



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'Environnement « LAMAABE »

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

DAOUD Fatiha & SERIR Maroua

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Microbiologie et Contrôle de Qualité

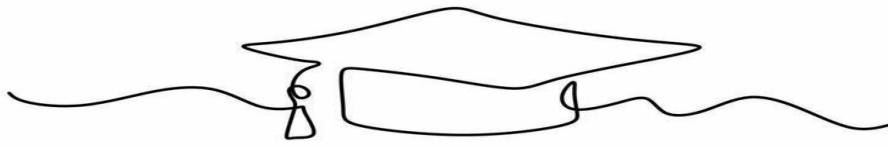
Thème

***Effet antibiofilm des *Lactobacillus* sp. vis-à-vis des souches
pathogènes gastro-intestinales***

Soutenu le **25/06/2025** devant le jury composé de :

Président	AYAD Amel	MCB	Univ. de Tlemcen
Encadrant	MEZIANI Zahira	MCB	Univ. de Tlemcen
Examineur	NAS Fatima	MCB	Univ. de Tlemcen

Année Universitaire : 2024-2025



Remerciements

Ce mémoire marque la fin d'un parcours, mais aussi l'aboutissement de plusieurs mois de travail, d'efforts, de doutes parfois et de belles découvertes. À ce titre, nous souhaitons remercier toutes les personnes qui ont, d'une manière ou d'une autre, participé à cette expérience.

Tout d'abord, nous remercions **DIEU** Tout-Puissant pour nous avoir donné la force et la persévérance nécessaires pour achever ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, **Mme MEZIANI Zahira**, pour sa présence, ses conseils, sa patience, et surtout pour la confiance qu'elle nous a témoignée durant toute ce travail. Grâce à ses remarques pertinentes et son accompagnement précieux, nous avons pu avancer et organiser nos pensées de manière claire.

Nous tenons aussi à exprimer notre reconnaissance à **Mme AYAD Amel** et **Mme NAS Fatima**, membres du jury, pour avoir consenti à évaluer ce travail et pour leurs remarques constructives qui ont contribué à son perfectionnement.

Merci au laboratoire **LAMAABE** de l'université **Abou bekr - Belkaid** pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous tenons également à remercier tous les enseignants et intervenants rencontrés durant notre cursus pour la richesse de leur enseignement et leur engagement. Grâce à eux, nous avons pu élargir notre connaissance.

Enfin, nous n'oublions pas de remercier tous nos collègues du laboratoire pour leur accueil bienveillant et leur soutien inestimable.

Merci à tous.



Dédicace

Avec tout mon amour et ma reconnaissance, je dédie ce travail à tous ceux qui sont chers.

À ma chère mère,

À mon cher père,

Vous qui avez toujours cru en moi, dont l'amour inconditionnel, les sacrifices et les encouragements ont été ma plus grande source de motivation. Sans vous, ce chemin aurait été bien plus ardu.

À mes chères sœurs,

Piliers de ma vie, qui ont toujours cru en moi et m'ont soutenue dans les moments de doute. Votre présence et vos mots réconfortants m'ont donné la force d'avancer.

À mes chères amies,

Compagnons de route, qui ont su me soutenir, m'encourager et m'apporter de la joie même dans les périodes les plus intenses. Votre présence a rendu cette aventure plus belle et plus légère.

À ma chère binôme Maroua,

Qui est devenue une amie chère et une collaboratrice talentueuse. Tu as été une source d'inspiration et de motivation pour moi tout au long de ce parcours.

Et enfin, à moi-même,

Pour avoir persévéré malgré les doutes, pour avoir cru en mes capacités, et pour n'avoir jamais abandonné.

Ce travail est le fruit de votre soutien infaillible.

Je vous exprime ma reconnaissance pour votre présence et votre soutien qui ont marqué positivement ma vie. Merci du fond du cœur.

Fatiha...





Dédicace

*Tout d'abord, je tiens à remercier **Dieu** de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

Au meilleur des pères NASREDINNE

Mon héros, le pilier de ma vie... Pour ton amour, ta patience, les valeurs que tu m'as transmises et surtout ta confiance en moi, tout cela a fait de moi une personne forte et courageuse. Ta petite fille, aujourd'hui, réalise un rêve grâce à toi. Cher papa, Je te promets de toujours te rendre fier de moi et de réaliser tout ce qu'il y a de meilleur pour toi

À ma mère RABIAA ... ma source de patience

Celle qui m'a portée, guidée, encouragée sans jamais faiblir. Tes sacrifices et tes pas à mes côtés sur le chemin de l'école restent gravés dans ma mémoire. Merci pour tes prières discrètes, merci pour ton soutien, qui m'a poussée à persévérer pour atteindre mes objectifs.

À mon seul frère WALID

À qui je souhaite un avenir plein de réussite.

Tu as toujours été mon premier allié et mon confident, Merci d'être toujours là prêt à m'encourager et à me relever et d'avoir partagé mes joies comme mes doutes, Je suis fière d'être ta sœur...

À mes copines

*Et tout particulièrement **AYA, CHAHINEZ et ACHWAK**... votre présence dans ma vie suffit à remplir mes jours d'espoir.*

À ma famille SERJIR et ABDELLOAOUI

*Tout précisément **ABDOU, AMINA et SALIMA** Merci pour vos soutiens et votre amour*

*À mon binôme **FATIHA** je te témoigne toute ma gratitude pour chaque défi relevé et pour avoir rendu ce parcours bien plus enrichissant.*

Je ne manquerai pas de remercier tous les professeurs qui m'ont suivi pendant mon parcours d'études.

Et enfin... à moi

Cette fille pleine d'espoir. Après ce long parcours, après tous ces souvenirs, parfois joyeux, parfois douloureux... Personne ne peut vraiment comprendre ce que j'ai traversé pour que cette petite fille, armée de patience et de volonté, puisse rêver d'un avenir meilleur.

Aujourd'hui, tu arrives au terme de ton parcours universitaire, et tu peux enfin dire : Oui, je l'ai fait !

Maroua...



ملخص

هذا البحث يدرس تأثير المضاد الحيوي لنوعين مختلفين من العصيات اللبنية معزولة من براز الرضع على مختلف البكتيريا المسببة للأمراض المعدية المعوية. تم استخدام طريقة الصفيحة الدقيقة لتحديد قدرة البكتيريا على تكوين الأغشية الحيوية قبل وبعد تطبيق المادة الطافية. أظهر تأثير الأغشية الحيوية لسلاسل ل ب 1 و ل ب 2 من العصيات اللبنية على السلالات المسببة للأمراض نتائج متشابهة جدا، كلاهما لديه قدرة عالية على تثبيط الأغشية الحيوية على جميع البكتيريا المسببة للأمراض مثل : العصوية الشمعية، العصوية الرقيقة، الاشريكية القولونية، الكروية العنقودية الذهبية وكليبيسيلا الرئوية و انخفاض ملحوظ جدا في الكثافة الضوئية للزائفة الزنجارية من 1,1 الى 0,13. توضح هذه النتائج دور العصيات اللبنية كعوامل مضادة للأغشية الحيوية الذي يفتح آفاقا جديدة للعلاج من التهابات الجهاز الهضمي.

الكلمات المفتاحية: العصيات اللبنية، الأغشية الحيوية، المادة الطافية، البكتيريا المسببة للأمراض، الجهاز الهضمي، المضادات الحيوية.

Summary

This research studies the antibiofilm effect of two strains of *Lactobacillus sp.* isolated from the feces of infants on various gastrointestinal pathogenic bacteria. The microplate method was used to determine the ability of pathogenic bacteria to form the biofilm before and after the application of the supernatant. The antibiofilm effect of the Lb1 and Lb2 strains of *Lactobacillus sp.* on the pathogenic strains showed very similar results, they both have a high ability to inhibit the biofilm on all pathogenic bacteria such as: *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae* and a very remarkable decrease in the DO of *P. aeruginosa* from 1.1 to 0.13. These results show the role of lactobacilli as antibiofilm agents which open up new perspectives for the treatment of gastrointestinal infections.

Keywords: *Lactobacillus sp.*, biofilm, supernatants, pathogenic bacteria, gastrointestinal, antibiofilm.

Résumé

Cette recherche étudie l'effet antibiofilm de deux souches de *Lactobacillus sp.* isolées des selles des nourrissons sur diverses bactéries pathogènes gastro-intestinales. La méthode de microplaque a été utilisée pour déterminer la capacité des bactéries pathogènes à former le biofilm avant et après application du surnageant. L'effet antibiofilm des souches Lb1 et Lb2 de *Lactobacillus sp.* sur les souches pathogènes ont montré des résultats très semblables, elles ont toutes les deux une grande capacité d'inhibition du biofilm sur toutes les bactéries pathogènes tels : *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et une diminution très remarquable de la DO de *P. aeruginosa* de 1.1 à 0,13. Ces résultats attestent le rôle des lactobacilles comme agents antibiofilm qui ouvre ainsi de nouvelles perspectives pour le traitement des infections gastro-intestinales.

Mots-clés : *Lactobacillus sp.*, biofilm, surnageants, bactéries pathogènes, gastro-intestinales, antibiofilm.

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<i>Introduction</i>	1
<i>Partie bibliographique</i>	3
<i>Chapitre 1 :Le microbiote intestinal et les souches pathogènes gastro-intestinales</i>	4
1.1 Le microbiote intestinal.....	5
1.2 Les facteurs influençant sur le microbiote intestinal.....	6
1.3 La flore pathogène.....	6
1.3.1 Les bactéries entéro-invasives.....	6
1.3.2 Les bactéries entéro-toxinogène.....	7
<i>Chapitre 2 : Exploration de l'activité antibiofilm des Lactobacillus sp.</i>	14
2.1 Définition des <i>Lactobacillus sp.</i>	15
2.2 Habitat	15
2.3 Caractères généraux	15
2.3.1 Caractères morphologiques	15
2.3.2 Caractères biochimiques	16
2.3.3 Caractères culturels et exigences nutritionnelles	17
2.4 Identification	18
2.5 Mécanismes d'action des <i>Lactobacillus sp.</i>	18
2.5.1 Renforcement de la barrière épithéliale	18
2.5.2 Production des substances antimicrobiennes	19
2.5.3 Compétition pour l'adhésion aux surfaces	21
2.5.4 Compétition pour les nutriments	22
2.5.5 Modulation du système immunitaire.....	22
2.6 Effet anti-biofilm des <i>Lactobacillus sp.</i>	22
2.6.1 Phénomènes de compétition.....	23
2.6.2 Co - agrégation	23
2.6.3 Production de biosurfactants	23
2.6.4 Modifications transcriptionnelles.....	24
<i>Chapitre 3 :Les biofilms bactériens</i>	25

3.1	Définition	26
3.2	Composition et organisation.....	26
3.2.1	Composition	26
3.2.2	Organisation	28
3.3	Les étapes de formation d'un biofilm	29
3.3.1	Adhésion réversible (non spécifique).....	29
3.3.2	Adhésion irréversible (spécifique)	30
3.3.3	Formation de micro-colonies	30
3.3.4	Maturation du biofilm	31
3.3.5	Dispersion du biofilm.....	32
3.4	Les facteurs influençant la formation de biofilm	32
3.5	Régulation de la formation de biofilm	32
	<i>Partie expérimentale</i>	34
	<i>Chapitre 1 : Matériel et méthodes</i>	35
1.1	Matériel	36
1.1.1	Matériel biologique	36
1.1.1.1	Bactéries	36
1.2	Méthodes	37
1.2.1	Revivification des lactobacilles.....	37
1.2.2	Vérification de la pureté des lactobacilles.....	37
1.2.3	Caractérisation phénotypique	37
1.2.3.1	Examen macroscopique.....	37
1.2.3.2	Examen microscopique	38
1.2.4	Repiquage des souches pathogènes.....	38
1.2.5	Conservation des souches.....	38
1.2.6	Détection de l'effet antibiofilm de <i>Lactobacillus sp.</i> sur les souches pathogènes gastro-intestinales.....	38
1.2.6.1	Étude de la formation de biofilm des souches pathogènes gastro-intestinales	38
1.2.6.2	Etude de l'effet antibiofilm des surnageant des lactobacilles sur les souches pathogènes gastro-intestinales.....	40
	<i>Chapitre 2 : Résultats et discussion</i>	41
2.1	Revivification des lactobacilles.....	42
2.2	Vérification de la pureté des lactobacilles.....	42

2.3	Caractérisation phénotypique	42
2.3.1	Examen macroscopique.....	42
2.3.2	Examen par microscope optique	43
2.4	Repiquage des souches pathogènes	43
2.5	Résultats de la formation de biofilm	44
2.6	Résultats de l'effet antibiofilm des <i>Lactobacillus sp.</i> sur les souches pathogènes gastro-intestinales.....	46
2.7	Comparaison entre l'activité antibactérienne et antibiofilm des souches Lb1 et Lb2	51
	<i>Conclusion et perspectives</i>	53
	<i>Références bibliographiques</i>	55
	<i>Annexes</i>	77

Liste des abréviations

- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ADNr-16S : Acide Désoxyribonucléique ribosomal 16S
- API 50 CH : Analytical Profile Index - 50 Carbohydrates
- API ZYM : Analytical Profile Index for enzymatic activity
- B3 : Niacine
- B5 : Pantothénate
- B12 : Cobalamine
- Ca²⁺ : Calcium
- CFS : Cell free supernatant
- CV : Cristal Violet
- DO : Densité Optique
- EPS : Exopolysaccharide
- Fe²⁺ : L'ion ferreux
- Fe³⁺ : Ion Ferrique
- IgA : Immunoglobuline A
- PKC : Protéine Kinase C
- Lb : Lactobacillus
- LRA ZYM : Lactic Acid Bacteria Rapid Zymogram
- Mbp : Méga paires de bases
- Mg²⁺ : Magnésium
- Mn²⁺ : Manganèse
- MRS : Man, Rogosa et Sharpe
- Na⁺ : Sodium
- pH : Potentiel Hydrogène
- QS : Quorum Sensing
- sp. : Espèce non précisée
- TCP : Toxin-coregulated pilus
- UFC : Unité Formant Colonies
- µl : Microlitre

Liste des figures

Figure 1 : Mécanisme entéro-invasif des toxi-infections alimentaires à tropisme intestinale. ..	7
Figure 2 : Mécanisme d'action des entéro-toxines.....	8
Figure 3 : Observation au microscope optique : a) <i>Bacillus subtilis</i> et b) <i>Bacillus cereus</i>	9
Figure 4 : Observation par microscopie électronique à balayage de <i>Bacillus cereus</i>	9
Figure 5 : Observation d' <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique	10
Figure 6 : Image tridimensionnelle de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> générée par ordinateur (3D)	11
Figure 7 : Observation par microscopie électronique à balayage de <i>Staphylococcus aureus</i> (×10000).....	12
Figure 8 : Micro-morphologie de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
Figure 9 : observation par microscope électronique : A : <i>Lactobacillus casei</i> et B : <i>Lactobacillus helveticus</i> (×3000)	16
Figure 10 : Aspect macroscopique des colonies de lactobacilles isolées sur gélose MRS	17
Figure 11 : Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par un effet barrière dû à l'adhésion spécifique (a) et non spécifique (b) des probiotiques	21
Figure 12 : Les principaux mécanismes d'action des probiotiques	22
Figure 13 : Image en microscopie confocale d'un biofilm bactérien mixte	27
Figure 14 : Formation d'un biofilm bactérien.....	29
Figure 15 : Schéma illustrant l'ensemencement par stries.....	37
Figure 16 : Aspect macroscopique des colonies des deux souches de lactobacilles (Lb1, Lb2) cultivées sur gélose MRS.	42
Figure 17 : Observation microscopique des <i>Lactobacillus sp.</i> après coloration de gram (Gx100).	43
Figure 18 : Résultats de repiquage des souches pathogènes gastro-intestinales.....	43
Figure 19 : Résultats de la formation de biofilm par la technique TCP des souches pathogènes gastro-intestinales.....	45
Figure 20 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb1 sur les souches pathogènes gastro- intestinales.....	49
Figure 21 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb2 sur les souches pathogènes gastro- intestinales.....	49
Figure 22 : Effet antibiofilm des surnageants des souches Lb1 et Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.....	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Origine des souches pathogènes gastro-intestinales.....	36
Tableau 2 : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP	40
Tableau 3 : Résultats de l'évaluation et de la formation de biofilm.	44
Tableau 4 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb1 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.	46
Tableau 5 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.	47

Introduction

Introduction

Le microbiote intestinal humain, qui regroupe divers microorganismes tels que des bactéries, des virus, des champignons et des archaea (**Dolié, 2018**) a une importance cruciale pour la santé humaine. Il contribue à la digestion, régule le système immunitaire et défend contre les agents pathogènes (**Valdes et al., 2018**).

La formation du microbiote intestinal chez les nourrissons est une étape essentielle qui débute dès la naissance et connaît des changements considérables durant les premiers mois de vie (**Palmer et al., 2007 ; Van den Elsen et al., 2019**).

Un déséquilibre dans le microbiote intestinal peut aussi favoriser la prolifération de bactéries nocives (**Fontenille et al., 2009**) responsables de nombreuses infections bactériennes durables et chroniques, en particulier au niveau du système gastro-intestinal.

Les infections gastro-intestinales figurent parmi les principales sources de morbidité et de mortalité dans le monde entier. En raison de leur fréquence et de leur gravité, elles constituent un défi crucial pour la santé publique (**Baiya et Soraa, 2022**).

Ces infections sont fréquemment causées par divers agents infectieux, dont *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces pathogènes se distinguent par leur capacité notable à persister dans l'appareil digestif humain, notamment via la formation de biofilm.

La formation de ces communautés fixées et leur résistance naturelle aux agents antimicrobiens sont les causes principales de plusieurs infections bactériennes. Ainsi, les biofilms constituent un défi majeur dans la gestion efficace de ces infections (**Costerton et al., 1999**).

Les bactéries du genre *Lactobacillus* revêt le statut de probiotiques grâce à leurs effets positifs sur la santé de l'hôte et la prévention des maladies (**Zhang et al., 2018**). Ces bactéries s'établissent dans les voies gastro-intestinales et urinaires des êtres humains, constituant ainsi un élément essentiel de la flore microbienne. On les perçoit comme des entités protectrices et on suppose qu'elles freinent le développement des agents pathogènes par la production d'acide lactique et d'autres métabolites (**Slover et Danziger, 2008**).

Les souches de lactobacilles isolées des nourrissons possèdent des caractéristiques probiotiques antimicrobiennes et antibiofilm qui empêchent la prolifération des agents pathogènes gastro-intestinaux, régulent l'environnement intestinal, renforcent la barrière

Introduction

épithéliale et diminuent l'inflammation. Ainsi, *Lactobacillus* participe à la prévention ou au traitement des infections (**Plaza-Díaz et al., 2017 ; Hu et al., 2022 ; Behbahani et al., 2024**).

En tirant parti des avantages des souches de *Lactobacillus sp.*, nous avons formulé l'objectif de cette recherche :

- ✓ Explorer l'effet anti-biofilm de ces souches isolées de la matière fécale des nourrissons sur des souches pathogènes gastro-intestinales formatrices de biofilm.

Partie Bibliographique

Chapitre 1 :
Le microbiote intestinal et les souches
pathogènes gastro-intestinales

1.1 Le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal également appelé la flore intestinale ; est un écosystème complexe qui compose les micro-organismes vivants (notamment les virus, les bactéries, les champignons et les archées). Il se trouve entre la lumière du tube digestif et le mucus qui présent aux surfaces de l'épithélium intestinal. Tout au long du tube digestif, sa concentration est maximale dans l'intestin grêle et du côlon. Au total, chaque individu abrite 10^{14} micro-organismes sur son tractus intestinal **(Dolié, 2018)**.

L'équilibre crée par la diversité qualitative et quantitative du microbiote intestinal, est perçu comme unique à chaque individu, comme l'empreinte digitale **(Sommer et Bäckhed, 2013)**.

Le microbiote commence à se former durant la grossesse et la colonisation bactérienne commence instantanément après la naissance avec une flore rudimentaire issue des flores maternelles et de l'environnement immédiat. Son instauration se réalise en fonction de son exposition aux micro-organismes maternels avec une interaction bien plus importante lors d'un accouchement naturel comparé à une césarienne, ainsi qu'en fonction de facteurs environnementaux selon l'endroit de naissance et le contact avec le groupe médical **(Campeotto et al., 2007 ; Jost, et al., 2012)**.

Par la suite, le nourrisson est constamment confronté à de diverses bactéries issues de son environnement, de son alimentation et des bactéries cutanées des adultes **(Burcelin et al., 2016)**.

La cinétique d'installation de la flore suit un schéma plutôt structuré. Les premières bactéries à envahir dans les 24 à 48 heures suivant la naissance, ce sont principalement des bactéries aérobies facultatives anaérobies : en premier lieu les entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, suivies des staphylocoques et des entérocoques. Ces bactéries aérobies-anaérobies facultatives consomment de l'oxygène et peuvent rapidement atteindre 10^{10} et 10^{11} unités formant colonie (UFC) par gramme du contenu colique, ce qui diminue le potentiel redox de la lumière gastro-intestinale. Ce changement autorise l'implantation de bactéries strictement anaérobies du genres *Bifidobacterium*, *Bactéroïdes*, *Clostridium* et *Lactobacillus* durant le deuxième ou troisième jour de vie. En revanche, quand l'oxygène se réduit, le taux de production des genres aérobies est également réduit **(Cilieborg et al., 2012)**.

1.2 Les facteurs influençant sur le microbiote intestinal

Divers facteurs influencent la colonisation du tube digestif, y compris l'alimentation riche en fibres fermentescibles favorise une diversité bactérienne élevée, tandis qu'un régime riche en viandes et graisses animales peut diminuer cette diversité et favoriser des espèces pathogènes résistantes (**Rahmouni et al., 2016**), l'administration d'antibiotiques perturbent considérablement le microbiote et éliminent également les bactéries bénéfiques. De plus, le déroulement de la grossesse, le terme de naissance et le type d'accouchement (vaginal ou césarienne) (**Noémie, 2016**). Les bébés nés par voie vaginale acquièrent un microbiote plus riche que ceux nés par césarienne (**Dominguez-Bello et al., 2010**). Ainsi que les conditions d'hygiène présentes autour du bébé et sa mère au moment de l'accouchement (**Noémie, 2016**). Le mode d'alimentation du nourrisson a aussi un impact notable sur la composition de sa flore intestinale, le lait maternel favorise la croissance de bactéries bénéfiques comme les lactobacilles (**Cibik et al., 2004**).

1.3 La flore pathogène

L'infection du microbiote intestinal par des bactéries pathogènes s'effectue par deux façons : directement par le contact de personne à personne ; souvent par les mains contaminées, ou indirectement via la consommation d'aliments ou d'eau contaminés, ou encore par contact avec des surfaces ou des objets contaminés (**Dearlove et al., 2016 ; Malbos, 2023**).

Un déséquilibre dans le microbiote intestinal peut également encourager la multiplication de ces bactéries potentiellement nuisibles augmentant donc le risque de multiples pathologies (**Fontenille et al., 2009**). Quand des bactéries pathogènes dominent le microbiote intestinal à cause aux conditions favorables, cela entraîne un déséquilibre connu sous le nom de dysbiose ; inhibant la fonction intestinale normale et fragilisant la barrière intestinale (**Bien et al., 2013**). Cette perturbation peut provoquer des impacts délétères sur la santé globale entraînant différents symptômes tels que : la fièvre, les vomissements, la déshydratation, les nausées, l'anorexie, les maux d'estomac et la diarrhée... (**Mengelle et al., 2013**).

1.3.1 Les bactéries entéro-invasives

Dans une affection diarrhéique plus invasive, l'agent pathogène pénètre dans la paroi de l'intestin grêle ou gros et touche la muqueuse ainsi que les couches de tissus sous-jacents. Les symptômes et les signes incluent des douleurs rectales et la présence du sang dans les selles et une ulcération de la muqueuse interne. La perte du liquide due à la diarrhée provoque une déshydratation grave et dans certains cas peut conduire à la mort. Les nouveau-nés sont

particulièrement vulnérables aux maladies diarrhéiques à cause de leurs petites réserves de fluide et de leur système immunitaire qui est encore en développement (Napoca, 2012).

Ce processus implique l'invasion bactérienne dans l'épithélium intestinal, soit en surface ou en profondeur dans la muqueuse du côlon, ce qui entraîne une diarrhée infectieuse aiguë. Les matières fécales peuvent alors contenir du sang, du mucus et du pus. On parle alors de dysenterie ; une forme de diarrhée très grave, douloureuse et accompagnée de fièvre. Au niveau histologique, on observe des ulcérations accompagnées d'une réponse inflammatoire marquée au niveau de la lamina propria (Pilly, 2008). *Salmonella*, d'autres souches de *Shigella*, *E. coli* et *Yersinia* sont responsables de ce type de maladie intestinale (Eyquem et al., 2000) (Figure 1).

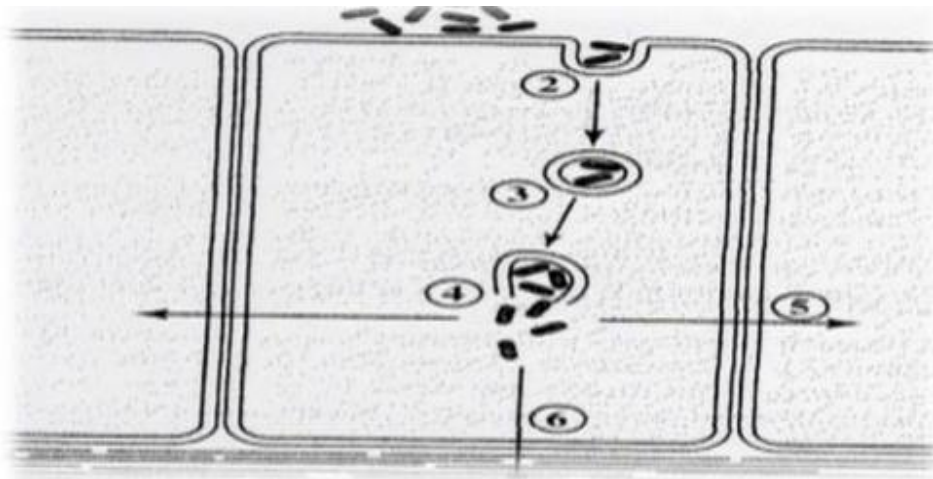


Figure 1: Mécanisme entéro-invasif des toxi-infections alimentaires à tropisme intestinale.

- 1) adhésion ; 2) invasion ; 3) multiplication intracellulaire ; 4) et 5) propagation latérale ;
6) inflammation et lésions tissulaires (Pilly, 2008).

1.3.2 Les bactéries entéro-toxinogène

Les entérotoxines, qui sont des macroprotéines produites par des bactéries pathogènes exercent leur action dans l'intestin de l'homme ou des animaux. Elles sont généralement à l'origine de diarrhées (qu'elles soient liées ou non à des lésions tissulaires). Ces molécules présentent des différences notables en termes de structure et de mécanisme d'action.

Certaines d'entre elles (toxine de *Escherichia coli*, toxine cholérique) fonctionnent en stimulant un système cyclasique (adénylate ou guanylate cyclase) dans l'entérocyte, induisant un passage d'eau et d'électrolytes vers la lumière intestinale. D'autres, toxines A et B de *Clostridium difficile*, entérotoxine de *Clostridium perfringens* et vérotoxine induisent des altérations des fonctions cellulaires (perméabilité aux petites molécules et synthèse protéique)

par le biais de mécanismes perturbateurs entraînant des lésions tissulaires dans l'intestin associés à une réaction inflammatoire. La plupart de ces entérotoxines ciblent principalement un récepteur membranaire qu'elles reconnaissent spécifiquement à la surface de l'entérocyte (Lucas et al., 1991) c'est le cas de *Vibrio cholerae*, d'*Escherichia coli* entérotoxigène et de *Clostridium perfringens*. Par contre, pour *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, des toxines sont générées dans les aliments et la consommation d'aliments contaminés peut provoquer une infection qui se traduit par une diarrhée aqueuse (Pilly, 2008) (Figure 2).

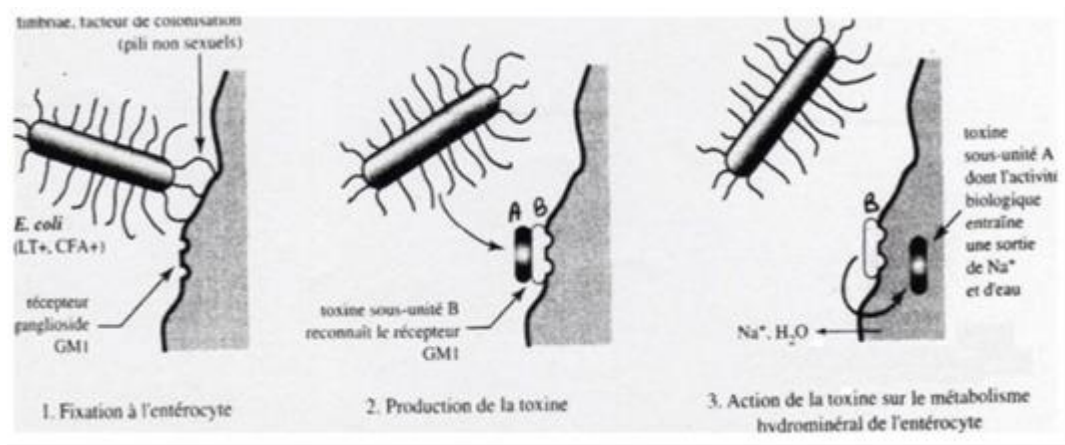


Figure 2 : Mécanisme d'action des entéro-toxines (Pilly, 2008).

a) *Bacillus sp*

Le genre *Bacillus* est un genre de bactéries à Gram positif, en forme de bâtonnets droit ou légèrement recourbé, apparaissant seul ou en pair, parfois en chaîne ou même en filaments allongés, ces bactéries sont généralement mobiles et peuvent être aérobies ou anaérobies facultatifs, le plus souvent sont catalase positive et donnent des réponses variables au test d'oxydase (Logan et Vos, 2015). Elles ont la capacité de produire des endospores, une seule endospore étant générée par cellule et sont résistantes à diverses conditions défavorables tels que : la chaleur, les radiations, le froid, les désinfectants et à la dessiccation (Tumbull et al., 1996). Essentiellement séparé du sol ou d'environnements qui pourraient avoir été contaminés directement ou indirectement par le sol, mais également présent dans l'eau, la nourriture et les échantillons médicaux (Logan et Vos, 2015).

Elles ont des différences majeures, en termes de pathogénicité. Il existe deux types d'intoxication alimentaire à *Bacillus cereus* : le premier type due à une toxine émétique provoque des vomissements, alors que le second type est lié à une ou plusieurs entérotoxines est responsable de diarrhées (Granum et Lindbäck, 2012). La toxine émétique est générée par

les cellules qui se multiplient dans les aliments (**Kramer et Gilbert, 1989**), tandis que la toxine entérotoxine se forme lors de la croissance végétative de *B. cereus* dans l'intestin grêle (**Granum, 1994**). Bien que le *Bacillus subtilis* soit moins pathogène que le *Bacillus cereus*, il est également associé à des maladies liées à l'alimentation. Les vomissements sont les symptômes les plus fréquents, cependant des épisodes de diarrhée ont également été souvent rapportés (**Logan, 2012**). En outre, *B. subtilis* peut résister à certains antibiotiques comme les bêta-lactamines (**Fiedler et al., 2019**) (**Figure 3, 4**).

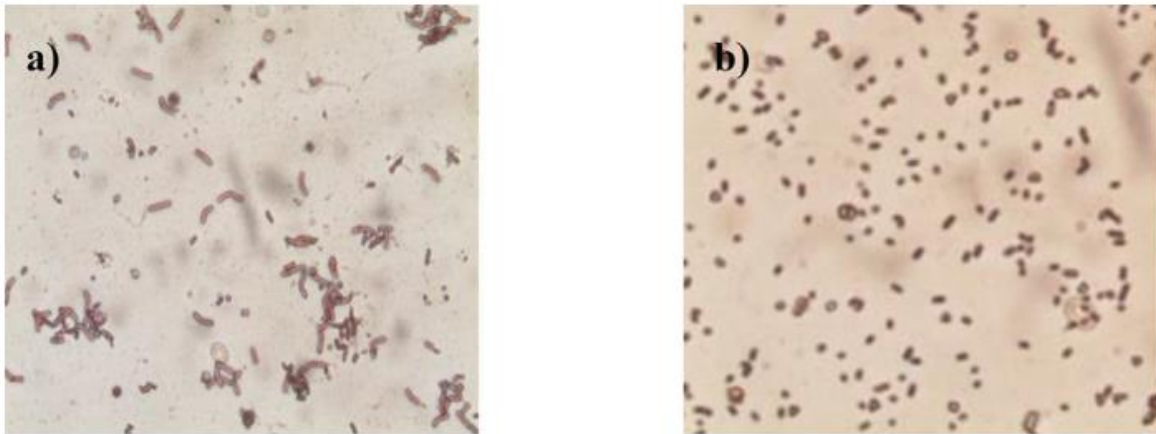


Figure 3 : Observation au microscope optique : a) *Bacillus subtilis* et b) *Bacillus cereus* (**Durga et al., 2021**).

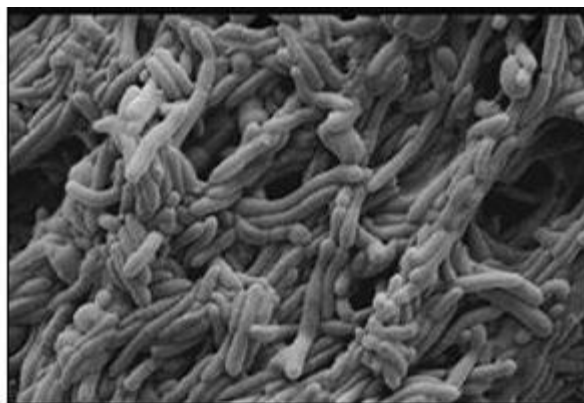


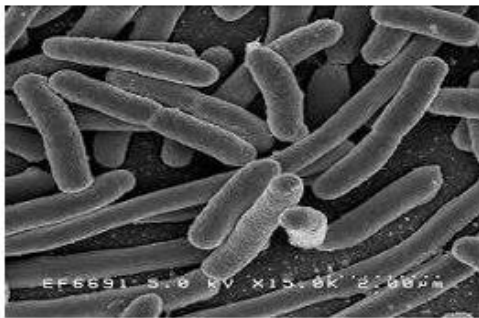
Figure 4 : Observation par microscopie électronique à balayage de *Bacillus cereus* (**Simões et al., 2010**).

b) *Escherichia coli*

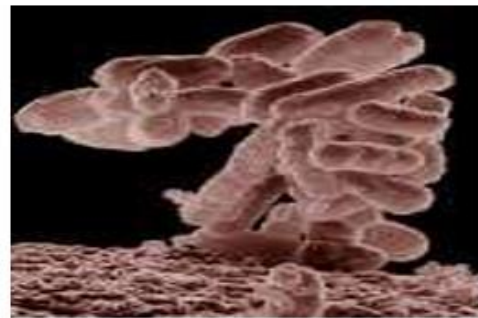
Le genre *Escherichia* est un genre de bacilles anaérobies facultatifs à Gram négatif, bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient inoffensives et vivent sans problème dans le côlon et provoquent rarement des maladies chez les individus en bonne santé, certaines souches pathogènes peuvent entraîner des affections intestinales et extra-intestinales, même chez les

individus en bonne santé (Gomes et al., 2016), notamment la diarrhée persistante (*E. coli* entéroaggrégative), la diarrhée aqueuse chez les nourrissons (*E. coli* entéropathogène), la diarrhée du voyageur (*E. coli* entérotoxigène) et la colite hémorragique et le syndrome hémolytique-urémique (*E. coli* entérohémorragique) (Nataro et Kaper, 1998).

Les maladies diarrhéiques représentent un grave problème de santé publique et sont une source importante de morbidité et de mortalité chez les nouveau-nés et les enfants, surtout dans les pays en voie de développement (Gomes et al., 2016) (Figure 5).



Escherichia coli Grossissement x 15000



Escherichia coli Grossissement x 1000

Figure 5 : Observation d'*Escherichia coli* au microscope électronique (Thorene G, 1994).

c) *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est une bactérie opportuniste à Gram négatif, mobile, en forme de bâtonnet et non fermentaire (Alhazmi, 2015), cause des pneumonies nosocomiales, infections respiratoires chroniques lors de la mucoviscidose et infections des voies respiratoires basses chez les patients immunodéprimés (Kipnis et al., 2006). De plus, on la retrouve dans des infections communautaires comme des infections gastro-intestinales, des infections cutanées et des tissus mous ainsi qu'une otite externe. Comparativement aux autres bactéries, cette bactérie à un ADN plutôt grand (entre 5,5 et 7 Mbp) et bénéficie d'une grande flexibilité génétique qui lui donne la capacité de se développer dans divers environnements, de générer de multiples facteurs de virulence et d'être perceptible (Sathe et al., 2023), ces facteurs de virulence sont regroupés principalement en deux catégories : la première, due aux molécules secrétées tels que les protéases et les toxines. La deuxième, regroupe les facteurs liés à la membrane bactérienne, tels que les pili et le flagelle, qui jouent un rôle essentiel dans l'adhésion cellulaire et la motilité (Léon et Michel, 1990).

Elle montre une forte résistance marquée à presque tous les antibiotiques, comme les aminosides, les carbapénèmes, les fluoroquinolones et les tétracyclines (Avakh et al., 2023),

de plus elle possède une forte capacité de former des biofilms, ce qui rend cette bactérie résistante aux traitements antibiotiques courants et contribue de manière significative à son impact clinique (Sharma et al., 2019) ce qui provoque une sévère limitation des possibilités de traitement devenant ainsi un enjeu crucial et mortel (Bassetti et al., 2018) (Figure 6).



Figure 6 : Image tridimensionnelle de *Pseudomonas aeruginosa* générée par ordinateur (3D) (Green et al., 1974).

d) *Staphylococcus aureus*

S. aureus est une bactérie à Gram positif reconnue comme l'un des agents infectieux les plus redoutés chez l'homme, causant des pathologies allant de simples infections cutanées et de blessures à une septicémie mortelle ou une défaillance multiviscérale (Chen et al., 2022).

Elle est aussi l'un des agents pathogènes d'origine alimentaire les plus fréquents, étant à l'origine de plus de 240 000 infections gastro-intestinales annuellement (Cukrowska et al., 2020).

L'agent pathogène a la capacité de coloniser sans symptômes la peau humaine, la cavité nasale et l'intestin. Environ 20 à 30 % des narines humaines sont colonisées par *S. aureus*, le transformant en un agent pathogène opportuniste pour une infection future. La difficulté d'éradiquer cette souche est due à sa capacité élevée à se diffuser discrètement par le biais du contact humain et sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques et à s'adapter à différentes conditions environnementales (Yamazaki et al., 2024).

De plus, elle produit diverses toxines et enzymes, de même que certaines protéines et peptides qui exercent aussi des effets de virulence (Chen et al., 2022) (Figure 7).

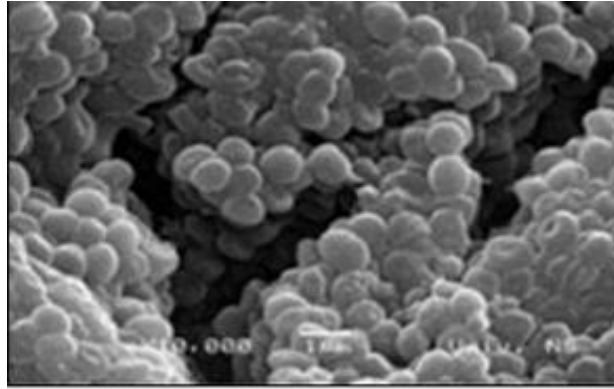


Figure 7 : Observation par microscopie électronique à balayage de *Staphylococcus aureus* ($\times 10000$) (Dubravka et al., 2010).

e) *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est une bactérie encapsulée Gram négatif, à l'origine de diverse infections comme la bactériémie, la pneumonie, les infections des voies urinaires, la méningite et les abcès hépatiques (Fang et al., 2000; Dao et al., 2014; Paczosa et Mecsas, 2016). Les personnes âgées, les nourrissons et les personnes immunodéprimées sont des groupes à risque d'infections causées par *K. pneumoniae*. De plus, cette bactérie est aussi à l'origine des infections communautaire (Bengoechea et Sa Pessoa, 2019).

Elle se fixe sur les muqueuses humaines, notamment le tractus gastro-intestinal et l'oropharynx d'où il peut pénétrer d'autres tissus (Assoni et al., 2021).

Ces souches sont généralement divisées en deux types : hypervirulente et virulente. Les souches hypervirulentes sont agressives, hypermuqueuses, et se caractérisent par la présence d'une capsule épaisse ainsi que de plusieurs gènes de virulence, mais elles réagissent toutefois sensibles aux antibiotiques. On trouve généralement ces souches au sein des communautés. Par contre, les souches virulentes possèdent des facteurs de virulence et présentent une résistance à divers antibiotiques (Douradinha, 2024), y compris aux carbapénèmes, une classe d'antibiotiques largement utilisés (Abbas et al., 2024), ce qui cause diverses infections cliniques (Douradinha, 2024).

K. pneumoniae est capable de former des biofilms (Balestrino et al., 2005) provoquant une résistance face aux stress extérieurs et aux agents antimicrobiens (Brindhadevi et al., 2020; Wang et al., 2020) (Figure 8).

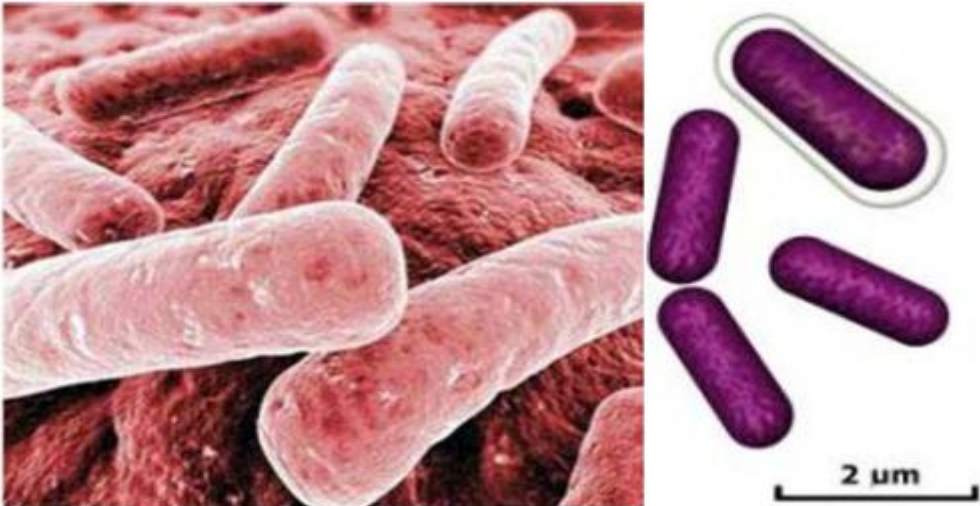


Figure 8 : Micro-morphologie de *Klebsiella pneumoniae* (Shaik et al., 2014).

Chapitre 2 :
Exploration de l'activité antibiofilm
des Lactobacillus sp.

2.1 Définition des *Lactobacillus sp.*

Parmi les bactéries lactiques (Lb), le genre *Lactobacillus* est le genre le plus crucial, de fait de son importance dans le domaine de la santé, pour la production alimentaire, notamment pour sa fonction dans les aliments fermentés et ses propriétés probiotiques (**Mejía-Caballero et al., 2025**).

Ce genre regroupe de nombreuses espèces généralement considérées comme sûres (**Slavetti et al., 2012**) et composé de plus de 170 espèces et de 17 sous-espèces (**Goldstein et al., 2015**).

Les bactéries de ce genre appartenant à l'embranchement des *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Lactobacillales*, la famille des *Lactobacellaceae* (**Mokoena, 2017**) ; sont des bactéries en forme de bâtonnet, à Gram positif, non sporulées (**Dempsey et al., 2022**) et non mobiles dont la longueur varie de longue à courte. La majorité sont des anaérobies facultatives (**Slover et al., 2008**). Elles sont capables de métaboliser les glucides pour produire de l'acide lactique en fonction de leur métabolisme (**Pot et al., 2014**).

2.2 Habitat

Les lactobacilles se développent dans des habitats riches en nutriments, que l'on peut regrouper en trois principaux habitats (**Duar et al., 2017**) :

- Elles sont largement présentes dans les aliments fermentés ou avariés et en aliments pour animaux.
- On les retrouve aussi dans divers milieux environnementaux, notamment à la surface des plantes et dans le sol.
- Elles font partie du microbiote de nombreux organismes animaux vertébrés et invertébrés. Et chez l'humain, elles colonisent différentes parties du corps, notamment la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal et le vagin.

2.3 Caractères généraux

2.3.1 Caractères morphologiques

Les *Lactobacillus sp.* sont des bactéries présentes dans la forme de bâtonnets longs et fins ou très courts ou coccobacilles, en paires ou en chaînes (**Azam et al., 2017**). La majorité se prospèrent dans une plage de températures qui varie entre 15 °C et 42 °C (**Tailliez, 2004**).

Elles sont productrices de l'acide lactique comme produit final du métabolisme fermentatif et peuvent être soit des homofermentaires soit des hétérofermentaires (Anjum et al., 2014) (Figure 9).

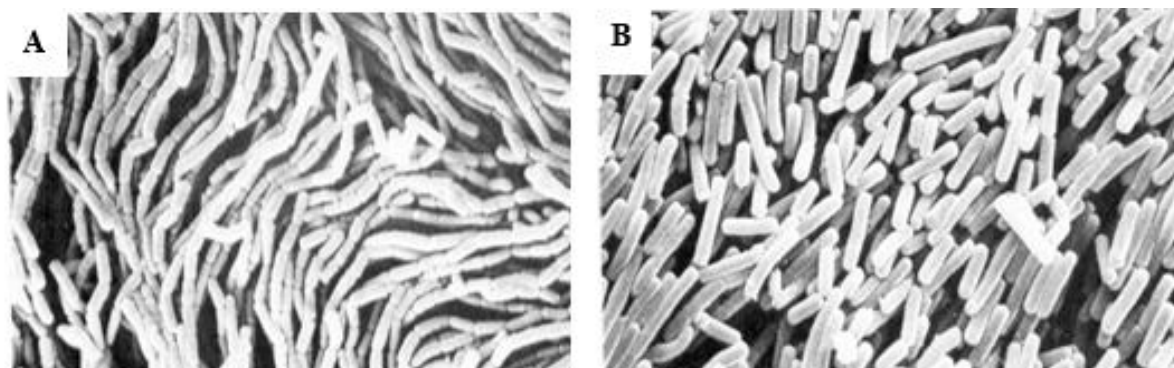


Figure 9 : observation par microscope électronique : A : *Lactobacillus casei* et B : *Lactobacillus helveticus* ($\times 3000$) (Bottazzi Vittorio, 1988).

2.3.2 Caractères biochimiques

Les lactobacilles sont des bactéries à catalase négatives, bien que certaines puissent posséder une pseudo-catalase. Elles ne possèdent pas de cytochrome et sont généralement négatives pour le nitrate réductase et la gélatinase. Elles sont microaérophiles ou anaérobies et leur métabolisme énergétique est exclusivement basé sur la fermentation (Prescott et al., 2003 ; Bhardwaj et al., 2012).

Selon le type de fermentation, les espèces de *Lactobacillus* peuvent être divisées en trois groupes :

Groupe I (Thermobacterium) : inclut les espèces homofermentaires obligatoires thermophiles, qui se développent à 45°C. Elles fermentent le glucide pour produire l'acide lactique comme sous-produit principal, et qui ne peuvent pas fermenter le pentose ou le gluconate. Ce groupe est essentiellement constitué d'espèces que l'on retrouve chez l'homme et les animaux, jouant un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre de la microflore de l'organisme, telle que *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus salivarius* (Guiraud et Rosec, 2004 ; Dempsey et Corr, 2022).

Groupe II (Streptobacterium) : ce sont des espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire qu'elles ont la capacité de fermenter les glucides pour produire de l'acide lactique, et parfois l'éthanol, l'acide acétique et le dioxyde de carbone comme sous-produits, dans certaines conditions ou avec certains substrats. Sont des mésophiles qui peuvent se multiplier à 15°C,

comme par exemple *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus plantarum* qui sont également le lactobacille dominant du lait (Guiraud et Rosec, 2004 ; Dempsey et Corr, 2022).

Groupe III (Betabacterium) : Comprend les lactobacilles obligatoirement hétérofermentaire qui fermentent toujours les glucides pour produire de l'acide lactique, de l'éthanol, l'acide acétique et du dioxyde de carbone comme sous-produits, dont certaines sont incluses dans la flore des levains de panification, comme l'espèce de *Lactobacillus reuteri* et *Lactobacillus fermentum* (Dempsey et Corr, 2022).

2.3.3 Caractères culturels et exigences nutritionnelles

La majorité des lactobacilles sont des thermophiles restent viables à 55 °C (Adams et Moss, 2000 ; Tailliez, 2004). De plus, elles se développent mieux dans des conditions acides, a un intervalle de pH de 4,5 à 6,4. Leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine les 3,5. Le milieu de culture le plus connu est le milieu Man Rogosa et Sharpe (MRS), où les colonies se développent en 24 à 48 heures (Jomehzadeh et al., 2020). Elles sont généralement petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, arrondies ou lenticulaires, lisses ou rugueuses (De Vos et al., 2009) (Figure 10).

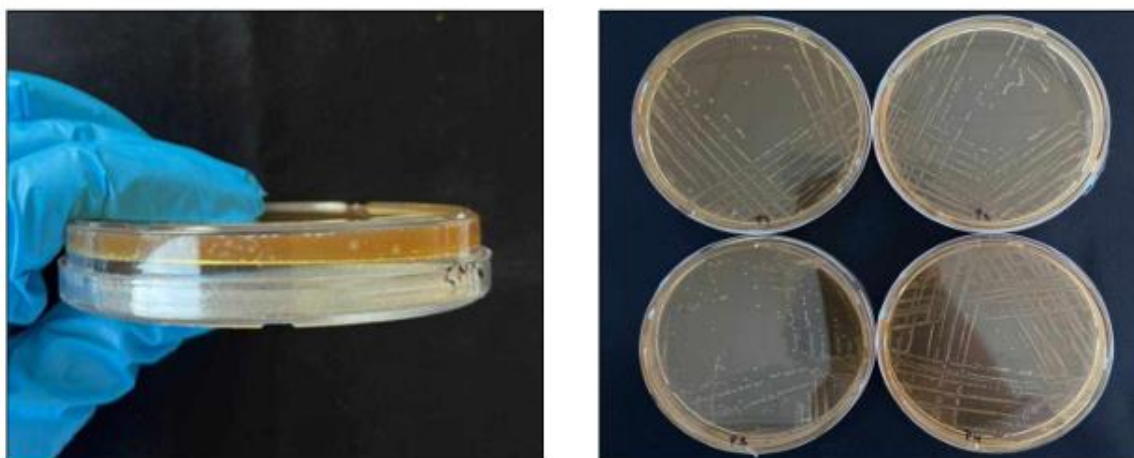


Figure 10 : Aspect macroscopique des colonies de lactobacilles isolées sur gélose MRS (Benhelli et Hamidi, 2024).

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles variées, notamment en vitamines telles que la pantothénate (B5), la niacine (B3) et la cobalamine (B12). Les carences en vitamine B12 peuvent réduire la synthèse de l'ADN, provoquant des modifications morphologiques et une transformation des cellules en filaments (Sauvageot et al., 2000 ; De Vos et al., 2009).

Par ailleurs, dans les milieux synthétiques, les lactobacilles ont besoin de bases azotées comme l'adénine, la cytosine, la guanine, la thymidine, le désoxyguanosine et l'uracile. Ces exigences sont variables selon les espèces (**Sauvageot et al., 2000 ; De Vos et al., 2009**).

Et besoin de cations comme les ions Mg^{2+} , Mn^{2+} et Fe^{2+} pour leur croissance. Le manganèse et le magnésium jouent un rôle d'activateurs dans divers réactions enzymatiques, tout en stabilisant la structure des acides nucléiques, l'intégrité des ribosomes et la membrane cellulaire des lactobacilles (**Sauvageot et al., 2000 ; De Vos et al., 2009**).

2.4 Identification

Les milieux de culture sélectifs et les tests phénotypiques permettent de différencier les lactobacilles des bactéries morphologiquement similaires (**Tannock, 1999**). En général, l'identification phénotypiques des Lb repose sur plusieurs critères, notamment la forme des cellules bactériennes, la température de croissance, la fermentation des sucres (**Wood et Holzappel, 1995**), le type respiratoire, la motilité et la croissance dans le chlorure de sodium ainsi que sur différentes caractéristiques biochimiques comme le type de fermentation, la production d'isomères de l'acide lactique, le métabolisme des substrats glucidiques, la coagulation du lait et la présence d'enzymes spécifiques comme l'arginine dihydrolase. Il y a aussi trois tests de galerie API : API 50 CH, LRA Zym et API Zym permettant une identification plus précise (**Charteris et al., 2001**).

L'identification de ces espèces à l'aide des méthodes biochimiques peut être complexe, en raison du grand nombre d'espèces existantes. Cette identification repose principalement sur des tests de fermentation de sucre, donc la méthode la plus couramment utilisée et considérée comme la plus fiable est la galerie API 50 CH, utilisée avec un milieu spécialement conçu pour leur identification (**Roissart et Luquet, 1994 ; Ozgun et Vural, 2011**).

Tandis que l'identification la plus précise peut être réalisée par le séquençage des gènes de l'ARNr 16S. La seule méthode moléculaire qui permettant l'identification complète des espèces est la réassociation ADN-ADN (**Tannock, 1999**).

2.5 Mécanismes d'action des *Lactobacillus sp.*

2.5.1 Renforcement de la barrière épithéliale

La barrière intestinale occupe un rôle essentiel de défense en participant à la préservation de l'intégrité épithéliale, et en préservant les organes contre les attaques environnementales. La

barrière intestinale se défend grâce à la couche muqueuse, les peptides antimicrobiens (IgA) sécrétoire et la structure d'adhérence épithéliale (**Bermudez-Brito et al., 2012**).

L'incubation des cellules intestinales avec *Lactobacillus* influence de manière différenciée la phosphorylation des protéines de jonction d'adhérence et la présence de la protéine kinase C (PKC), améliorant ainsi la fonction de barrière épithéliale (**Bermudez-Brito et al., 2012 ; Hummel et al., 2012**).

Les mucines, qui sont des glycoprotéines, constituent les éléments principaux de la composition macromoléculaire du mucus épithélial. Les probiotiques peuvent stimuler la production de mucus comme un processus visant à renforcer la performance de la barrière et l'élimination des pathogènes (**Bermudez-Brito et al., 2012**).

2.5.2 Production des substances antimicrobiennes

Les lactobacilles produisent diverses substances inhibitrices, telles que les acides organiques (acide lactique et acétique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, l'acétyle et les bactériocines. Certaines de ces molécules exercent une action antagoniste contre de nombreux micro-organismes pathogènes (**De Vuyst et Andamanne, 1994**).

a) L'acide organique

Les lactobacilles produisent des acides organiques tels que l'acide lactique, l'acide acétique et l'acide propénoïque (**Brul et Coote, 1999 ; Šušković et al., 2010**).

Ces acides ont une activité antimicrobienne, pénètrent dans la cellule pathogène et abaisse le pH intracellulaire, ce qui entraîne une inactivation des enzymes essentielles au métabolisme des pathogènes (**Privat et Thonart, 2011 ; Hajati, 2018**).

b) Le peroxyde d'hydrogène

Les lactobacilles ne possèdent pas de catalase typique avec un noyau hème pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (**Zalán et al., 2005**), donc il peut s'accumuler et inhiber de nombreux pathogènes grâce à son effet oxydant sur les lipides membranaires et de la destruction des structures des protéines cellulaires (**Šušković et al., 2010**).

Son action affecte aussi bien sur les germes indésirables que sur ceux qui sont essentiels au bon déroulement de la fermentation, ce qui limite son utilisation pour son activité inhibitrice. De plus, son action oxydante peut avoir des effets néfastes sur la santé humaine (**Zalán et al., 2005**).

c) Le dioxyde de carbone

Les lactobacilles produisent le dioxyde de carbone lors de la fermentation hétérolactique, ce qui favorise un environnement anaérobie défavorable aux microorganismes aérobies. Le dioxyde de carbone est accumulé dans la bicouche lipidique peut entraîner un dysfonctionnement de la perméabilité (Ammor et al., 2006).

Le dioxyde de carbone peut inhiber la croissance de nombreux germes d'altération, en particulier les germes psychrotrophes à Gram négative, tout en favorisant le développement de certaines bactéries (Lindegren et Dobrgosz, 1990).

d) Le diacétyl

De nombreuses bactéries lactiques, y compris certains types de *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*, sont capables de produire du diacétyl. (Cogan, 1996). C'est un composé clé de l'arôme du beurre. Il a des caractéristiques antimicrobiennes qui ciblent les levures, les bactéries Gram positive non lactiques et les bactéries Gram négative, ces dernières étant moins sensibles (El Ziney et al., 1998).

Il est probable qu'il empêche la prolifération des bactéries en interférant avec les mécanismes régulant l'utilisation de l'arginine (Motlagh et al., 1991).

e) Les bactériocines

Les bactériocines sont des substances protéiques ou des complexes de protéines qui ont une activité bactéricide spécifique contre les espèces qui sont proches à la souche productrice (Klaenhammer, 1988). Elles se distinguent par leur faible poids moléculaire et leur efficacité à de faibles concentrations (Cotter et al., 2005 ; Belguesmia et al., 2011).

Ces molécules possèdent une activité antimicrobienne qui peut être soit bactéricide entraînant la mort des bactéries cibles, soit bactériostatique ; en inhibant leur croissance. Parmi les plus étudiées ; ceux qui sont synthétisés par les bactéries lactiques jouant un rôle essentiel dans la préservation des aliments (Lagha et al., 2017). Les plus connus : la nisine, l'azidophylline, la diploxine et la Bulgarican (Samedi et Charles, 2019).

La majorité des bactériocines sécrétées par les bactéries lactiques agissent selon le même mécanisme d'action, ciblant principalement la membrane externe des bactéries ciblées. Elles provoquent la formation des pores, entraînant ainsi la libération du contenu intracellulaire et conduisant à la destruction des bactéries affectées (Samedi et Charles, 2019).

2.5.3 Compétition pour l'adhésion aux surfaces

Les lactobacilles rivalisent avec les bactéries pathogènes pour les sites d'adhésion sur la surface épithéliale intestinale, empêchant ainsi la colonisation et la fixation de nombreuses espèces pathogènes (Hardy et al., 2013).

Certaines souches de *Lactobacillus* peuvent adhérer à la surface de la muqueuse intestinale, renforçant ainsi la barrière protectrice contre l'invasion des pathogènes (Khalighi et al., 2016).

Les mécanismes de compétition pour l'adhésion se manifestent généralement de deux façons (Servin et Coconnier, 2003) (Figure 11).

La compétition spécifique se base sur les interactions directes entre les lactobacilles et les bactéries pathogènes pour l'adhérence spécifique aux sites d'adhésion sur les cellules épithéliales de l'intestin. Les lactobacilles, grâce à leurs adhésines, se lient à des récepteurs spécifiques présents sur les cellules épithéliales, empêchant par conséquent la fixation des agents pathogènes (Gueimonde et al., 2006 ; Alp et Kuleaşan, 2020).

La compétition non spécifique repose sur des interactions de faibles liaisons, comme les forces électrostatiques, hydrophobes et stériques. Ces interactions ne sont pas spécifiques à un type de bactérie ou de surface, mais elles participent à la stabilité globale de l'adhésion (Khalighi et al., 2016).

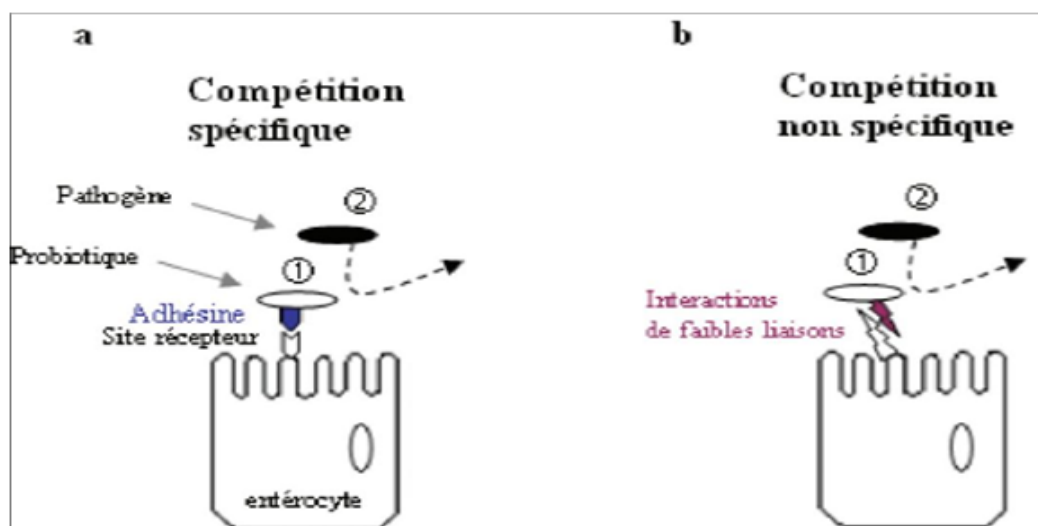


Figure 11 : Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par un effet barrière dû à l'adhésion spécifique (a) et non spécifique (b) des probiotiques (Servin et Coconnier, 2003).

2.5.4 Compétition pour les nutriments

Il est possible d'inhiber la croissance des agents pathogènes en restreignant les ressources des nutriments (Fuller, 1991). De sorte que les lactobacilles consomment les nutriments nécessaires aux agents pathogènes (Luis Balcázar et al., 2006).

2.5.5 Modulation du système immunitaire

Pour stimuler la réponse immunitaire de l'hôte contre les agents pathogènes, les lactobacilles interagissent avec le système immunitaire, afin de renforcer la réaction immunitaire de l'hôte contre les agents pathogènes (Lee et Mazmanian, 2010). La modulation du système immunitaire s'effectue par divers processus, y compris le renforcement de la réaction immunitaire non spécifique face aux infections, la stimulation de l'activité des cellules phagocytaires accompagnée d'une augmentation de la production de l'immunoglobuline intestinale (IgA) et la stimulation de la synthèse des cytokines (Holzapfel et al., 2006) (Figure 12).

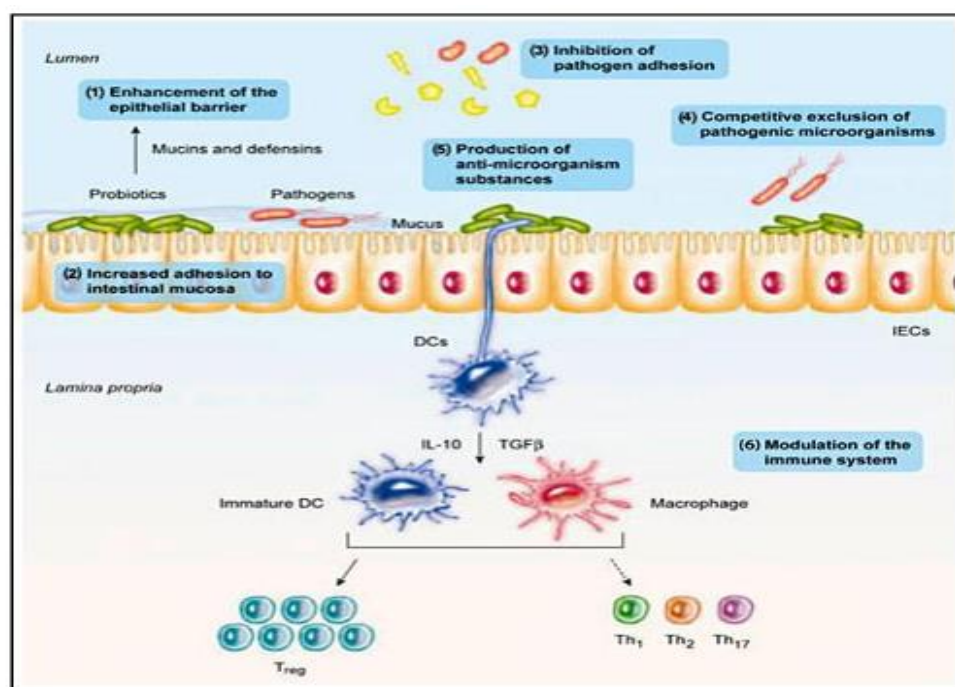


Figure 12 : Les principaux mécanismes d'action des probiotiques (Bermudez-Brito et al., 2012).

2.6 Effet anti-biofilm des *Lactobacillus sp.*

L'idée d'utiliser des probiotiques comme une méthode alternative pour régler la formation du biofilm a récemment vu le jour, à cause des problèmes liés à l'élimination des biofilms par les méthodes thérapeutiques traditionnelles et du nouvel intérêt élevé pour les bactéries considérées

comme bénéfiques. Plusieurs mécanismes sont en jeu, notamment la compétition, les capacités de co-agrégation, la production de molécules anti-biofilm ou les modifications transcriptionnelles qui finissent par influencer l'adhésion bactérienne initiale et stimulent la dispersion du biofilm. Tout comme pour d'autres propriétés des bactéries probiotiques, les actions anti-biofilm à l'heure actuelle ne dépendent pas de l'espèce mais de la souche spécifique (Vuotto et al., 2014b).

2.6.1 Phénomènes de compétition

Une exploration récente a confirmé que *L. paracasei* et *L. rhamnosus* peuvent non seulement rivaliser au laboratoire avec le processus d'adhésion mais aussi causer la dispersion de biofilms formés par le pathogène *Listeria monocytogenes* (Woo et Ahn, 2013). D'autre part, *L. brevis*, grâce à sa forte capacité d'adhésion aux surfaces abiotiques, a tendance à contrôler *Prevotella melaninogenica* dans un biofilm mixte provoquant ainsi l'élimination de ce dernier du biofilm (Vuotto et al., 2014a).

2.6.2 Co - agrégation

Il a été observé que certains *Lactobacillus* peuvent interagir physiquement avec diverses bactéries Gram négatives et Gram positives, y compris *E. coli*, *Streptococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Streptococcus agalactiae* (McGroarty et Reid, 1988 ; Ekmekci et al., 2009 ; De Gregorio et al., 2014). Ces interactions fournissent probablement au maintien et à l'amplitude des espèces dans les biofilms mixtes. Cette proximité fournit aux probiotiques la possibilité de générer un environnement défavorable en synthétisant des composés acides et antimicrobiens, ce qui mène non seulement à une réduction de la croissance ou de la viabilité des agents pathogènes, mais également à une modification de l'intégrité et de la structure des biofilms (Comelli et al., 2002 ; Saunders et al., 2007 ; McMillan et al., 2011).

2.6.3 Production de biosurfactants

Même si la composition chimique des biosurfactants produits par les bactéries bénéfiques est rarement précisée, ils causent des altérations de surface qui mènent à l'élimination de la formation du biofilm, c'est le cas de la souche *Streptococcus thermophilus* qui réduit in vitro les niveaux de colonisation des pathogènes *Rothia dentocariosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius* et *Staphylococcus epidermidis* (Rodrigues et al., 2006). Une recherche a montré que les biosurfactants sécrétés par *L. acidophilus* ont la capacité d'inhiber la prolifération des pathogènes tout en stimulant également la dispersion du biofilm chez *Staphylococcus* (Walencka et al., 2008).

2.6.4 Modifications transcriptionnelles

Il se peut que les effets anti-biofilm sont également associés à des altérations dans l'expression de gènes codant pour des adhésines ou des enzymes participant à la fabrication du biofilm. Un exopolysaccharide produit par *L. acidophilus* a été décrit comme capable de réguler la création de biofilm chez *E. coli* en inhibant la production de curli de ce microorganisme pathogène (**Kim et al., 2009**). En outre, les surnageants issus des cultures de *L. rhamnosus* et *L. reuteri* modifient la structure d'un biofilm chez *Candida glabrata* en entraînant une réduction de l'expression des gènes qui codent respectivement pour une adhésine participant à la formation du biofilm et son régulateur transcriptionnel (**Chew et al., 2015**).

L'adhésion de *Streptococcus mutans* aux dents, qui constitue la première étape dans la création de biofilm, est un phénomène qui fait intervenir des exopolysaccharides. La production de ces derniers nécessite l'action de plusieurs enzymes, notamment les glucosyltransférases et fructosyltransférases. Plusieurs chercheurs ont validé que la génération de biosurfactants par diverses souches de *Lactobacillus* (*L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. acidophilus*) empêche l'expression des gènes responsables de ces enzymes et par conséquent réduit la capacité de ces streptocoques à créer des biofilms (**Tahmourespour et al., 2011 ; Salehi et al., 2014 ; Savabi et al., 2014 ; Wu et al., 2015**).

Chapitre 3 :
Les biofilms bactériens

3.1 Définition

Les biofilms représentent des communautés multicellulaires et complexes de micro-organismes (**Sharma et al., 2023**) fixées à des surfaces et encapsulées dans une matrice extracellulaire d'origine microbienne. Les biofilms constituent la forme de vie microbienne la plus répandue (**Dufour et al., 2010**).

Ils sont omniprésents, et ont la capacité de croître sur presque toutes les surfaces, qu'elles soient biotiques ou abiotiques (**Liu et al., 2023**).

Dans les écosystèmes naturels, les biofilms se forment dans une grande diversité de niches écologiques, notamment la surface des végétaux, les sols, les interfaces air-eaux stagnantes, les sédiments marins, ainsi que la peau et les microbiomes associées aux animaux, etc... (**Douarche et al., 2018**).

La morphologie, la sensibilité aux éléments environnementaux et les propriétés biologiques des micro-organismes présents dans les biofilms diffèrent considérablement de celles du plancton. De plus, la configuration tridimensionnelle des biofilms semble offrir une défense naturelle et une protection supplémentaire aux micro-organismes (**Van Houdt et Michiels, 2010**).

Les biofilms fournissent une défense accrue contre les conditions environnementales extrêmes et confèrent aux micro-organismes une protection contre les rayons ultraviolets (UV), les variations extrêmes de pH (très élevés ou très bas) et même de températures, des conditions hypersalines, une pression très élevée, une carence nutritionnelle etc... Ils jouent un rôle de barrière protectrice, comparable à un vêtement ou revêtement de protection pour ces micro-organismes (**Yin et al., 2019**).

Les bactéries au sein des biofilms peuvent se défendre contre la réponse immunitaire de l'hôte et présentent une résistance contre les antibiotiques et aux agents désinfectants par rapport aux cellules bactériennes planctoniques (**Tremblay et al., 2014**).

Les biofilms sont impliqués dans de nombreuses infections touchant divers endroits du corps humain, notamment les tractus urinaire et intestinal, les surfaces bucco-dentaires, les parois pulmonaires ou encore la peau (**Reid, 1999 ; Trautner et Darouiche, 2004**).

3.2 Composition et organisation

3.2.1 Composition

Le biofilm est constitué de micro-organismes qui se trouvent dans une matrice extracellulaire.

Généralement, ces micro-organismes représentent 5 à 35 % du volume total du biofilm, le reste étant composé principalement par la matrice extracellulaire (**Branger, 2007 ; Jamal et al., 2018**).

a) Les microorganismes

Dans la nature, les biofilms sont majoritairement composés de différentes espèces, cela indique qu'ils sont constitués de divers types de micro-organismes comme des bactéries, des mycètes, des protozoaires et des algues (**Figure 13**). Par contre, les biofilms formés sur les équipements médicaux, généralement sont composés d'une seule espèce de bactérie emprisonnée dans une matrice constitué d'exopolysaccharides (EPS). Même si les biofilms aient fait l'objet de nombreuses recherches, les biofilms complexes restent encore insuffisamment étudiés (**Branger, 2007 ; Portie, 2014**).

Au cours de leur développement, une rivalité s'établit entre les diverses espèces, influençant la prédominance ou l'exclusion de certaines. Les bactéries commencent à interagir entre elles, conduisant à la formation des groupes. Une fois regroupées, elles se soutiennent les unes des autres contre divers stress environnementaux, y compris la présence de substances nocives comme les antibiotiques ou les métaux, etc... (**Branger, 2007 ; Portie, 2014**).

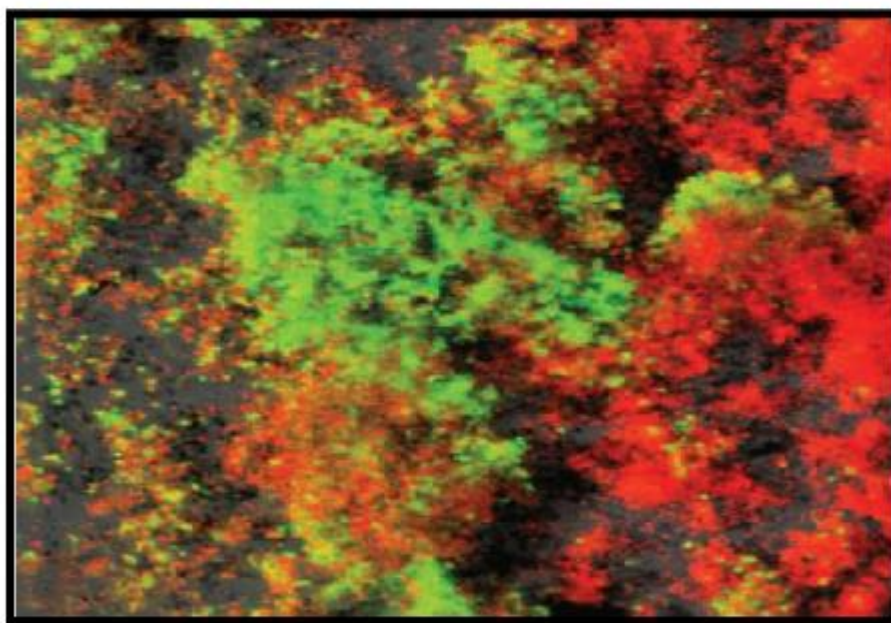


Figure 13 : Image en microscopie confocale d'un biofilm bactérien mixte (**Filloux et Vallet, 2003**).

b) La matrice

Une fois l'adhésion des bactéries au support établie, elles entament la libération d'une matrice collante et protectrice nommée matrice extracellulaire. Cette substance sert de véritable bouclier pour les cellules bactériennes (**Brauge, 2015**).

Elle remplit plusieurs fonctions : elle maintient la cohésion de chaque micro-colonies, confère une protection, retient l'eau, attrape les petites particules qui passent, fournit des nutriments dissous et facilite l'élimination de leurs déchets (**Branger, 2007 ; Brauge, 2015**).

Elle est constituée de :

- L'eau : Élément principal de la matrice extracellulaire, il peut constituer jusqu'à 97 % de la masse humide d'un biofilm.
- Éléments nutritifs, des substances métaboliques, des produits issus de la lyse cellulaire et d'autres débris venus de l'environnement externe
- Polymères appelées exopolysaccharides (EPS), elles constituent la principale structure du biofilm, représentant jusqu'à 85 % de sa masse totale, elles sont cruciales pour la structure du biofilm, assurent l'attachement du biofilm à la surface ainsi que de sa cohésion. La composition des EPS peut varier en fonction des micro-organismes et du milieu dans lequel le biofilm se forme (**Branger, 2007 ; Brauge, 2015 ; Jamal et al., 2018**).

3.2.2 Organisation

Les bactéries s'assemblent dans la matrice en formant de micro-colonies, séparées par des canaux aqueux qui créent un réseau de circulation. Ce réseau permet de faire circuler l'oxygène et des nutriments vers les zones les plus profondes du biofilm et aussi l'élimination des déchets. Le matériel soluble peut se propager au sein de la matrice d'EPS et être exploité par les bactéries (**Branger, 2007**).

La croissance tridimensionnelle du biofilm entraîne la formation de gradients physico-chimiques. Donc, le biofilm n'est pas un milieu homogène car il comporte des zones où les concentrations en oxygène ou en nutriments varient, ce qui entraîne des différences de pH. Les zones centrales des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvre en nutriments, tandis que celles se trouvant à proximité des canaux ou de la frontière entre le biofilm et le liquide bénéficient d'une meilleure oxygénation et d'une plus grande richesse nutritive (**Roux et Ghigo, 2006**).

3.3 Les étapes de formation d'un biofilm

La formation du biofilm s'effectue généralement en cinq phases dans un processus très compliqué, au cours duquel les cellules microbiennes changent de leur état libre à l'état attachée (passent de la forme planctonique à la forme sessile) et cela d'une façon similaire peu importe le type du milieu qu'elles occupent (Haras, 2005 ; Okada *et al.*, 2005) (Figure 14).

Ce processus dépend de l'expression de certains gènes spécifiques qui régulent sa création, ainsi que de leur capacité à s'ajuster à divers types de conditions nutritives et environnementales (Okada *et al.*, 2005 ; Rivera *et al.*, 2007).

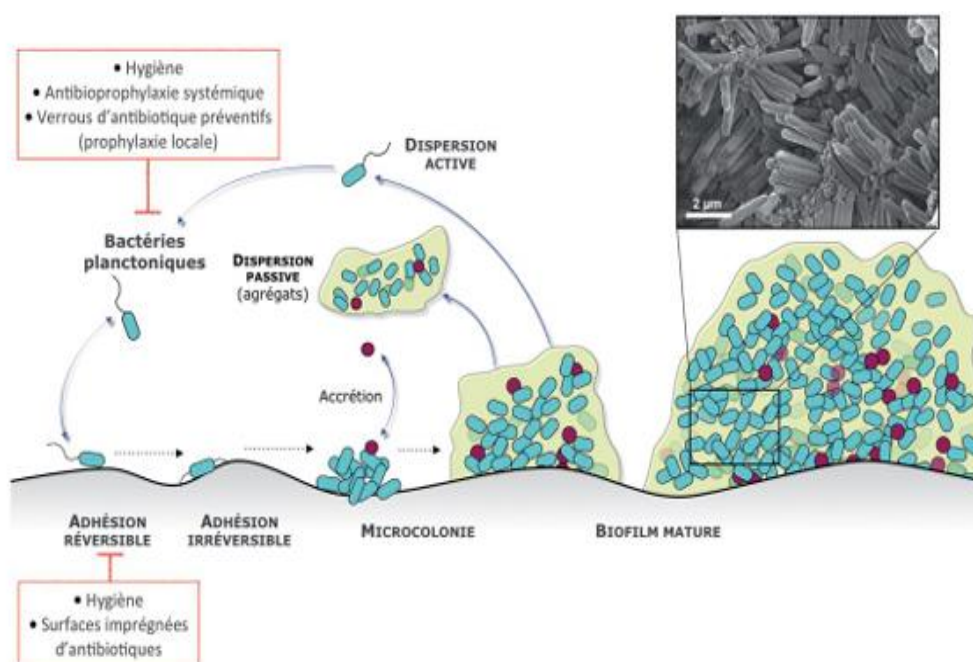


Figure 14 : Formation d'un biofilm bactérien (Meziani, 2022).

3.3.1 Adhésion réversible (non spécifique)

C'est la phase préparatoire à la création du biofilm et résulte de l'interaction entre les bactéries et une surface solide. Cela est dû à des forces comme celles de Van der Waals, des forces de répulsion électrostatique, des forces gravitationnelles, le mouvement brownien et des forces hydrodynamiques. Grâce à leurs structures appendiculaires (pili, flagelles, fimbriae), les cellules se fixe à la surface du support de façon réversible (Pecastaings, 2010 ; Muller et Guaguere, 2014 ; Goel *et al.*, 2021).

Dans un environnement aquatique, les molécules qu'elles soient organiques ou inorganiques sont migré vers la surface et créent un film pouvant être composé de glycoprotéines, de phosphoprotéines, d'albumines ou de lipides. Ce film constitue une source importante de

nutriments pour les bactéries ; ce qui aide leur chimiotactisme (**Palmer et al., 2007 ; Squinazi, 2013**).

Par ailleurs le déplacement des cellules bactériennes se ralentit progressivement quand elles se rapprochent de certaines surfaces ou de supports, facilitant leur adhésion qui peut être temporaire à la fois à la surface et avec d'autres microorganismes déjà fixés à celle-ci. La zone entre le solide et le liquide constitue ainsi un cadre parfait pour que les microorganismes se fixent et se multiplient (**Muhsin et al., 2015**). De plus, divers facteurs tels que les propriétés physico-chimiques du support comme la température, la disponibilité des nutriments et le pH jouent un rôle dans l'influence de la nature et l'intensité de cette adhésion (**El-Tarabily et al., 2021**).

3.3.2 Adhésion irréversible (spécifique)

En temps réel, une fraction de cellules adsorbées de façon réversible reste fixée et se transforme en une adsorption irréversible (**Garret et al., 2008**).

À ce stade, pour détacher ces cellules il est nécessaire l'application de forces mécaniques beaucoup plus fortes, telles que le grattage ou l'utilisation d'ultrasons. Ce concept d'irréversibilité est associé aux nombreux points d'interaction qui mènent à une liaison de haute énergie (**Garret et al., 2008 ; Brauge, 2015**).

Des facteurs comme l'hydrophobicité de la surface, la présence d'appendices protéiques tels que les pili, les flagelles ou les fimbriae, ainsi que la composition et la quantité d'exopolysaccharides (EPS), influencent à la fois la cinétique et l'intensité de l'adhésion microbienne (**Garret et al., 2008 ; Brauge, 2015**).

Le passage de l'adhésion réversible à l'adhésion irréversible se ferait très rapidement, en l'espace de quelques secondes à quelques minutes (**Garret et al., 2008 ; Brauge, 2015**).

3.3.3 Formation de micro-colonies

Après l'adhésion irréversible des bactéries à la surface, elles poursuivent la production des EPS, s'assemblent entre elles et se reproduisent lentement en utilisant les nutriments disponibles dans le film. Ce processus conduit à la création de microcolonies qui peuvent couvrir progressivement une partie ou l'ensemble de la surface (**Bellifa, 2014 ; Goetz et al., 2016**).

La création de microcolonies induit l'activation de certains gènes associés à la synthèse du biofilm, en particulier ceux nécessaires à la production des EPS qui représentent la structure

majeure du biofilm. L'adhésion du biofilm peut favoriser la création de la matrice extracellulaire suivie de la création des canaux d'eau permettant le transport des nutriments à l'intérieur de la structure de biofilm. Ces canaux sont fonctionnés comme un système de circulation répartissant divers nutriments et éliminant les déchets des microcolonies du biofilm **(Parsek et Singh, 2003 ; Tenke et al., 2006 ; Folkesson et al., 2008 ; Toyofuku et al., 2016)**.

Lorsque la densité cellulaire atteint un niveau suffisant, les microcolonies intensifient la libération d'une matrice extracellulaire. Ces substances sont cruciales pour protéger les biofilms contre diverses agressions externes que ce soit physiques, chimiques, mécaniques ou cellulaires et contribue fortement l'adhésions des cellules sur la surface **(Philips et al., 2011 ; Mogha et al., 2014 ; Tremblay et al., 2014)**.

3.3.4 Maturation du biofilm

C'est une phase essentielle dans la formation de biofilm. Elle se caractérise dans un premier temps par l'implication d'une production excessive d'EPS qui a pour but d'assurer la protection du biofilm de la dessiccation par le transport de l'eau et des nutriments à travers des canaux spécifiques. Ensuite, il y a la communication entre les cellules grâce au Quorum Sensing **(Alnasouri, 2010 ; El-Tarabily et al., 2021)**.

Par ailleurs, la création et la libération d'enzymes extracellulaires permet de décomposer les résidus présents sur les surfaces environnantes, ce qui libère des nutriments nécessaires pour l'augmentation de biofilm jusqu'à atteindre une taille visible à l'œil nu **(Branger et al., 2007 ; Jacolbsen et al., 2008 ; Alnasouri, 2010)**.

L'épaisseur du biofilm augmente de façon significative en raison de sa croissance rapide aboutissant à la création d'un film hétérogène tridimensionnel constitué en trois couches de cellules. La première couche dénote la structure régulatrice de base qui enveloppe le substrat où résident des bactéries à faible activité métabolique en raison de leur accès restreint aux nutriments et à l'oxygène, tout en étant davantage protégées contre les agressions extérieures. La couche intermédiaire représente une zone de transition, tandis que la troisième se compose des cellules planctoniques qui se divisent activement et ont un meilleur accès aux nutriments et à l'oxygène. Un biofilm mature se distingue par sa forte capacité à causer des maladies, contribuant à une résistance accrue aux antibiotiques **(Alnasouri, 2010 ; Zhao et al., 2017 ; Meziani et al., 2021)**.

3.3.5 Dispersion du biofilm

La phase finale de création d'un biofilm consiste en la libération et la dispersion des cellules bactériennes qui ont le potentiel de se fixer sur d'autres surfaces et de créer un nouveau biofilm (**Tremblay et al., 2014**).

Le processus de détachement des bactéries est complexe et fait intervenir des signaux provenant de l'environnement ainsi que la communication inter-bactérienne, notamment via le mécanisme du quorum sensing (QS). Quand la densité bactérienne sur une surface atteint un niveau élevé, en présence de stress environnemental ou d'une déficience nutritive ; certaines bactéries se détachent du biofilm et se répandent dans l'environnement après avoir retrouvé leur état planctonique (**Kaplan, 2010 ; Brauge, 2015**).

Historiquement, le détachement des bactéries a été perçu comme un processus passif influencé principalement par les forces du flux du milieu contenant le biofilm. Toutefois, le détachement des bactéries peut également être une démarche pro-active lancée par les bactéries elles-mêmes, leur donnant la possibilité de s'installer sur de nouvelles surfaces et de perdurer lorsque l'espace et les nutriments se raréfient. Les bactéries ont la capacité de se détacher individuellement ou en petits ou grands groupements ou morceaux, selon les processus impliqués. Par conséquent, un biofilm formé représente une source de bactéries vivantes aptes à coloniser d'autres surfaces (**Kaplan, 2010**).

3.4 Les facteurs influençant la formation de biofilm

La création d'un biofilm constitue un processus compliqué influencé par plusieurs éléments tels que les propriétés du support où les bactéries s'adhèrent, celles du milieu et les propriétés de la surface des cellules (**Donlan et Costerton, 2002**).

3.5 Régulation de la formation de biofilm

La communication entre diverses espèces bactériennes durant la création du biofilm se réalise grâce aux processus du quorum sensing (QS). Le quorum sensing est un mécanisme qui facilite la coordination de l'expression génique entre les cellules, en tenant compte de la densité de leur communauté locale. Durant le QS, des molécules de signalisation spécifiques se fixent à des récepteurs bactériens, provoquant ainsi des altérations dans l'expression génique des cellules qui réceptionnent ces signaux. Ce phénomène est observé non seulement au sein des bactéries appartenant à la même espèce (mono-espèces), mais aussi entre diverses espèces bactériennes (hétéro espèces) (**Miller et Bassler, 2001 ; Naves et al., 2010 ; Gad, 2018**).

Le QS est basé sur la fabrication et l'identification de petites molécules médiatrices connues sous le nom d'auto-inducteurs (AI) ou signaux de quorum sensing. Ces AI sont créées par les bactéries durant leur développement. Quand la concentration d'AI approche à un niveau critique dans l'environnement, ils se fixent dans les cellules bactériennes et interagissent avec des régulateurs de transcription particuliers, causant ainsi l'activation de l'expression de gènes spécifiques. Pour les bactéries Gram-négative, les AI sont souvent des homosérine lactones, alors que pour les bactéries Gram-positives, il s'agit d'oligopeptides ou de phéromones. Ces signaux de QS fournissent aux bactéries la possibilité d'échanger des informations et de réguler leurs actions selon la densité de leur population environnante (**Waters et Bassler ;2005 ; Roux et Ghigo, 2006 ; Czajkowski et Jafra, 2009**).

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Cette recherche a été effectuée au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (**LAMAABE**) de l'Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen. Notre travail est une étude complémentaire d'un travail antérieur de **Banhalli et Hamidi, 2024** qui ont exploré l'effet antibactérien des souches de lactobacilles isolées à partir de la matière fécale des nourrissons vis-à-vis des souches pathogènes gastro-intestinales ; dans ce contexte notre objectif s'articule sur :

- L'évaluation de la capacité des mêmes souches pathogènes gastro-intestinales à former le biofilm.
- Etudier l'effet anti-biofilm de deux souches de *Lactobacillus sp.* confirmées comme souches probiotiques à effet antibactérien, sur ces souches pathogènes gastro-intestinales.

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel biologique

1.1.1.1 Bactéries

a) Les souches de lactobacilles

Les deux souches de *Lactobacillus sp.* isolées de la matière fécale des nourrissons fournis par **LAMAABE** étaient revifiées et identifier par les techniques de la microbiologie classique.

b) Les souches pathogènes

Pour étudier l'effet anti-biofilm des lactobacilles, on a fait appel à six (06) souches pathogènes associées aux intoxications gastro-intestinales : *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Origine des souches pathogènes gastro-intestinales

Souches	Origine
<i>Bacillus cereus</i>	Souche de référence
<i>Bacillus subtilis</i>	Souche de référence
<i>Escherichia coli</i>	Aspiration trachéale
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pieds du diabétique
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pacemaker
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pieds du diabétique

1.2 Méthodes

1.2.1 Revivification des lactobacilles

Un volume de 100µl de chaque souche a été transféré dans des tubes à essai stériles contenant 5ml de Bouillon De Man, Rogosa et Sharpe (MRS), suivie d'une incubation à 37°C (température idéale pour la croissance de ces bactéries) pendant au moins 24 heures, on évalue la croissance par l'apparition d'un trouble dans le milieu (**Vazquez-Munoz et al., 2022**).

1.2.2 Vérification de la pureté des lactobacilles

L'étape de purification implique la mise en place d'un ensemencement par stries serrées à la surface des boîtes de pétri contenant de la gélose MRS à partir du bouillon d'enrichissement (bouillon MRS), de façon à obtenir des colonies bien isolées. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Cette pureté est attestée par l'observation macroscopique des colonies qui sont de taille et d'aspect uniformes, ainsi que par l'examen microscopique suite à une coloration de Gram (**Figure 15**).

Cette procédure a été répétée jusqu'à obtenir une consistance uniforme en terme de morphologie des lactobacilles, dans le but de vérifier la pureté des souches avant de passer à l'étape d'identification.

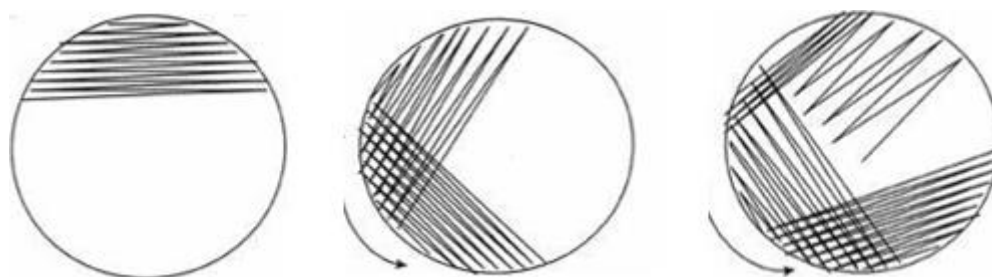


Figure 15 : Schéma illustrant l'ensemencement par stries.

1.2.3 Caractérisation phénotypique

1.2.3.1 Examen macroscopique

Cette étape implique à observer à l'œil nu des colonies de lactobacilles pour identifier l'aspect, la taille, la forme et la couleur des colonies suite à des cultures bactériennes réalisées sur gélose MRS pendant 24 à 48 heures.

1.2.3.2 Examen microscopique

L'examen au microscope optique d'un frottis coloré complète l'étude. Ce processus permet d'établir certaines caractéristiques morphologiques et structurales des bactéries : leur forme (coque, bacille ou spirale), leur taille, leur mode de regroupement (organisés en chaînette ou isolés), le Gram (Gram + et Gram -), leur mobilité et la présence ou l'absence d'une spore (Alexandre et al., 2008).

Les bactéries sont qualifiées de Gram positif lorsqu'elles présentent une coloration violette et de Gram négatif lorsqu'elles présentent une coloration rose (Coico, 2001).

Les lactobacilles, qui sont des bactéries à Gram positive, conservent la couleur violette distinctive du violet de gentiane.

1.2.4 Repiquage des souches pathogènes

Afin d'obtenir des cultures jeunes des souches pathogènes gastro-intestinales, des repiquages successifs étaient effectués sur gélose nutritive des six souches pathogènes : *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Cette étape est cruciale pour isoler et maintenir des cultures pures.

1.2.5 Conservation des souches

La conservation des souches pures à long terme permet de maintenir les souches pour une période allant de quelques mois à plusieurs années. Dans cette méthode, on a utilisé des tubes à Eppendorf et on y ajoute des additifs cryoprotecteurs tels que le glycérol (un protecteur contre la formation de cristaux de glace nuisibles pour les bactéries). D'où, 1.5ml de la culture bactérienne est mélangé à 1.5ml de glycérol. La conservation se fait à une température à -20°C.

1.2.6 Détection de l'effet antibiofilm de *Lactobacillus sp.* sur les souches pathogènes gastro-intestinales

Le principe de la détection de l'effet antibiofilm des *Lactobacillus sp.* sur les souches pathogènes gastro-intestinales repose sur l'évaluation de leur capacité à inhiber ou perturber ces souches pathogènes à former le biofilm.

1.2.6.1 Étude de la formation de biofilm des souches pathogènes gastro-intestinales

Pour confirmer la capacité des souches pathogènes à former le biofilm, une méthode phénotypique quantitative (méthode de la plaque de micro-titration) a été utilisée.

1.2.6.1.1 La méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

La méthode de plaque de culture de tissus (TCP) mise au point par **O'Toole et al. (2000)** offre la possibilité d'une quantification de la formation du biofilm (**Lachachi, 2015**). Des microplaques à 96 puits peuvent être utilisées pour la formation de biofilm sur des supports en polystyrène.

Les bactéries sont cultivées dans un bouillon nutritif et incubées toute la nuit à une température de 37°C. Chaque culture est calibrée pour obtenir une densité optique (DO) entre 0,08 et 0,1.

Chaque puits de la plaque est rempli avec 150µl de chaque souche. On recouvre les microplaques, on les scelle de manière stérile et on les incubes pendant 24 heures à une température de 37°C.

Après incubation, les puits sont vidés, rincées trois fois par l'eau distillée stérile, séchées en position retournée et colorées avec 125µL d'une solution cristalline violette à 0,1% pendant une durée de 15 minutes (**Asadzadegan et al., 2023**).

Le cristal violet (CV) est un colorant basique qui s'attache aux bactéries et aux exopolysaccharides présents dans la matrice extracellulaire du biofilm (**Peeters et al., 2008**). La coloration au CV a été d'abord décrite par **Christensen et al. (1985)**, puis modifiée par **Stepanovic et al. (2000)**, afin de faciliter la quantification de la biomasse des biofilms de faible épaisseur (âgés de quelques heures ou quelques jours).

Suite à une incubation de 15 minutes, tout surplus de cristal violet est retiré grâce à trois rinçages avec de l'eau distillée stérile. Après séchage de la microplaque, on ajoute 125 µL d'acide acétique glacial à 30 % dans chaque puits. L'incubation a eu lieu à température ambiante pendant 15 min (**Asadzadegan et al., 2023**).

La quantité de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la densité optique (DO) à 570nm à l'aide d'un lecteur ELISA Auto Reader. La présentation des résultats obtenus est effectuée sur la base de la DO du témoin (bouillon nutritif).

La classification des souches se présente comme suit (**Tableau 2**) :

Tableau 2 : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP (**Mathur et al., 2006**).

Valeurs DO	Adhérence	Formation de biofilm
< 0,120	Non adhérente	Non formatrice
0,120 – 0,240	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
> 0.240	Fortement adhérente	Fortement formatrice

1.2.6.2 Etude de l'effet antibiofilm des surnageant des lactobacilles sur les souches pathogènes gastro-intestinales

a) Préparation des surnageant CFS (cell free supernatant)

Les deux souches de *Lactobacillus sp.* (Lb1 et Lb2) étaient incubées en conditions aérobies dans du bouillon MRS à 37 °C pendant 24 h. Le CFS a été obtenu par centrifugation à 1000 tours/minute pendant 30 minutes (**Asadzadegan et al., 2023**).

b) Effet antibiofilm des *Lactobacillus sp.*

L'effet antibiofilm des surnageants (CFS) des lactobacilles sur les souches pathogènes a été étudié par la méthode de TCP.

Deux microplaques étaient utilisées, une pour étudier l'effet du surnageant (CFS) issu de la souches Lb1 et l'autre pour étudier l'effet du CFS issu de Lb2.

Les souches pathogènes sont incubées durant une nuit dans un bouillon nutritif. Après 24h d'incubation 100 µl de chaque culture jeune déjà ajustées à 10⁸ UFC/mL était inoculée dans chaque puits. D'autre part 100 µl des CFS sont introduits dans les mêmes puits contenant les souches pathogènes. Après 24 heures d'incubation les puits des microplaques sont vidés, et rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile avant d'être séchés. Par la suite, les puits sont colorés avec 125 µL de la solution de violet cristallin à 0,1 % pendant 15 minutes. Suite à trois cycles de lavage et séchage, 125 µL d'acide acétique à 30% est incorporés dans les puits. L'incubation a été réalisée à température ambiante pendant 15 minutes, et l'absorbance a été déterminée à 570 nm grâce à un lecteur ELISA Auto Reader. La présentation des résultats obtenus se fait en se basant sur la DO témoin (BN + CFS) (**Asadzadegan et al., 2023**).

Chapitre 2 : Résultats et discussion

2.1 Revivification des lactobacilles

Après avoir revivifier les souches de lactobacilles dans le bouillon MRS, un trouble est observable dans les tubes, donc les souches sont viables et ont repris leur activité métabolique (Vazquez-Munoz et al., 2022).

2.2 Vérification de la pureté des lactobacilles

Plusieurs ensemencements successifs sur gélose MRS ont permis de purifier les souches de *Lactobacillus*.

2.3 Caractérisation phénotypique

2.3.1 Examen macroscopique

Après incubation, les cultures bactériennes sont visibles à l'œil nu sur gélose MRS avec des colonies qui peuvent être observées tant en surface qu'en profondeur sur le même milieu. Généralement, les colonies de *Lactobacillus* ont un diamètre approximatif de 0,5 à 1 mm. Elles sont majoritairement de couleur blanche, parfois un peu transparentes. Les colonies peuvent se présenter en une forme circulaire avec une bordure uniforme ou parfois irrégulière. Les isolats montrent des différences dans leur aspect qui peut être lisse ou rugueux (**Figure 16**).

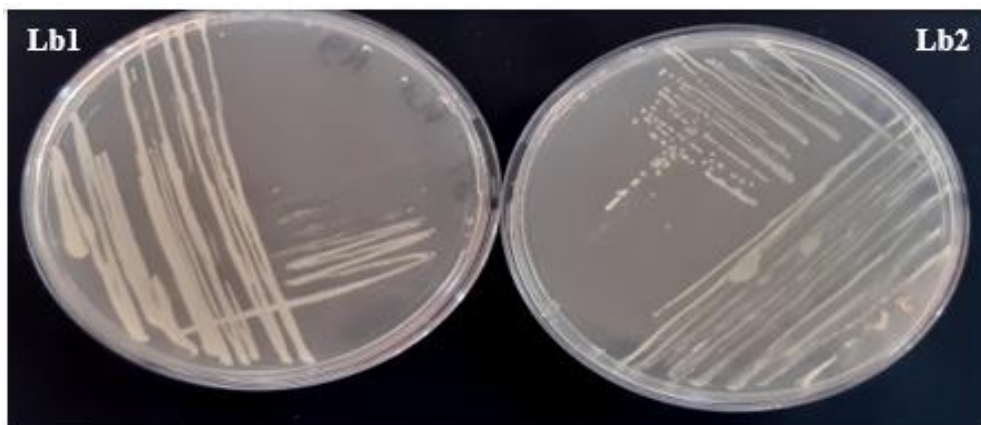


Figure 16 : Aspect macroscopique des colonies des deux souches de lactobacilles (Lb1, Lb2) cultivées sur gélose MRS.

Nos observations concordent avec les caractéristiques macroscopiques mentionnés par **Badis et al. (2005)**, **Denis et al. (2007)**, ainsi que par **De Vos et al. (2009)**.

2.3.2 Examen par microscope optique

La caractérisation microscopique des deux souches (Lb1, Lb2) effectuée à l'aide de la coloration de Gram a révélé une coloration positive. Nos bactéries sont en forme de bacilles et de coccobacilles, présentes à la fois sous forme isolées et en chaînettes (**Figure 17**).

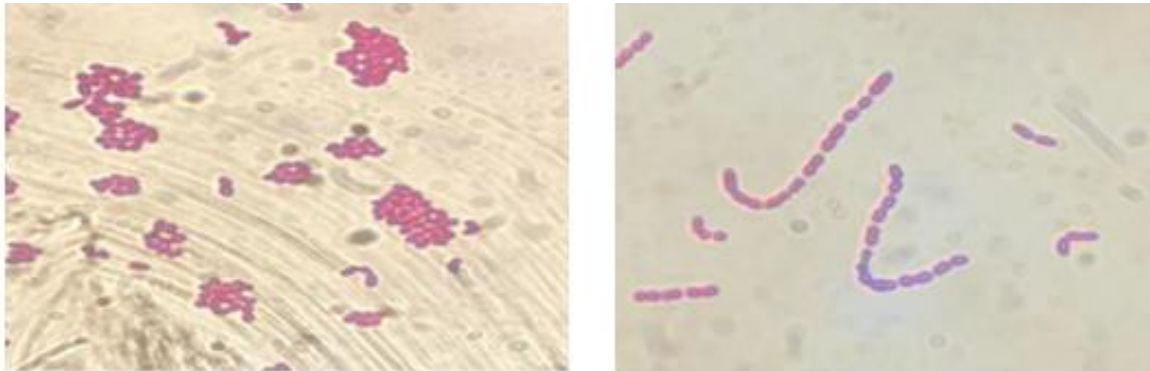


Figure 17 : Observation microscopique des *Lactobacillus sp.* après coloration de gram (Gx100).

Cette description corrobore les conclusions de **Kandler et Weise (1986)** ainsi que celles d'**Axelsson (1993)**.

2.4 Repiquage des souches pathogènes

Les repiquages des six souches pathogènes gastro-intestinales sur gélose nutritive ont permis d'obtenir des cultures pures et jeunes (**Figure 18**).

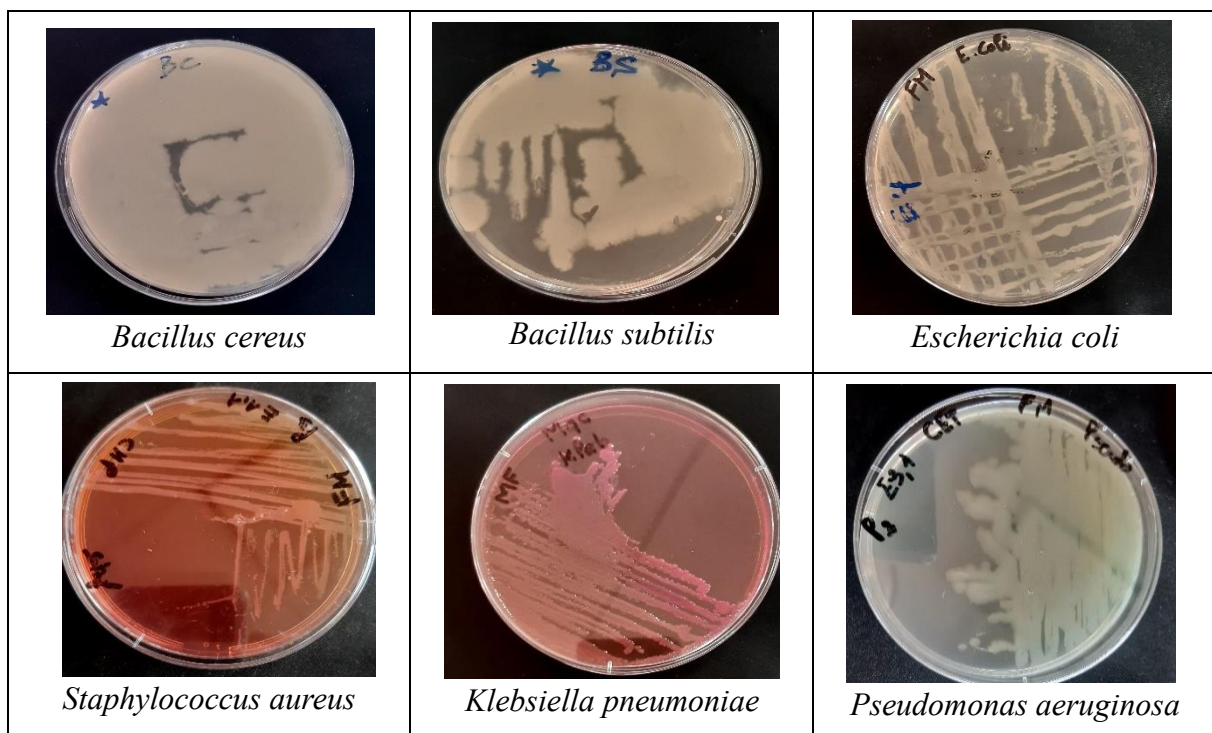


Figure 18 : Résultats de repiquage des souches pathogènes gastro-intestinales

2.5 Résultats de la formation de biofilm

La capacité des bactéries pathogènes gastro-intestinales à former le biofilm constitue un mécanisme crucial pour leur persistance et leur résistance aux conditions défavorables.

Dans cette étude, on a procédé à l'évaluation de leur capacité à former le biofilm en employant la technique de la plaque de culture de tissus (TCP). Cette méthode est citée comme la méthode de détection la plus sensible, la plus exacte et la plus fiable pour déterminer la production de biofilm par les isolats cliniques (Meziani, 2022).

Les résultats de la formation de biofilm des souches pathogènes gastro-intestinales sont affichés dans le tableau ci-dessous (Tableau 3) et sont classés selon la classification suggérée par Meziani, (2022) :

Tableau 3 : Résultats de l'évaluation et de la formation de biofilm.

Bactéries	Valeurs de DO	Adhérence	Formation de biofilm
<i>Bacillus cereus</i>	0,173	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Bacillus subtilis</i>	0,176	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,176	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Escherichia coli</i>	0,178	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,191	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,1	Fortement adhérente	Fortement formatrice

Les résultats obtenus indiquent que la plupart des souches (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*) montrent une faible capacité d'adhésion aux surfaces avec des DO qui varie entre 0,173 et 0,191. À l'exception de *P. aeruginosa* qui a montré une grande capacité d'adhésion avec une DO supérieur à 0,240 conformément aux critères établis par Meziani, (2022) (Figure 19).

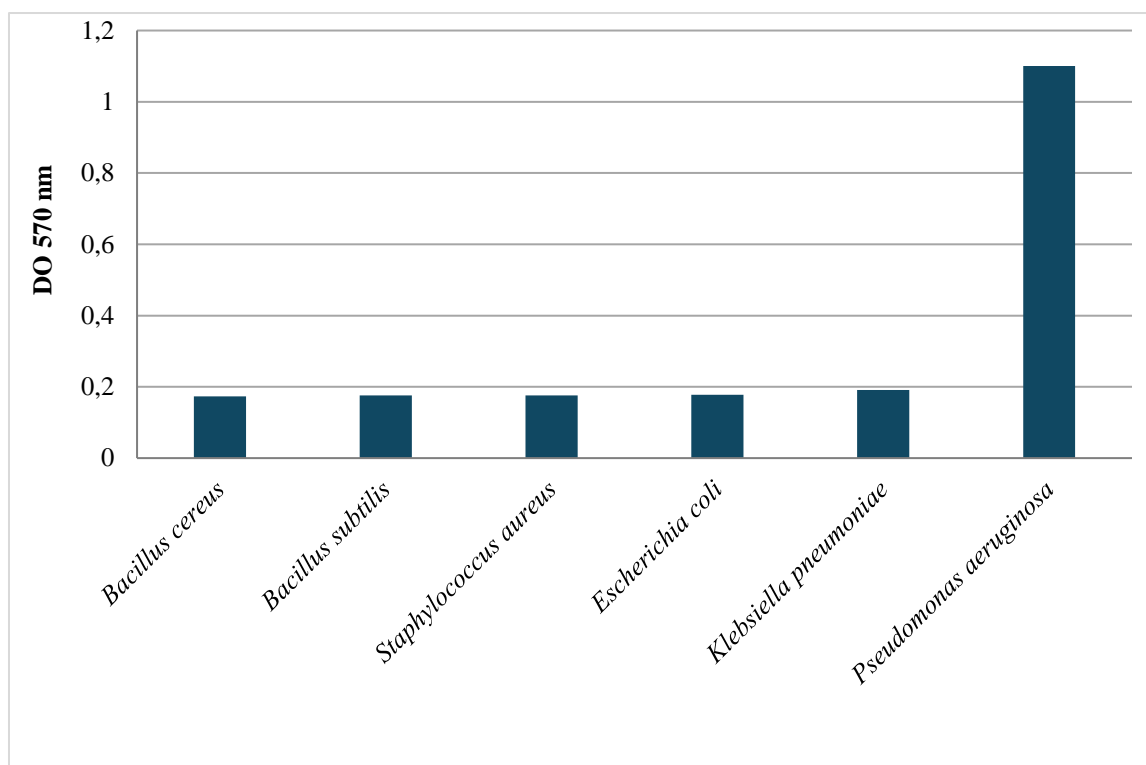


Figure 19 : Résultats de la formation de biofilm par la technique TCP des souches pathogènes gastro-intestinales.

Ces résultats indiquent que dans les conditions expérimentales appliquées, ces bactéries n'ont pas formé une matrice extracellulaire épaisse, ce qui pourrait être dû à l'absence de plusieurs inducteurs de biofilm comme la disponibilité en fer, la densité cellulaire initiale ou encore la composition du milieu nutritif (García-Cayueta *et al.*, 2014).

On considère que les bactéries sont peu formatrices de biofilm lorsqu'elles montrent une faible capacité à se fixer aux surfaces (quelques souches ne synthétisent pas assez de protéines d'adhésion ou de fimbriae (pili), entravant ainsi leur attachement au départ sur la surface) (Alshammari *et al.*, 2023). Et quand elles ont une capacité limitée à générer des substances de la matrice (telles que les polysaccharides), ce qui entrave la stabilisation du biofilm (Damyanova et Paunova-Krasteva, 2025). De plus, l'absence ou l'insuffisance de systèmes de régulation tels que le QS entrave la coordination cellulaire requise pour la création d'un biofilm mature (Mitra, 2024), tandis que l'absence de motilité comme les flagelles est couramment essentielle pour atteindre à coloniser des surfaces (Fu *et al.*, 2021).

La capacité de *P. aeruginosa* à former des biofilms est largement documentée dans la littérature. Elle est connue pour générer une matrice dense en exopolysaccharides comme l'alginate, le polysaccharide de pellicule (PEL) et le locus de synthèse de polysaccharide

(PSL), qui offrent une protection aux cellules face aux agents antimicrobiens et favorisent la cohésion du biofilm ainsi que son adhérence à la surface (Costerton et al., 1999 ; Flemming et Wingender, 2010 ; Colvin et al., 2012). Elle présente des structures spécialisées comme les pili de type IV qui facilitent l'adhésion à la surface, tandis que le flagelle lui permet de se déplacer vers des surfaces favorables à sa colonisation (O'Toole et Kolter, 1998). De plus, elle intègre des systèmes de QS pour moduler l'expression des gènes associés à la fabrication de biofilm organisant ainsi les actions collectives (Davies et al., 1998).

La formation intense de biofilm par *P. aeruginosa* souligne donc son importance majeure dans les infections chroniques et sa résistance renforcée aux traitements antimicrobiens lors des infections gastro-intestinales.

Ces résultats soulignent l'importance de repérer et d'empêcher la formation de biofilm dans le cadre des infections gastro-intestinales, et justifient le recours à des approches alternatives telles que les probiotiques pour prévenir l'établissement de biofilms nuisibles.

2.6 Résultats de l'effet antibiofilm des *Lactobacillus sp.* sur les souches pathogènes gastro-intestinales

La méthode de microplaque a été utilisée pour évaluer l'effet antibiofilm des surnageants des souches Lb1 et Lb2 des *Lactobacillus sp.* vis-à-vis des souches pathogènes gastro-intestinales.

Les tableaux suivants (Tableau 4 et 5) présentent les résultats en se basant sur la classification suggérée par Meziani, (2022) :

Tableau 4 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb1 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.

Bactéries	Valeurs de DO	Adhérence	Formation de biofilm
<i>Bacillus cereus</i>	0,102	Non adhérente	Non formatrice
<i>Bacillus subtilis</i>	0,089	Non adhérente	Non formatrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,106	Non adhérente	Non formatrice
<i>Escherichia coli</i>	0,104	Non adhérente	Non formatrice
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,098	Non adhérente	Non formatrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,13	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice

Tableau 5 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.

Bactéries	Valeurs de DO	Adhérence	Formation de biofilm
<i>Bacillus cereus</i>	0,102	Non adhérente	Non formatrice
<i>Bacillus subtilis</i>	0,089	Non adhérente	Non formatrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,103	Non adhérente	Non formatrice
<i>Escherichia coli</i>	0,097	Non adhérente	Non formatrice
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,100	Non adhérente	Non formatrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,14	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice

Les résultats obtenus confirment que les surnageants des souches de *Lactobacillus sp.* Lb1 et Lb2 sont efficaces pour réduire la capacité d'attachement et le développement de biofilm de toutes les souches pathogènes d'origine gastro-intestinale (**Figure 20 et 21**).

La DO mesurée des bactéries : *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae* suite à leurs traitements par les surnageants des souches Lb1 et Lb2 variait entre 0,089 et 0,106. Cela indique un manque d'adhérence et donc une non-prolifération de biofilm (non formatrice).

La DO de *P. aeruginosa* après son traitement par les surnageants Lb1 et Lb2 à diminuer de 1,1 à 0,13 traduisant une faible capacité d'adhérence bactérienne ainsi qu'une aptitude limitée à la formation de biofilm.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de **García-Cayuela et al. (2014)**, qui ont démontré que certaines souches de lactobacilles sont capables d'inhiber l'adhésion des pathogènes par la production de substances antimicrobiennes comme l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines et les biosurfactants (**Batoni et al., 2023 ; Mekky et al., 2022 ; Giordani et al., 2021**),

En plus, ces souches rivalisent avec les pathogènes pour la fixation sur les surfaces en perturbant la formation initiale du biofilm (**Giordani et al., 2021**). De plus, quelques métabolites des lactobacilles interfèrent avec la communication entre les cellules pathogènes (QS) ce qui entrave la coordination requise pour la création de biofilm (**Giordani et al., 2021 ; Ruhul et Kataria, 2021 ; Mekky et al., 2022**).

Chapitre 2 : Résultats et discussion

Nos souches de lactobacilles montrent une activité notable contre les bactéries Gram positives et Gram négatives, soit en produisant des biosurfactants selon **Guan et al. (2023)**, **Mouafo et al. (2023)**, **Ammar et al. (2025)**, soit des substances antimicrobiennes selon **Khiralla et al. (2015)** ; **Satpute et al. (2018)** ; et en inhibant le QS ainsi que les enzymes qui dégradent la matrice du biofilm selon **Ruhal et Kataria. (2021)**.

Malgré que les lactobacilles inhibent presque totalement la formation de biofilm chez les bactéries Gram négatives et Gram positives (**Gurunathan et al., 2014**). Cependant, il est possible que certaines variétés de lactobacilles réduisent partiellement la création de biofilm chez les bactéries Gram négatives (**Qiao et al., 2021** ; **Guan et al., 2023** ; **Mouafo et al., 2023** ; **Ammar et al., 2025**), y compris *P. aeruginosa*.

Ce qui est déjà cité par **Mekky et al. (2022)** que les lactobacilles sont capables de réduire la biomasse du biofilm de plus de 50 % la quantité d'EPS et la matrice extracellulaire de *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa est considérée hautement biofilmogène en raison de sa production généreuse d'exopolysaccharides (alginate, PSL, PEL) qui stabilisent le biofilm. Elle utilise également des structures spécialisées telles que les flagelles et les pili de type IV pour l'adhésion initiale et la motilité, ce qui favorise l'établissement du biofilm (**Rasamiravaka et al., 2015**). De plus, ces systèmes complexes de QS contrôlent la formation de biofilm et la production de facteurs de virulence. Ces systèmes facilitent une coordination efficace des activités cellulaires, augmentant ainsi la résistance du biofilm (**Wilder et al., 2011**). Certaines variétés des lactobacilles peuvent interférer partiellement ces signaux, sans toutefois suffire à entraver l'ensemble du processus.

D'autre part, les bactéries Gram négative montrent une résistance accrue du fait de leur membrane externe agissant comme une barrière protectrice contre les lactobacilles (**Ruhal et Kataria, 2021**), et ces derniers rend les bactéries Gram positives plus sensibles aux substances antimicrobiennes (**Misba et al., 2017**) en raison de l'absence d'une membrane externe (**Ruhal et Kataria, 2021**).

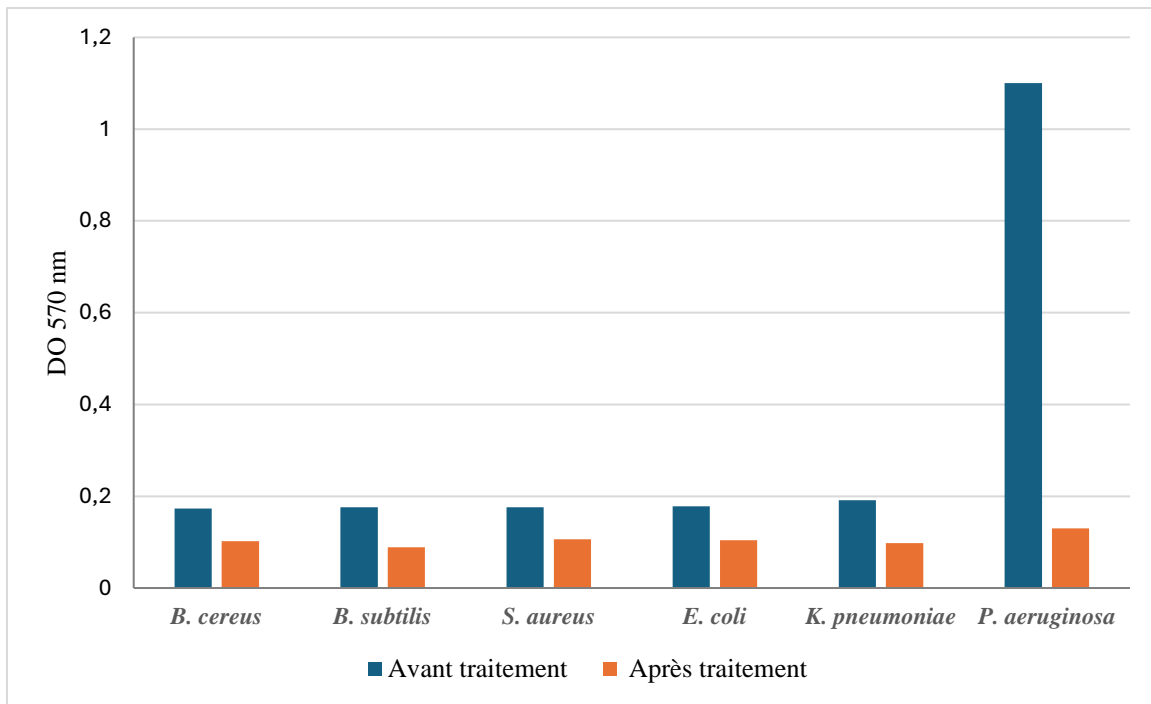


Figure 20 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb1 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.

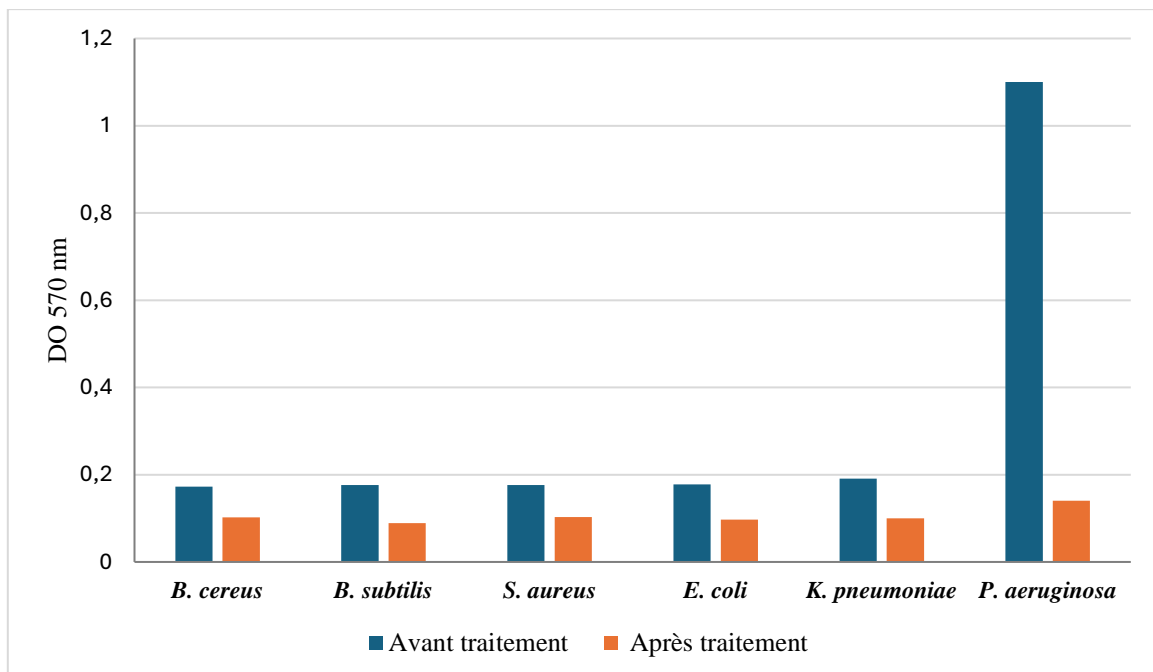


Figure 21 : Résultats de l'effet antibiofilm de la souche Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.

En effet l'effet antibiofilm des deux souches Lb1 et Lb2 sur les souches pathogènes a montré des résultats très semblables, elles ont toutes les deux une grande capacité d'inhibition du

biofilm (**Figure 22**). Cela peut être due aux molécules tensioactives à capacité anti-biofilm (qui arrêtent l'attachement, la fabrication de biofilm et stimulent la dispersion de biofilms déjà formés) qui ont récemment été trouvées chez *L. jensenii* et *L. rhamnosus*, elles ont la capacité d'exercer cette fonction contre multiples pathogènes associés à la santé humaine : *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* et *S. aureus* (**Sambanthamoorthy et al., 2014**). D'autre part, cela implique principalement la sécrétion de biosurfactant, qui est essentiellement constituée de protéines.

Selon **Shokouhfar et al. 2015** *L. acidophilus* peut perturber l'adhérence et la fabrication de biofilm par plusieurs variétés de pathogène opportuniste comme *Serratia marcescens*.

Bien que les exopolysaccharides bactériens impliquent à la fabrication, l'adhésion et l'équilibre de plusieurs biofilms, ils pourraient aussi occuper un rôle dans des mécanismes qui empêchent leur formation. C'est le cas d'un polysaccharide (non identifié) sécrété par *L. acidophilus* face à des biofilms d'*E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Yersinia enterocolitica* et *B. cereus* (**Kim et al., 2009**). De façon similaire, des hétéropolymères constitués de galactose, glucose, fructose et mannose extraits des surnageants de cultures de *L. plantarum* et *L. helveticus*, ont établi une capacité in vitro à empêcher l'adhésion de pathogènes des genres *Escherichia*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Salmonella* et *Pseudomonas* sur des surfaces abiotiques. Cela pourrait être dû à leur action en tant que biosurfactants (en modifiant les surfaces cellulaires microbiennes et les surfaces support) ou en contrôlant l'expression de gènes essentiels pour le développement d'un biofilm (**Li et al., 2014 ; Wang et al., 2015**).

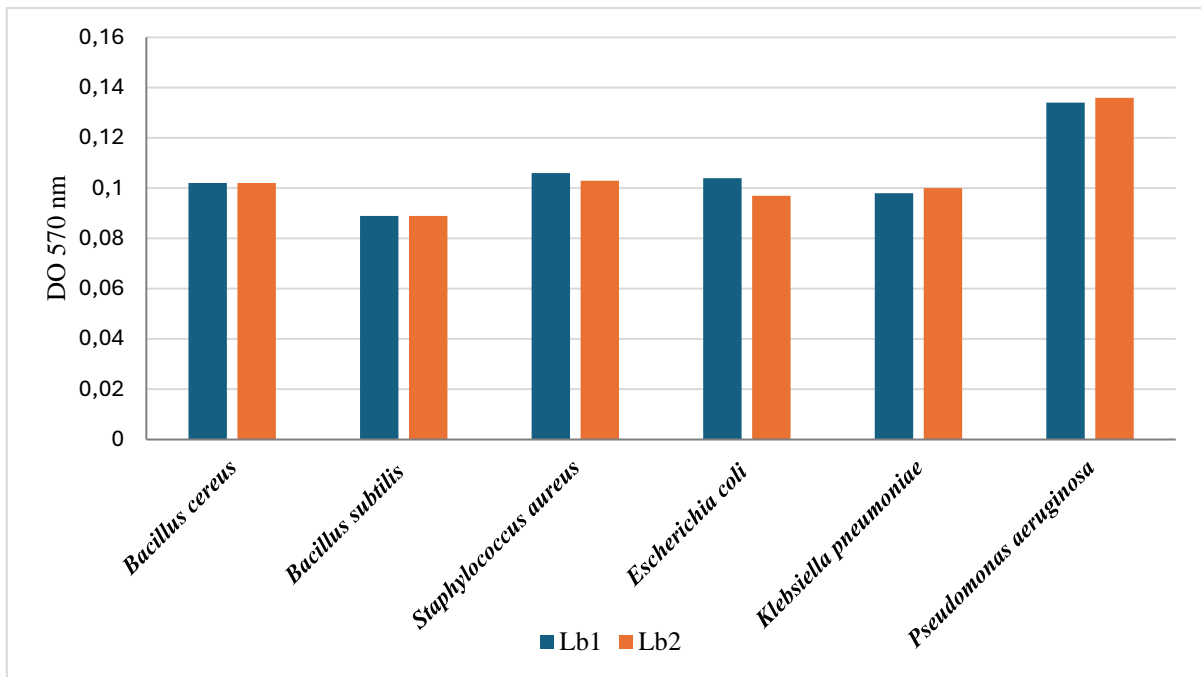


Figure 22 : Effet antibiofilm des surnageants des souches Lb1 et Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.

Sur le plan clinique, l'efficacité des lactobacilles contre les biofilms est particulièrement pertinente dans le cadre des infections gastro-intestinales. Elles participent à la prévention ou à la prise en charge d'infections en équilibrant l'environnement intestinal, en fortifiant la barrière épithéliale et en diminuant l'inflammation (**Plaza-Díaz et al., 2017**).

Ces résultats indiquent que l'usage spécifique de probiotiques pourrait constituer une méthode complémentaire pour limiter la colonisation par des agents pathogènes résistants tout en influençant favorablement le microbiote intestinal.

2.7 Comparaison entre l'activité antibactérienne et antibiofilm des souches Lb1 et Lb2

L'étude de l'activité antibactérienne des mêmes souches de lactobacilles (Lb1, Lb2) sur les mêmes souches pathogènes évaluée par les méthodes de diffusion en puits et spots réalisée par **Benhalli et Hamid. (2024)** à montrer une efficacité supérieure pour Lb2. Cette entité a montré un potentiel d'inhibition atteignant un taux de performance de 86 %, Lb1 a montré un potentiel d'inhibition de 43%.

L'activité antibiofilm des deux souches Lb1 et Lb2 ont montré des effets similaires. Les surnageants inhibent l'adhésion et la formation de biofilm pour les cinq souches pathogènes *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. *P. aeruginosa* est la seule souche qui a conservé une faible capacité d'adhésion et de formation de biofilm.

Ces observations suggèrent que les lactobacilles ont la capacité d'inhiber le biofilm pathogène en sécrétant des biosurfactants ou des substances antimicrobiennes (**Khiralla et al., 2015 ; Satpute et al., 2018**).

La performance supérieure de l'activité antibactérienne de Lb2 par rapport à Lb1 indique que cette souche constitue un excellent choix probiotique pour la prévention des infections gastro-intestinales. Cependant, l'efficacité comparable des deux souches dans l'inhibition de la formation de biofilm suggère que ces souches pourraient intensifier la réponse antibiofilm.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les *Lactobacillus sp.*, sont des bactéries probiotiques bénéfiques à la santé, contribuent de manière significative à l'équilibre de la flore intestinale, à la stimulation du système immunitaire et offrent une protection contre les infections gastro-intestinales liées à l'établissement des biofilms bactériens.

Cette recherche a souligné le potentiel important de certaines variétés de *Lactobacillus sp.* isolées des selles des nourrissons comme agents antibiofilm contre les souches bactériennes pathogènes fréquemment associées aux infections gastro-intestinales. Les résultats recueillis lors de cette recherche démontrent que les surnageants des souches Lb1 et Lb2 exercent un effet antibiofilm notable sur les principales souches pathogènes du système gastro-intestinal. Les probiotiques ont complètement empêché l'adhésion et la formation de biofilm chez *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae* et une réduction partielle a été observée chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces constatations indiquent que l'effet de *Lactobacillus sp.*, ou de leurs métabolites, pourrait constituer une approche naturelle et prometteuse pour la prévention et le traitement des infections gastro-intestinales liées à la formation de biofilm bactérien.

Afin de renforcer ces progrès et d'étudier leur utilisation clinique, plusieurs perspectives de recherche se dessinent :

- ✓ Des recherches sur un plus grand nombre d'échantillons sont nécessaires pour assurer la solidité des conclusions.
- ✓ Identification des lactobacilles par les tests biochimiques tels que la plaque API 50 CH, ainsi que des tests moléculaires sera intéressante.
- ✓ Réaliser des tests antibiofilm sur d'autres souches pathogènes gastro-intestinales.
- ✓ Effectuer des études in vivo pour valider l'efficacité de ces souches observée in vitro.
- ✓ Identifier les molécules métaboliques à effet antibiofilm secrétées par des lactobacilles.

Références bibliographiques

- **Abbas, R., Chakkour, M., Zein El Dine, H., Obaseki, E. F., Obeid, S. T., Jezzini, A., ... et Ezzeddine, Z.** (2024). Aperçu général de la pneumonie à Klebsiella : épidémiologie et rôle des sidérophores dans sa pathogénicité. *Biologie*, 13(2), 78.
- **Abd-Allah, D. A., SOTOHY, S., HASSAN, E. A., & MWAFY, A.** (2024). Antagonistic effect of Lactobacillus acidophilus against some pathogenic bacteria. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 70(181), 146-155.
- **Adams, M. R., & Moss, M. O.** (2000). Food Microbiology (2nd ed.). The Royal Society of Biochemistry, Cambridge, UK, pp. 318-323.
- **Ahmad, M. S., Zargar, M., Mir, S. A., Bhat, N. A., Baba, Z. A., Kant, R. H., ... & Bandey, S.** (2018). Morphological and biochemical studies for the identification of Lactobacillus plantarum sp. nov., and Lactobacillus fermentum sp. nov., from municipal waste. *J Pharmacogn Phytochem*, 7(5), 1421-1424.
- **Alexandre Hervé., Granvalet Cosette., Guilloux-Benatier., Michèle Remize Barnavon Fabienne., Tourdot-Marechal Raphaëlle.** (2008). Les bactéries lactiques en œnologie. Edition Lavoisier p : 113.
- **Alhazmi, A.** (2015). Pseudomonas aeruginosa-pathogenesis and pathogenic mechanisms. *International Journal of Biology*, 7(2), 44.
- **Alnnasouri M.** (2010). Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- **Alshammari, M., Ahmad, A., AlKhulaifi, M., Al Farraj, D., Alsudir, S., Alarawi, M., ... & Alyamani, E.** (2023). Reduction of biofilm formation of Escherichia coli by targeting quorum sensing and adhesion genes using the CRISPR/Cas9-HDR approach, and its clinical application on urinary catheter. *Journal of Infection and Public Health*, 16(8), 1174-1183.
- **Alp, D., & Kuleaşan, H.** (2020). Determination of competition and adhesion abilities of lactic acid bacteria against gut pathogens in a whole-tissue model. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(4), 250-258.
- **Ammar, H. A., Samy, R., Reda, F. M., & Hassanein, W. A.** (2025). Essential oils and Lactobacillus metabolites as alternative antibiofilm agents against foodborne bacteria and molecular analysis of biofilm regulatory genes. *Scientific Reports*, 15(1), 7576.
- **Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., & Chevallier, I.** (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1—Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food control*, 17(6), 454-461.

- **Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., & Momin, A.** (2014). Lactobacillus acidophilus: characterization of the species and application in food production. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(9), 1241-1251.
- **Asadzadegan, R., Haratian, N., Sadeghi, M., Maroufizadeh, S., Mobayen, M., Sedigh Ebrahim Saraei, H., & Hasannejad-Bibalan, M.** (2023). RETRACTED: Antibiofilm and antimicrobial activity of Lactobacillus cell free supernatant against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wounds. *International Wound Journal*, 20(10), 4112-4121.
- **Assoni, L., Girardello, R., Converso, T. R., & Darrieux, M.** (2021). Current stage in the development of Klebsiella pneumoniae vaccines. *Infectious diseases and therapy*, 10(4), 2157-2175.
- **Avakh, A., Grant, G. D., Cheesman, M. J., Kalkundri, T., and Hall, S.** (2023). The art of war with *Pseudomonas aeruginosa*: targeting Mex efflux pumps directly to strategically enhance antipseudomonal drug efficacy. *Antibiotics* 12 :1304. Doi: 10.3390/antibiotics12081304
- **Axelsson, L.** (1993). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In S. Salminen & A. Von Wright (Eds.), *Lactic Acid Bacteria* (pp. 1-63). Marcel Dekker Inc.
- **Azam M., Mohsin M., Ijaz H., Tulain U., Ashraf M., Fayyaz A., Abdeen Z., Kamran Q.** 2017. Lactic acid bacteria in traditional fermented Asian foods. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* 30 (5): 1803-1814.
- **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R.** (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle". *Science and Technologie*, 23, 30-37.
- **Behbahani, B. A., Jooyandeh, H., Taki, M., & Falah, F.** (2024). Evaluation of the probiotic, anti-bacterial, anti-biofilm, and safety properties of Lacticaseibacillus paracasei B31-2. *Lwt*, 207, 116676.
- **Baiya, M., & Soraa, N.** (2022). L' impact de la PCR gastro-intestinale sur la prise en charge des infections gastro-intestinales chez les immunodéprimés. *PAMJ Clinical Medicine*, 10(17).
- **Balestrino, D., Haagensen, J. A., Rich, C., Forestier, C.** (2005). Characterization of Type 2 Quorum Sensing in Klebsiella Pneumoniae and Relationship With Biofilm Formation. *J. Bacteriol.* 187 (8), 2870–2880. doi: 10.1128/JB.187.8.2870-2880.2005
- **Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B.** (2018). How to manage Pseudomonas aeruginosa infections. *Drugs in context*, 7, 212527.

- **Batoni, G., Catelli, E., Kaya, E., Pompilio, A., Bianchi, M., Ghelardi, E., ... & Maisetta, G.** (2023). Antibacterial and antibiofilm effects of Lactobacilli strains against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* under conditions relevant to cystic fibrosis. *Antibiotics*, *12*(7), 1158.
- **Belguesmia, Y., Naghmouchi, K., Chihib, N.-E., and Drider, D.** (2011) Class IIa bacteriocins: current knowledge and perspectives. In: Drider, D., and Rebuffat, S. (Eds). *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*. Springer Verlag. Nantes, France. pp 1-41.
- **Bellifa S.** (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- **Bendinger, B., Rijnaarts, H. H., Altendorf, K., & Zehnder, A. J.** (1993). Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*, *59*(11), 3973-3977.
- **Bengoechea, J. A., Sa Pessoa, J.** (2019). *Klebsiella Pneumoniae* Infection Biology: Living to Counteract Host Defences. *FEMS Microbiol. Rev.* *43* (2), 123–144. doi : 10.1093/femsre/fuy043
- **Benhelli Nour El Houda et Hamidi Amal Bochra.** (2024). Evaluation de l'activité antibactérienne de Lactobacillus sp. isolées de la matière fécale des nouveau-nés vis-à-vis des souches pathogènes gastro-intestinales. Mémoire de master. Université abou bekr belkaid, Tlemcen.
- **Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A.** (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *61*(2), 160-174.
- **Bhardwaj, A., Puniya, M., Sangu, K. P. S., Kumar, S., & Dhewa, T.** (2012). Isolation and biochemical characterization of Lactobacillus species isolated from Dahi. *Research & Reviews : A Journal of Dairy Science and Technology*, *1*(2), 1-14.
- **Bien, J., Palagani, V., & Bozko, P.** (2013). The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, *6*(1), 53-68.

Références bibliographiques

- **Birri, D. J., Brede, D. A., Tessema, G. T., & Nes, I. F.** (2013). Bacteriocin production, antibiotic susceptibility and prevalence of haemolytic and gelatinase activity in faecal lactic acid bacteria isolated from healthy Ethiopian infants. *Microbial Ecology*, 65(2), 504-516.
- **Bottazzi, V.** (1988). An introduction to rod-shaped lactic-acid bacteria. *Biochimie*, 70(3), 303-315.
- **Branger, A.** (2007). *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, 343.
- **Branger A., Richer M-M., Roustel S.** (2007). *Microbiochimie et alimentation*. Ed educagri. Pp 131-140.
- **Brauge, T.** (2015). Étude des exopolysaccharides de la matrice extracellulaire des biofilms de *Listeria monocytogenes*. 415p. Thèse de doctorat, école doctorale des Sciences de la Matière du Rayonnement et de l'Environnement, Université Lille 1.
- **Brindhadevi, K., LewisOscar, F., Mylonakis, E., Shanmugam, S., Verma, T. N., Pugazhendhi, A.** (2020). Biofilm and Quorum Sensing Mediated Pathogenicity in *Pseudomonas Aeruginosa*. *Process. Biochem.* 96, 49–57. doi: 10.1016/j.procbio.2020.06.001
- **Brul, S., & Coote, P.** (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*, 50(1-2), 1-17.
- **Burcelin, R., Nicolas, S. & Blasco-Baque, V.** (2016). Microbiotes et maladies métaboliques - De nouveaux concepts pour de nouvelles stratégies thérapeutiques. *Médecine/sciences*, 32(11), pp. 952-960.
- **Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., & Butel, M. J.** (2007). Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 31(5), 533-542.
- **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.
- **Champagne (1992). In Boudjani, W.** (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. P 73.
- **Characklis W.G, Marshall K.C.** (1990). *Biofilms*. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.
- **Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., & Collins, J. K.** (2001). Quality control *Lactobacillus* strains for use with the API 50CH and API ZYM systems at 37 C. *Journal of*

Références bibliographiques

Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms, 41(5), 241-251.

- **Chen, H., Zhang, J., He, Y., Lv, Z., Liang, Z., Chen, J., ... & Liu, X.** (2022). Exploring the role of *Staphylococcus aureus* in inflammatory diseases. *Toxins*, 14(7), 464.
- **Chew, S. Y., Cheah, Y. K., Seow, H. F., Sandai, D., & Than, L. T. L.** (2015). In vitro modulation of probiotic bacteria on the biofilm of *Candida glabrata*. *Anaerobe*, 34, 132-138.
- **Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., et al.** (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol.* 22 : 99631006.
- **Cibik, R., Marcille, F., Corthier, G., & Dore, J.** (2004). [Intestinal flora: development, characteristics, and influence of the type of feeding]. *Archives de Pédiatrie*, 11, 573-575.
- **Cilieborg, M. S., Boye, M., & Sangild, P. T.** (2012). Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Human Development*, 88, S41–S49.
- **Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A., & Percival, S. L.** (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary microbiology*, 121(1-2), 1-17.
- **Coico, R.** (2001). Gram staining. *Current Protocols in Immunology*, Appendix 3, Appendix 3O.
- **Cogan, T. M.** (1996). History and taxonomy of starter cultures. In T. M. Cogan and J.- P. Accolas (ed.), *Dairy starter cultures*. VCH Publishers, Inc., New York, N.Y.
- **Colvin, K. M., Irie, Y., Tart, C. S., Urbano, R., Whitney, J. C., Ryder, C., ... & Parsek, M. R.** (2012). The Pel and Psl polysaccharides provide *Pseudomonas aeruginosa* structural redundancy within the biofilm matrix. *Environmental microbiology*, 14(8), 1913-1928.
- **Comelli, E. M., Guggenheim, B., Stinglele, F., & Neeser, J. R.** (2002). Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *European journal of oral sciences*, 110(3), 218-224.
- **Costa, R. G., Esteves, W. T. C., & da Rocha Nogueira, J. M.** (2024). Main classical staining methods in bacteriology: applications, techniques, principles, and limitations. *RBAC*, 56(3), 197-210.
- **Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P.** (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *science*, 284(5418), 1318-1322.

Références bibliographiques

- **Cotter, P.D.; Guinane, C.M.; Hill, C.; Ross, R.P.** (2005). Microbial solutions to microbial problems; lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food. *J. Appl. Microbiol.*, 98, 1316-132
- **Cotter, P. D., & Hill, C.** (2003). Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(3), 429-453.
- **Cukrowska, B., Bierła, J. B., Zakrzewska, M., Klukowski, M., & Maciorkowska, E.** (2020). The relationship between the infant gut microbiota and allergy: The role of *Bifidobacterium breve* and prebiotic oligosaccharides in the activation of anti-allergic mechanisms in early life. *Nutrients*, 12(4), 946.
- **Czajkowski R. et Jafra S.** (2009). Quenching of acyl-homoserine lactone dependent Quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. University of Gdansk and Medical University of Gdansk, Gdańsk, Poland.
- **Damyanova, T., & Paunova-Krasteva, T.** (2025). What We Still Don't Know About Biofilms—Current Overview and Key Research Information. *Microbiology Research*, 16(2).
- **Dao, T. T., Liebenthal, D., Tran, T. K., Ngoc Thi Vu, B., Ngoc Thi Nguyen, D., Thi Tran, H. K., et al.** (2014). *Klebsiella Pneumoniae* Oropharyngeal Carriage in Rural and Urban Vietnam and the Effect of Alcohol Consumption. *PloS One* 9 (3), e91999. doi: 10.1371/journal.pone.0091999
- **Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W., & Greenberg, E. P.** (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280(5361), 295-298.
- **Dearlove, B. L., Cody, A. J., Pascoe, B., Méric, G., Wilson, D. J., & Sheppard, S. K.** (2016). Rapid host switching in generalist *Campylobacter* strains erodes the signal for tracing human infections. *The ISME journal*, 10(3), 721-729.
- **De Gregorio, P. R., Tomás, M. S. J., Terraf, M. C. L., & Nader-Macías, M. E. F.** (2014). In vitro and in vivo effects of beneficial vaginal lactobacilli on pathogens responsible for urogenital tract infections. *Journal of medical microbiology*, 63(5), 685-696.
- **De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E.** (1960). A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23(1), 130-135.
- **Dempsey, E., & Corr, S. C.** (2022). *Lactobacillus* spp. for gastrointestinal health: current and future perspectives. *Frontiers in immunology*, 13, 840245.

Références bibliographiques

- Denis, F., Poly, M. C., Bengen, E., & Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale, techniques usuelles (2ème éd., 417 p.). Elsevier Masson, Paris.
- De Vos P. Garrity GM. Jones D. Krieg NR. Ludwig W. Rainey FA. Schleifer KH. Whitmanet WB. (2009). Genus Lactobacillus, Bacillus and Listeria. In: « Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York. pp.19-511.
- De Vuyst, L., & Vandamme, E. J. (1994). Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and applications* (pp. 91-142). Boston, MA : Springer US.
- Dolié, E. (2018). Toulouse (UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES) : s.n.
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975.
- Donlan R.M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Disease journal*. 8 (9): 881-890
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
- Douarche, C., Bailleux, V., Even, C., Allain, J. M., Regeard, C., & Raspaud, É. (2018). La mécanique des biofilms à la surface de liquides. *Reflats de la physique*, (56), 20-24.
- Douradinha, B. (2024). Exploring the journey: a comprehensive review of vaccine development against Klebsiella pneumoniae. *Microbiological Research*, 127837.
- Duar, R. M., Lin, X. B., Zheng, J., Martino, M. E., Grenier, T., Pérez-Muñoz, M. E., ... & Walter, J. (2017). Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus Lactobacillus. *FEMS microbiology reviews*, 41(Supp_1), S27-S48.
- Dubravka, M., Lazic, S., Branka, V., Jelena, P., Bugarski, D., & Zorica, S. (2010). Slime production and biofilm forming ability by staphylococcus aureus bovine mastitis isolates. *Acta Veterinaria*, 60(2–3), 217–226. <https://doi.org/10.2298/AVB1003321>
- Dufour, D., Leung, V., & Lévesque, C. M. (2010). Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 22(1), 2-16.
- Durga, C. S. S., Ruben, N., Chand, M. S. R., Indira, M., & Venkatesh, C. (2021). Comprehensive microbiological studies on screening bacteria for self-healing concrete. *Materialia*, 15, 101051.

- **Ekmekci, H., Aslim, B., & Ozturk, S.** (2009). Characterization of vaginal lactobacilli coaggregation ability with *Escherichia coli*. *Microbiology and immunology*, 53(2), 59-65.
- **El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., ... & Abd El-Hack, M. E.** (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5145-5156.
- **El-Ziney, M. G., Arneborg, N., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Jakobsen, M.** (1998). Characterization of growth and metabolite production of *Lactobacillus reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnology Letters*, 20, 913-916.
- **Eyquem A., Alouf J., Montagni L.** (2000). Traite de microbiologie clinique. Italie : pp. 22-23.
- **Fang, C. T., Chen, Y. C., Chang, S. C., Sau, W. Y., Luh, K. T.** (2000). *Klebsiella Pneumoniae* Meningitis: Timing of Antimicrobial Therapy and Prognosis. *QJM* 93 (1), 45–53. doi: 10.1093/qjmed/93.1.45
- **Fiedler, G., Schneider, C., Igbinsa, E. O., Kabisch, J., Brinks, E., Becker, B., Bulla, J., Klein, G., Huch, M., & Franz, C. M. A. P.** (2019). Antibiotics resistance and toxin profiles of *Bacillus cereus*-group isolates from fresh vegetables from German retail markets. *BMC Microbiology*, 19(1), 1.
- **Filloux, A., & Vallet, I.** (2003). Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Médecine/sciences*, 19(1), 77-83.
- **Flemming, H. C., & Wingender, J.** (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633.
- **Fletcher, M. A. D. I. L. Y. N.** (1988). Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium-substratum separation distance. *Journal of bacteriology*, 170(5), 2027-2030.
- **Folkesson, A., Haagenen, J. A., Zampaloni, C., Sternberg, C., & Molin, S.** (2008). Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides. *PLoS One*, 3(4), e1891.
- **Fontenille, D., Lagneau, C., Lecollinet, S., Lefait Robin, R., Setbon, M., Tirel, B., & Yébakima, A. (Éds.)**. (2009). Modes de transmission des agents infectieux / La dynamique de la maladie versus celle de l'infectiosité. In *La lutte antivectorielle en France* (1st ed.). IRD Éditions.

Références bibliographiques

- **Fu, J., Zhang, Y., Lin, S., Zhang, W., Shu, G., Lin, J., ... & Fu, H.** (2021). Strategies for interfering with bacterial early stage biofilms. *Frontiers in microbiology*, 12, 675843.
- **Fuller, R.** (1991). Probiotics in human medicine. *Gut*. 32 : 439-442.
- **Fuqua, W. C., Winans, S. C., & Greenberg, E. P.** (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Journal of bacteriology*, 176(2), 269-275.
- **Gad, S.** (2018). Assessment of biofilm advantages and disadvantages. *Journal of Scientific and Engineering Research*, 2018, 5(4):231-237.
- **García-Cayueta, T., Korany, A. M., Bustos, I., de Cadiñanos, L. P. G., Requena, T., Peláez, C., & Martínez-Cuesta, M. C.** (2014). Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype. *Food Research International*, 57, 44-50.
- **Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z.** (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in natural science*, 18(9), 1049-1056.
- **Giordani, B., Parolin, C., & Vitali, B.** (2021). Lactobacilli as anti-biofilm strategy in oral infectious diseases: a mini-review. *Frontiers in Medical Technology*, 3, 769172.
- **Goel, N., Fatima, S. W., Kumar, S., Sinha, R., & Khare, S. K.** (2021). Antimicrobial resistance in biofilms: Exploring marine actinobacteria as a potential source of antibiotics and biofilm inhibitors. *Biotechnology Reports*, 30, e00613.
- **Goetz, C., Dufour, S., Archambault, M., Malouin, F., & Jacques, M.** (2016). Importance and control of biofilm formation by staphylococci during intra-mammary infections in dairy cows: a review of literature, 215-229.
- **Goldstein, E. J., Tyrrell, K. L., & Citron, D. M.** (2015). *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(suppl_2), S98-S107.
- **Goller, C. C., & Romeo, T.** (2008). Environmental influences on biofilm development. *Bacterial Biofilms*, 37-66.
- **Gomes, T. A., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M., ... & Martinez, M. B.** (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 3-30.
- **Gram, C.** (1884). Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medicin*, 2, 185-189.

Références bibliographiques

- **Granum, P. E.** (1994). *Bacillus cereus* and its toxins. Society for Applied Bacteriology Symposium Series, 23, 61S–66S.
- **Granum, P. E., et Lindbäck, T.** (2012). *Bacillus cereus*. *Microbiologie alimentaire : principes fondamentaux et frontières*, 491-502.
- **Green S K., Schroth M N., Cho J., Kominos S K., Vitanza-jack V B.** (1974). Agricultural plants and soil as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol* 28, 987-991.
- **Guan, C., Zhang, W., Su, J., Li, F., Chen, D., Chen, X., ... & Zhang, C.** (2023). Antibacterial and antibiofilm potential of *Lactobacillus rhamnosus* YT and its cell-surface extract. *BMC microbiology*, 23(1), 12.
- **Gueimonde, M., Jalonen, L., He, F., Hiramatsu, M., & Salminen, S.** (2006). Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli. *Food research international*, 39(4), 467-471.
- **Guiraud J.P et Rosec J.P.** (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. AFNOR : 241 p.
- **Gurunathan, S., Han, J. W., Kwon, D. N., & Kim, J. H.** (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale research letters*, 9, 1-17.
- **Hajati, H.** (2018). Application of organic acids in poultry nutrition. *International Journal of Avian & Wildlife Biology* 3, 324-329.
- **Haras, D.** (2005). Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques*, 93, s-27.
- **Hardy, H., Harris, J., Lyon, E., Beal, J., & Foey, A. D.** (2013). Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients*, 5(6), 1869-1912.
- **Holzappel, W. H., Goktepe, I., Juneja, V., & Ahmedna, M.** (2006). Introduction to prebiotics and probiotics. *Probiotics In Food Safety Human Health*, 35(2), 109-116.
- **Hsiao, C. P., & Siebert, K. J.** (1999). Modeling the inhibitory effects of organic acids on bacteria. *International journal of food microbiology*, 47(3), 189-201.
- **Hu, M. X., He, F., Guo, Y. X., Mo, L. Z., & Zhu, X.** (2022). *Lactobacillus reuteri* biofilms inhibit pathogens and regulate microbiota in in vitro fecal fermentation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 70(38), 11935-11943.
- **Hummel, S., Veltman, K., Cichon, C., Sonnenborn, U., & Schmidt, M. A.** (2012). Differential targeting of the E-Cadherin/ β -Catenin complex by gram-positive probiotic

Références bibliographiques

- lactobacilli improves epithelial barrier function. *Applied and environmental microbiology*, 78(4), 1140-1147.
- **Irie, Y., & Parsek, M. R.** (2008). Quorum sensing and microbial biofilms. *Bacterial biofilms*, 67-84.
 - **Jacobsen, S. M., Stickler, D. J., Mobley, H. L., & Shirtliff, M. E.** (2008). Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 26-59.
 - **Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... & Kamil, M. A.** (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the chinese medical association*, 81(1), 7-11.
 - **Janssen, M., Geeraerd, A. H., Cappuyns, A., Garcia-Gonzalez, L., Schockaert, G., Van Houteghem, N., ... & Van Impe, J. F.** (2007). Individual and combined effects of pH and lactic acid concentration on *Listeria innocua* inactivation: development of a predictive model and assessment of experimental variability. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(5), 1601-1611.
 - **Jomehzadeh, N., Javaherizadeh, H., Amin, M., Saki, M., Al-Ouqaili, M. T., Hamidi, H., ... & Gorjian, Z.** (2020). Isolation and identification of potential probiotic *Lactobacillus* species from feces of infants in southwest Iran. *International Journal of Infectious Diseases*, 96, 524-530.
 - **Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C. & Chassard, C.** (2012). New insights in gut microbiota establishment in healthy breast-fed neonates. *PLoS One*, 7(8), p. e44595.
 - **Kandler, O., & Weiss, N.** (1986). Genus *Lactobacillus*. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, & J. G. Holt (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 2, pp. 1209-1220). Williams and Wilkins, Baltimore, M.D.
 - **Kaplan, J. Á.** (2010). Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research*, 89(3), 205-218.
 - **Khalighi, A., Behdani, R., & Kouhestani, S.** (2016). Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. In *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. InTech.
 - **Khiralla, G. M., Mohamed, E. A., Farag, A. G., & Elhariry, H.** (2015). Antibiofilm effect of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* cell-free supernatants against some bacterial pathogens. *Journal of Biotech Research*, 6(1944–3285), 86.

Références bibliographiques

- **Kim, Y., & Kim, S. H.** (2009). Released exopolysaccharide (r-EPS) produced from probiotic bacteria reduce biofilm formation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Biochemical and biophysical research communications*, 379(2), 324-329.
- **Kipnis, E., Sawa, T., & Wiener-Kronish, J.** (2006). Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Medecine et maladies infectieuses*, 36(2), 78-91.
- **Klaenhammer, T. R.** (1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70(3), 337-349.
- **Klaenhammer, T. R.** (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 12(1-3), 39-85.
- **Kleerebezem, M., Quadri, L. E., Kuipers, O. P., & De Vos, W. M.** (1997). Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Molecular microbiology*, 24(5), 895-904.
- **Kostinek, M., Specht, I., Edward, V. A., Schillinger, U., Hertel, C., Holzapfel, W. H., & Franz, C. M.** (2005). Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Systematic and applied microbiology*, 28(6), 527-540.
- **Kramer, J. M., & Gilbert, R. J.** (1989). *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In M. P. Doyle (Ed.), *Foodborne bacterial pathogens* (pp. 21-50). Marcel Dekker, Inc.
- **Lachachi Meryem.** (2015). Développement du biofilm bactérien au niveau des tubulures d'eau de l'unité dentaire CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- **Lagha, A. B., Haas, B., Gottschalk, M., & Grenier, D.** (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. *Veterinary Research*, 48(1), 22.
- **Lebeaux D. et Ghigo J.M.** (2012). Management of biofilm-associated infections: What can we expect from recent research on biofilm lifestyles?. *Medecine Sciences*. 28(8-9): 727-739.
- **Lee, Y. K., & Mazmanian, S. K.** (2010). Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *science*, 330(6012), 1768-1773.
- **Léon L M ; Michel V.** (1990). *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Paris : Flammarion édition. p. 567-73.
- **Lindegren S.E et Dobrgosz W.J.** (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiol. Rev.* 87 : 149-164.

Références bibliographiques

- **Li, W., Ji, J., Rui, X., Yu, J., Tang, W., Chen, X., ... & Dong, M.** (2014). Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 732-739.
- **Logan, N. A.** (2012). *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of Applied Microbiology*, 112(3), 417-429.
- **Logan, N. A., & Vos, P. D.** (2015). *Bacillus*. *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*, 1-163.
- **Lorite, G. S., Rodrigues, C. M., De Souza, A. A., Kranz, C., Mizaikoff, B., & Cotta, M. A.** (2011). The role of conditioning film formation and surface chemical changes on *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm evolution. *Journal of colloid and interface science*, 359(1), 289-295.
- **Lucas, F., Popoff, M., & Corthier, G.** (1991). Les entérotoxines bactériennes : structure, mode d'action. In *Annales de recherches vétérinaires* (Vol. 22, No. 2, pp. 147-162).
- **Luis Balcázar, J., Decamp, O., Vendrell, D., De Blas, I., & Ruiz-Zarzuela, I.** (2006). Health and nutritional properties of probiotics in fish and shellfish. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 18(2), 65-70.
- **Liu, X., Yao, H., Zhao, X., & Ge, C.** (2023). Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria. *Molecules*, 28(6), 2432.
- **Malbos, D.** (2023). Une gastro-entérite aiguë. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(631), 23-26.
- **Martinez, L. R., & Casadevall, A.** (2007). *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cell susceptibility to heat, cold, and UV light. *Applied and environmental microbiology*, 73(14), 4592-4601.
- **Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A.** (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* .24 (1) :25-9.
- **McGroarty, J. A., & Reid, G.** (1988). Detection of a *Lactobacillus* substance that inhibits *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 34(8), 974-978.
- **McMillan, A., Dell, M., Zellar, M. P., Cribby, S., Martz, S., Hong, E., ... & Reid, G.** (2011). Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(1), 58-64.
- **Mejía-Caballero, A., López-Sánchez, R., Ramos-Cerrillo, B., Garcíarrubio, A., & Segovia, L.** (2025). Genomic insights into habitat adaptation of *Lactobacillus* species. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 41(2), 1-14.

Références bibliographiques

- **Mekky, A. F., Hassanein, W. A., Reda, F. M., & Elsayed, H. M.** (2022). Anti-biofilm potential of *Lactobacillus plantarum* Y3 culture and its cell-free supernatant against multidrug-resistant uropathogen *Escherichia coli* U12. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2989-2997.
- **Mengelle, C., Mansuy, J. M., Prere, M. F., Grouteau, E., Claudet, I., Kamar, N. et al.** (2013). Simultaneous detection of gastrointestinal pathogens with a multiplex Luminex-based molecular assay in stool samples from diarrhoeic patients. *Clin Microbiol Infect.*,19(10) : E458- E465.
- **Miller, M. B., & Bassler, B. L.** (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 165-199.
- **Misba, L., Zaidi, S., & Khan, A. U.** (2017). A comparison of antibacterial and antibiofilm efficacy of phenothiazinium dyes between Gram positive and Gram negative bacterial biofilm. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 18, 24-33.
- **Mitra, A.** (2024). Combatting biofilm-mediated infections in clinical settings by targeting quorum sensing. *The Cell Surface*, 100133.
- **Mittelman, M. W.** (1996). Adhesion to biomaterials. *Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity*. New York: Wiley-Liss, Inc, 1996, 89-127.
- **Mogha, K. V., Shah, N. P., Prajapati, J. B., & Chaudhari, A. R.** (2014). Biofilm-A threat to dairy industry. *Indian J. Dairy Sci*, 67(6), 459-466.
- **Mokoena, M. P.** (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255.
- **Motlagh, A. M., Johnson, M. C., & Ray, B.** (1991). Viability loss of foodborne pathogens by starter culture metabolites. *Journal of Food Protection*, 54(11), 873-879.
- **Mouafo, H. T., Sokamte, A. T., Manet, L., Mbarga, A. J. M., Nadezdha, S., Devappa, S., & Mbawala, A.** (2023). Biofilm inhibition, antibacterial and antiadhesive properties of a novel biosurfactant from *Lactobacillus paracasei* N2 against multi-antibiotics-resistant pathogens isolated from braised fish. *Fermentation*, 9(7), 646.
- **Muhsin, J., Ufaq, T., Tahir, H., & Saadia, A.** (2015). Bacterial biofilm: its composition, formation and role in human infections. *J Microbiol Biotechnol*, 4, 1-14.
- **Muller A., et Guaguere E.** (2014). L'Antibiothérapie n'est pas la seule source d'antibiorésistance : notion de biofilm. Conflits AFVAC. Médecine interne / maladies Infectieuses. Paris – la Défense.

- **Nagaoka, S., Hojo, K., Murata, S., Mori, T., Ohshima, T., & Maeda, N.** (2008). Interactions between salivary *Bifidobacterium adolescentis* and other oral bacteria: in vitro coaggregation and coadhesion assays. *FEMS microbiology letters*, 281(2), 183-189.
- **Napoca C.** (2012). Enterobacteriaceae –caractèresgénéraux, classification. Le diagnostic de laboratoire des infections produites par les enterobacteriespathogene, TP, Romania :1
- **Nataro, J. P., & Kaper, J. B.** (1998). Diarrheagenic escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, 11(1), 142-201.
- **Naves, P., Del Prado, G., Huelves, L., Rodriguez-Cerrato, V., Ruiz, V., Ponte, M. C., & Soriano, F.** (2010). Effects of human serum albumin, ibuprofen and N-acetyl-L-cysteine against biofilm formation by pathogenic *Escherichia coli* strains. *Journal of Hospital Infection*, 76(2), 165-170.
- **Noémie, B.** (2016). Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives. UNIVERSITE DE LORRAINE FACULTE DE PHARMACIE : s.n.
- **Okada, M., Sato, I., Cho, S. J., Iwata, H., Nishio, T., Dubnau, D., & Sakagami, Y.** (2005). Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nature chemical biology*, 1(1), 23-24.
- **Oli M.W., Otoo H.N., Crowley P.J., Heim K.P., Nascimento M.M., et al.** (2012). Functional amyloid formation by *Streptococcus mutans*. *Microbiol.* 158 : 290332916.
- **O'Toole, G. A., & Kolter, R.** (1998). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Molecular microbiology*, 28(3), 449-461.
- **O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R.** (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49-79.
- **Ozgun, D., & Vural, H. C.** (2011). Identification of *Lactobacillus* strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrum by API 50 CHL system. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, 3(3), 46-49.
- **Paczosa, M. K., Mecsas, J.** (2016). *Klebsiella Pneumoniae*: Going on the Offense With a Strong Defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80 (3), 629–661. doi: 10.1128/MMBR.00078-15
- **Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A., & Brown, P. O.** (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*, 5(7), e177.
- **Palmer, J., Flint, S., & Brooks, J.** (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 577-588.

Références bibliographiques

- **Parsek, M. R., & Singh, P. K.** (2003). Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual Reviews in Microbiology*, 57(1), 677-701.
- **Pecastaings S.** (2010). Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux Minérales naturelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- **Peeters E., Nelis H.J., Coenye T.** (2008). Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Microbiological Methods*. 72 : 1573165.
- **Philips P.L., Wolcott R.D., Fletcher J., Schultz G.S.** (2011). Biofilms made easy. 1(3), pp 1-6.
- **Pilly E.** (2008). Maladies infectieuses et tropicales. P : 247-511.
- **Plaza-Díaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Vilchez-Padial, L. M., & Gil, A.** (2017). Evidence of the anti-inflammatory effects of probiotics and synbiotics in intestinal chronic diseases. *Nutrients*, 9(6), 555.
- **Portier, E.** (2014). Rôle du fer sur *Legionella pneumophila* et sur sa persistance dans les biofilms naturels. 253 p. Thèse de doctorat : Aspects moléculaire et cellulaires de la biologie : Pottiers : Université de Pottiers.
- **Pot, B., Felis, G. E., Bruyne, K. D., Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., Leisner, J., & Vandamme, P.** (2014). The genus *Lactobacillus*. *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*, 249-353.
- **Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A.** (2003). Les bactéries : les Gram positif pauvre en GC. In *Microbiologie* (2ème édition française, pp. 529-572). Paris.
- **Privat, K., & Thonart, P.** (2011). Action des cultures protectrices : cas des germes lactiques sur la flore alimentaire indésirable. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(2), 339-348.
- **Qiao, Z., Chen, J., Zhou, Q., Wang, X., Shan, Y., Yi, Y., ... & Lü, X.** (2021). Purification, characterization, and mode of action of a novel bacteriocin BM173 from *Lactobacillus crustorum* MN047 and its effect on biofilm formation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 1474-1483.
- **Queck, S. Y., Weitere, M., Moreno, A. M., Rice, S. A., & Kjelleberg, S.** (2006). The role of quorum sensing mediated developmental traits in the resistance of *Serratia marcescens* biofilms against protozoan grazing. *Environmental Microbiology*, 8(6), 1017-1025.

Références bibliographiques

- **Rasamiravaka, T., Labtani, Q., Duez, P., & El Jaziri, M.** (2015). The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed research international*, 2015(1), 759348.
- **Reid, G.** (1999). Biofilms in infectious disease and on medical devices. *International journal of antimicrobial agents*, 11(3-4), 223-226.
- **Rivera, L. E. C., Ramos, A. P., & Desgarenes, C. P.** (2007). Péptidos antimicrobianos : antibióticos naturales de la piel. *Dermatología Revista Mexicana*, 51(2), 57-67.
- **Rodrigues, L., Banat, I. M., Teixeira, J., & Oliveira, R.** (2006). Biosurfactants: potential applications in medicine. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 57(4), 609-618.
- **Roissart, H., & Luquet, F. M.** (1994). Méthodes d'identification des bactéries lactiques. In H. Roissart & F. M. Luquet (Eds.), *Bactéries lactiques ; Aspects fondamentaux et technologiques* (Vol. 2, pp. 141-167). Grenoble, France : Coquand éd.
- **Roux, A., Ghigo, J M.** Les biofilms bactériens. Groupe génétique des biofilms institut pasteur, 16 mars 2006 France, 268p.
- **Ruhal, R., & Kataria, R.** (2021). Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. *Microbiological Research*, 251, 126829.
- **Salehi, R., Savabi, O., Kazemi, M., Salehi, A. R., Eslami, G., & Tahmourespour, A.** (2014). Effects of *Lactobacillus reuteri*-derived biosurfactant on the gene expression profile of essential adhesion genes (*gtfB*, *gtfC* and *ftf*) of *Streptococcus mutans*. *Advanced biomedical research*, 3(1), 169.
- **Salveti, E., Torriani, S., & Felis, G. E.** (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4, 217-226.
- **Sambanthamoorthy, K., Feng, X., Patel, R., Patel, S., & Parnavitana, C.** (2014). Antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactants isolated from lactobacilli against multi-drug-resistant pathogens. *BMC microbiology*, 14, 1-9.
- **Samedi, L., & Charles, A. L.** (2019). Evaluation of technological and probiotic abilities of local lactic acid bacteria. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 7(1), 9-19.
- **Sathe, N., Beech, P., Croft, L., Suphioglu, C., Kapat, A., & Athan, E.** (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment “Knowing the enemy” the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment. *Infectious medicine*, 2(3), 178-194.

- **Satpute, S. K., Mone, N. S., Das, P., Banpurkar, A. G., & Banat, I. M.** (2018). Lactobacillus acidophilus derived biosurfactant as a biofilm inhibitor: a promising investigation using microfluidic approach. *Applied Sciences*, 8(9), 1555.
- **Saunders, S., Bocking, A., Challis, J., & Reid, G.** (2007). Effect of Lactobacillus challenge on Gardnerella vaginalis biofilms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 55(2), 138-142.
- **Sauvageot, N., Gouffi, K., Laplace, J. M., & Auffray, Y.** (2000). Glycerol metabolism in Lactobacillus collinoides: production of 3-hydroxypropionaldehyde, a precursor of acrolein. *International journal of food microbiology*, 55(1-3), 167-170.
- **Savabi, O., Kazemi, M., Kamali, S., Salehi, A. R., Eslami, G., Tahmourespour, A., & Salehi, R.** (2014). Effects of biosurfactant produced by Lactobacillus casei on gtfB, gtfC, and ftf gene expression level in S. mutans by real-time RT-PCR. *Advanced biomedical research*, 3(1), 231.
- **Servin, A. L., & Coconnier, M. H.** (2003). Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 741-754.
- **Shaik G., Sujatha N. and Mehar S.K.** (2014). Medicinal plants as source of antibacterial agents to counter Klebsiella pneumoniae. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, 4: 135-147.
- **Sharma, D., Misba, L., and Khan, A. U.** (2019). Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 8 :76. doi: 10.1186/s13756-019-0533-3
- **Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R.** (2023). Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614.
- **Shokouhfard, M., Kermanshahi, R. K., Shahandashti, R. V., Feizabadi, M. M., & Teimourian, S.** (2015). The inhibitory effect of a Lactobacillus acidophilus derived biosurfactant on biofilm producer Serratia marcescens. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(10), 1001.
- **Simões, M., Simões, L. C., & Vieira, M. J.** (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 43(4), 573–583.
- **Slover, C. M., & Danziger, L.** (2008). Lactobacillus: a review. *Clinical Microbiology Newsletter*, 30(4), 23-27.

Références bibliographiques

- **Sommer, F., & Bäckhed, F.** (2013). The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 227–238.
- **Squinazi F.** (2013). Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution de l'eau. Costerton et al., 1999 ; Muhsin et al., 2015).
- **Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B., Svabic-Vlahovic M.** (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of Staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods*. 40: 1753179.
- **Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S.** (2010). Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- **Tabassum, N., Asaduzzaman, S. A. I., Ullah, A. A., Ava, A. I., Kawnain, R. R., Mahin, R. H., ... & Noor, R.** (2021). Genetic and biochemical aspects of quorum sensing in the bacterial lifestyle and pathogenesis. *Life Res*, 4(2), 14.
- **Tahmourespour, A., Salehi, R., & Kermanshahi, R. K.** (2011). Lactobacillus acidophilus-derived biosurfactant effect on gtfB and gtfC expression level in Streptococcus mutans biofilm cells. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 330-339.
- **Tailliez, P.** (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*, 6(1), 35-41.
- **Tannock, G. W.** (1999). Identification des lactobacilles et des bifidobactéries. *Questions actuelles en biologie moléculaire*, 1(1), 53-64.
- **Tenke, P., Kovacs, B., Jäckel, M., & Nagy, E.** (2006). The role of biofilm infection in urology. *World journal of urology*, 24, 13-20.
- **Thorene, G.** (1994). Hurmonal immune responses to shiga-like toxins and *Escherichia coli*; p43.
- **Toyofuku, M., Inaba, T., Kiyokawa, T., Obana, N., Yawata, Y., & Nomura, N.** (2016). Environmental factors that shape biofilm formation. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(1), 7-12.
- **Trautner, B. W., & Darouiche, R. O.** (2004). Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *American journal of infection control*, 32(3), 177-183.
- **Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M.** (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.

- **Turnbull, P. C., Kramer, J. M., & Melling, J.** (1996). Bacillus. *Medical microbiology*, 4, 233.
- **Van Den Elsen, L. W. J., Garssen, J., Burcelin, R., & Verhasselt, V.** (2019). Shaping the gut microbiota by breastfeeding: the gateway to allergy prevention? *Frontiers in Pediatrics*, 7.
- **Van Houdt, R., & Michiels, C. W.** (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of applied microbiology*, 109(4), 1117-1131.
- **Vazquez-Munoz, R., Thompson, A., Russell, J. T., Sobue, T., Zhou, Y., & Dongari-Bagtzoglou, A.** (2022). Insights from the *Lactobacillus johnsonii* genome suggest the production of metabolites with antibiofilm activity against the pathobiont *Candida albicans*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 853762.
- **Vuotto, C., Barbanti, F., Mastrantonio, P., & Donelli, G.** (2014a). *Lactobacillus brevis* CD 2 inhibits *Prevotella melaninogenica* biofilm. *Oral diseases*, 20(7), 668-674.
- **Vuotto, C., Longo, F., & Donelli, G.** (2014b). Probiotics to counteract biofilm-associated infections: promising and conflicting data. *International journal of oral science*, 6(4), 189-194.
- **Walencka, E., Różalska, S., Sadowska, B., & Różalska, B.** (2008). The influence of *Lactobacillus acidophilus*-derived surfactants on staphylococcal adhesion and biofilm formation. *Folia microbiologica*, 53, 61-66.
- **Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., Wang, H.** (2020). The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella Pneumoniae*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17 (17), 1–17. doi: 10.3390/ijerph17176278
- **Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., & Yang, Z.** (2015). Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *International journal of biological macromolecules*, 74, 119-126.
- **Waters, C. M., & Bassler, B. L.** (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21(1), 319-346.
- **Wilder, C. N., Diggle, S. P., & Schuster, M.** (2011). Cooperation and cheating in *Pseudomonas aeruginosa*: the roles of the *las*, *rhl* and *pqs* quorum-sensing systems. *The ISME journal*, 5(8), 1332-1343.
- **Wood, B. J., & Holzapel, W. H.** (1995). *The lactic acid bacteria. Vol. 2, The genera of lactic acid bacteria*. Blackie Academic & Professional.

Références bibliographiques

- **Woo, J., & Ahn, J.** (2013). Probiotic-mediated competition, exclusion and displacement in biofilm formation by food-borne pathogens. *Letters in applied microbiology*, 56(4), 307-313.
- **Wu, C. C., Lin, C. T., Wu, C. Y., Peng, W. S., Lee, M. J., & Tsai, Y. C.** (2015). Inhibitory effect of *Lactobacillus salivarius* on *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Molecular oral microbiology*, 30(1), 16-26.
- **Yamazaki, Y., Ito, T., Tamai, M., Nakagawa, S., & Nakamura, Y.** (2024). The role of *Staphylococcus aureus* quorum sensing in cutaneous and systemic infections. *Inflammation and Regeneration*, 44(1), 9.
- **Yin, W., Wang, Y., Liu, L., & He, J.** (2019). Biofilms: the microbial “protective clothing” in extreme environments. *International journal of molecular sciences*, 20(14), 3423.
- **Zalán, Z., Németh, E., Baráth, Á., & Halász, A.** (2005). Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains. *Food Technology and Biotechnology*, 43(3), 219-225.
- **Zhang, Z., Lv, J., Pan, L., & Zhang, Y.** (2018). Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 8135-8143.
- **Zhao X., Zhao F., Wang J., et Zhong N.** (2017). Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: food safety perspectives. *RSC Advances*. Vol 7, 36670.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Tableau 1 : Bouillon MRS.

Composant	Quantité
Glucose	20g
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.1g
Sulfate de manganèse	0.05g
Tween 80	1ml
Phosphate bi potassique	2g
Eau distillée	1000ml
pH final	6.5 +/- 0.2
Autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.	

Remarque : La composition de la gélose MRS : Bouillon MRS + 15g d'agar.

Tableau 2 : Bouillon nutritif.

Composant	Quantité
Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1000ml
pH final	6.8 +/- 0.2
Autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.	

Remarque : La composition de la gélose nutritive : Bouillon nutritif + 15g d'agar.

Annexe 2 : Coloration de Gram

1. Appliquer du cristal violet sur le frottis pendant 1 minute.
2. Éliminer l'excès de colorant avec de l'eau distillée.
3. Appliquer du Lugol pendant 1 minute.
4. Rincer à l'eau distillée.
5. Appliquer de l'éthanol pendant 30 secondes.
6. Rincer à l'eau distillée.
7. Appliquer de la fuchsine pendant 30 secondes.
8. Rincer à l'eau distillée et sécher.
9. Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope ($G \times 100$).

Les bactéries Gram - apparaissent en roses, et les bactéries Gram + apparaissent en bleu-violet (**Gram, 1884**).

Annexe 3 : Illustrations de certaines étapes expérimentales et résultats supplémentaires



Figure 1 : Précultures des souches.

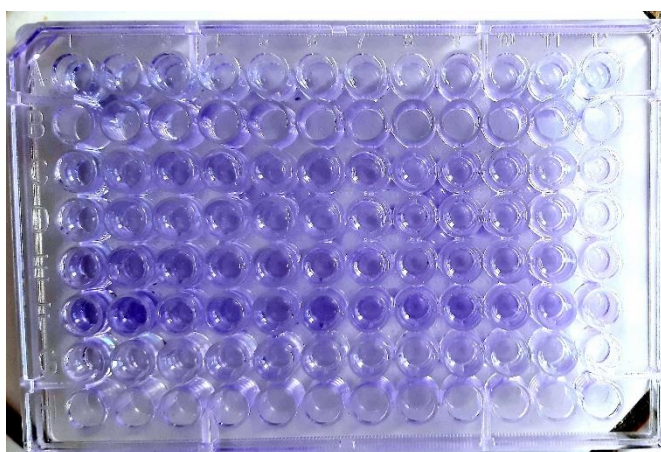


Figure 2 : Résultats de la méthode de TCP de la formation de biofilm.

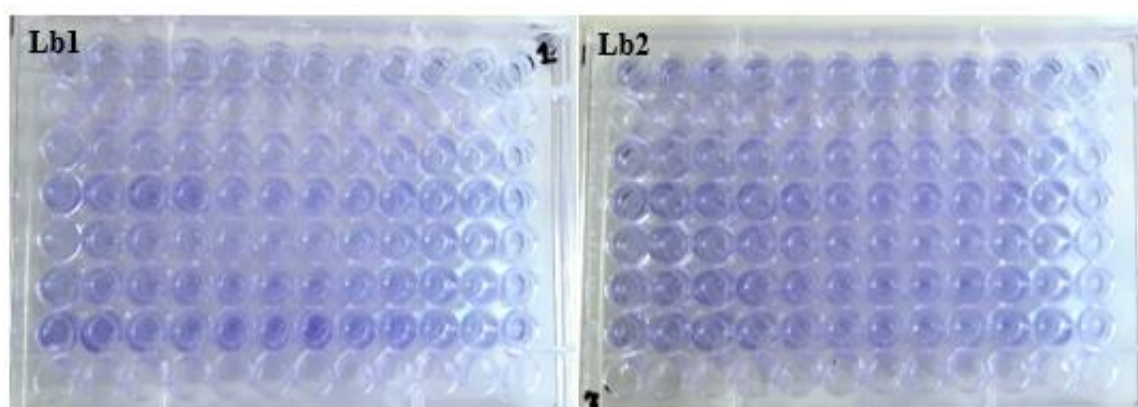


Figure 3 : Résultats de la méthode de TCP de l'effet antibiofilm des Lb1 et Lb2 sur les souches pathogènes gastro-intestinales.