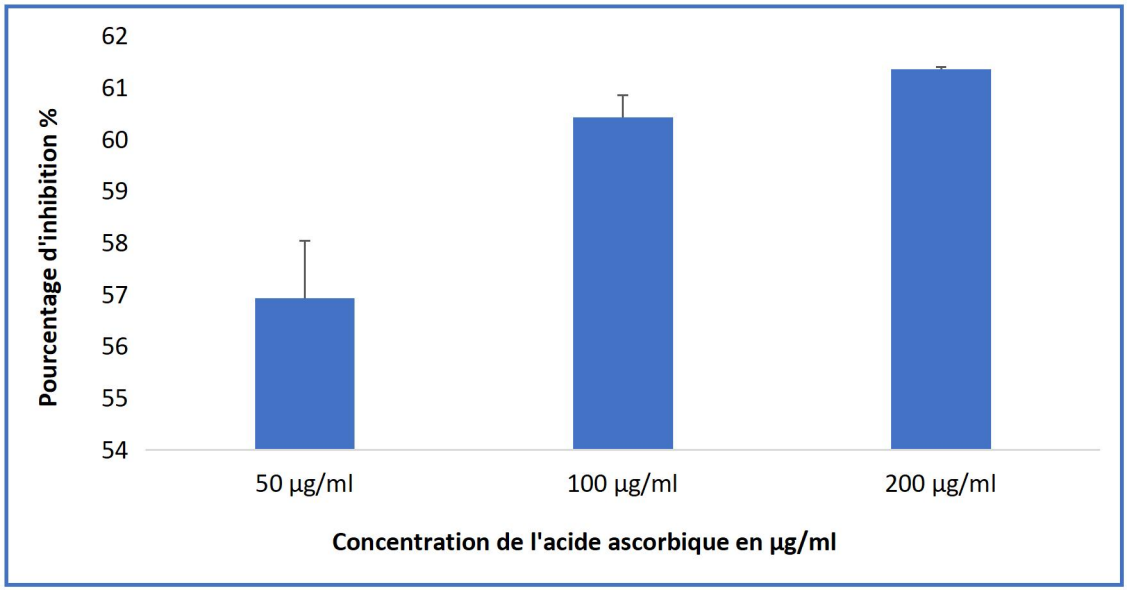
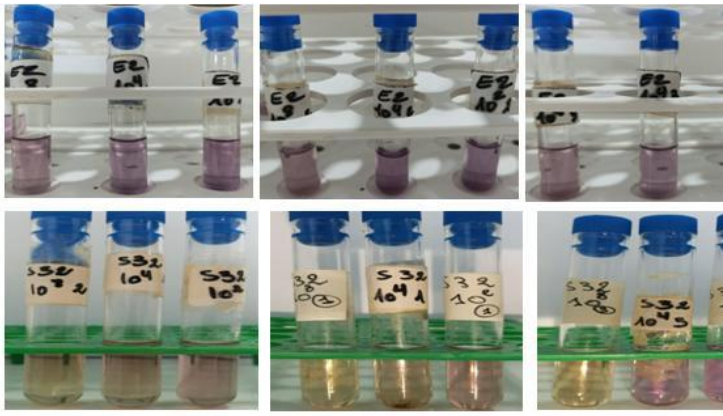


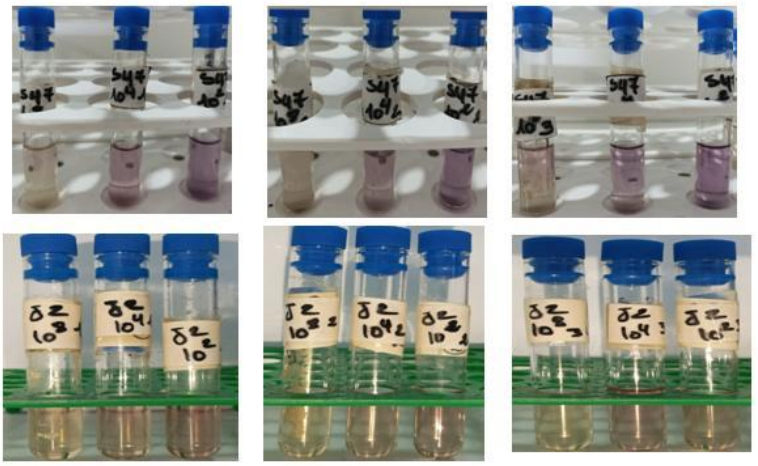
Figure 14 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique.



Lactiplantibacillus plantarum



Limosilactobacillus fermentum



Lactococcus lactis ssp lactis et
Enterococcus faecium

Figure 15 : Résultats du diminution de l'intensité de la couleur de DPPH pour les espèces testée.

III.3.2. Test de FRAP

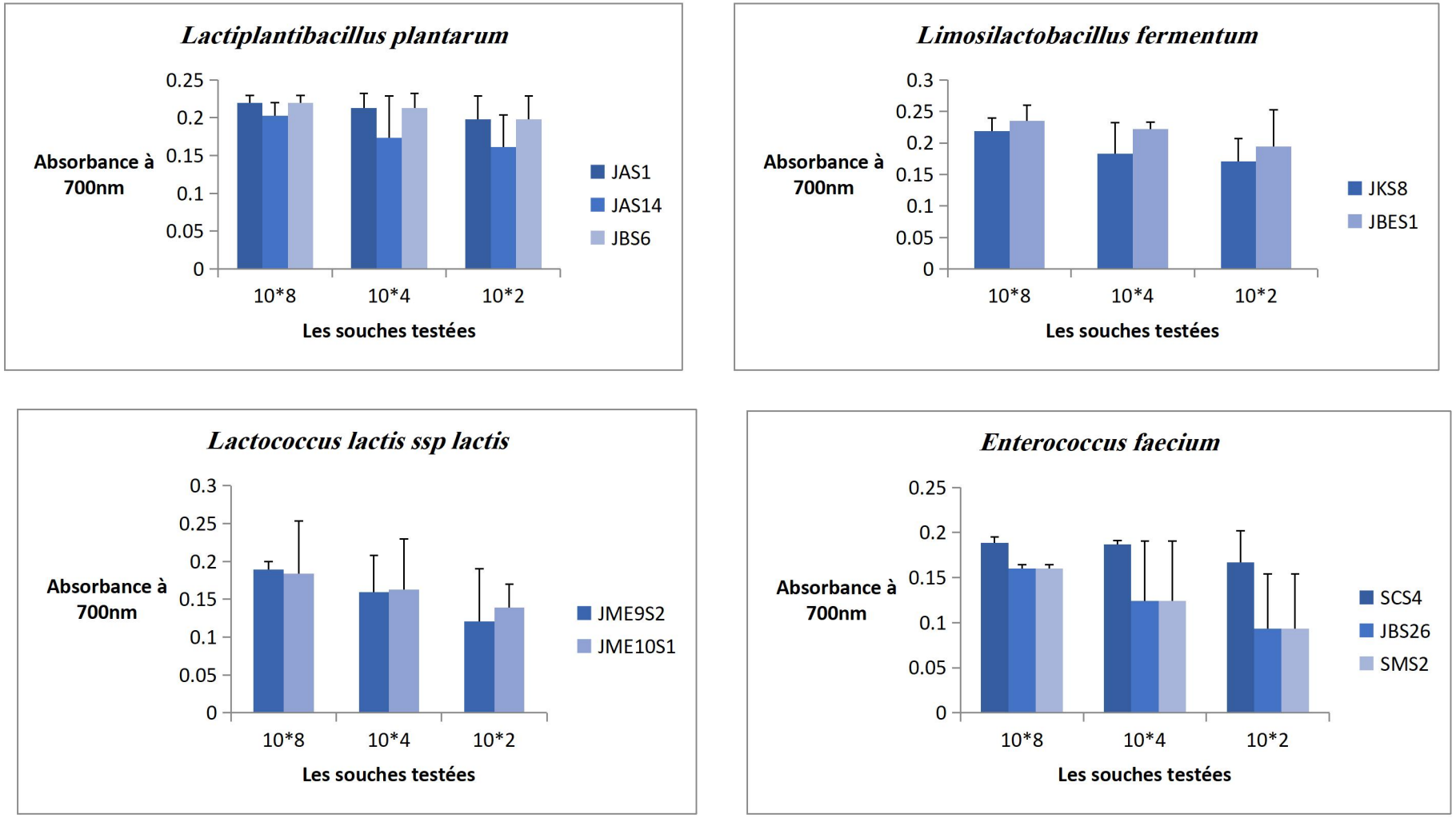


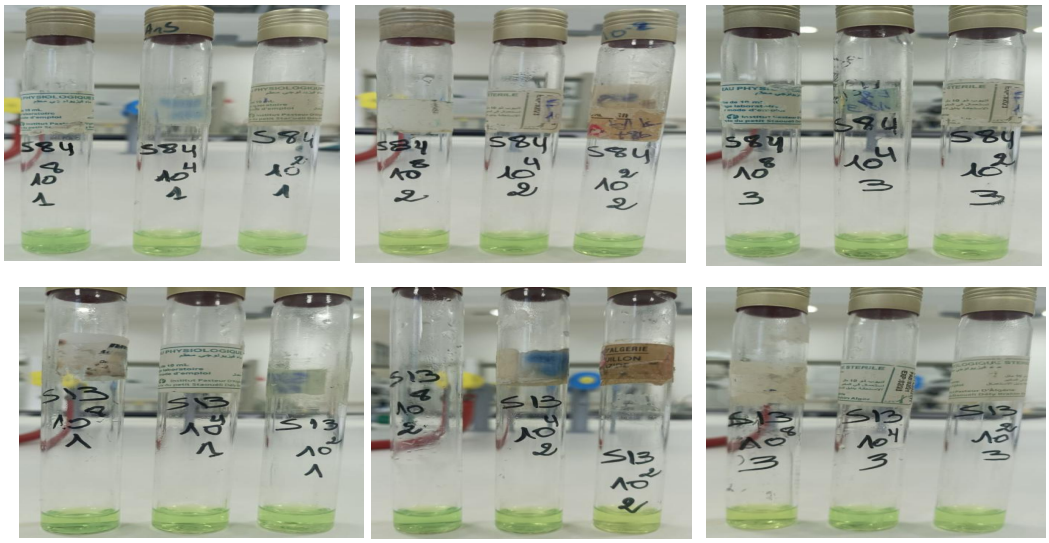
Figure 16 : Résultats du pouvoir réducteur(FRAP) des espèces testées

Dans ce test, la capacité antioxydante des souches lactiques est révélée par le virage de couleur du milieu, qui due à la réduction du fer ferrique (Fe3+) en fer ferreux (Fe2+), l'intensité de la couleur est mesurée et s'exprimée en DO, cette intensité est proportionnelle au pouvoir antioxydant de différentes souches testés, les résultats sont illustrés dans les figures(16,17 et 18). Les résultats ont révélé que nos souches ont un pouvoir réducteur modéré, le pouvoir réducteur de *Lactiplantibacillus plantarum et Limosilactobacillus fermentum* est liée à leur densité concentration bactérienne (densité-dépendante). A la densité bactérienne (10^8 UFC/ml), le pouvoir réducteur de ces espèces est largement supérieur (DO=0.219 et 0.226) par rapport aux espèces *Enterococcus faecium et Lactococcus lactis ssp lactis* (DO=0.186 et 0.169). Il s'est avéré que les souches appartenant au genre *Lactobacillus* possèdent une capacité plus marquée à réduire le fer par rapport aux genres *Enterococcus* et *Lactococcus.* On remarque que la capacité des souches à réduire le fer ferrique en fer ferreux est variable entre les espèces mais identique entre les souches au sein de la même espèce.

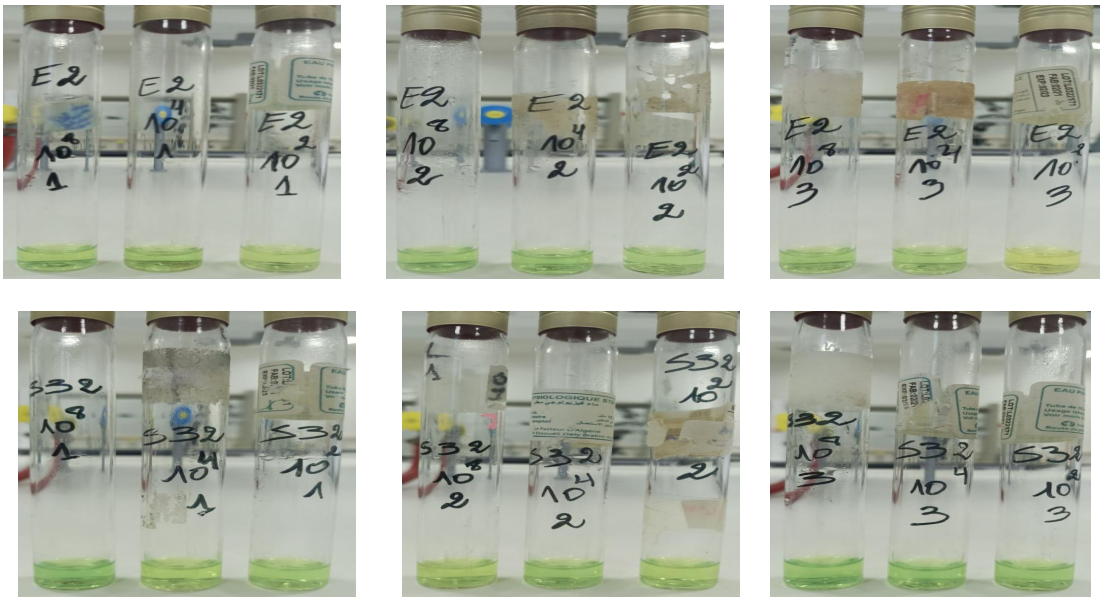
La figure 16 montre la capacité de réduction en fonction des diverses densités bactériennes des souches. On 'a constaté que les valeurs les plus basses de l'absorbance (0.185 (*Lactiplantibacillus plantarum*), 0.182(*Limosilactobacillus fermentum*), 0.130 *(Lactococcus lactis ssp lactis*) et 0.117 (*Enterococcus faecium*) ont été enregistrées à une concentration de 10^2UFC/ml, tandis que les valeurs les plus élevées ont été enregistrées à une concentration bactérienne (10^8 UFC/ml) chez toutes les espèces testées. La détermination de la concentration bactérienne efficace en espèces lactiques permet d'évaluer leur potentiel antioxydant. Plus la densité bactérienne est élevée plus l'espèce exprime un puissant pouvoir antioxydant. Nos valeurs trouvées étaient inferieurs à celle trouvée par Wang & Li(2022) ; Liu et *al.*(2020) qui ont enregistré une absorbance 1.06 chez *Lactococcus lactis ssp lactis* , 1.16 chez *Lactiplantibacillus plantarum* et 0.585 chez *Limosilactobacillus fermentum.*

On sait qu'à l'heure actuelle, il n'y a pas de méthode universelle, unique et fiable pour exprimer la capacité antioxydante. Effectivement, plusieurs tests sont souvent requis pour évaluer l'effet antioxydant des bactéries lactiques. Par conséquent, nous avons opté pour deux tests simples, rapides et répétitifs, qui sont le plus couramment utilisés : le test DPPH et le test FRAP.

Selon Rival et *al.* (2001) les ions ferreux ont la capacité de provoquer la dégradation des peroxydes lipidiques, ce qui peut entraîner la présence d'un goût désagréable pendant la période de conservation des aliments. Le fer a la capacité de se transformer en radicaux libres suite aux réactions de Fenton. Par conséquent, la diminution de la concentration de Fe+2 grâce aux réactions de Fenton a un effet préservant contre les dégâts oxydatifs. D'autre part, Lin & Yen, (1999) ont signalé que les bactéries lactiques sont capables de montrer leurs activités de chélation grâce aux chélateurs physiologiques présents sur la paroi cellulaire. En plus, Yamamoto et *al*,(2002) ont découvert une protéine antioxydante de liaison au fer intitulée protéine de liaison au fer de type ferritine (Dpr) dans les laboratoires d'analyses biologiques (LAB). D'après Gavin et *al.* (1998), il a été prouvé que les micro-organismes possédaient des mécanismes de défense non enzymatiques, comme la chélation des ions métalliques. Les souches de LAB peuvent chélater des ions métalliques tels que les ions ferreux, ce qui permet d'inhiber la catalyse de l'oxydation par ces ions.

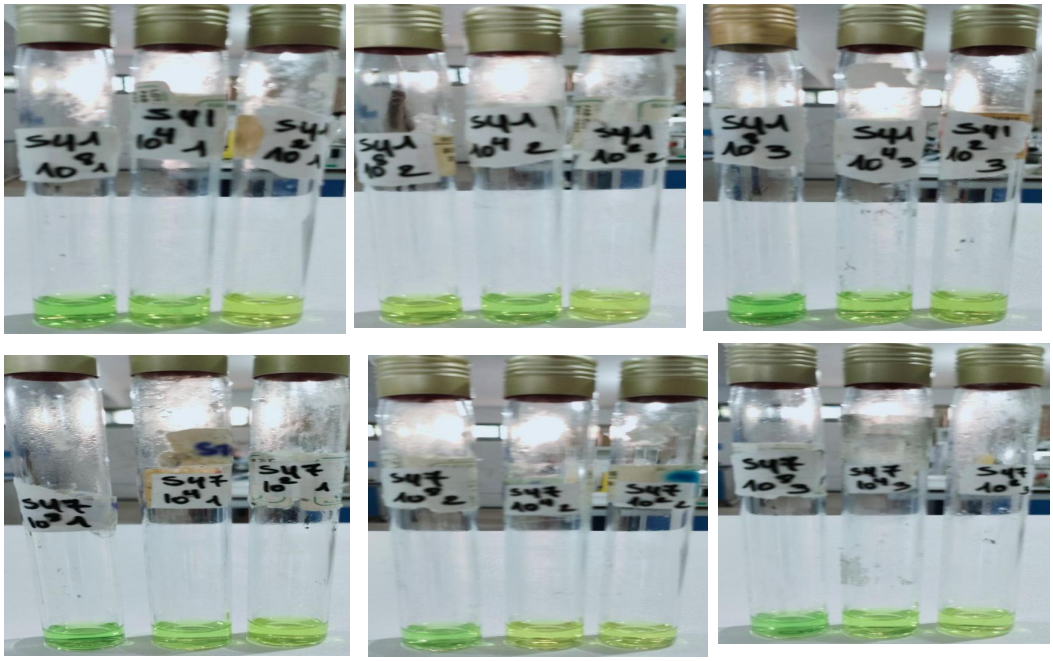


Lactiplantibacillus plantarum

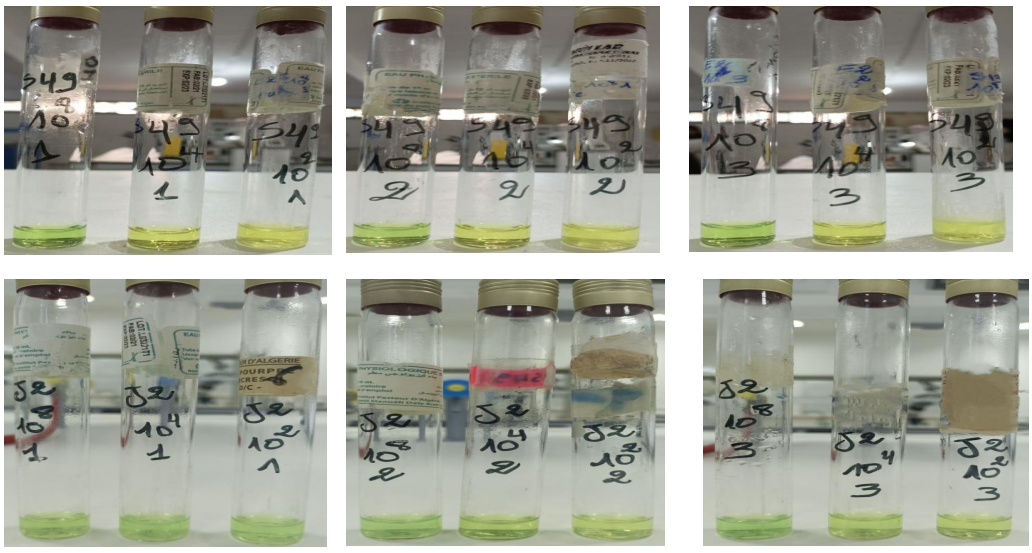


Limosilactobacillus fermentum

Figure 17 : Résultats du virage de la couleur (test FRAP) pour les souches du genre *Lactobacillus.*



Lactococcus lactis ssp lactis



Enterococcus faecium

Figure 18 : Résultats du virage de la couleur (test FRAP) pour les souches des genres *Lactococcus et Enterococcus*

Conclusion

Conclusion

L'utilisation de microorganismes bio protecteurs pour la bio préservation est une technique de conservation des aliments qui implique d'inoculer un produit alimentaire avec des souches performantes afin d'empêcher la prolifération des microorganismes indésirables. Les bactéries lactiques sont des candidates intéressantes, qui peuvent être employées pour cette approche. Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans le secteur alimentaire et de la santé en raison de leurs avantages. Le but de cette étude est de choisir des souches lactiques performantes qui peuvent être employées pour la préservation des aliments, avec la capacité d'inhiber la croissance des champignons néfastes pour la santé humaine. Et en tant qu'antioxydants plus sûrs et plus naturels pour remplacer les antioxydants artificiels.

Pour atteindre notre objectif, dix souches lactiques appartenant aux quatres espèces différentes (*Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum, Lactococcus lactis ssp lactis et Enterococcus faecium)* identifiées génétiquement et isolées de différents dérivés laitiers artisanaux. Ces espèces ont été testées pour leur potentiel antifongique en utilisant la méthode de puits contres deux souches fongiques de références à savoir : *Aspergillus brasiliensi* ATCC16404 et *Candida albicans* ATCC10231. Ensuite, leur effet antioxydant a été effectué en mesurant le pouvoir réducteur du fer par la technique de FRAP, le piégeage des radicaux libre par la technique de DPPH.

Les résultats obtenus sont très satisfaisants car toutes les souches examinées ont révélé une activité antifongique intéressante. Les résultats les plus prometteurs ont été obtenus pour *Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus fermentum*, avec des valeurs allant de 17±4.242mm à 24±1.414mm et de 16.5±3.535mm à 20±7.071mm, respectivement. Par contre, pour *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Enterococcus faecium*, les valeurs ont varié de 12,5±2.121mm à 18±8.485mm et de 16.5±6.363mm à 19.5±10.606mm, respectivement.

En revanche, les espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Enterococcus faecium* ont démontré un pouvoir du piégeage du radical libre DPPH très prononcé par rapport aux autres espèces, avec des pourcentages d'inhibition allant de 71,88% à 86,66% et de 37,28% à 93,57%. Alors que ces deux espèces ont révélé une capacité réduction (FRAP) légèrement inférieure à celle observée avec *Lactiplantibacillus plantarum* et *Limosilactobacillus fermentum*. De plus, nous avons observé que les taux d'inhibition et d'absorbance les plus élevés ont été enregistrés à une densité bactérienne de 10^8 UFC/ml chez toutes les espèces testées.

Cette étude peut être perçue comme une source d'information essentielle car elle démontre que les espèces lactiques étudiées ont un potentiel antifongique et antioxydant. Nos résultats offrent la possibilité d'explorer de nouvelles perspectives. Afin compléter ce travail, nous proposons :

-Etude de l'activité antifongiques contre d'autres espèces responsable de la contamination des aliments et sont néfastes pour la santé.

-Confirmation l'efficacité antifongique *in vitro* et effectuer des tests *in vivo* sur l'utilisation de bactéries lactiques pour la préservation biologique des produits alimentaires contre *Aspergillus brasiliensi* et *Candida albicans*, afin de valider l'activité antifongique constatée lors des tests in vitro.

- L'analyse d'autres propriétés antioxydantes *in vitro* en effectuant des tests plus approfondis.

- Pour mieux comprendre les différents mécanismes antioxydants présents chez les souches lactiques et étudier leur potentiel en matière de santé humaine, il est nécessaire de mener des études *in vivo* afin de vérifier la capacité des espèces testées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdelbasset, M. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques. *THESE Présentée En Vue de l'obtention Du Diplôme : De DOCTORAT Option : Biochimie*, *1945*(Université Badji-Mokhtar-Annaba), 1–99.

Abubakr, M. A. S., Hassan, Z., Imdakim, M. M. A., & Sharifah, N. (2012). Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity (FCA). *African Journal of Microbiology Research*.

Aguirre-Garcia, Y. L., Nery-Flores, S. D., Campos-Muzquiz, L. G., Flores-Gallegos, A. C., Palomo-Ligas, L., Ascacio-Valdés, J. A., Sepúlveda-Torres, L., & Rodríguez-Herrera, R. (2024). Lactic Acid Fermentation in the Food Industry and Bio-Preservation of Food. *Fermentation*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/fermentation10030168

Aguirre, M., & Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Bacteriology*, *75*(2), 95–107. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02753.x

Ahmad, P., Jaleel, C. A., Azooz, M. M., & Nabi, G. (2009). Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, *2*(1), 11–20.

Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, *30*(3), 161–175.

André, C., Castanheira, I., Cruz, J. M., Paseiro, P., & Sanches-Silva, A. (2010). Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, *21*(5), 229–246.

Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. da, & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, *1*(3), 202–232.

Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease: A review.

EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal, 4 (2), 350-360, 1998.

Baruah, R., Das, D., & Goyal, A. (2016). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria: current trends and applications. *J Prob Health*, *4*(141), 2.

BELYAGOUBI, L. (2014). *Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens*.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria: their applications in foods. *J. Bacteriol. Mycol*, *6*(2), 89–94.

Bouayed, J., & Bohn, T. (2012). *Nutrition, well-being and health*. BoD–Books on Demand.

Bouchibane, M., Cheriguene, A., Chougrani, F., Bououdina, M., Kaced, A., Dahou, A. E., Benbouziane, B., & Saada, D. A. (2023). Technological and genotypic characteristics of lactic acid bacteria isolated from Algerian artisanal dairy products. *International Dairy Journal*, *146*, 105747.

Bouchibane. M, ESA-Mostaganem, E. B. K. P. (2023). Identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux: Aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté. Université de Mostaganem.

Bouchibane, M., Zabouri, Y., Cheriguene, A., Kaced, A., Chougrani, F., & Saada, D. A. (2022). Application of MALDI-TOF Mass Spectrometry to Identify Lactic Acid Bacteria Isolated from Artisanal Dairy Products in Algeria. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, *41*(4), 377–383.

Bryukhanov, A. L., Klimko, A. I., & Netrusov, A. I. (2022). Antioxidant properties of lactic acid bacteria. *Microbiology*, *91*(5), 463–478.

Bulgasem, B. Y., Lani, M. N., Hassan, Z., Yusoff, W. M. W., & Fnaish, S. G. (2016). Antifungal activity of lactic acid bacteria strains isolated from natural honey against pathogenic Candida species. *Mycobiology*, *44*(4), 302–309.

Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, *50*(1–2), 131–149. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00082-3

Chaitanya, K. V., Pathan, A. A. K., Mazumdar, S. S., Chakravarthi, G. P., Parine, N., &

Bobbarala, V. (2010). Role of oxidative stress in human health: An overview. *Journal of Pharmacy Research*, *3*(6), 1330–1333.

Chaudhary, A., Verma, K., & Saharan, B. S. (2020). Probiotic Potential of Blueberry Jam

Fermented with Lactic Acid Bacteria. *Current Research in Nutrition & Food Science*, *8*(1).

Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, *49*(3), 481–493.

Chelule, P. K., Mokoena, M. P., & Gqaleni, N. (2010). Advantages of traditional lactic acid bacteria fermentation of food in Africa. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, *2*, 1160–1167.

Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét*, *147*, 315–324.

Dagnas, S. P., & Membré, J. M. (2013). Predicting and preventing mold spoilage of food products. *Journal of Food Protection*, *76*(3), 538–551. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-349

Defosse, T. A., Le Govic, Y., Courdavault, V., Clastre, M., Vandeputte, P., Chabasse, D., Bouchara, J.-P., Giglioli-Guivarc'h, N., & Papon, N. (2018). Les levures du clade CTG (clade Candida): biologie, incidence en santé humaine et applications en biotechnologie. *Journal de Mycologie Médicale*, *28*(2), 257–268.

Defraigne, J.-O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue Médicale de Liège*, *63*.

Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, *5*(5), 331–343.

Dicks, L., & Botes, M. (2010). Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. *Beneficial Microbes*, *1*(1), 11–29.

DÜz, Mü., DoĞan, Y. Nï., & DoĞan, İ. (2020). Antioxidant activitiy of Lactobacillus plantarum, Lactobacillus sake and Lactobacillus curvatus strains isolated from fermented Turkish Sucuk. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, *92*, e20200105.

E Obrenovich, M., Li, Y., Parvathaneni, K., B Yendluri, B., H Palacios, H., Leszek, J., & Aliev, G. (2011). Antioxidants in health, disease and aging. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, *10*(2), 192–207.

Emkani, M., Oliete, B., & Saurel, R. (2022). Effect of Lactic Acid Fermentation on Legume Protein Properties, a Review. *Fermentation*, *8*(6). https://doi.org/10.3390/fermentation8060244

Falsen, E., Pascual, C., Sjödén, B., Ohlén, M., & Collins, M. D. (1999). Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel Lactobacillus species from human sources: Description of Lactobacillus iners sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *49*(1), 217–221. https://doi.org/10.1099/00207713-49-1-217

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

Finley, J. W., Kong, A.-N., Hintze, K. J., Jeffery, E. H., Ji, L. L., & Lei, X. G. (2011). Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(13), 6837–6846.

Fritze, D., & Claus, D. (1995). Spore-forming, lactic acid producing bacteria of the genera Bacillus and Sporolactobacillus. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 368–391). Springer.

Gajbhiye, M. H., & Kapadnis, B. P. (2016). Antifungal-activity-producing lactic acid bacteria as biocontrol agents in plants. *Biocontrol Science and Technology*, *26*(11), 1451–1470.

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

Hajhashemi, V., Vaseghi, G., Pourfarzam, M., & Abdollahi, A. (2010). Are antioxidants helpful for disease prevention? *Research in Pharmaceutical Sciences*, *5*(1), 1.

Hartwell, L. H. (1970). Biochemical genetics of yeast. *Annual Review of Genetics*, *4*(1), 373–396.

Hervé, A., Cosette, G., Michèle, G.-B., Fabienne, R.-B., & Raphaëlle, T.-M. (2008). *Les bactéries lactiques en œnologie*. Lavoisier.

Hrelia, S., & Angeloni, C. (2021). New mechanisms of action of natural antioxidants in health and disease II. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 8, p. 1200). MDPI.

Ijadpanahsaravi, M., & Wösten, H. A. B. (2024). Germination strategies of stress resistant Aspergillus conidia. *Current Opinion in Food Science*, 101169. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2024.101169

Jach, M. E., Serefko, A., Ziaja, M., & Kieliszek, M. (2022). Yeast protein as an easily accessible food source. *Metabolites*, *12*(1), 63.

Jaffar, N. S., Jawan, R., & Chong, K. P. (2023). The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production-A mini review. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1047945.

Janssens, I., Lambrecht, B. N., & Van Braeckel, E. (2024). Aspergillus and the Lung. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, *45*(01), 3–20.

Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., & Krishnan, R. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, *7*(Suppl 2), S331–S333.

Kandola, K., Bowman, A., & Birch-Machin, M. A. (2015). Oxidative stress–a key emerging impact factor in health, ageing, lifestyle and aesthetics. *International Journal of Cosmetic Science*, *37*, 1–8.

Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*, *1*(3), 1–13.

Khan, I. T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M., & Jaspal, M. H. (2019). Antioxidant properties of Milk and dairy products: A comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in Health and Disease*, *18*, 1–13.

Kim, J.-D. (2005). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi against Aspergillus fumigatus. *Mycobiology*, *33*(4), 210–214.

Kim, S., Lee, J. Y., Jeong, Y., & Kang, C.-H. (2022). Antioxidant activity and probiotic properties of lactic acid bacteria. *Fermentation*, *8*(1), 29.

Kraft, S., Buchenauer, L., & Polte, T. (2021). Mold, mycotoxins and a dysregulated immune system: A combination of concern? *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(22). https://doi.org/10.3390/ijms222212269

Krishnan, S. V., Nampoothiri, K. M., Suresh, A., Linh, N. T., Balakumaran, P. A., Pócsi, I., & Pusztahelyi, T. (2024). Fusarium biocontrol: antagonism and mycotoxin elimination by lactic acid bacteria. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1260166.

Łepecka, A., Szymański, P., Okoń, A., & Zielińska, D. (2023). Antioxidant activity of environmental lactic acid bacteria strains isolated from organic raw fermented meat products. *LWT*, *174*, 114440.

Li, W., Wu, Q., Kwok, L., Zhang, H., Gan, R., & Sun, Z. (2024). Population and functional genomics of lactic acid bacteria, an important group of food microorganism: Current knowledge, challenges, and perspectives. *Food Frontiers*, *5*(1), 3–23.

Lidon, F., & Silva, M. M. (2016). *An overview on applications and side effects of antioxidant food additives.*

Liu, A., Xu, R., Zhang, S., Wang, Y., Hu, B., Ao, X., Li, Q., Li, J., Hu, K., & Yang, Y. (2022). Antifungal mechanisms and application of lactic acid bacteria in bakery products: A Review. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 924398.

Liu, N., Miao, S., & Qin, L. (2020). Screening and application of lactic acid bacteria and yeasts with l-lactic acid-producing and antioxidant capacity in traditional fermented rice acid. *Food Science & Nutrition*, *8*(11), 6095–6111.

Liu, Z., S. P. de Souza, T., Wu, H., Holland, B., R. Dunshea, F., J. Barrow, C., & A. R. Suleria, H. (2023). Development of Phenolic-Rich Functional Foods by Lactic Fermentation of Grape Marc: A Review. *Food Reviews International*, *00*(00), 1–20. https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2230278

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, *4*(8), 118.

Lopes, J. P., & Lionakis, M. S. (2022). Pathogenesis and virulence of Candida albicans. *Virulence*, *13*(1), 89–121. https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950

Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., & Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products–A review. *Trends in Food Science & Technology*, *79*, 136–147.

Lowe, D. P., & Arendt, E. K. (2004). The use and effects of lactic acid bacteria in malting and

brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing: a review. *Journal of the Institute of Brewing*, *110*(3), 163–180.

Lubrano, V., & Balzan, S. (2015). Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*, *5*(4), 218.

Martínez-Miranda, J. G., Chairez, I., & Durán-Páramo, E. (2022). Mannitol Production by Heterofermentative Lactic Acid Bacteria: a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *194*(6), 2762–2795. https://doi.org/10.1007/s12010-022-03836-5

Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients*, *12*(6), 1679.

Maya, K., Caract, M., Pierre, L. U., & Marie, E. T. (2012). *Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza Kahina Maya Makhloufi DOCTEUR DE l ' UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE Caractérisation d ' une bactériocine produite par une*.

MERMOURI, L. (2018). *Étude de l'effet de souches probiotiques de bactéries Lactiques (Lactobacillus spp.), isolées de produits fermentés, sur la valeur nutritive de fourrages conservés par ensilage.* Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie-Mohamed Boudiaf ….

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

Mishra, V., Shah, C., Mokashe, N., Chavan, R., Yadav, H., & Prajapati, J. (2015). Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(14), 3615–3626.

Mofredj, A., Bahloul, H., & Chanut, C. (2007). Lactococcus lactis : un pathogène opportuniste ? *Medecine et Maladies Infectieuses*, *37*(4), 200–207. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2007.01.005

Muñoz, R., Moreno-Arribas, M., & de las Rivas, B. (2011). Lactic acid bacteria. *Molecular Wine Microbiology*, 191–226.

Murray, B. E. (1990). The life and times of the Enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, *3*(1), 46–65.

Nasrollahzadeh, A., Mokhtari, S., Khomeiri, M., & Saris, P. E. J. (2022). Antifungal preservation of food by lactic acid bacteria. *Foods*, *11*(3), 395.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, *10*(4), 86.

Odds, F. C. (1987). Candida infections: an overview. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, *15*(1), 1–5.

Pawlowska, A. M., Zannini, E., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2012). "Green preservatives": combating fungi in the food and feed industry by applying antifungal lactic acid bacteria. *Advances in Food and Nutrition Research*, *66*, 217–238.

Petrova, P., Arsov, A., Tsvetanova, F., Parvanova-Mancheva, T., Vasileva, E., Tsigoriyna, L., & Petrov, K. (2022). The complex role of lactic acid bacteria in food detoxification. *Nutrients*, *14*(10), 2038.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*(1), 8416763.

Preiser, J. (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, *36*(2), 147–154.

Prior, R. L., & Wu, X. (2013). Diet Antioxidant Capacity: Relationships to Oxidative Stress and Health. *American Journal of Biomedical Sciences*, *5*(2).

Reddy, V. P. (2023). Oxidative stress in health and disease. *Biomedicines*, *11*(11), 2925.

Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, *4*, 124–140.

Riolo, M., Luz, C., Santilli, E., Meca, G., & Cacciola, S. O. (2023). Antifungal activity of selected lactic acid bacteria from olive drupes. *Food Bioscience*, *52*, 102422.

Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, *16*(1–3), 70–78.

Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1–37). ACS Publications.

Sevgi, E., & Tsveteslava, I.-I. (2015). Antifungal activity of lactic acid bacteria, isolated from

Bulgarian wheat and rye flour. *J. Life Sci*, *9*, 1–6.

Shi, C., & Maktabdar, M. (2022). Lactic acid bacteria as biopreservation against spoilage molds in dairy products–A review. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 819684.

Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, *25*(12), 1058–1071.

Sies, H. (2018). On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, *7*, 122–126.

Simatupang, M. M. (2009). Candida albicans. *Skripsi. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara*.

Slater, T. F. (1988). Free radical mechanisms in tissue injury. *Cell Function and Disease*, 209–218.

Soomro, A. H., Masud, T., & Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, *1*(1), 20–24.

Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, *36*(1), 1–29.

Stobiecka, M., Król, J., & Brodziak, A. (2022). Antioxidant activity of milk and dairy products. *Animals*, *12*(3), 245.

Su, J., Wang, T., Li, Y.-Y., Li, J., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, H., & Li, H. (2015). Antioxidant properties of wine lactic acid bacteria: Oenococcus oeni. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*, 5189–5202.

Vazquez-Munoz, R., & Dongari-Bagtzoglou, A. (2021). Anticandidal activities by Lactobacillus species: an update on mechanisms of action. *Frontiers in Oral Health*, *2*, 689382.

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

Vougiouklaki, D., Tsironi, T., Tsantes, A. G., Tsakali, E., Van Impe, J. F. M., & Houhoula, D. (2023). Probiotic Properties and Antioxidant Activity In Vitro of Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms*, *11*(5), 1264.

Walczak–Jedrzejowska, R., Wolski, J. K., & Slowikowska–Hilczer, J. (2013). The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European Journal of Urology*, *66*(1), 60.

Wang, H., & Li, L. (2022). Comprehensive evaluation of probiotic property, hypoglycemic ability and antioxidant activity of lactic acid bacteria. *Foods*, *11*(9), 1363.

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*, 612285.

Yang, C. S., Ho, C.-T., Zhang, J., Wan, X., Zhang, K., & Lim, J. (2018). Antioxidants: Differing meanings in food science and health science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(12), 3063–3068.

Yoshikawa, T., & Naito, Y. (2002). What is oxidative stress? *Japan Medical Association Journal*, *45*(7), 271–276.

Yu, A. O., Leveau, J. H. J., & Marco, M. L. (2020). Abundance, diversity and plant-specific adaptations of plant-associated lactic acid bacteria. *Environmental Microbiology Reports*, *12*(1), 16–29. https://doi.org/10.1111/1758-2229.12794

Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, *11*(9), 1283.

Zhang, S., Liu, L., Su, Y., Li, H., Sun, Q., Liang, X., & Lv, J. (2011). Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. *Afr J Microbiol Res*, *5*(29), 5194–5201.

ANNEXE

Annexe

Annexe 01 :

Milieux de cultures

Milieux MRS composition

Ingrédients	**L'unité**
Peptone	10,00 g
Extrait de viande	8,00 g
Extrait de levure	4,00 g
Sodium acétate	5,00 g
Di-potassium hydrogénophosphate	2,00 g
Polysorbate 80	1,00 g
Ammonium citrate	2,00 g
Magnésium sulfate	0,10 g
Manganèse sulfate	0,05 g
Glucose	20,00 g
Agar	10,00 g
Tween 80	1,00 ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Milieux PDA composition

Ingrédients	**L'unité**
Infusion de pomme de terre	200,00 g
Glucose	20,00 g
Agar	15,00 g

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Milieux Sabouraud composition

Ingrédients	**L'unité**
Peptone	10,00 g

Glucose (ou Dextrose)	40,00 g
Agar	15,00 g

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Bouillon MRS composition

Ingrédients	**L'unité**
Peptone	10,00 g
Extrait de viande	8,00 g
Extrait de levure	4,00 g
Sodium acétate	5,00 g
Di-potassium hydrogénophosphate	2,00 g
Polysorbate 80	1,00 g
Ammonium citrate	2,00 g
Magnésium sulfate	0,10 g
Manganèse sulfate	0,05 g
Glucose	1,00 g
Tween 80	1,00 ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Bouillon GN composition (A pH=7,5)

Ingrédients	**L'unité**
Peptone	15,00 g
Extrait de levure	3,00 g
Glucose	1,00 g
NaCl	6,00 g

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Annexe 02

Solution PBS

Pour préparer 1000 ml de PBS:

10,2 g KH2PO4 17,9 g NA2HPO4

Annexe 03

Matériel et Appareillage

Autoclave	Plaque chauffante
Bain marie	Microscope optique
Etuve	Micropipette
Spectrophotomètre	Boites de pétri
Centrifugeuse	Bec bunsen
Réfrigérateur	Anse de platine
Vortex	Pinces
Congélateur	Les tubes
Balance	Lames
PH mètre	Pipette pasteur
Eppendorfs	Jarre d'anaérobiose