الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Réf : ……

Université El Moudjahid Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

Les Postbiotiques : Une Approche Novatrice en Nutrition Humaine et Animale

Présenté par :

- **Aoulmi Chaima**
- **Boussaha Hadil**

Devant le jury :

M^me^ Lalaoui Meriem	**MCA Université de Mila**	**Présidente**
M^me^ Bouchair Khadidja	**MCB Université de Mila**	**Examinatrice**
M^me^ Hadef Sawsen	**MCB Université de Mila**	**Promotrice**

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciement

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **ALLAH** de nous avoir accordé la santé, la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à notre encadreur, **Mme HADEF Sawsen**, pour avoir proposé ce thème, pour son accompagnement, ses précieux conseils, sa disponibilité ainsi que pour la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons également nos vifs remerciements à **Mme LALAOUI Meriem**, Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider et d'évaluer ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à **Mme BOUCHAIR Khadidja**, Examinatrice, pour avoir accepté d'examiner ce mémoire et pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail.*

*Nous remercions chaleureusement l'ensemble des enseignants du département des Sciences Biologiques et Agricoles de **l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila** pour la qualité de leur enseignement, leurs conseils et les connaissances qu'ils nous ont transmises tout au long de notre parcours universitaire.*

Enfin, nous exprimons nos sincères sentiments de reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

À tous, nous adressons nos plus sincères remerciements.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

À ma très chère mère,

Symbole de tendresse, de patience et de dévouement. Merci pour ton amour inconditionnel, tes sacrifices et tes prières qui m'ont accompagnée à chaque étape de ma vie. Que Dieu te protège et te comble de bonheur.

À mon très cher père,

En témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance pour tous les efforts consentis afin de me voir réussir. Merci pour ton soutien, tes conseils et les valeurs que tu m'as transmises.

À mon cher frère, à ma chère sœur et à ma belle-sœur, pour leur affection, leur présence et leurs encouragements constants.

À mes adorables neveux et nièce, qui apportent joie et bonheur à notre famille.

À ma collègue de mémoire, avec qui j'ai partagé les efforts, les difficultés et les réussites de ce travail.

À mes chères amies, pour leur sincère amitié et leur soutien tout au long de mon parcours.

À mes tantes et à leurs filles, pour leur affection et leur bienveillance.

Avec une pensée pleine d'émotion pour mon grand-père ainsi que mes cousins disparus. Que Dieu leur accorde Sa Sainte Miséricorde et les accueille dans Son vaste Paradis.

À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ma réussite.

Je dédie ce travail avec amour, respect et profonde gratitude.

Hadil

Dédicace

À mes chers parents,
À ceux qui ont semé en moi les graines de l'ambition et ont veillé sur mes pas avec un amour inconditionnel… Vous êtes ma boussole, ma fierté et ma plus grande bénédiction. Je vous dédie ce sésame en témoignage d'une reconnaissance éternelle.

À mon cher frère et ma chère sœur, *piliers de ma vie, dont l'amour et l'épaule bienveillante m'ont toujours poussée à me surpasser.*

À ma famille, et tout particulièrement à ma petite tante ***Choubeila*** *– ma confidente. Merci pour ton soutien silencieux mais si fort, pour ta présence qui réchauffe mon cœur et pour l'amour que tu n'as cessé de me donner. Ton aide discrète a été une lumière dans mon parcours.*

À mon fiancé*, qui a su croire en mes rêves lorsque le chemin s'assombrissait. Ton soutien moral, ta patience et tes encouragements constants ont été le souffle essentiel à l'aboutissement de ce voyage.*

À ma meilleure amie*, ma sœur de cœur. Merci d'être ma lumière et mon refuge. Ce succès est le nôtre.*

À celle avec qui j'ai partagé ce long périple, ses tempêtes et ses accalmies, ***ma chère amie et binôme****. Merci pour cette complicité unique et pour avoir été la mémoire de nos efforts partagés.*

À chacun de vous, je dédie le fruit de mes efforts et l'aube de mon avenir.

Chaima

Les postbiotiques : une approche novatrice en nutrition humaine et animale

Les postbiotiques, définis comme des préparations de micro-organismes inanimés et/ou de leurs composants conférant un bénéfice pour la santé, représentent une approche novatrice en nutrition humaine et animale. Face aux limites des antibiotiques et des antioxydants de synthèse, ils offrent une alternative stable, sûre et facilement intégrable dans les formulations industrielles. Cette étude a évalué *in vitro* les propriétés biologiques de trois préparations postbiotiques : deux issues de souches commerciales (Ultrabiotique et Suprabiotique) et une issue d'un mélange de cinq souches lactiques locales. Les fractions postbiotiques ont été préparées par centrifugation, filtration et inactivation thermique (90°C, 40 min), puis leur stérilité a été validée. L'activité antioxydante, mesurée par le test de piégeage du radical DPPH, a révélé des pourcentages d'inhibition allant jusqu'à 51,59 % pour les fractions solubles, contre 0 à 20 % pour les fractions cellulaires. L'activité antimicrobienne, évaluée par diffusion en puits, a montré une inhibition sélective de *Staphylococcus aureus* avec des zones atteignant 20 mm, dépassant parfois les antibiotiques témoins. L'activité anti-inflammatoire, évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, a montré des taux d'inhibition de 71,21 % et 73,86 % pour les surnageants de PB1 et PB2, surpassant l'aspirine. Ces résultats confirment le potentiel multifonctionnel des postbiotiques, en particulier des fractions solubles, dont l'efficacité dépend de la souche d'origine.

Mots clés : Postbiotiques, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, *in vitro*, nutrition.

Postbiotics: An Innovative Approach in Human and Animal Nutrition

Postbiotics, defined as preparations of inanimate microorganisms and/or their components that confer a health benefit, represent an innovative approach in human and animal nutrition. In response to the limitations of antibiotics and synthetic antioxidants, they offer a stable, safe, and easily integrable alternative for industrial formulations. This study evaluated the *in vitro* biological properties of three postbiotic preparations: two derived from commercial strains (Ultrabioticand Suprabiotic) and one from a mixture of five local lactic acid strains. The postbiotic fractions were prepared by centrifugation, filtration, and thermal inactivation (90°C, 40 min), and their sterility was subsequently validated. The antioxidant activity, measured by the DPPH radical scavenging assay, revealed inhibition percentages of up to 51.59% for the soluble fractions, compared to 0–20% for the cellular fractions. The antimicrobial activity, assessed by the well diffusion method, showed selective inhibition of *Staphylococcus aureus*, with inhibition zones reaching 20 mm, sometimes exceeding those of the reference antibiotics. The anti-inflammatory activity, evaluated by the albumin denaturation inhibition assay, showed inhibition rates of 71.21% and 73.86% for the supernatants of PB1 and PB2, surpassing aspirin. These findings confirm the multifunctional potential of postbiotics, particularly the soluble fractions, whose efficacy depends on the strain of origin.

Keywords: Postbiotics, antimicrobial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, nutrition.

البوستبيوتيكس: نهج مبتكر في التغذية البشرية والحيوانية

تُعرّف البوستبيوتيك على أنها مستحضرات من كائنات دقيقة غير حية و/أو مكوناتها توفّر فائدة صحية، وتمثل نهجًا مبتكرًا في التغذية البشرية والحيوانية. وفي مواجهة محدودية المضادات الحيوية ومضادات الأكسدة الاصطناعية، توفّر هذه المستحضرات بديلاً مستقرًا وآمنًا وسهل الدمج في التركيبات الصناعية. قامت هذه الدراسة بتقييم الخصائص البيولوجية لثلاثة مستحضرات بوستبيوتيكية*في المختبر*: اثنان مشتقان من سلالات تجاريةUltrabiotique و Suprabiotique وواحد مشتق من مزيج من خمس سلالات محلية من بكتيريا لبنية. تم تحضير الأجزاء البوستبيوتيكية عن طريق الطرد المركزي، والترشيح، والإبطال الحراري (90 درجة مئوية لمدة 40 دقيقة)، ثم تم التحقق من تعقيمها. أظهر النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم قياسه باختبار تثبيط جذر DPPH، نسب تثبيط وصلت إلى 51.59% للأجزاء الذائبة، مقابل 0 إلى 20% للأجزاء الخلوية. كما أظهر النشاط المضاد للميكروبات، الذي تم تقييمه بطريقة الانتشار في الآبار، تثبيطًا انتقائيًا لبكتيريا *Staphylococcus aureus* بمناطق تثبيط بلغت 20 ملم، متجاوزة في بعض الحالات المضادات الحيوية المرجعية. أما النشاط المضاد للالتهابات، الذي تم تقييمه باختبار تثبيط تخريب الألبومين، فقد أظهر نسب تثبيط بلغت 71.21% و 73.86% للأجزاء السائلة من PB1 و PB2، متفوقة على الأسبرين. تؤكد هذه النتائج الإمكانات المتعددة الوظائف للبوستبيوتيك، وخاصة الأجزاء الذائبة، التي تعتمد فعاليتها على السلالة الأصلية.

الكلمات المفتاحية: البوستبيوتيك، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، التغذية.

Table des Matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : généralités sur les probiotiques et les prébiotiques……...3

I.1. Généralités sur les probiotiques et les prébiotiques …….3

I.2. Les probiotiques…….……..4

I.2.1. Définition des probiotiques…….……....4

I.2.2. Caractéristiques générales des probiotiques……..……..……..4

I.2.3. Critères de sélection des probiotiques……..…….……6

I.3. Les prébiotiques……..……..……..6

I.3.1. Définition des prébiotiques……..……6

I.3.2. Caractéristiques et nature des prébiotiques…….…….……7

I.3.3. Critères de sélection des prébiotiques……..……7

I.4. Origine et classification des probiotiques et des prébiotiques……..……...8

I.4.1. Origine des probiotiques……..……8

I.4.2. Classification des probiotiques……..…….……..9

I.4.3. Origine des prébiotiques……..……10

I.4.4. Classification des prébiotiques……..……11

I.5. Sources alimentaires des probiotiques et des prébiotiques……..…….12

I.5.1. Sources alimentaires des probiotiques……..…….12

I.5.2. Sources alimentaires des prébiotiques……..…….12

I.6. Mécanismes d'action dans le microbiote intestinal……..……13

I.6.1. Mécanismes d'action des probiotiques……..……13

I.6.2. Mécanismes d'action des prébiotiques……...……14

Chapitre II : postbiotiques……..……16

II.1. Les postbiotiques…….……..……..16

II.2. Classification des postbiotiques…….…...16

II.2.1. Classification selon la nature chimique……..……..……17

II.2.2. Classification selon la degré de purification…….……..…...19

II.2.3. Classification selon la souche d'origine ……..……..…..20

II.2.4. Classification selon la fonction biologique ……...…....……..21

II.3. Composition et caractéristiques biologiques ……...……..…..24

II.3.1. Composition chimique des postbiotiques……..……..….24

II.3.1.1. Composition générale……...…….....……24

II.3.1.2. Influence de la souche productrice……..……..…...25

II.3.1.3. Influence du procédé d'inactivation…….....25

II.3.2. Caractéristiques et propriétés biologiques des postbiotiques ...…..…..25

II.3.2.1. Stabilité thermique, de stockage et conservation ……..…25

II.3.2.2. Résistance au pH gastrique, intestinal et biodisponibilité…..25

II.3.2.3. Innocuité biologique et absence de risque infectieux……...26

II.3.2.4. Cinétique d'action rapide, standardisation et reproductibilité …….…26

II.3.3. Synthèse comparative : Postbiotiques ; Probiotiques et Prébiotiques…….……26

II.4. Production des postbiotiques……28

II.4.1. Mode de production des postbiotiques ……...28

II.4.1.1. Sélection et culture de la souche productrice ……29

II.4.1.2. Inactivation des micro-organismes ……..…..29

II.4.1.3. Purification, fractionnement et concentration …….……..30

II.4.1.4. Contrôle qualité et standardisation …….…...31

II.4.2. Sources et origines des postbiotiques ……..32

II.4.2.1. Sources d'origine naturelle …….…...32

II.4.2.2. Sources et formulations industrielles …….……32

Chapitre III : Applications des postbiotiques en nutrition humain et animale…….....34

III.1. Application des postbiotiques en nutrition humain et animal ..……....34

III.1.1. Modulation du microbiote intestinal ……34

III.1.2. Amélioration des fonctions digestives et régulation métabolique ……35

III.1.3. Mécanismes d'immunomodulation et signalisation cytokinique ……35

III.1.4. Protection de la barrière épithéliale et contrôle de la perméabilité …….....37

III.1.5. Applications commerciales et formulations en nutrition humaine ……..37

III.2. Applications des postbiotiques en nutrition animale ……..38

III.2.1. Amélioration de la croissance et des performances zootechniques ….....38

III.2.2. Protection contre les infections et renforcement de la barrière intestinale ……..39

III.2.3. Stimulation immunitaire et alternative aux antibiotiques promoteurs de croissance ……39

III.3. Perspectives et applications futures des postbiotiques ..…….……40

III.3.1. Nutrition fonctionnelle et aliments enrichis…..……...41

III.3.2. Applications médicales et pharmaceutiques……41

III.3.3. Développement industriel et biotechnologique…….……..41

Partie II: Partie expérimentale

IV. Matériel et Méthodes……43

IV.1. Matériel……43

IV.1.1. Matériel biologique ……..43

IV.1.1.1. Les souches probiotiques ……43

IV.1.1.2. Les souches indicatrices ……44

IV.1.1.3. Les disques d'antibiotiques ……44

IV.1.2. Milieux de culture ……44

IV.1.3. Matériel et produit de laboratoire ……44

IV.2. Méthodes ……45

IV.2.1. Revivification et purification des souches probiotiques locales……45

IV.2.2. Confirmation de la pureté des souches ……45

IV.2.2.1. Examen macroscopique ……46

IV.2.2.2. Examen microscopique ……46

IV.2.3. Reconstitution du probiotique locale ……46

IV.2.4. Mise en culture et vérification des probiotiques commerciaux ……46

IV.2.5. Préparation des fractions postbiotiques ……47

IV.3. Contrôle de stérilité des postbiotiques préparés ……48

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro : activité antiradicalaire contre le radical DPPH ……48

IV.5. Activité antimicrobienne des postbiotiques prepares ……49

IV.6. Test in vitro de l'activité anti-inflammatoire ……51

IV.6.1. Préparation des échantillons ……51

IV.6.2. Préparation de la solution de référence ……51

V.Résultats et discussion……53

V.1. Revivification, purification et confirmation des souches probiotiques……53

V.1.1. Examen macroscopique ……53

V.1.2. Examen microscopique (Coloration de Gram) ……53

V.2. Préparation, aspect macroscopique et contrôle de stérilité des fractions postbiotiques …….55

V.2.1. Revivification et confirmation macroscopique des probiotiques commerciaux (PB1, PB2) ……55

V.2.2. Aspect macroscopique des fractions obtenues après séparation …….55

V.2.3. Aspect macroscopique des fractions isolées après séparation ……56

V.2.4. Validation de l'efficacité de l'inactivation thermique (Contrôle de stérilité)……...57

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro ……58

V.3.1. Évaluation visuelle de l'activité antioxydante des surnageants ……..58

V.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des fractions postbiotiques ……....60

V.5. Test d'activité anti-inflammatoire in vitro ……....64

V.5.1. Évaluation de l'inhibition de la dénaturation protéique …….....64

Conclusion générale……..67

Références bibliographiques……68

Tableau 1 : Classification fonctionnelle des postbiotiques et leurs mécanismes d'action moléculaires 22

Tableau 2 : Composition quantitative détaillée des postbiotiques par catégorie de composés 24

Tableau 3 : Comparaison synoptique des caractéristiques technologiques et biologiques entre probiotiques prebiotiques et postbiotiques 27

Tableau 4 : Caractéristiques des principales méthodes d'inactivation non thermiques des postbiotiques.....30

Tableau 5 : Synthèse des principaux axes d'action, mécanismes biologiques et applications industrielles des postbiotiques 37

Tableau 5 : Effets bénéfiques et impacts zootechniques de l'incorporation des postbiotiques chez différentes espèces d'élevage 21

Tableau 6 : effets bénéfiques et impacts zootechniques de l'incorporation des postbiotiques chez différentes espéces d'élevage.....40

Tableau 7 : Défis industriels actuels et perspectives de développement des postbiotiques…..... 42

Tableau 8 : Les souches probiotiques utilisées …..... 44

Tableau 9 : Les antibiotiques utilisés. 44

Tableau 10 : Les produits chimiques, appareillage et le petit matériel utilisés. 45

Tableau 11 : Répartition des échantillons postbiotiques et de leurs témoins respectifs pour le test d'activité antioxydante 49

Tableau 12 : Répartition des échantillons postbiotiques et de leurs témoins respectifs pour le test d'activité anti-inflammatoire 52

Tableau 13 : Résultats de la coloration de Gram des dix souches….....54

Tableau 14 : Valeurs des absorbances 59

Tableau 15 : Évaluation de l'activité antioxydante (DPPH) des fractions bactériennes (Surnageants et Culots) 59

Tableau 16 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des fractions postbiotiques et des antibiotiques témoins vis-à-vis des souches pathogènes. 62

Tableau 17 : Profil comparatif de la sensibilité des souches pathogènes face aux fractions postbiotiques. .....…….... 63

Figure 1 : Chronologie de l'évolution conceptuelle des probiotiques, prébiotiques et postbiotiques 3

Figure 2 : Principales caractéristiques biologiques et fonctionnelles des probiotiques 5

Figure 3 : Schéma intégratif de la classification des probiotiques selon les critères taxonomiques et fonctionnels 9

Figure 4 : Synthèse des principaux mécanismes d'action des probiotiques sur le microbiote intestinal et l'homéostasie de l'hôte 14

Figure 5 : Représentation schématique des quatre approches majeures de classification des postbiotiques 17

Figure 6 : Représentation schématique intégrée des mécanismes d'action moléculaires et cellulaires des postbiotiques au niveau de la muqueuse intestinale 23

Figure 7 : Flowchart synoptique et rationnel du procédé de production industriel des postbiotiques 28

Figure 8 :les perspectives des postbiotiques : nutrition, industrie et medecine.....31

Figure 9 : Mécanismes de modulation du microbiote intestinal par les postbiotiques 34

Figure 10 : Schéma du mécanisme anti-inflammatoire proposé du SCF (surnageant de culture sans cellules) de *L. plantarum* T1. Le SCF de *L. plantarum* T1 atténue l'inflammation par la suppression du stress oxydatif et des voies de signalisation NF-κB et MAPK dans les macrophages RAW264.7 stimulés par le LPS……36

Figure 11 : Rôle fonctionnel et impact thérapeutique des postbiotiques sur la santé 38

Figure 12 : Schéma récapitulatif de préparation des fractions postbiotiques. 47

Figure 13 : Aspect macroscopique au laboratoire des fractions postbiotiques obtenues. 48

Figure 14 : Dispositif expérimental au laboratoire montrant la manipulation en zone stérile autour du bec Bunsen pour le test antimicrobien. 50

Figure 15 : Principe de mesure de l'activité antimicrobienne par diffusion en puits. 51

Figure 16: Aspect macroscopique des cultures des souches étudiées sur milieu Bouillon MRS. 55

Figure 17 : Aspect macroscopique du culot cellulaire et du surnageant après centrifugation 56

Figure 18 : Aspect macroscopique des surnageants et des culots bactériens de PB1, PB2 et PB3 après isolement par centrifugation. 57

Figure 19 : Évaluation visuelle de l'activité antioxydante des surnageants par le test de décoloration du radical libre DPPH. 58

Figure 20 : Évaluation comparative du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les fractions solubles (surnageants) et cellulaires (culots) des trois souches postbiotiques. 60

Figure 21 : Évaluation visuelle de l'activité antimicrobienne des fractions postbiotiques (Surnageants) et du témoin antibiotique (AB) sur milieu MH vis-à-vis d'Escherichia coli (Exemple d'absence d'inhibition par les postbiotiques). 62

Figure 22 : Évaluation comparative du pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine d'œuf par les fractions bactériennes (Surnageants et Culots) et la gamme de référence de l'aspirine. 65

Unités de mesures :

· UFC/g, UFC/mL : Dénombrement microbien

· DO / Abs : Densité Optique / Absorbance

· rpm / tr/min : Rotations par minute

· M, mM : Molaire / Millimolaire

· µg/mL, mg/kg, g/L : Unités de dosage

· kDa : Kilodalton (masse moléculaire)

· λ (Lambda) : Longueur d'onde

· pH : Potentiel Hydrogène

· DP : Degré de polymérisation

Autres abréviations :

· UFC : Unité Formant Colonie

· AGCC : Acides Gras à Chaîne Courte

· C_2, C_3, C_4 : Acétate, Propionate, Butyrate

· ARNr : ARN ribosomique

· PCR : Réaction de polymérisation en chaîne

· qPCR / RT-PCR : PCR quantitative / en temps réel

· NGS : Séquençage nouvelle génération

· SII : Syndrome de l'Intestin Irritable

· MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

· DAA : Diarrhées Associées à l'Antibiothérapie

· FOS / GOS : Fructo- / Galacto-Oligosaccharides

· EPS : Exopolysaccharides

· ISAPP : Association scientifique internationale pour probiotiques et prébiotiques

· GRAS / QPS : Statuts de sécurité réglementaire

· NGP : Probiotiques de Nouvelle Génération

· GPR : Récepteurs couplés aux protéines G

· HDAC : Histones désacétylases

· NF-κB : Facteur de transcription inflammatoire

· IL-10 : Interleukine-10 (anti-inflammatoire)

· TGF-β : Facteur de croissance transformant bêta

· IgA / IgAs : Immunoglobulines A

· NOD2 : Récepteur immunitaire (génétique)

· LTA / PG : Acides lipotéichoïques / Peptidoglycanes

· GC-MS / HPLC / LC-MS/MS : Techniques chromatographiques

· GLP-1 : Hormone incrétine (métabolisme)

· AMPK / Akt / MAPK : Voies de signalisation cellulaire

Introduction

Le microbiote intestinal est constitué de milliards de bactéries et d'autres micro-organismes vivant dans le tube digestif humain et animal. Il comprend environ 10^{14} bactéries ainsi que d'autres micro-organismes tels que les virus, les champignons et les archées **(Valdes et al., 2018)**. Ces micro-organismes jouent un rôle fondamental dans la digestion des nutriments, la synthèse de certaines vitamines, la régulation du système immunitaire et la protection contre les agents pathogènes. Ils participent ainsi au maintien de la santé générale et au bon fonctionnement de l'organisme, agissant comme un véritable « organe caché » **(Zmora et al., 2019)**.

Parmi les genres bactériens bénéfiques du microbiote intestinal figurent notamment *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Les bactéries du genre *Lactobacillus*, appartenant au phylum Firmicutes, interagissent avec l'épithélium intestinal afin de préserver l'intégrité de la barrière intestinale et de moduler les réponses immunitaires, contribuant ainsi au bien-être digestif **(Rastogi et Singh, 2022)**. De même, les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont largement reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé gastro-intestinale et immunitaire **(Ali et al., 2024)**. Certaines de ces bactéries produisent également des acides gras à chaîne courte ainsi que des vitamines essentielles, participant à la nutrition de l'hôte et à la protection contre les micro-organismes pathogènes **(Ali et al., 2024)**.

Un microbiote intestinal équilibré est indispensable au maintien de la santé digestive et immunitaire. Lorsqu'un déséquilibre survient, appelé dysbiose, celui-ci peut favoriser l'apparition de divers troubles gastro-intestinaux et perturber les réponses immunitaires, pouvant conduire à certaines maladies métaboliques telles que l'obésité ou le diabète **(Lazar et al., 2020)**. Pour maintenir ou restaurer l'équilibre du microbiote intestinal, plusieurs approches ont été développées, notamment les probiotiques, les prébiotiques et, plus récemment, les postbiotiques. Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte **(Hill et al., 2014)**. Les prébiotiques correspondent à des substrats sélectivement utilisés par les micro-organismes de l'hôte et procurant un bénéfice pour la santé **(Gibson et al., 2017)**. Quant aux postbiotiques, ils sont définis comme une préparation de micro-organismes inanimés et/ou de leurs composants capables de conférer un bénéfice à la santé de l'hôte **(Salminen et al., 2021)**. Contrairement aux probiotiques, les postbiotiques ne nécessitent pas l'administration de cellules vivantes, ce qui leur confère plusieurs avantages, notamment une meilleure stabilité au stockage, une plus grande facilité d'incorporation dans les produits alimentaires et une sécurité accrue chez les populations vulnérables **(Nataraj et al., 2021)**.

Au cours des dernières années, les postbiotiques ont suscité un intérêt scientifique croissant en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques potentielles, notamment leurs effets antimicrobiens, immunomodulateurs, anti-inflammatoires et antioxydants. Leur utilisation représente une approche innovante susceptible de compléter ou, dans certaines situations, de constituer une alternative aux probiotiques vivants. Toutefois, malgré les progrès réalisés dans ce domaine, plusieurs aspects demeurent encore insuffisamment explorés, notamment leurs mécanismes d'action précis, leurs effets à long terme ainsi que leurs applications dans les domaines de la nutrition et de la santé. Une meilleure compréhension de ces composés apparaît donc nécessaire afin de valoriser pleinement leur potentiel et d'optimiser leur utilisation **(Salminen et al., 2021 ; Nataraj et al., 2021)**.

Face aux limites des antibiotiques et des antioxydants de synthèse, les postbiotiques se positionnent comme une alternative innovante en nutrition. Leur intérêt repose sur leur multifonctionnalité et leur sécurité d'emploi. Cependant, la démonstration de leur efficacité reste essentielle pour valider leur potentiel. Dès lors, cette étude vise à répondre à la question suivante : Les postbiotiques, qu'ils soient issus de souches commerciales ou locales, possèdent-ils des propriétés biologiques suffisantes pour constituer une alternative crédible aux additifs classiques en nutrition ? Pour ce faire, nous avons évalué *in vitro* trois préparations postbiotiques afin de caractériser leurs activités antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire, et ainsi contribuer à la démonstration de leur intérêt en tant qu'approche novatrice en nutrition humaine et animale**.**

Ce manuscrit se divise en deux parties. La première partie est une synthèse bibliographique en trois chapitres traitant respectivement des probiotiques et prébiotiques, des postbiotiques et de leur intérêt en nutrition. La seconde partie, expérimentale, comprend un chapitre dédié au matériel et méthodes et un chapitre présentant les résultats et leur discussion. Une conclusion générale clôt le manuscrit en rappelant les principaux résultats et en ouvrant sur des perspectives.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les probiotiques et les prébiotiques

I.1. Généralités sur les probiotiques et les prébiotiques

L'intérêt pour les microorganismes bénéfiques remonte au début du XXe siècle avec les travaux d'Élie Metchnikoff, qui a suggéré que la consommation d'aliments fermentés pouvait contribuer à l'amélioration de la santé intestinale et générale. Ces observations ont constitué les premières bases scientifiques de l'étude des interactions entre l'alimentation et le microbiote intestinal **(Metchnikoff, 1907 ; Ozen et Dinleyici., 2015)**.

Le concept de « probiotique » a progressivement évolué pour être défini comme des microorganismes vivants qui, administrés en quantités adéquates, apportent un bénéfice à la santé de l'hôte. Cette définition a permis une meilleure standardisation des recherches et des applications dans les domaines de la nutrition et de la santé **(FAO/WHO., 2002 ; Byakika et al., 2019)**.

Parallèlement, le terme « prébiotique » a été introduit par Gibson et Roberfroid afin de désigner des ingrédients alimentaires non digestibles capables de stimuler sélectivement les microorganismes bénéfiques du microbiote intestinal **(Roberfroid, 1995)**. Cette définition a ensuite été élargie par l'ISAPP afin d'inclure tous les substrats utilisés sélectivement par le microbiote et exerçant des effets bénéfiques sur la santé **(Gibson et al., 2017).**

Les progrès réalisés en microbiologie et en techniques de séquençage ont permis une meilleure compréhension de la diversité et des fonctions du microbiote intestinal **(Pandey et al., 2023)**. Ces avancées ont également favorisé l'émergence de nouveaux concepts, notamment les synbiotiques et les postbiotiques, renforçant l'intérêt scientifique et clinique pour la modulation du microbiote **(Sommer et Bäckhed., 2013 ; Swanson et al., 2020 ; Salminen et al., 2021)**. Les grandes étapes de cette évolution conceptuelle sont résumées dans la **Figure 1**.

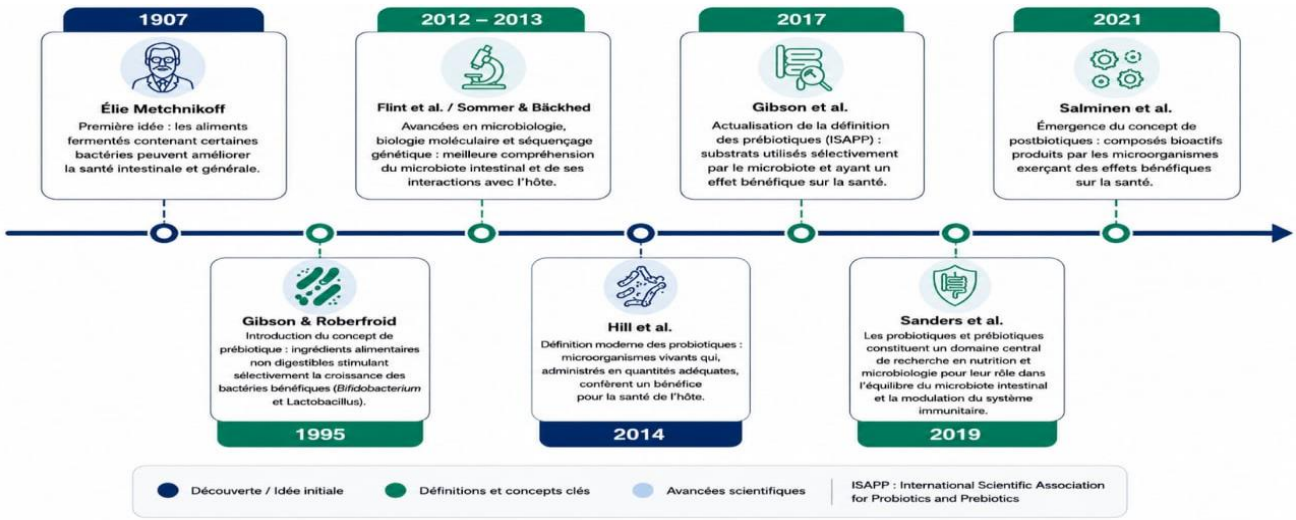


Figure 1 : Chronologie de l'évolution conceptuelle des probiotiques, prébiotiques et postbiotiques **(Metchnikoff, 1907 ; ISAPP, 2014, 2017, 2021).**

L'analyse de cette figure 1 met en évidence une accélération marquée des jalons scientifiques au cours des deux dernières décennies. Elle montre clairement le passage d'une approche globale axée sur la viabilité cellulaire (1907–2014) vers une approche moléculaire et fonctionnelle plus ciblée (2017–2021), ouvrant la voie à la standardisation des postbiotiques **(Żółkiewicz et al., 2020)**.

I.2. Les probiotiques

I.2.1. Définition des probiotiques

Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice à la santé de l'hôte, aussi bien chez l'humain que chez l'animal **(Upadhyaya, 2023)**. Ils agissent principalement à travers leur interaction dynamique avec le microbiote intestinal résident, contribuant au maintien de son équilibre homéostatique et à la limitation de la prolifération des microorganismes pathogènes **(Sanders et al., 2019)**.

L'efficacité de ces microorganismes dépend de leur capacité à survivre aux conditions hostiles du tractus gastro-intestinal, notamment à l'acidité gastrique et aux sels biliaires, afin d'atteindre les segments intestinaux sous une forme viable, active et fonctionnelle **(Byakika et al., 2019)**. Sur le plan taxonomique, les genres les plus fréquemment étudiés et exploités comprennent *Lactobacillus* (et ses nouveaux genres dérivés), *Bifidobacterium*, ainsi que certaines levures spécifiques telles que *Saccharomyces boulardii* **(Kechagia et al., 2013)**.

Au-delà de leur rôle direct dans l'écosystème intestinal, les probiotiques participent activement à la modulation du système immunitaire, à l'amélioration de la digestibilité des nutriments et à la régulation de certaines voies métaboliques **(Pandey et al., 2015)**. De surcroît, leur utilisation s'étend aujourd'hui de manière significative à la nutrition animale, où ils représentent une alternative prometteuse et durable aux antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance **(Markowiak et Śliżewska., 2017 ; Zhao et al., 2024)**.

I.2.2. Caractéristiques générales des probiotiques

Les probiotiques possèdent plusieurs caractéristiques biologiques fondamentales qui conditionnent leur efficacité au sein de l'organisme. Ils doivent en premier lieu faire preuve d'une tolérance remarquable vis-à-vis de l'acidité gastrique et des sels biliaires, des barrières physico-chimiques majeures qu'ils rencontrent lors du transit digestif **(Almada et al., 2015 ; Byakika et al., 2019)**. De plus, de nombreuses souches démontrent une capacité d'adhésion temporaire aux entérocytes de la muqueuse intestinale. Cette interaction étroite avec l'épithélium de l'hôte permet de limiter la colonisation par des microorganismes pathogènes,

principalement par le biais d'un mécanisme d'exclusion compétitive pour les nutriments et les sites de fixation **(Lebeer et al., 2010)**.

Par ailleurs, l'activité métabolique des probiotiques conduit à la libération in situ de divers composés bénéfiques, tels que des acides organiques (acide lactique, acide acétique) et des substances antimicrobiennes (bactériocines), qui participent activement au maintien de l'équilibre de l'écosystème intestinal **(Oelschlaeger., 2010)**. De nombreuses investigations cliniques et expérimentales soulignent également leur rôle pivot dans la stimulation et la modulation de la réponse immunitaire locale et systémique, renforçant ainsi la protection de l'hôte contre les infections intestinales **(Azad et al., 2018 ; Stavropoulou et Bezirtzoglou., 2020)**.

Enfin, sur le plan de la sécurité et de la technologie, les souches sélectionnées pour des applications nutritionnelles ou thérapeutiques doivent être rigoureusement non pathogènes (innocuité totale). Elles doivent également manifester une excellente stabilité fonctionnelle et technologique afin de préserver leur viabilité tout au long des processus de fabrication industrielle et des périodes de stockage **(Binda et al., 2020 ; Woźniak et al., 2025)**.

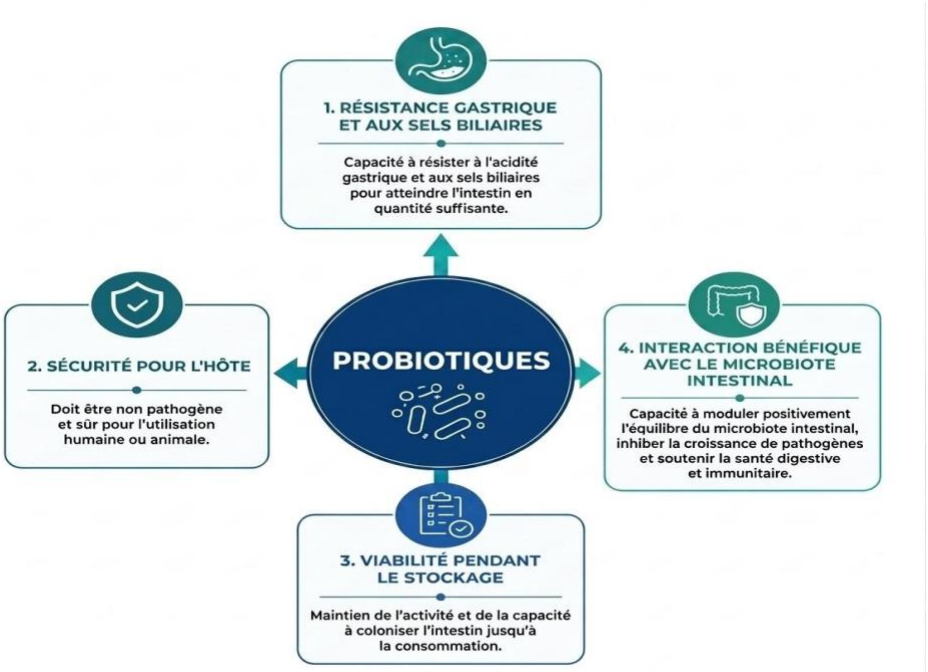


Figure 2 : Principales caractéristiques biologiques et fonctionnelles des probiotiques **(Lebeer et al., 2008 ; Plaza-Díaz et al., 2019 ; Binda et al., 2020)**.

La figure 2 synthétise les critères fondamentaux requis pour la sélection d'une souche probiotique efficace. L'organisation de ces caractéristiques montre que l'efficacité dépend d'un équilibre strict entre la résistance physico-chimique lors du transit digestif et l'aptitude fonctionnelle à interagir avec l'hôte **(Hill et al., 2014; Sanders et al., 2010)**. De plus, il met en relief que la viabilité technologique au stockage et l'innocuité absolue (sécurité) constituent des

prérequis indispensables avant toute application industrielle, en santé humaine ou animale **(FAO/WHO, 2002; Binda et al., 2020)**.

I.2.3. Critères de sélection des probiotiques

La sélection des microorganismes probiotiques repose sur une démarche scientifique rigoureuse visant à garantir conjointement leur efficacité fonctionnelle et leur innocuité totale. En premier lieu, une identification taxonomique précise de l'espèce et de la souche est indispensable, étant donné que les propriétés biologiques et les effets bénéfiques sont strictement souches-spécifiques **(Hill et al., 2014 ; Saville et al., 2025)**.

Sur le plan physiologique, les souches candidates doivent démontrer une capacité de survie optimale face aux barrières drastiques du tractus gastro-intestinal, notamment l'acidité gastrique et les concentrations physiologiques en sels biliaires, afin d'atteindre les sites d'action sous une forme viable et métaboliquement active **(Byakika et al., 2019 ; Zendeboodi et al., 2020)**. De plus, l'aptitude d'adhésion à la muqueuse intestinale représente un critère d'évaluation majeur, car elle prolonge le temps de résidence de la souche, favorise l'interaction directe avec l'épithélium et contribue à la modulation positive du microbiote résident **(Lebeer et al., 2010)**.

Sur le plan de la biosécurité, l'exigence d'innocuité est fondamentale et non négociable. Les souches sélectionnées doivent être totalement dépourvues de potentiel pathogène, ne doivent pas produire de métabolites toxiques pour l'hôte, et ne doivent en aucun cas héberger des gènes de résistance transférables aux antibiotiques **(Binda et al., 2020)**. Enfin, la stabilité technologique constitue un critère industriel crucial ; elle assure le maintien de la viabilité et des propriétés fonctionnelles des microorganismes durant les procédés de fabrication (lyophilisation, atomisation), les périodes de stockage et jusqu'à la consommation **(Fenster et al., 2019 ; Woźniak et al., 2025)**.

I.3. Les prébiotiques

I.3.1. Définition des prébiotiques

Selon la définition actualisée et harmonisée par l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les Prébiotiques **(ISAPP)**, un prébiotique est défini comme un substrat utilisé de manière sélective par les microorganismes de l'hôte, conférant ainsi un bénéfice pour la santé **(Gibson et al., 2017)**. Sur le plan physiologique, ces composés, principalement de nature glucidique, possèdent la particularité de résister à l'hydrolyse enzymatique et à l'absorption dans les segments supérieurs du tractus gastro-intestinal. Ils atteignent ainsi intacts le côlon, où

ils modulanent favorablement la composition et l'activité métabolique du microbiote résident **(Upadhyaya., 2023)**.

La fermentation anaérobie de ces substrats au niveau colique conduit à la biosynthèse de métabolites actifs hautement bénéfiques, majoritairement représentés par les acides gras à chaîne courte (**AGCC**), tels que l'acétate, le propionate et le butyrate. Ces molécules fonctionnelles jouent un rôle pivot dans le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale, la régulation de l'homéostasie immunitaire et la modulation du métabolisme énergétique de l'hôte **(Koh et al., 2016 ; Canfora et al., 2019)**.

I.3.2. Caractéristiques et nature des prébiotiques

Sur le plan structural, les prébiotiques appartiennent majoritairement à la classe des glucides complexes fermentescibles, principalement des oligosaccharides et des polysaccharides de faible poids moléculaire. Les composés les plus rigoureusement étudiés et scientifiquement validés comprennent l'inuline, les fructo-oligosaccharides (**FOS**) et les galacto-oligosaccharides (**GOS**), qui sont naturellement présents dans diverses matrices végétales **(Gibson et al., 2017 ; Saville et al., 2025)**.

Une caractéristique physico-chimique majeure de ces substrats réside dans leur haute sélectivité métabolique. Contrairement aux fibres alimentaires conventionnelles qui subissent une dégradation bactérienne globale et non spécifique, les prébiotiques possèdent une configuration moléculaire qui favorise préférentiellement la croissance et l'activité cinétique de phylums microbiens bénéfiques spécifiques, à l'instar des bifidobactéries (*Bifidobacterium*) et des bactéries lactiques (*Lactobacillus*) **(Rastall et Gibson., 2015)**.

Bien que leur transit intact vers le côlon (grâce à leur résistance intrinsèque à l'hydrolyse enzymatique) soit indispensable **(Slavin., 2013 ; Upadhyaya., 2023)**. leur nature chimique détermine directement le profil de fermentation colique. En effet, la longueur de chaîne de ces polymères influence la cinétique de leur dégradation par les populations bactériennes cibles, modulant ainsi de manière différentielle la cinétique de production des acides gras à chaîne courte (**AGCC**) essentiels à l'homéostasie de l'hôte **(Morrison et Preston., 2016).**

I.3.3. Critères de sélection des prébiotiques

L'homologation d'un composé en tant que prébiotique est conditionnée par la validation de plusieurs critères scientifiques et méthodologiques rigoureux **(Salminen et al., 2021)** :

- **Critère de résistance digestive** : Il doit être chimiquement démontré que le substrat échappe à l'action des enzymes salivaires, gastriques et pancréatiques, ainsi qu'à l'absorption intestinale. Ce taux de survie élevé est indispensable pour garantir son arrivée quantitativement intacte dans l'écosystème colique **(Gibson et al., 2017 ; Upadhyaya., 2023)**.

- **Sélectivité de fermentation (Indice de prébiotique)** : Le composé doit subir une biodégradation exclusive par les phylums commensaux bénéfiques. Les criblages microbiologiques doivent prouver qu'il ne sert pas de substrat énergétique pour les souches potentiellement pathogènes ou toxinogènes (*Clostridium spp., Escherichia coli)* **(Scott et al., 2013)**.
- **Preuve d'efficacité clinique :** L'évaluation doit valider des effets physiologiques transposables et mesurables chez l'hôte (amélioration du profil de la barrière épithéliale, modulation positive des marqueurs immunitaires ou métaboliques), validant ainsi son statut d'ingrédient fonctionnel **(Bindels et al., 2015 ; Saville et al., 2025)**.
- **Innocuité et stabilité technologique** : Outre une parfaite tolérance gastro-intestinale (absence d'effets laxatifs ou de météorisme délétère), le composé doit conserver son intégrité moléculaire face aux contraintes thermiques, de pH et d'humidité propres aux procédés industriels de transformation et de stockage **(Markowiak et Śliżewska., 2017 ; Woźniak et al., 2025)**.

I.4. Origine et classification des probiotiques et des prébiotiques

I.4.1. Origine des probiotiques

L'histoire des probiotiques est intimement liée à la consommation empirique d'aliments fermentés traditionnels (yaourts, kéfirs, laits fermentés artisanaux), qui ont constitué les premiers vecteurs de microorganismes bénéfiques bien avant la conceptualisation de la microbiologie moderne **(Ozen et Dinleyici., 2015 ; Marco et al., 2021)**. Aujourd'hui, l'isolement et la sélection des souches à visée thérapeutique ou nutritionnelle s'appuient sur deux réservoirs biologiques principaux : les matrices alimentaires fermentées (d'origine végétale ou lactée) et les niches endogènes, à savoir le microbiote intestinal humain et animal **(Sanders et al., 2018 ; Upadhyaya, 2023)**.

Sur le plan taxonomique, bien que les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* demeurent historiquement prédominants dans l'industrie, l'avènement des technologies de séquençage à haut débit et de la génomique comparative a profondément remodelé leur classification. L'évolution la plus marquante concerne le genre *Lactobacillus*, qui a subi une reconfiguration phylogénétique majeure, menant à sa division en 23 nouveaux genres distincts afin de corriger une hétérogénéité évolutive devenue trop vaste **(Zheng et al., 2020)**.

Par ailleurs, l'éventail des sources d'isolement s'est élargit pour inclure des niches non bactériennes. C'est le cas de certains biotopes environnementaux ou de la phylosphère, mais surtout des écosystèmes cellulaires eucaryotes qui ont permis de caractériser des levures d'intérêt probiotique majeur, au premier rang desquelles figure *Saccharomyces boulardii*, largement valorisée en thérapeutique humaine **(McFarland, 2010 ; Gaspar et al., 2023)**.

I.4.2. Classification des probiotiques

La classification moderne des probiotiques délaisse les critères morphologiques classiques au profit d'une approche intégrative, s'appuyant sur des différenciations génomiques, sécuritaires et fonctionnelles précises (Saville et al., 2025).Afin d'optimiser leur exploitation industrielle et thérapeutique, trois grands axes de catégorisation sont actuellement formalisés:

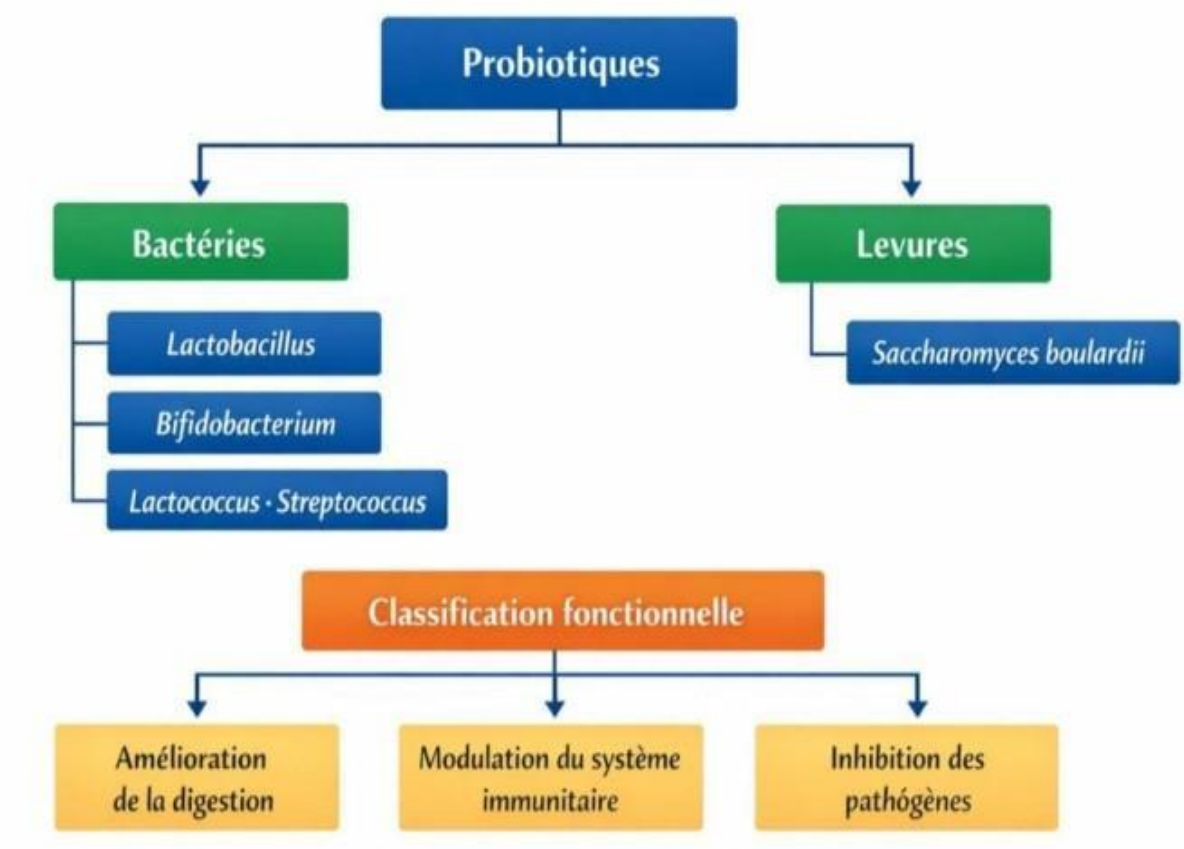


Figure 3 : Schéma intégratif de la classification des probiotiques selon les critères taxonomiques et fonctionnels (**Soccol et al., 2010 ; Marco et al., 2017**).

La figure 3 illustre la dualité conceptuelle de la classification des probiotiques. La partie supérieure cartographie l'approche taxonomique classique **(Hill et al., 2014)**. divisant les souches entre le règne bactérien (dominé par les *bactéries lactiques*) et les levures (*Saccharomyces*). La partie inférieure, quant à elle, schématise la dimension fonctionnelle à travers trois axes physiologiques majeurs **(Sanders et al., 2018).**

Néanmoins, il convient de souligner que cette catégorisation reste dynamique : l'évolution constante des critères d'identification moléculaire **(IPA, 2017)** implique désormais une spécificité souche-dépendante stricte (**McFarland et al., 2018**), reliant l'identité génétique précise d'un microorganisme à son efficacité fonctionnelle ciblée chez l'hôte.

- **Classification taxonomique et phylogénique** : Elle repose sur les outils de la phylogénomique (comme le séquençage de l'ARNr 16S). Cette approche permet d'identifier formellement les souches bactériennes (*Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp., Lactococcus spp., Streptococcus spp*.) et fongiques (*Saccharomyces spp.)* au niveau le plus fin, garantissant la traçabilité et la propriété intellectuelle des souches déposées **(Salminen et al., 2021)**.
- **Classification réglementaire et de biosécurité :** Les microorganismes sont répertoriés selon leur niveau d'innocuité légale. On distingue d'une part les probiotiques conventionnels bénéficiant du statut QPS (Qualified Presumption of Safety en Europe) ou GRAS (Generally Recognized as Safe aux États-Unis), et d'autre part, les probiotiques de nouvelle génération (NGP : Next-Generation Probiotics), soumis à des réglementations de type pharma **(Sanders et al., 2021 ; Woźniak et al., 2025)**.
- **Classification fonctionnelle et ciblée :** Ce système discrimine les souches non pas sur des effets de genre, mais sur des aptitudes hautement individualisées (souches-spécifiques). Elles sont ainsi classées selon des biomarqueurs précis : souches productrices de bactericides spécifiques, souches renforçant sélectivement les jonctions serrées épithéliales, ou souches dotées d'activités immunomodulatrices propres **(Sanders et al., 2021)**Cette catégorisation multidimensionnelle s'avère désormais indispensable pour rationaliser le choix des souches en fonction des applications biotechnologiques, nutritionnelles ou médicales ciblées **(Salminen et al., 2021 ; Sanders et al., 2021)**.

I.4.3. Origine des prébiotiques

Contrairement aux probiotiques qui sont des microorganismes vivants, les prébiotiques correspondent à des substrats chimiques non viables, principalement extraits ou synthétisés à partir de sources diversifiées (**Gibson et al., 2017)**. L'approvisionnement en ces molécules fonctionnelles repose aujourd'hui sur deux filières majeures :

- **Les sources naturelles végétales :** Les prébiotiques sont naturellement biosynthétisés par de nombreuses matrices végétales où ils assurent des fonctions de stockage énergétique ou de soutien structural. Ils sont particulièrement abondants dans les céréales complètes, les légumineuses, ainsi que dans certains légumes et plantes spécifiques tels que l'ail, l'oignon, l'asperge et la racine de chicorée (**Carlson et al., 2018 ; Davani-Davari et al., 2019**).

- **Les sources biotechnologiques et de synthèse industrielle** : Afin de répondre aux exigences de standardisation de l'industrie agroalimentaire, d'importants procédés technologiques ont été développés. Ces voies incluent soit l'hydrolyse contrôlée de polysaccharides naturels de grande taille (comme le clivage de l'inuline pour obtenir des FOS), soit la synthèse enzymatique de novo par des transglycosylations (à partir du lactose pour la production des GOS) **(Bindels et al., 2015 ; Markowiak et Śliżewska., 2017)**.

Ces avancées permettent d'obtenir des ingrédients prébiotiques hautement purifiés, d'une grande stabilité physico-chimique, spécifiquement calibrés pour être incorporés dans les formulations d'aliments fonctionnels ou dans des applications nutritionnelles ciblées **(Al-Sheraji et al., 2013 ; Gibson et al., 2017).**

I.4.4. Classification des prébiotiques

La catégorisation des prébiotiques s'appuie sur une approche multidimensionnelle permettant d'orienter rationnellement leur sélection vers des applications nutritionnelles ou thérapeutiques spécifiques. Contrairement aux fibres alimentaires globales, leur classification s'articule aujourd'hui autour de trois axes fondamentaux **(Slavin, 2013 ; Gibson et al.,2017)** :

- **Classification structurale (selon le degré de polymérisation) :** Ce système discrimine les prébiotiques selon leur poids moléculaire, la nature de leurs monomères (fructose, galactose, glucose) et le type de leurs liaisons glycosidiques (\alpha ou /beta) .On distingue ainsi les oligosaccharides à chaîne courte (DP < 10, comme les FOS et GOS) et les polysaccharides à chaîne longue (DP \ge 10, à l'instar de l'inuline native). Cette longueur de chaîne détermine directement leur solubilité et leur vitesse de dégradation dans le tractus digestif **(Carlson et al., 2018)**.
- **Classification selon la filière d'obtention :** Cet axe sépare d'une part les prébiotiques d'origine purement extractive (isolés directement de matrices végétales sans modification de leur structure native), et d'autre part, les prébiotiques d'origine synthétique ou semi-synthétique (générés par bioconversion enzymatique ou transglycosylation industrielle) (**Bindels et al., 2015)**.
- **Classification fonctionnelle et cinétique :** Ce critère classe les substrats selon leur site préférentiel et leur vitesse de fermentation le long du côlon. Les composés à chaîne courte (fermentation rapide) ciblent majoritairement le côlon proximal, tandis que les polymères complexes à chaîne longue (fermentation lente) atteignent le côlon distal. Cette distribution spatiale module de manière différentielle le profil de production des

acides gras à chaîne courte (AGCC) et la stimulation sélective des niches bactériennes résidentes (**Canfora et al., 2019**).

I.5. Sources alimentaires des probiotiques et des prébiotiques

I.5.1. Sources alimentaires des probiotiques

L'apport nutritionnel en microorganismes viables repose sur une grande diversité de matrices alimentaires. Ces vecteurs se subdivisent en trois grandes catégories de réservoirs nutritionnels **(Marco et al., 2021 ; Rezac et al., 2018)** :

- **Les matrices laitières fermentées (Vecteurs conventionnels)** : Elles représentent les sources les plus rigoureusement documentées. Le yaourt traditionnel, le kéfir de lait, les laits fermentés enrichis et les fromages affinés à pâte pressée constituent des biotopes idéaux. Ils hébergent des densités élevées de bactéries lactiques, principalement issues des genres *Lactobacillus spp.* Et *Bifidobacterium spp*. **(Melini et al., 2019 ; Pimentel et al., 2021)**.
- **Les matrices végétales fermentées (Alternatives non laitières) :** En réponse aux exigences nutritionnelles modernes (intolérance au lactose, régimes végétaliens), ces sources connaissent un intérêt croissant. On y inclut des produits issus de fermentations spontanées ou contrôlées comme la choucroute (chou fermenté), le kimchi, le miso, ainsi que des boissons consortiums telles que le kombucha. Ces produits se caractérisent par un consortium microbien complexe associant des bactéries acidophiles et des levures thermotolérantes **(Tamang et al., 2020 ; Rezene et al., 2022)**.
- **Les aliments fonctionnels vectorisés (Produits de l'ingénierie agroalimentaire) :** Il s'agit de matrices non fermentées à l'origine (jus de fruits, céréales de petit-déjeuner, laits infantiles) au sein desquelles des souches probiotiques spécifiques sont inoculées de manière standardisée. Le défi technologique majeur de cette catégorie réside dans la formulation de capsules ou de matrices protectrices assurant le maintien du seuil thérapeutique de viabilité jusqu'à la date limite de consommation **(Champagne et al., 2018 ; Ranadheera et al., 2017**).

I.5.2. Sources alimentaires des prébiotiques

L'apport nutritionnel en substrats prébiotiques repose sur une large gamme de matrices, majoritairement d'origine végétale, qui diffèrent par leur concentration et leur composition structurale. Ces sources alimentaires se répartissent en quatre grands réservoirs nutritionnels **(Gibson et al., 2017 ; Slavin, 2013)** :

- **Les légumes et bulbes (Réservoirs d'inuline et de FOS) :** Certains légumes constituent les sources les plus denses en prébiotiques natifs. C'est le cas de l'ail, de l'oignon, du poireau et de

l'asperge. Ces matrices sont particulièrement riches en fructanes (inuline et fructo-oligosaccharides), des polymères de fructose reconnus pour leur capacité à stimuler de manière hautement sélective les niches de bifidobactéries résidentes **(Moshfegh et al., 2008 ; carlson et al., 2018)**.

- **Les fruits et amidons résistants :** Les fruits représentent des vecteurs importants de fibres fermentescibles. La banane, par exemple, lorsqu'elle est consommée peu mûre (verte), recèle des concentrations élevées d'amidon résistant de type RS2. Ce polymère échappe aux amylases de l'intestin grêle pour servir de substrat énergétique majeur dans le côlon **(Topping et Clifton., 2001 ; Lovegrove et al., 2017)**.
- **Les céréales complètes et légumineuses :** Le blé entier, l'avoine, l'orge, ainsi que les légumineuses (lentilles, pois chiches) fournissent un complexe de glucides fermentescibles incluant les beta-glucanes et les galacto-oligosaccharides (GOS). Ces macromolécules modulent favorablement l'écosystème intestinal en favorisant la diversité phylogénétique du microbiote **(Lam et Cheung., 2013 ; Gibson et al., 2017)**.
- **Les matrices alimentaires enrichies (Ingénierie nutritionnelle)** : En dehors des sources intrinsèques, l'industrie agroalimentaire intègre de plus en plus de prébiotiques purifiés (comme l'inuline de chicorée industrialisée) dans des produits du quotidien (produits laitiers, barres céréalières, laits infantiles). Cette vectorisation vise à standardiser l'apport quotidien afin d'optimiser la production endogène de métabolites protecteurs, notamment les acides gras à chaîne courte **(Roberfroid, 2007 ; Davani-Davari et al., 2019)**.

I.6. Mécanismes d'action dans le microbiote intestinal

I.6.1. Mécanismes d'action des probiotiques

Les probiotiques exercent leurs effets prophylactiques et thérapeutiques à travers une multitude d'interactions dynamiques avec le microbiote endogène et la muqueuse digestive de l'hôte, contribuant ainsi activement au maintien de l'eubiose et au renforcement des défenses naturelles **(Hill et al., 2014).** L'un des principaux mécanismes de cette action repose sur le phénomène d'exclusion compétitive, où les souches probiotiques entrent en compétition directe avec les micro-organismes pathogènes pour l'accès aux nutriments limitants et pour la saturation des sites d'adhésion épithéliaux, restreignant ainsi leur colonisation **(Lebeer et al., 2010).**

Parallèlement, ces micro-organismes bénéfiques synthétisent et sécrètent des molécules antimicrobiennes, telles que les acides organiques et les bactériocines, qui abaissent le pH luminal et inhibent le développement des bactéries nuisibles **(Oelschlaeger, 2010)**. De plus, certaines souches régulent positivement l'intégrité de la barrière intestinale en stimulant l'expression des protéines de jonctions serrées, ce qui limite le passage systémique des toxines (**Bron et al., 2017)**. Enfin, à travers la fermentation des substrats prébiotiques, ils favorisent la libération d'acides gras à chaîne courte (AGCC) impliqués dans la signalisation immunomodulatrice et l'atténuation des réponses inflammatoires **(Plaza-Diaz et al., 2019)**.

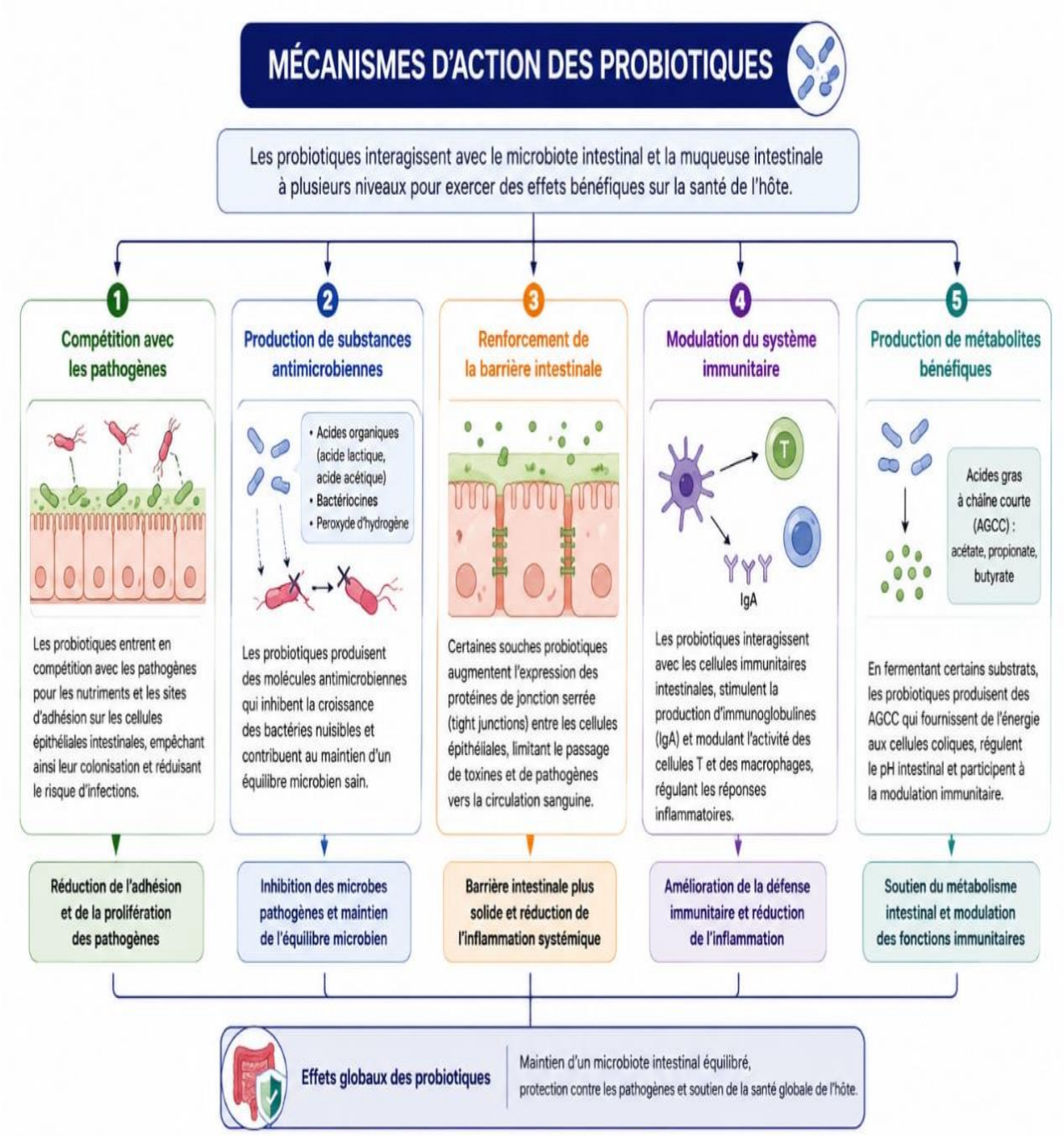


Figure 4 : Synthèse des principaux mécanismes d'action des probiotiques sur le microbiote intestinal et l'homéostasie de l'hôte **(Hill et al., 2014 ; Plaza-Diaz et al., 2019)**.

I.6.2. Mécanismes d'action des prébiotiques

Les effets physiologiques des prébiotiques découlent majoritairement de leur fermentation colique sélective, impactant l'écosystème intestinal à travers plusieurs voies interconnectées **(Gibson et al., 2017 ; Flint et al., 2012)** :

- **Stimulation sélective du microbiote (Effet bifidogène)** : Contrairement aux substrats non spécifiques, les prébiotiques échappent à l'hydrolyse enzymatique haute pour servir de nutriments exclusifs aux phylotypes bénéfiques, principalement Bifidobacterium spp. Et Lactobacillus spp. Cette prolifération ciblée induit un phénomène d'exclusion compétitive par

saturation des niches écologiques, limitant ainsi la colonisation par les entéropathogènes (**Gibson et al., 2017 ; Davani-Davari et al., 2019**).

- **Production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) :** La biodégradation anaérobie des prébiotiques par la flore saccharolytique génère un consortium d'acides organiques (acétate, propionate, butyrate). Le butyrate agit comme la source énergétique primaire des colonocytes, tandis que l'accumulation globale d'AGCC abaisse le pH luminal. Cette acidification du milieu inhibe la croissance des bactéries acido-sensibles délétères (comme certaines souches de *Clostridium*) (**Koh et al., 2016 ; Valdes et al., 2018**).
- **Optimisation de la biodisponibilité minérale :** La baisse du pH intestinal induite par la fermentation des fructanes et oligosaccharides augmente la solubilité des minéraux divalents dans la lumière colique. Ce mécanisme favorise une diffusion passive optimisée du calcium et du magnésium à travers l'épithélium intestinal, renforçant ainsi l'homéostasie calcique de l'hôte (**Bindels et al., 2015**).
- **Modulation immunitaire et homéostasie barrière** : Les prébiotiques renforcent l'intégrité de la barrière intestinale en stimulant l'expression des protéines de jonctions serrées (tight junctions) et la sécrétion de mucus protecteur. De plus, les AGCC produits interagissent directement avec les récepteurs couplés aux protéines G (GPR41/GPR43) des cellules immunitaires, modulant la différenciation des lymphocytes T régulateurs (**Markowiak et Śliżewska., 2017)**.

Chapitre II : Postbiotiques

II.1. Postbiotiques

Selon le consensus international établi en 2021 par *l'International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP), les postbiotiques sont définis comme « une préparation de micro-organismes inanimés et/ou de leurs composants qui confère un bénéfice pour la santé de l'hôte » **(Salminen *et al.*, 2021)**.

Conformément aux travaux de **Salminen et al. (2021) et Vinderola et al. (2022),** cette définition repose sur trois critères essentiels :

- **L'inactivation délibérée :** Les micro-organismes constitutifs doivent être rendus non viables par des procédés technologiques appropriés (traitement thermique, haute pression ou sonication), ce qui les distingue fondamentalement des probiotiques vivants .

- **La nature de la préparation :** Le produit peut contenir des cellules inanimées entières, des fragments cellulaires (parois, membranes ou pili) ainsi que des métabolites synthétisés avant l'inactivation. Cependant, les métabolites purifiés utilisés seuls sont explicitement exclus de cette catégorie .

- **Le bénéfice démontré :** Un effet positif et mesurable sur la santé de l'hôte (humain ou animale) doit être formellement démontré par des études scientifiques et cliniques rigoureuses

II.2. Classification des postbiotiques

Les postbiotiques constituent un ensemble hétérogène de composés bioactifs et de structures microbiennes présentant des propriétés biologiques variées. En raison de leur diversité, plusieurs approches de classification ont été proposées dans la littérature scientifique. Les postbiotiques peuvent être classés selon leur nature chimique, leur degré de purification, la souche microbienne don't ils sont issus ou encore leur fonction biologique. Cette classification permet de mieux comprendre leurs caractéristiques, leurs mécanismes d'action et leurs applications potentielles dans les domaines de la santé humaine et animale **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022).**

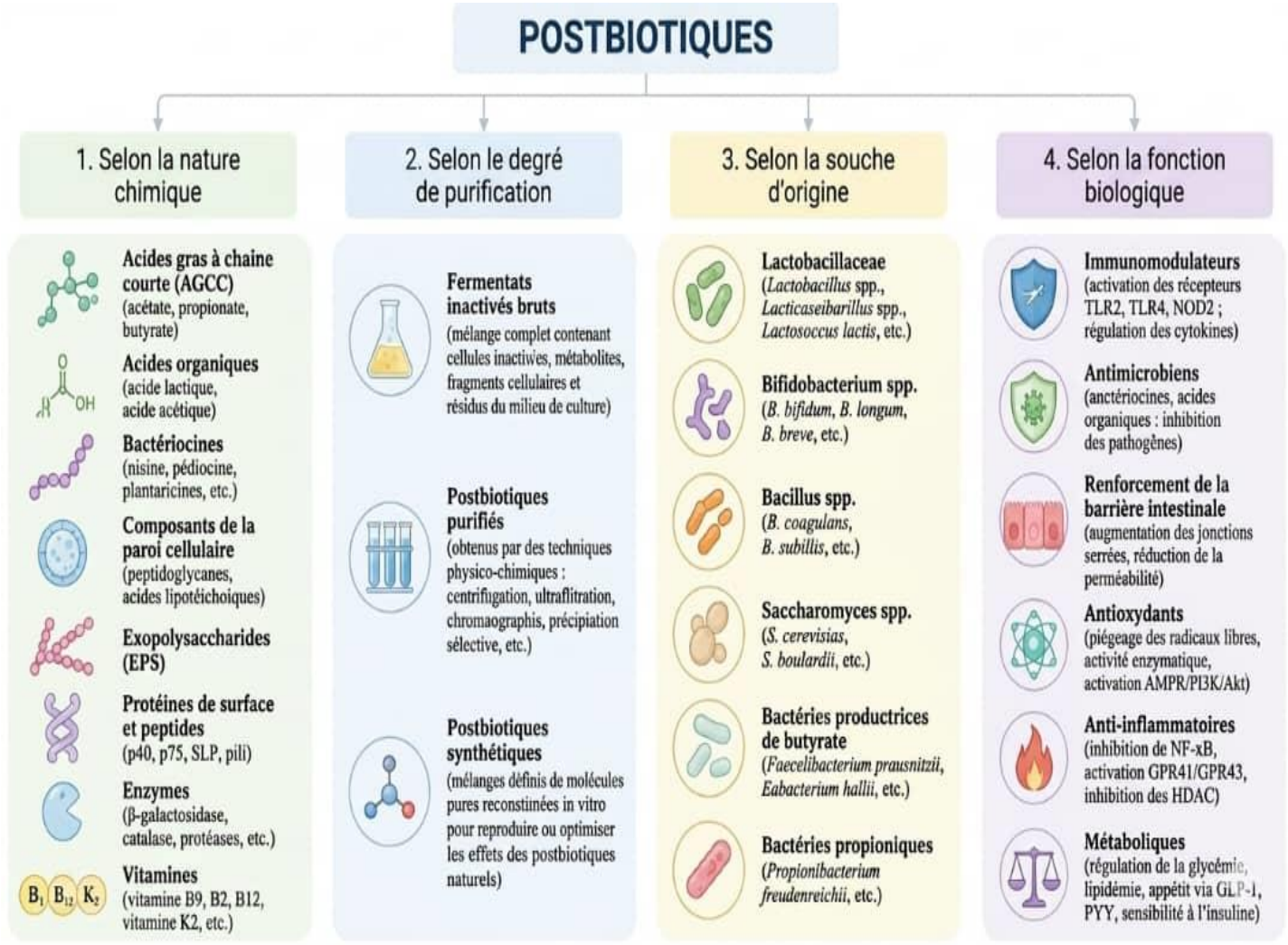


Figure 5 : Représentation schématique des quatre approches majeures de classification des postbiotiques **(Vinderola et al., 2022 ; Salminen et al., 2021)**.

Comme l'illustre la figure 5, cette catégorisation permet d'aborder les postbiotiques sous différents angles complémentaires. Ainsi, pour comprendre pleinement leur potentiel biotechnologique et thérapeutique **(Salminen et al., 2021 ; Ji et al., 2023)**, il convient d'analyser en détail chacune de ces quatre approches, en commençant par leur diversité chimio-structurale **(Vinderola et al., 2022 ; Liu et al., 2023)**

II.2.1. Classification selon la nature chimique

Les postbiotiques regroupent un ensemble hétérogène de biomolécules bioactives et de structures microbiennes issues du métabolisme ou de la lyse cellulaire. Leur classification chimique permet de mieux comprendre leurs fonctions biologiques et leurs mécanismes d'action spécifiques **(Salminen et al., 2021 ; Żółkiewicz et al., 2020) :**

• **Les acides gras à chaîne courte (AGCC) :** Principalement l'acétate (C_2), le propionate (C_3) et le butyrate (C_4), ils représentent les métabolites les plus étudiés. Issus de la fermentation anaérobie des fibres alimentaires non digestibles, ils jouent un rôle central dans l'homéostasie intestinale. Le butyrate sert de source énergétique majeure pour les colonocytes et renforce la barrière épithéliale, tandis que l'acétate et le propionate participent à la régulation du métabolisme glucidique et lipidique via des mécanismes hormonaux **(Salminen et al., 2021 ; Li et al., 2021).**

• **Les acides organiques :** Les acides organiques non volatils, tels que l'acide lactique et l'acide acétique, contribuent à l'acidification du milieu intestinal. Ils exercent ainsi une activité antimicrobienne directe en perturbant le gradient de protons transmembranaire et l'équilibre membranaire des bactéries pathogènes **(Wegh et al., 2019).**

• **Les bactériocines :** Ces peptides ou protéines antimicrobiens, synthétisés par certaines bactéries lactiques, présentent une activité bactéricide ou bactériostatique souvent très spécifique. Parmi les mieux caractérisées figurent la nisine (produite par *Lactococcus lactis*) et la pédiocine. Les bactériocines incluent également les plantaricines (*Lactiplantibacillus plantarum*), les gassericines (*Lactobacillus gasseri*) et les bifidocines (*Bifidobacterium spp*.) **(Cotter et al., 2013 ; Teame et al., 2020).**

• **Les composants de la paroi bactérienne :** Incluant notamment les peptidoglycanes (PG) et les acides lipotéichoïques (LTA), ils exercent une puissante activité immunomodulatrice. Ces macromolécules activent les récepteurs de l'immunité innée, spécifiquement les récepteurs de type Toll (TLR2) et NOD2 à la surface des cellules immunitaires, déclenchant une réponse inflammatoire contrôlée et renforçant la défense de l'hôte contre les pathogènes **(Salminen et al., 2021 ; Teame et al., 2020).**

• **Les exopolysaccharides (EPS) :** Ce sont des polysaccharides de haut poids moléculaire sécrétés dans le milieu extracellulaire. Leurs activités biologiques varient considérablement selon leur composition en monosaccharides et leur structure tridimensionnelle. Des travaux récents ont démontré leurs propriétés antioxydantes, immunorégulatrices et prébiotiques indirectes, se manifestant notamment par la régulation des voies de signalisation AMPK/PI3K/Akt et l'inhibition du facteur nucléaire NF-κB **(Balthazar et al., 2022 ; Liu et al., 2023).**

• **Les protéines de surface :** Cette catégorie englobe les protéines sécrétoires p40 et p75, les protéines de la couche S (S-layer proteins ou SLP) ainsi que les protéines des pili. Elles jouent un rôle crucial dans la protection de l'épithélium intestinal et le renforcement des jonctions

serrées cellulaires en activant les voies de signalisation intracellulaire, telles que les MAP kinases (MAPK) et la voie Akt **(Zhang et al., 2022 ; Li et al., 2021).**

• **Les enzymes microbiennes :** Les bactéries lactiques et les bifidobactéries produisent diverses enzymes fonctionnelles, telles que la β-galactosidase, la catalase et des protéases. Ces protéines biocatalytiques contribuent activement à la digestion des nutriments et à la réduction du stress oxydatif au niveau de la muqueuse intestinale **(Teame et al., 2020).**

• **Les vitamines :** Issu du métabolisme fermentaire microbien, ce panel de composés bioactifs essentiels complète la structure des postbiotiques. Certaines vitamines du groupe B (notamment la riboflavine B2, le folate B9 et la cyanocobalamine B12) ainsi que la vitamine K2 sont synthétisées par ces micro-organismes bénéfiques, participant ainsi activement aux fonctions métaboliques et immunitaires de l'hôte **(Tarrah et al., 2021).**

II.2.2. Classification selon le degré de purification

Les postbiotiques peuvent également être classés selon leur niveau de purification, ce qui reflète directement leur degré de complexité, leur standardisation ainsi que leur applicabilité industrielle **(Salminen et al., 2021 ; Wegh et al., 2019)**.

- **Les fermentats inactivés bruts :** Ils constituent le premier niveau. Il s'agit du type de postbiotique le plus simple à produire : après fermentation d'une souche probiotique, le milieu est soumis à un traitement d'inactivation (généralement thermique) qui tue les micro-organismes tout en préservant l'intégrité structurale des composés d'intérêt. Le produit final est un mélange complexe contenant les cellules inanimées, l'ensemble des métabolites produits (AGCC, bactériocines, enzymes, vitamines), les fragments cellulaires issus de la lyse éventuelle, ainsi que les résidus du milieu de culture **(Aguilar-Toalá et al., 2018)**. Ce type de préparation présente l'avantage d'un effet synergique global, résultant de l'interaction de multiples composés bioactifs, mais avec une composition moins définie et une variabilité plus élevée entre les lots **(Wegh et al., 2019).**
- **Les postbiotiques purifiés** : Ils représentent le deuxième niveau. Ces préparations sont obtenues après élimination de certains composants par des techniques physico-chimiques telles que la centrifugation différentielle, l'ultrafiltration, la précipitation sélective ou la chromatographie **(Żółkiewicz et al., 2020)**. Par exemple, les bactériocines peuvent être purifiées par précipitation au sulfate d'ammonium suivie d'une chromatographie d'échange d'ions, tandis que les exopolysaccharides sont souvent isolés par précipitation à l'éthanol suivie d'une dialyse **(Wegh et al., 2019).** Le

degré de purification dépend de l'application visée : une purification partielle peut suffire pour certaines formulations alimentaires, tandis qu'une purification poussée est nécessaire pour des applications pharmaceutiques et nutraceutiques où la composition doit être parfaitement définie **(Salminen et al., 2021)**.

- **Les postbiotiques synthétiques (ou reconstitués)** : Ils constituent le troisième niveau. Il s'agit de mélanges définis de molécules bioactives, reconstitués à partir de composés purs pour reproduire les effets d'un postbiotique naturel tout en garantissant une composition parfaitement standardisée et reproductible. Cette approche, encore largement expérimentale, présente l'avantage de permettre une optimisation rationnelle de la composition en fonction de l'effet thérapeutique recherché, s'inscrivant ainsi dans une logique de biotechnologie avancée et de médecine de précision (**Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Salminen et al., 2021).**

II.2.3. Classification selon la souche d'origine

Les postbiotiques présentent une forte dépendance à la souche microbienne productrice, ce qui influence directement leur composition et leurs propriétés biologiques. Les principaux groupes microbiens exploités comprennent **((Salminen et al., 2021 ; Żółkiewicz et al., 2020)**.

Les bactéries lactiques (Lactobacillaceae) : Elles constituent le groupe le plus largement étudié pour la production de postbiotiques **(Żółkiewicz et al., 2020)**. Les espèces telles que *Lactiplantibacillus plantarum, Lacticaseibacillus rhamnosus* (anciennement *Lactobacillus rhamnosus*), *Lacticaseibacillus casei* et *Lactococcus lactis* sont fréquemment utilisées en raison de leur statut GRAS (Generally Recognized as Safe), de leur longue histoire d'utilisation sûre dans les aliments fermentés, de leur métabolisme bien caractérisé et de leur capacité élevée à produire une grande diversité de métabolites bioactifs, notamment les acides organiques, les exopolysaccharides et les bactériocines **(Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Żółkiewicz et al., 2020 ; Wegh et al., 2019).**

Les bifidobactéries : Elles représentent un second groupe majeur. *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium* breve sont particulièrement intéressantes en raison de leur présence dominante dans le microbiote intestinal humain, notamment chez le nourrisson **(O'Callaghan et van Sinderen, 2016)**. Elles se distinguent par leur capacité à produire des acides organiques ainsi que des exopolysaccharides aux propriétés immunomodulatrices remarquables **(Liu et al., 2023 ; Teame et al., 2020)**.

Les bacilles sporulés : Les bacilles, en particulier *Bacillus* coagulans et Bacillus subtilis, se distinguent par leur résistance aux conditions environnementales extrêmes et leur potentiel enzymatique élevé. L'avantage de former des spores très résistantes facilite grandement leur

production industrielle et leur stabilisation **(Cutting, 2011).** Leurs dérivés postbiotiques sont particulièrement riches en enzymes bioactives (protéases, amylases), en peptides antimicrobiens (de type subtiline), ainsi qu'en composés vitaminiques tels que la vitamine K2 **(Hong et al., 2005 ; Żółkiewicz et al., 2020).**

Les levures : Principalement *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces boulardii,* elles sont également utilisées pour la production de postbiotiques. *Saccharomyces boulardii*, en tant que levure probiotique bien établie, génère des fractions riches en bêta-glucanes, polyamines et protéines bioactives impliquées dans la modulation de la réponse immunitaire (**Kelesidis & Pothoulakis, 2012).** Son postbiotique contient des protéases capables de dégrader les toxines bactériennes et des polyamines renforçant la barrière intestinale ; l'inactivation thermique permet de préserver ces activités tout en éliminant définitivement le risque de dissémination fongique opportuniste chez les patients immunodéprimés **(Salminen et al., 2021).**

Les bactéries anaérobies strictes du microbiote humain : Les bactéries productrices de butyrate, telles que *Faecalibacterium prausnitzii* et *Eubacterium hallii*, suscitent un intérêt croissant **(Lopez-Siles et al., 2017).** Bien qu'elles soient très difficiles à cultiver à grande échelle en raison de leur stricte anaérobiose, elles sont reconnues comme des sources majeures de métabolites anti-inflammatoires, produisant naturellement du butyrate (un AGCC), qui joue un rôle clé dans l'intégrité et la protection de la barrière épithéliale intestinale **(Wegh et al., 2019)**.

Les bactéries propioniques : Notamment *Propionibacterium freudenreichii*, elles constituent un autre groupe d'intérêt. Ces micro-organismes sont reconnus pour leur capacité à synthétiser de la vitamine B12 et de l'acide propionique, un AGCC aux propriétés immunomodulatrices. Leurs postbiotiques sont activement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé intestinale et les fonctions métaboliques **(Thierry et al., 2011 ; Żółkiewicz et al., 2020).**

II.2.4. Classification selon la fonction biologique

Les postbiotiques peuvent être classés selon leurs fonctions biologiques principales, en fonction de leurs interactions avec les systèmes de l'hôte et des voies moléculaires impliquées (**Salminen et al., 2021 ; Żółkiewicz et al., 2020**).

Le tableau 5 synthétise les différentes catégories de postbiotiques définies selon leurs activités fonctionnelles, leurs mécanismes d'action moléculaires ainsi que leurs effets physiologiques majeurs **.**

Tableau 1 : Classification fonctionnelle des postbiotiques et leurs mécanismes d'action moléculaires **(Salminen et al., 2021 ; Wegh et al., 2019).**

Catégorie fonctionnelle	Composés clés impliqués	Récepteurs et Voies moléculaires	Effets physiologiques majeurs
Postbiotiques immunomodulateurs	Récepteurs de reconnaissance (PRR) : TLR2, TLR4 et NOD2.	Récepteurs de reconnaissance (PRR) : TLR2, TLR4 et NOD2.	Modulation de la réponse inflammatoire, augmentation des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF-\beta) et régulation du TNF-\alpha pro-inflammatoire.
Postbiotiques antimicrobiens	Bactériocines (nisine, pédiocine), acides organiques (acide lactique, acide acétique).	Altération de la membrane cytoplasmique ; abaissement du pH intracellulaire.	Inhibition directe de la croissance des agents pathogènes (bactéries Gram-positives, *Salmonella* spp. Et Escherichia coli).
Postbiotiques cytoprotecteurs de la barrière intestinale	Butyrate, polyphosphates.	Stimulation des gènes codant pour les protéines de jonctions serrées (tight junctions).	Augmentation de l'expression de la claudine-1, de l'occludine et de ZO-1 ; réduction de la perméabilité intestinale
Postbiotiques antioxydants	Exopolysaccharides (EPS), enzymes (superoxyde dismutase, catalase).	Activation des voies de signalisation AMPK/PI3K/Akt et inhibition de NF-\kappa B.	Neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), piégeage des radicaux libres et réduction du stress oxydatif cellulaire.
Postbiotiques antioxydants	Acides gras à chaîne courte (AGCC : acétate, propionate, butyrate).	Récepteurs couplés aux protéines G (GPR41/GPR43) ; inhibition des histones désacétylases (HDAC).	Régulation des réponses inflammatoires chroniques ; efficacité potentielle dans la gestion des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) comme la maladie de Crohn.
Postbiotiques métaboliques	Propionate, acétate.	Modulation de l'axe entéro-endocrinien.	Stimulation de la sécrétion des peptides hormonaux GLP-1 (glucagon-like peptide-1) et PYY (peptide YY) ; amélioration de la sensibilité à l'insuline et contrôle de la satiété.

En somme, cette classification fonctionnelle mise en évidence dans le tableau 1 démontre que les postbiotiques ne sont pas de simples résidus cellulaires passifs, mais de véritables agents pléiotropes capables d'interagir de manière ciblée avec l'hôte **(Salminen et al., 2021 ; Wegh et al., 2019).)**. La compréhension de ces mécanismes moléculaires ouvre ainsi la voie à une utilisation raisonnée de ces composés, notamment dans l'optimisation de la nutrition et de la santé humaine et animale **(Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Żółkiewicz et al., 2020).**

Pour une meilleure compréhension visuelle de ces interactions, la Figure 6 illustre de manière intégrée l'ensemble de ces mécanismes d'action moléculaires et cellulaires des postbiotiques au niveau de la muqueuse intestinale.

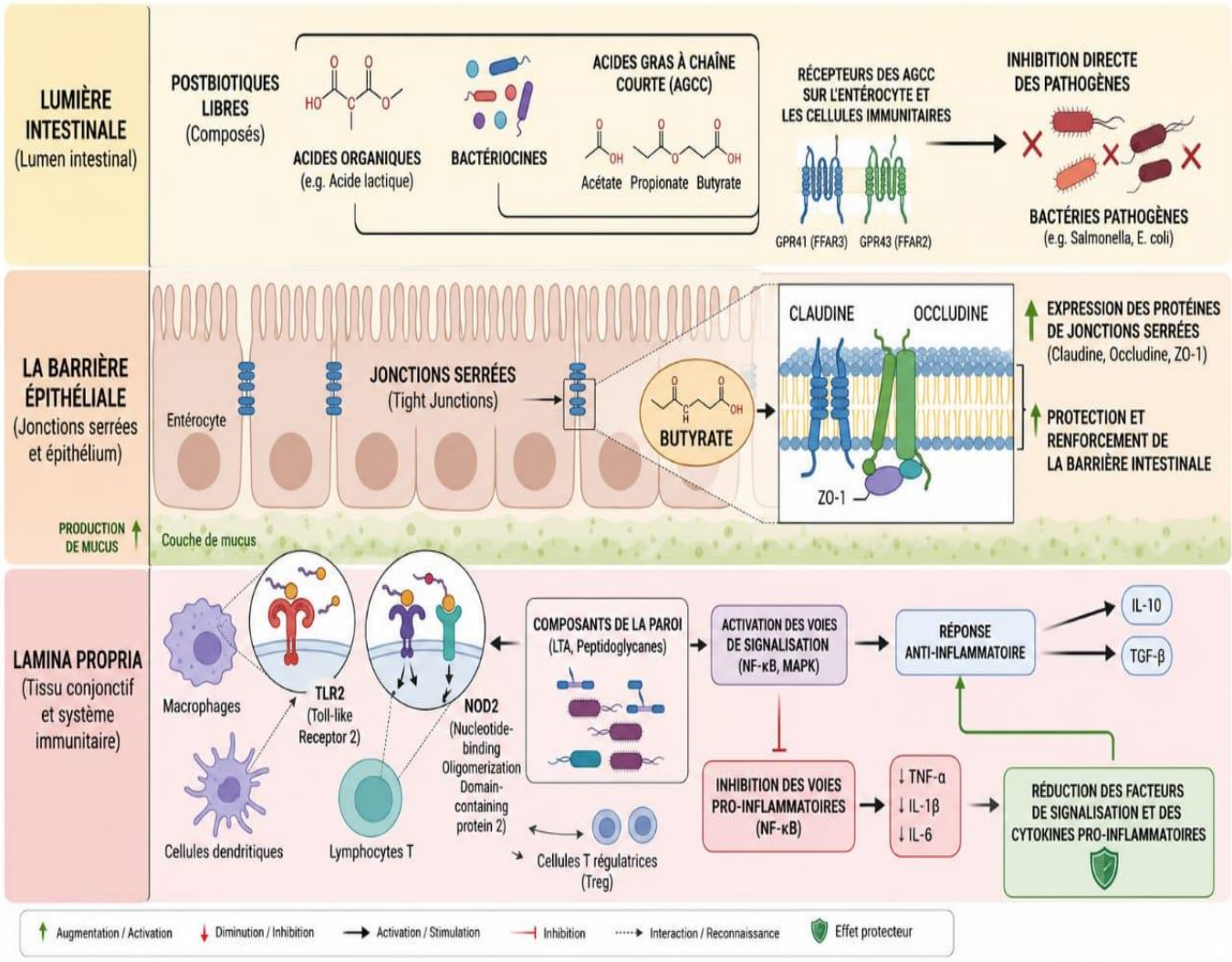


Figure 6 : Représentation schématique intégrée des mécanismes d'action moléculaires et cellulaires des postbiotiques au niveau de la muqueuse intestinale **(Salminen et al., 2021 ; Wegh et al., 2019 ; Żółkiewicz et al., 2020).**

II.3. Composition et caractéristiques biologiques

II.3.1. Composition chimique des postbiotiques

La composition chimique des postbiotiques dépend fortement de la souche microbienne productrice, des conditions de fermentation ainsi que du procédé d'inactivation utilisé **(Żółkiewicz et al., 2020 ; Wegh et al., 2019)**. Les préparations postbiotiques représentent des matrices complexes constituées de métabolites bioactifs et de fragments cellulaires exerçant des effets biologiques synergiques **(Salminen et al., 2021 ; Marco et al., 2017)**.

II.3.1.1. Composition générale

Les postbiotiques regroupent un ensemble diversifié de composants biologiquement actifs, incluant les acides gras à chaîne courte (AGCC), les acides organiques, les bactériocines, les enzymes, les fragments de paroi cellu laire (peptidoglycanes et acides lipotéichoïques), les exopolysaccharides (EPS), les protéines de surface ainsi que certaines vitamines issues du métabolisme bactérien **(Wegh et al., 2019 ; Marco et al., 2017 ; Żółkiewicz et al., 2020).**

Tableau 2 : Composition quantitative détaillée des postbiotiques par catégorie de composés (**Salminen et al., 2021 ; Żółkiewicz et al., 2020**).

Catégorie de composés	Exemples représentatifs	Concentrations typiques
Acides gras à chaîne courte (AGCC)	Acétate, propionate, butyrate	10–100 mM selon fermentation
Acides organiques	Acide lactique, acétique, propionique	50–500 mM
Bactériocines	Nisine, pédiocine, plantaricine	0,1–10 \mug/mL
Enzymes	Catalase, \beta-galactosidase, protéases	Activité variable
Composants de la paroi	Peptidoglycanes, LTA	1–10% du poids sec
Exopolysaccharides (EPS)	Hétéropolysaccharides	0,1–5 g/L
Protéines de surface	P40, p75, SLP	0,1–1% du poids sec
Vitamines	Folate (B9), riboflavine (B2), B12, K2	0,1–100 \mug/g

II.3.1.2. Influence de la souche productrice

Le profil biochimique des postbiotiques est directement déterminé par la souche microbienne d'origine. Par exemple, *Lactiplantibacillus plantarum* produit principalement des acides organiques et des bactériocines (plantaricines), tandis que *Bifidobacterium longum* est associé à une forte production d'exopolysaccharides à activité immunomodulatrice **(Teame et al., 2020 ; Liu et al., 2023)** .De même, les espèces de *Bacillus subtilis* sont reconnues pour leur richesse en enzymes hydrolytiques et en vitamine K2 **(Balthazar et al., 2022 ; Ji et al., 2023).**

II.3.1.3. Influence du procédé d'inactivation

Les méthodes d'inactivation (traitement thermique, haute pression, ultrasons ou irradiation) influencent directement la qualité et la conservation des biomolécules actives **(Scarpellini et al., 2021 ; Teame et al., 2020)**. L'autoclavage (121°C, 15–20 min) reste la méthode la plus utilisée pour garantir la stérilité, mais il peut entraîner une dénaturation partielle des protéines thermosensibles (**Salminen et al., 2021 ; Scarpellini et al., 2021**). À l'inverse, les technologies non thermiques telles que les hautes pressions hydrostatiques et la sonication permettent une meilleure préservation des molécules bioactives tout en assurant une inactivation cellulaire complète **(Balthazar et al., 2022 ; Liu et al., 2023).**

II.3.2. Caractéristiques et propriétés biologiques des postbiotiques

II.3.2.1. Stabilité thermique de stockage et conservation : Les postbiotiques présentent une stabilité thermique et de stockage élevée, contrairement aux probiotiques vivants. Ils conservent leur activité biologique même après des traitements industriels sévères tels que la pasteurisation ou l'extrusion, avec une conservation supérieure à 70% de l'activité biologique **(Balthazar et al., 2022 ; Al-Habsi et al., 2024)**. Toutefois, des températures extrêmes peuvent altérer certaines fractions protéiques sensibles **(Scarpellini et al., 2021).** À titre d'exemple, un postbiotique préparé par ultrasons (US-POST SC019) a montré que l'activité antibactérienne, le pH, la taille des particules et l'activité antioxydante restent stables pendant 12 jours de stockage à 4°C, avec une taille de particules moyenne maintenue dans l'échelle nanométrique **(Scarpellini et al., 2021).** Contrairement aux probiotiques vivants qui perdent leur viabilité avec le temps, les postbiotiques ne nécessitent pas obligatoirement de réfrigération et peuvent être conservés de 24 à 36 mois à température ambiante sans rupture de la chaîne du froid **(Al-Habsi et al., 2024 ; Balthazar et al., 2022).**

II.3.2.2. Résistance au pH gastrique, intestinal et biodisponibilité : Les postbiotiques sont naturellement résistants aux conditions acides de l'estomac (pH 1,5–3,5) et aux enzymes digestives, car ils ne nécessitent pas de survie biologique pour exercer leur effet **(Ji et al., 2023**

; Scarpellini et al., 2021). Les molécules de faible poids moléculaire (AGCC, acides organiques, vitamins) sont rapidement absorbées au niveau intestinal et atteignent la circulation systémique **(Li et al., 2021)**. En revanche, les composés de plus haut poids moléculaire (exopolysaccharides, protéines de surface) agissent principalement localement au niveau de la muqueuse intestinale via des interactions avec les récepteurs de surface des cellules épithéliales et immunitaires **(Li et al., 2021 ; Ji et al., 2023)**. De plus, ils n'interagissent pas négativement avec la matrice alimentaire, ce qui facilite leur incorporation industrielle **(Balthazar et al., 2022).**

II.3.2.3. Innocuité biologique et absence de risque infectieux : L'absence de cellules vivantes élimine tout risque d'infection, de translocation bactérienne, d'interactions indésirables ou de bactériémie **(Vinderola et al., 2022 ; Salminen et al., 2021)**. Les micro-organismes inanimés ne peuvent ni se multiplier ni provoquer d'infection opportuniste, ce qui rend les postbiotiques particulièrement sûrs pour les populations vulnérables telles que les nouveau-nés, les personnes âgées, les patients immunodéprimés (chimiothérapie, VIH, transplantés) ou hospitalisés en soins intensifs **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022)**. De plus, les postbiotiques ne contiennent pas de gènes de résistance aux antibiotiques transférables, et aucun cas d'effet indésirable grave n'a été rapporté **(Salminen et al., 2021).**

II.3.2.4. Cinétique d'action rapide, standardisation et reproductibilité : Les postbiotiques présentent une composition stable et définie d'un lot à l'autre, ce qui facilite grandement leur standardisation en recherche clinique et en industrie pharmaceutique **(Al-Habsi et al., 2024 ; Liu et al., 2023)**. De plus, ils agissent directement et rapidement sur les cellules de l'hôte sans nécessiter de phase de colonisation ou d'adaptation microbienne préalable. Cet effet biologique immédiat peut être observé quelques heures après l'administration, contrairement aux probiotiques vivants qui exigent plusieurs jours pour s'établir **(Ji et al., 2023 ; Liu et al., 2023).**

II.3.3. Synthèse comparative : Postbiotiques ; Probiotiques et Prébiotiques

Pour récapituler les avantages technologiques et biologiques des postbiotiques par rapport aux formes microbiennes vivantes et aux substrats nutritionnels, le Tableau 3 présente une analyse comparative synoptique de leurs caractéristiques clés **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022)**.

Tableau 3 : Comparaison synoptique des caractéristiques technologiques et biologiques entre probiotiques, prébiotiques et postbiotiques **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022 ; Scarpellini et al., 2021 ; Ji et al., 2023 ; Al-Habsi et al., 2024).**

Caractéristiques	Probiotiques (Vivants)	Prébiotiques (Substrats)	Postbiotiques (Inanimés)
Nature biologique	Micro-organismes vivants (Bactéries/Levures)	Composés chimiques / Fibres non digestibles (Inuline, FOS).	Micro-organismes inanimés et/ou métabolites solubles.
Viabilité cellulaire	Obligatoire pour exercer l'effet.	Absente (molécules organiques inertes).	Absente (cellules délibérément inactivées).
Stabilité au stockage	Limitée, sensible au temps et à la température.	Excellente, haute résistance aux facteurs environnementaux.	Excellente (24 à 36 mois à température ambiante).
Chaîne du froid	Souvent indispensable.	Non requise.	Non requise.
Sensibilité au pH et enzymes	Risque élevé de dégradation et perte de charge active.	Résistants à l'acidité gastrique et aux enzymes digestives.	Totalement insensibles, action directe.
Cinétique d'action	Lente (nécessite une phase de colonisation).	Indirecte (dépend de la fermentation par le microbiote).	Rapide (immédiate, en quelques heures).
Risque infectieux / Translocation	Possible chez les patients immunodéprimés.	Strictement nul (molécules non vivantes).	Strictement nul (sécurité totale).
Transfert de gènes (Antibiorésistance)	Risque potentiel présent.	Aucun risque	Aucun risque (AND inactivé ou fragmenté).
Intégration dans les matrices	Difficile (interactions avec la matrice alimentaire).	Très facile (utilisés aussi comme agents de texture).	Facilitée, haute compatibilité technologique.

II.4. Mode de production et sources des postbiotiques

II.4.1. Mode de production des postbiotiques

La production industrielle des postbiotiques repose sur un processus biotechnologique rigoureusement contrôlé, visant à générer et à isoler des composés bioactifs à partir de biomasse microbienne inactivée **(Salminen et al., 2021)**. Contrairement aux probiotiques, dont l'efficacité dépend intrinsèquement de la viabilité cellulaire, la fabrication de postbiotiques exige une optimisation précise des conditions de fermentation, suivie d'étapes critiques d'inactivation et de purification afin d'assurer la standardisation et la sécurité du produit final **(Balthazar et al., 2022 ; Liu et al., 2023)**. Le processus global, depuis la sélection de la souche productrice jusqu'à la validation analytique du produit fini, est synthétisé dans la figure 7

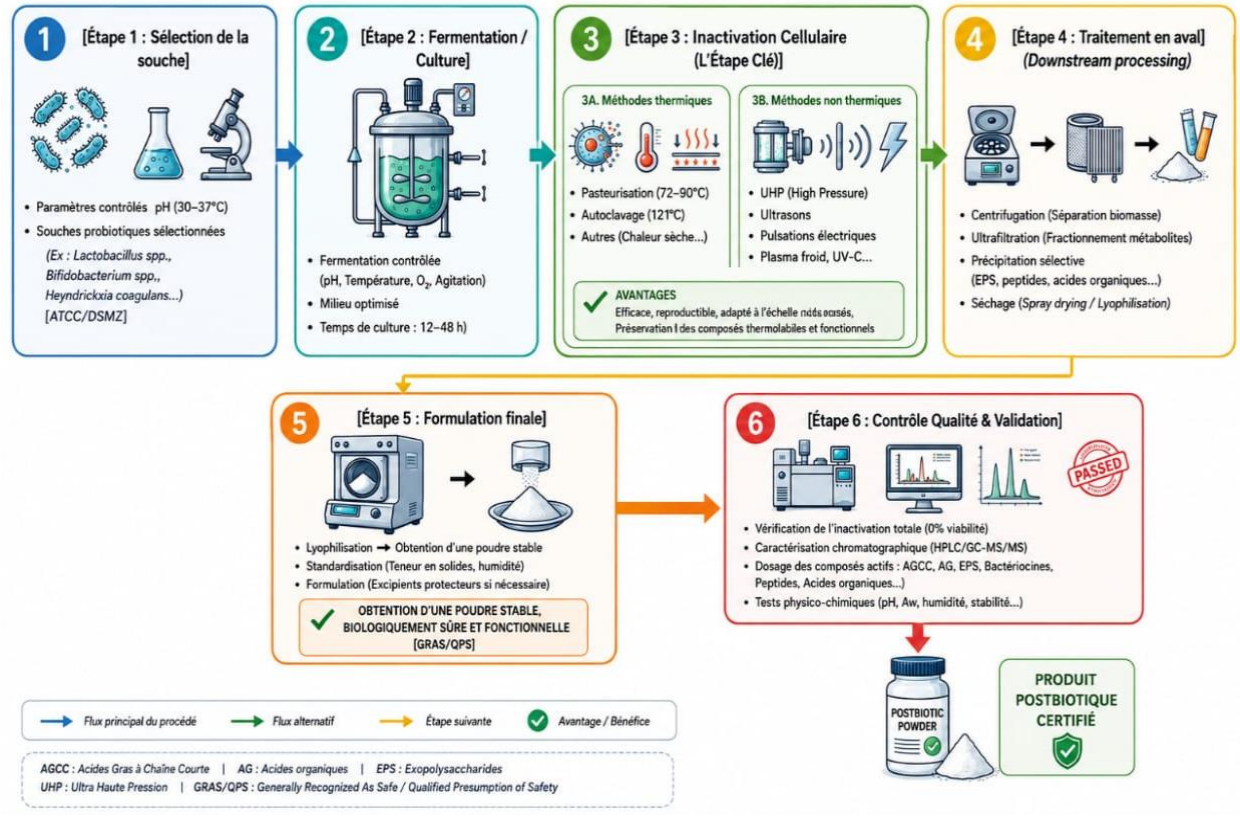


Figure 7 : Flowchart synoptique et rationnel du procédé de production industriel des postbiotiques **(d'Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Salminen et al., 2021 ; Balthazar et al., 2022)**.

II.4.1.1. Sélection et culture de la souche productrice

La production des postbiotiques débute par la sélection rigoureuse d'une souche microbienne appropriée, issue de collections de cultures reconnues (ATCC, DSMZ) ou isolée à partir d'aliments fermentés traditionnels **(Teame et al., 2020 ; Liu et al., 2023)**. Les souches les plus fréquemment utilisées appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*

(notamment Heyndrickxia coagulans, anciennement *Bacillus* coagulans) et *Saccharomyces*. Chaque souche doit faire l'objet d'une caractérisation taxonomique, génétique, génomique et fonctionnelle afin de garantir l'absence de gènes de virulence et de confirmer son profil de sécurité biologique **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022)**.

La fermentation est réalisée dans des bioréacteurs industriels en conditions contrôlées, où les paramètres (température, pH, agitation, aération, durée) sont optimisés pour maximiser la production des métabolites d'intérêt. Par exemple, la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) est favorisée par des conditions d'anaérobiose stricte, tandis que la synthèse d'exopolysaccharides (EPS) est stimulée par un excès de sources carbonées **(Teame et al., 2020 ; Ji et al., 2023**). Généralement, la température est maintenue entre 30 et 37°C, le pH entre 5,5 et 6,5, et la durée varie de 12 à 72 heures selon la souche et le produit visé.

II.4.1.2. Inactivation des micro-organismes

L'inactivation constitue l'étape clé qui distingue la production des postbiotiques de celle des probiotiques, permettant la transition de la biomasse vivante vers le statut de postbiotique. Plusieurs méthodes d'inactivation, thermiques ou non thermiques, sont disponibles afin d'éliminer toute viabilité cellulaire tout en préservant l'intégrité des composés bioactifs **(Salminen et al., 2021 ; Scarpellini et al., 2021).**

Le traitement thermique (pasteurisation, autoclavage) reste la méthode la plus répandue en industrie en raison de sa simplicité, de son efficacité et de sa reproductibilité **(Salminen et al., 2021**). La pasteurisation (72°C pendant 15 secondes) et la stérilisation (121°C pendant 15–20 minutes) sont couramment utilisées. Cependant, un chauffage excessif présente le désavantage de pouvoir dénaturer certaines protéines et enzymes thermosensibles (**Scarpellini et al., 2021 ; Balthazar et al., 2022).**

Pour pallier ces limites, les technologies non thermiques ont émergé comme des alternatives intéressantes pour préserver les composés sensibles à la chaleur **(Balthazar et al., 2022 ; Liu et al., 2023)**. Le Tableau 4 résume les grands principes, avantages et inconvénients de ces différentes méthodes.

Tableau 4 : Caractéristiques des principales méthodes d'inactivation non thermiques des postbiotiques **(Balthazar et al., 2022 ; Scarpellini et al., 2021 ; Liu et al., 2023)**.

Méthode d'inactivation	Principe	Avantages	Inconvénients
Ultra-haute pression	Application de pressions hydrostatiques de 300 à 600 MPa.	Préservation optimale des composés thermosensibles ; inactivation cellulaire complète et efficace.	Coût économique élevé ; nécessite un équipement industriel spécifique.
Sonication (ultrasons)	Émission d'ondes ultrasonores de haute fréquence (20 à 40 kHz).	Réduction à une taille de particules nanométrique ; amélioration de la bioaccessibilité.	Nécessite un contrôle et un ajustement précis de l'intensité acoustique.
Pulsations électriques	Application de champs électriques pulsés de haute intensité.	Inactivation microbienne ultra-rapide ; maintien d'une basse température.	Investissement initial très important pour les installations.
Traitement par micro-ondes	Chauffage diélectrique rapide et volumétrique.	Réduction suivie d'une diminution du temps de traitement ; grande uniformité.	Risque potentiel de surchauffe locale incontrôlée.

II.4.1.3. Purification, fractionnement et concentration

Selon l'application industrielle ou thérapeutique visée, le produit postbiotique brut peut subir des étapes de purification et de concentration. La centrifugation permet de séparer les cellules inanimées et les débris cellulaires du surnageant contenant les métabolites extracellulaires **(Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Teame et al., 2020)**. L'ultrafiltration utilise ensuite des membranes de différents seuils de coupure pour fractionner les métabolites selon leur taille

moléculaire (Balthazar et al., 2022 ; Liu et al., 2023). Enfin, la précipitation sélective permet d'isoler des fractions spécifiques, tandis que la lyophilisation est largement utilisée pour obtenir une poudre finale stable et facilement formulable **(Scarpellini et al., 2021 ; Al-Habsi et al., 2024)**.

II.4.1.4. Contrôle qualité et standardisation

Le contrôle qualité est essentiel pour garantir la sécurité totale, l'absence de viabilité microbienne et assurer la reproductibilité du produit final. Les tests de confirmation d'inactivation, prouvant l'absence de micro-organismes viables après incubation sur des milieux de culture appropriés, sont strictement obligatoires. La caractérisation précise de la composition chimique repose sur des techniques analytiques avancées telles que la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) pour les acides organiques, la chromatographie en phase gazeuse (GC) pour les acides gras à chaîne courte, ainsi que la spectrométrie de masse (GC-MS, LC-MS/MS) pour le suivi et l'identification des bactériocines et des peptides bioactifs (**Salminen et al., 2021 ; Aguilar-Toalá et al., 2018)**.

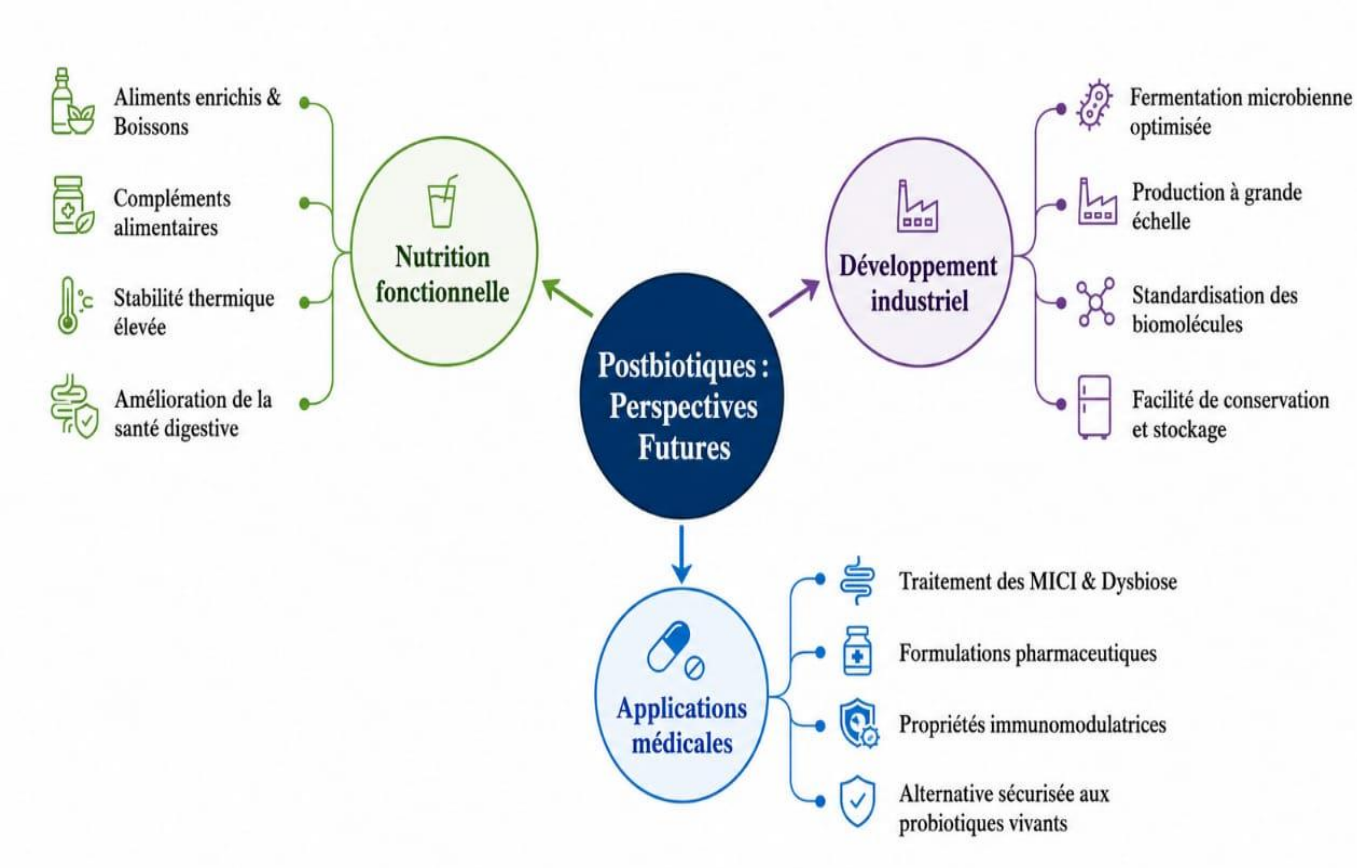


Figure 8 : les perspectives des postbiotique : nutrition , industrie et médcine **(salminen et al.,2021) .**

II.4.2. Sources et origines des postbiotiques

Comme l'illustre la Figure 9, les postbiotiques représentent une avancée majeure avec trois axes stratégiques : une nutrition fonctionnelle enrichie grâce à leur stabilité thermique, une optimisation industrielle facilitant la production et le stockage à grande échelle, et des applications médicales sécurisées. En offrant une alternative stable et efficace aux probiotiques vivants, ils s'imposent comme des alliés prometteurs pour moduler l'immunité et traiter les troubles intestinaux comme les MICI **(salminen et al.,2021)**

Les postbiotiques peuvent être extraits à partir de matrices naturelles complexes ou générés via des procédés biotechnologiques standardisés. Leur disponibilité croissante reflète l'intérêt grandissant de la recherche et de l'industrie pour ces composés bioactifs **(Vinderola et al., 2022 ; Al-Habsi et al., 2024)**.

II.4.2.1. Sources d'origine naturelle

• **Les aliments fermentés** : Ils constituent la source naturelle la plus prolifique en postbiotiques. La fermentation, qu'elle soit spontanée ou dirigée par des cultures initiatrices, génère intrinsèquement une grande diversité de métabolites actifs au cours de la transformation de la matrice alimentaire , les produits laitiers (comme le yaourt et le kéfir), les boissons fermentées (telles que le kombucha) ainsi que les matrices végétales (le kimchi et la choucroute) regorgent de molécules postbiotiques d'intérêt, notamment des acides organiques, des peptides bioactifs, des exopolysaccharides et des bactériocines **(Aguilar-Toalá et al., 2018 ; Teame et al., 2020)**.

• **Le microbiote intestinal endogène** : Le tractus gastro-intestinal constitue un bioréacteur naturel permanent. Les micro-organismes commensaux du côlon synthétisent en continu des postbiotiques via la fermentation anaérobie des fibres alimentaires et des substrats prébiotiques. L'acide butyrique, synthétisé majoritairement par Faecalibacterium prausnitzii et Eubacterium hallii, en est l'exemple le plus représentatif. Cette production endogène dépend étroitement du régime alimentaire de l'hôte, de la structure eubiotique du microbiote et de son état physiopathologique **(Ji et al., 2023 ; Li et al., 2021)**.

II.4.2.2. Sources et formulations industrielles

• Les compléments alimentaires et préparations galéniques : Les formulations postbiotiques standardisées connaissent un essor remarquable sur le marché pharmaceutique sous forme de poudres, gélules ou suspensions liquides. Des préparations pionnières telles que le Lactéol® (à base de Lactobacillus acidophilus inactivé) ou l'Hylak® (substrats métaboliques *d'Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus spp*.) sont exploitées en thérapeutique depuis plusieurs décennies. Ces produits ont été formellement reclassés sous le statut de « postbiotiques » suite au consensus de l'ISAPP **(Salminen et al., 2021 ; Vinderola et al., 2022)**.

• Les ingrédients pour matrices fonctionnelles : L'obtention de postbiotiques standardisés sous forme de poudres lyophilisées stables permet leur incorporation directe comme ingrédients fonctionnels dans diverses matrices transformées (boissons, produits laitiers, céréales). Contrairement aux probiotiques viables, leur robustesse face aux contraintes thermiques et physico-chimiques industrielles garantit une meilleure stabilité et une sécurité microbiologique élevées sans altérer significativement les propriétés organoleptiques du produit fini **(Balthazar et al., 2022 ; Al-Habsi et al., 2024)**.

Chapitre III : Application des postbiotiques en nutrition humaine et animale

III.1. Application des postbiotiques en nutrition humaine et animale

III.1.1. Modulation du microbiote intestinal

Les postbiotiques jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal grâce aux différents composés bioactifs qu'ils contiennent, notamment les acides organiques, les peptides antimicrobiens, les enzymes et certains métabolites produits par les bactéries probiotiques. Ces substances favorisent le développement des bactéries bénéfiques telles que les Lactobacillus et les Bifidobacterium, tout en limitant la croissance des microorganismes pathogènes responsables des déséquilibres intestinaux. Cette action permet de préserver un environnement intestinal stable et de soutenir le bon fonctionnement du système digestif **(Piqué et al., 2024 ; Huang, 2026)**

Les recherches récentes montrent également que les postbiotiques contribuent à améliorer la diversité microbienne intestinale. En modulant l'éco-système intestinal, ils permettent de réguler le pH luminal et de limiter l'adhésion des agents pathogènes sur la muqueuse, assurant ainsi une protection durable de la niche écologique intestinale **(Teame et al., 2022)**.

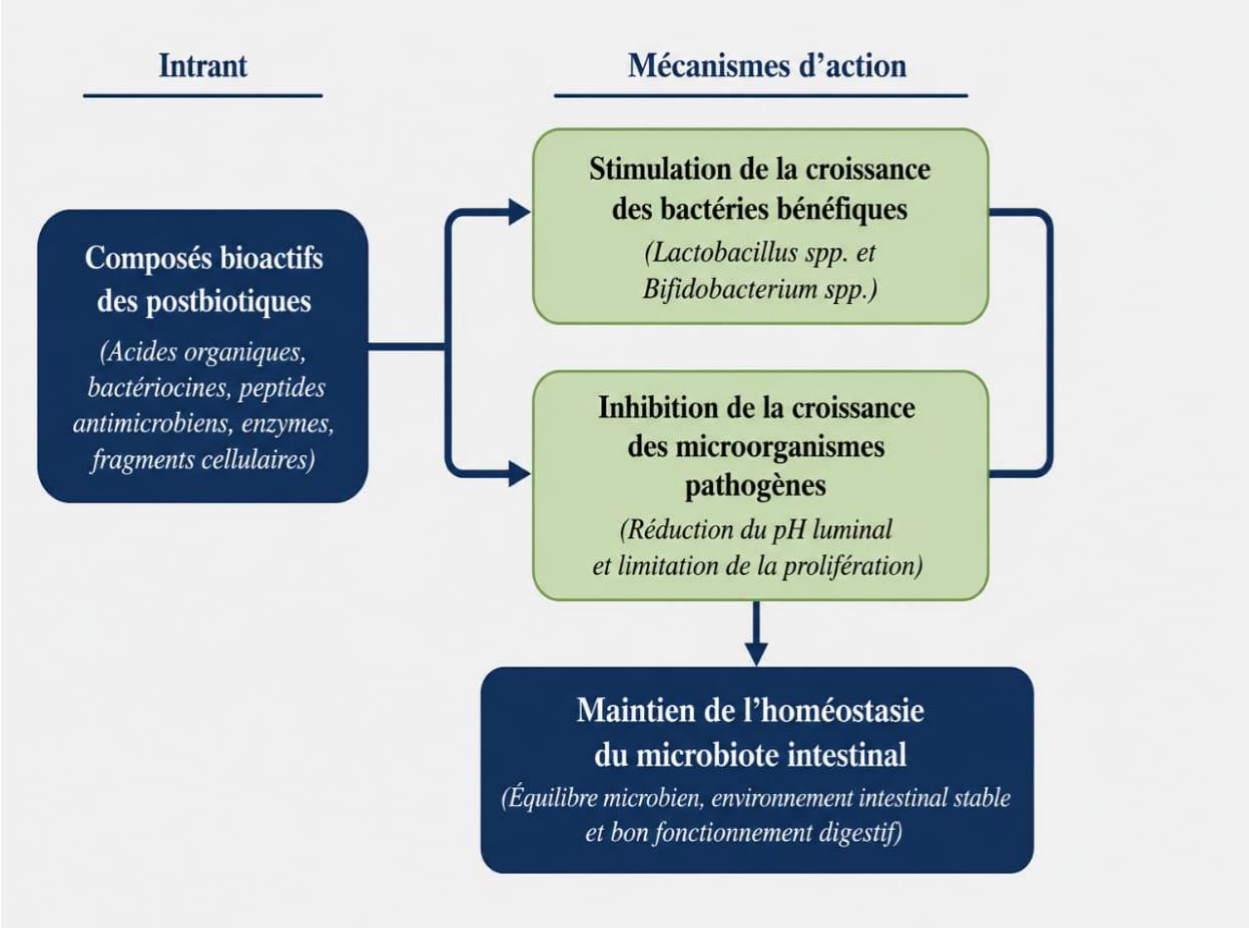


Figure 9 : Mécanismes de modulation du microbiote intestinal par les postbiotiques **(Teame et al., 2022)**.

Comme l'illustre la Figure 9, l'action bénéfique des postbiotiques repose sur une cascade d'interactions physiologiques au sein du tractus gastro-intestinal. Les composés bioactifs libérés, tels que les acides organiques et les peptides antimicrobiens, agissent de manière synergique pour restructurer la communauté microbienne **(Salminen et al., 2021)**. D'une part, ils stimulent sélectivement la prolifération des genres clés de la santé intestinale (*Lactobacillus* et *Bifidobacterium*). D'autre part, ils exercent un effet inhibiteur direct sur les micro-organismes pathogènes, notamment par la réduction du pH luminal **(Teame et al., 2022)**. Cette double régulation cinétique permet de restaurer la diversité microbienne et de maintenir une homéostasie luminale stable, indispensable au bon fonctionnement global du système digestif.

III.1.2. Amélioration des fonctions digestives et régulation métabolique

Les postbiotiques participent à l'amélioration des fonctions digestives en favorisant une meilleure digestion et une absorption plus efficace des nutriments au niveau intestinal. Certains composés issus de la fermentation bactérienne stimulent l'activité enzymatique digestive et contribuent au maintien d'un environnement intestinal favorable au bon déroulement des processus digestifs. Ils peuvent également réduire certains troubles digestifs comme les diarrhées, les ballonnements et les inflammations intestinales **(Salminen et al., 2021 ; Scarpellini et al., 2023)**.

Plusieurs études suggèrent également que les postbiotiques jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme énergétique. Ils influencent le métabolisme des glucides et des lipides et participent à la réduction du stress oxydatif ainsi qu'à l'amélioration du fonctionnement cellulaire. Grâce à leurs effets sur le microbiote intestinal et l'inflammation, les postbiotiques pourraient contribuer à prévenir certaines maladies métaboliques telles que l'obésité, le diabète de type 2 et les troubles cardiovasculaires **(Mishra et al., 2024)**.

III.1.3. Mécanismes d'immunomodulation et signalisation cytokinique

Les postbiotiques possèdent des propriétés anti-inflammatoires importantes grâce à leur capacité à réduire la production de certaines molécules pro-inflammatoires et à renforcer les mécanismes naturels de défense de l'organisme. Ils contribuent ainsi à diminuer l'inflammation intestinale et à protéger la muqueuse digestive contre différentes agressions d'origine microbienne ou environnementale. Ces effets jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre intestinal et dans la prévention de several troubles digestifs chroniques **(Salminen et al., 2021 ; Tan et al., 2024)**.

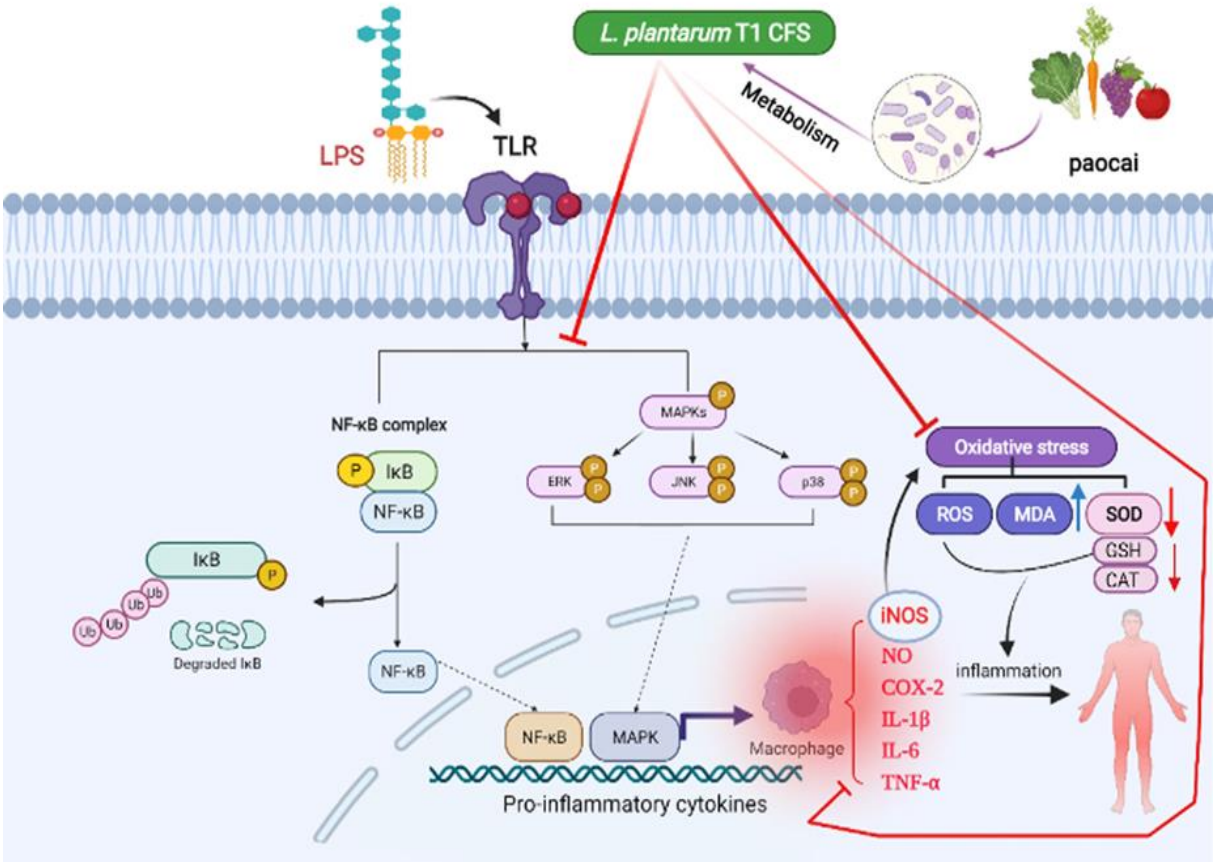


Figure 10 : Schéma du mécanisme anti-inflammatoire proposé du SCF (surnageant de culture sans cellules) de *L. plantarum* T1. Le SCF de *L. plantarum* T1 atténue l'inflammation par la suppression du stress oxydatif et des voies de signalisation NF-κB et MAPK dans les macrophages RAW264.7 stimulés par le LPS **(Hao et al., 2023).**

Les études scientifiques montrent également que les postbiotiques peuvent moduler la réponse immunitaire en stimulant différentes cellules immunitaires, notamment les macrophages, les lymphocytes et les cellules dendritiques. Cette activitée immunomodulatrice améliore la résistance de l'organisme face aux infections et pourrait participer à la prévention de certaines maladies inflammatoires et allergies. Grâce à leurs propriétés biologiques et à leur bonne stabilité, les postbiotiques représentent aujourd'hui une approche prometteuse dans les domaines de la nutrition fonctionnelle, de la médecine et de la biotechnologie **(Thorakkattu et al., 2022)**.

III.1.4. Protection de la barrière épithéliale et contrôle de la perméabilité

Les postbiotiques contribuent directement au maintien de l'intégrité des cellules épithéliales intestinales. Les recherches récentes mettent en évidence que la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) et d'autres métabolites actifs protège la muqueuse digestive contre différentes agressions d'origine microbienne ou environnementale. Ces composés participent activement au renforcement des jonctions serrées (tight junctions) et au contrôle de la perméabilité paracellulaire, jouant ainsi un rôle essentiel dans la prévention de plusieurs pathologies digestives chroniques et systémiques **(Salminen et al., 2021 ; Peluzio et al., 2024)**.

III.1.5. Applications commerciales et formulations en nutrition humaine

Contrairement aux probiotiques vivants, les postbiotiques présentent une stabilité thermique et physico-chimique supérieure face aux variations de température et aux conditions de stockage, ce qui facilite considérablement leur incorporation industrielle **(Mafe et al., 2025)**. Grâce à leurs propriétés biologiques, leur sécurité d'emploi et leur longue durée de conservation, les postbiotiques représentent aujourd'hui une approche innovante dans les domaines de la nutrition fonctionnelle, des formules infantiles, ainsi que dans le développement de divers produits pharmaceutiques et nutraceutiques **(Comprehensive insights, 2025)**.

Tableau 5 : Synthèse des principaux axes d'action, mécanismes biologiques et applications industrielles des postbiotiques **(Vinderola et al., 2022)**.

Axe d'action	Mécanismes principaux	Références
Modulation du microbiote	Stimulation des bactéries bénéfiques et baisse du pH luminal.	**(Vinderola et al., 2022)**.
Régulation métabolique	Modulation du métabolisme des lipides et des glucides.	**(Mishra et al., 2023)**.
Immunomodulation	Signalisation cytokinique et activation des macrophages.	**(Moreira, 2025)**.
Protection barrière	Maintien de l'intégrité épithéliale et contrôle de la perméabilité paracellulaire.	**(Vinderola et al., 2022)**.
Applications commerciales	Formulations stables en nutrition fonctionnelle et pharmacie.	**(Vinderola et al., 2022)**.

Afin de synthétiser l'ensemble des concepts abordés, la figure 11 rassemble de manière holistique les interactions multi-cibles des postbiotiques. Ce schéma illustre de façon claire la transition entre l'origine bactérienne de ces composés non vivants et leurs impacts systémiques, allant de la modulation locale du microbiote intestinal jusqu'aux applications technologiques et commerciales majeures **(Comprehensive insights, 2025)**.

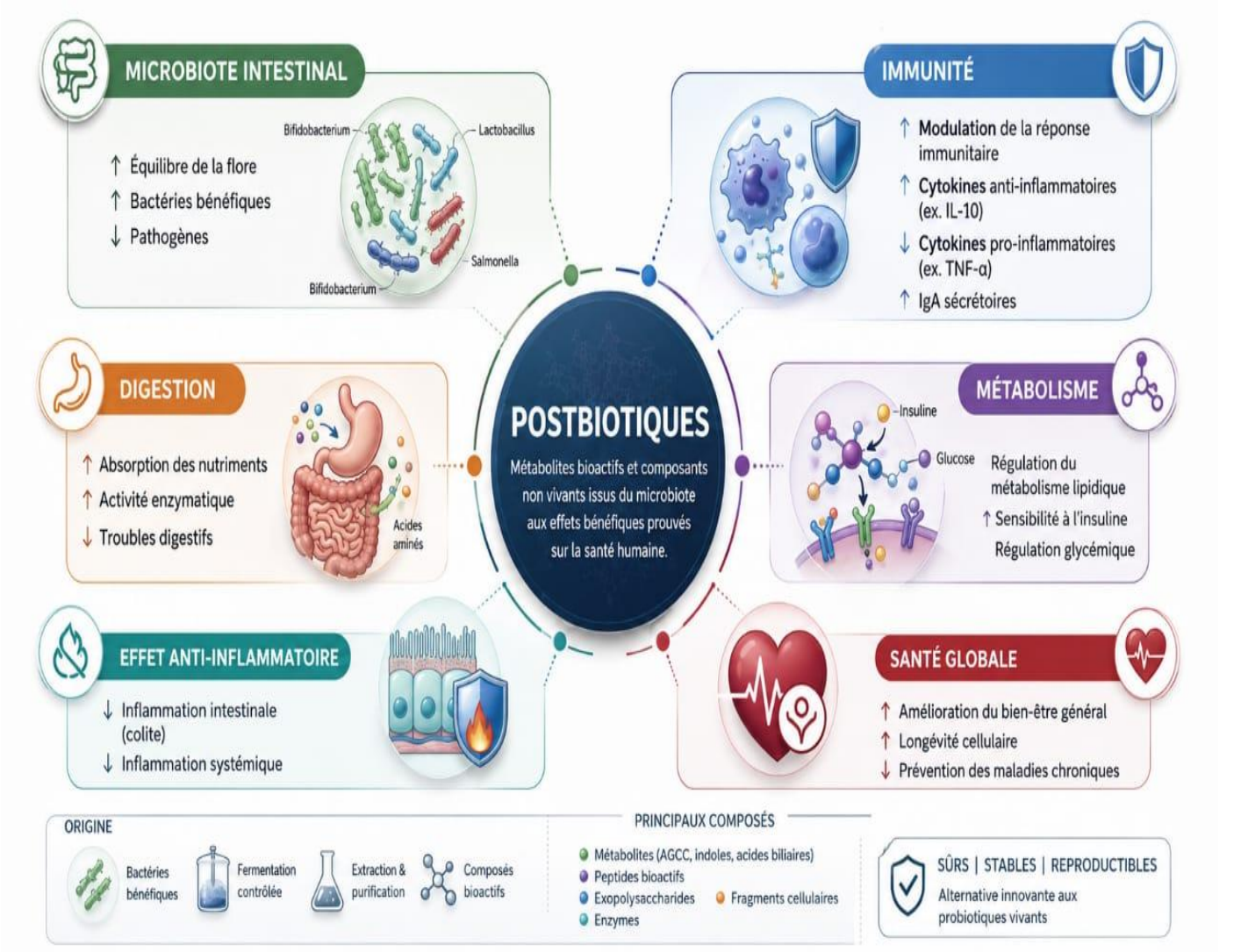


Figure 11 : Rôle fonctionnel et impact thérapeutique des postbiotiques sur la santé **(Salminen et al., 2021 ; Piqué et al., 2024)**.

III.2. Applications des postbiotiques en nutrition animale

III.2.1. Amélioration de la croissance et des performances zootechniques

Les postbiotiques occupent une place de plus en plus importante dans le domaine de la nutrition animale grâce à leurs effets bénéfiques sur la croissance et les performances zootechniques. Chez les volailles, les bovins et d'autres animaux d'élevage, ils contribuent à améliorer l'efficacité alimentaire et à optimiser l'utilisation des nutriments présents dans l'alimentation.

Cette amélioration permet une meilleure prise de poids, une croissance plus régulière et une augmentation des performances de production **(Riaz et Nouman., 2025)**.

Les composés bioactifs contenus dans les postbiotiques participent également à l'amélioration de la santé digestive des animaux en favorisant l'équilibre du microbiote intestinal et en stimulant certaines activités enzymatiques digestives. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des postbiotiques dans l'alimentation animale peut améliorer la conversion alimentaire et réduire les effets négatifs liés au stress ou aux déséquilibres intestinaux. Grâce à leur stabilité et à leur sécurité d'utilisation, les postbiotiques représentent aujourd'hui une approche innovante dans les systèmes modernes de production animale **(Palo et al., 2022 ; Tariq et al., 2024)**.

III.2.2. Protection contre les infections et renforcement de la barrière intestinale

Les postbiotiques jouent un rôle prédominant dans la protection contre les infections intestinales chez les animaux d'élevage. Ils agissent principalement en renforçant la barrière épithéliale et en limitant la prolifération des microorganismes pathogènes responsables des troubles digestifs **(Duarte et al., 2024 ; Roque et al., 2025)**.

Au niveau cellulaire, ils stimulent l'expression des protéines des jonctions serrées, ce qui réduit significativement l'hyperperméabilité intestinale (souvent qualifiée de leaky gut) et limite le passage des toxines et des agents pathogènes opportunistes vers la circulation sanguine. En optimisant la structure des villosités et en favorisant la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC), ces métabolites protègent la muqueuse contre les dommages cellulaires liés au stress oxydatif et aux infections systémiques, améliorant ainsi l'état sanitaire général dans les élevages intensifs **(Khan et al., 2024)**.

III.2.3. Stimulation immunitaire et alternative aux antibiotiques promoteurs de croissance

L'utilisation excessive des antibiotiques dans les élevages a favorisé l'apparition de phénomènes d'antibiorésistance, ce qui représente aujourd'hui un problème majeur de santé publique. Dans ce contexte, les postbiotiques apparaissent comme une alternative prometteuse aux antibiotiques promoteurs de croissance utilisés en production animale. Grâce à leurs propriétés antimicrobiennes, ils permettent de maintenir de bonnes performances zootechniques sans provoquer les effets indésirables associés aux molécules conventionnelles **(Salminen et al., 2021 ; Abd El-Hack et al., 2022)**.

De plus, les postbiotiques régulent l'immunité innée et adaptative des animaux en activant les macrophages, les lymphocytes et les cellules dendritiques. Cette activité immunomodulatrice favorise une signalisation cytokinique équilibrée, réduisant l'expression des médiateurs pro-inflammatoires au profit des cytokines anti-inflammatoires. Cette optimisation immunitaire contribue à améliorer la sécurité sanitaire globale de l'élevage et réduit le risque de transmission des bactéries résistantes aux consommateurs **(Mahfuz et al., 2023 ; Prasad et al., 2025)**.

Tableau 6 : Effets bénéfiques et impacts zootechniques de l'incorporation des postbiotiques chez différentes espèces d'élevage **(Riaz et Nouman., 2025 ; Ali et al., 2025)**.

Espèce animale	Paramètres améliorés	Impacts majeurs
Volailles (Poulets de chair)	Éfficacité alimentaire et gain de poids.	Stimulation immunitaire globale et réduction des infections intestinales à *Salmonella.*
Bovins (Veaux / Vaches laitières)	Digestion des fibres et qualité de la production laitière.	Stabilisation du microbiote ruminal et atténuation des effets négatifs du stress thermique.
Porcins (Porcelets sevrés)	Intégrité histologique de la barrière intestinale.	Diminution de l'incidence des diarrhées de sevrage provoquées par *E. coli* pathogènes.

III.3. Perspectives et applications futures des postbiotiques

L'évolution des connaissances sur les postbiotiques met en évidence un potentiel d'innovation majeur qui dépasse largement le cadre de leurs usages conventionnels. Grâce à des propriétés technologiques remarquables, notamment leur robustesse face aux contraintes de transformation et leur innocuité clinique, ces composés se positionnent comme des vecteurs incontournables pour la formulation de produits de santé de nouvelle génération **(Salminen et al., 2021 ; Piqué et al., 2024)**.

L'illustration suivante (figure 11) propose une cartographie conceptuelle de ces trajectoires futures, en regroupant les axes stratégiques d'intégration des postbiotiques au sein des filières agroalimentaire, médicale et biotechnologique **(Thorakkattu et al., 2022)**.

III.3.1. Nutrition fonctionnelle et aliments enrichis

Les postbiotiques occupent une place croissante dans le domaine de la nutrition fonctionnelle grâce à leurs propriétés biologiques bénéfiques et à leur bonne stabilité. Ils sont de plus en plus intégrés dans les aliments enrichis et les compléments alimentaires afin d'améliorer la santé digestive, renforcer l'immunité et maintenir l'équilibre du microbiote intestinal. Contrairement aux probiotiques vivants, les postbiotiques présentent une meilleure résistance aux variations de température et aux conditions de stockage, ce qui facilite leur utilisation dans l'industrie alimentaire **(Piqué et al., 2024)**.

Les recherches récentes montrent également que les postbiotiques pourraient être utilisés dans le développement de nouveaux produits alimentaires destinés à prévenir certaines maladies métaboliques et inflammatoires. Leur incorporation dans les aliments fonctionnels représente une approche innovante pour améliorer la qualité nutritionnelle des produits et répondre aux besoins croissants des consommateurs en matière de santé et de bien-être **(Liu et al., 2023)**.

III.3.2. Applications médicales et pharmaceutiques

Les postbiotiques présentent un potentiel important dans les domaines médical et pharmaceutique grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et immunomodulatrices. Plusieurs études suggèrent qu'ils pourraient participer à la prévention et au traitement de certaines pathologies digestives, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les diarrhées infectieuses et certains dysbioses du microbiote intestinal **(Wang et al., 2022)**.

Des recherches récentes s'intéressent également à leur utilisation dans le développement de nouvelles approches thérapeutiques plus sûres et plus stables que les probiotiques vivants. Les postbiotiques pourraient ainsi être intégrés dans des formulations pharmaceutiques destinées à améliorer la réponse immunitaire et à réduire les inflammations chroniques. Leur sécurité d'utilisation et leur stabilité représentent des avantages cliniques majeurs **(Balakrishna et al., 2026)**.

III.3.3. Développement industriel et biotechnologique

Le développement industriel des postbiotiques progresse rapidement grâce aux avancées des biotechnologies modernes et des procédés de fermentation microbienne. Ces technologies permettent aujourd'hui de produire des postbiotiques de manière plus stable, plus sécurisée et à grande échelle pour répondre aux besoins des secteurs alimentaire, pharmaceutique et vétérinaire **((Balakrishna et al., 2026)**.

Les perspectives industrielles des postbiotiques sont particulièrement prometteuses en raison de leur facilité de conservation et de leur stabilité comparativement aux probiotiques vivants. De nombreuses recherches se concentrent actuellement sur l'optimisation des méthodes de production, la standardisation des composés bioactifs et le développement de nouveaux produits à base de postbiotiques. Ces avancées pourraient favoriser une utilisation plus large des postbiotiques dans différents domaines de la santé et de la biotechnologie au cours des prochaines années **(Salminen et al., 2021 ; Rad et al., 2023)**.

Tableau 7 : Défis industriels actuels et perspectives de développement des postbiotiques **(Vinderola et al., 2022)**.

Secteur d'application	Défis technologiques actuels	Perspectives et solutions futures
Aliments Fonctionnels	Standardisation du goût et de la texture après incorporation.	Développement de matrices alimentaires intelligentes et de compléments nutritionnels avancés.
Secteur Médical	Précision des mécanismes d'action sur certaines pathologies complexes.	Essais cliniques approfondis pour cibler spécifiquement les MICI et la dysbiose.
Industrie Biotechnologique	Rendement de la biomasse et purification des métabolites actifs.	Optimisation des procédés de fermentation et standardisation internationale des biomolécules.

Il ressort de ce tableau 7 que l'avenir des postbiotiques repose sur une transition cruciale entre la recherche fondamentale et l'optimisation industrielle. Bien que les propriétés technologiques des postbiotiques (telles que leur stabilité thermique et leur longue conservation) offrent des avantages indéniables par rapport aux probiotiques vivants, leur généralisation à grande échelle nécessite encore de surmonter des défis majeurs. L'harmonisation des procédés de fermentation, la standardisation des biomolécules actives et la validation par des essais cliniques rigoureux constituent les piliers indispensables pour garantir leur efficacité et leur sécurité dans les secteurs médical, pharmaceutique et agroalimentaire **(Vinderola et al., 2022)**.

Partie II: Partie expérimentale

Matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de biologie de l'Université Abdelhafid Boussouf- Mila, pendant une période allant du 08/04/2026 jusqu'au 25/05/2026. L'objectif de cette étude expérimentale était d'évaluer et de comparer in vitro les propriétés biologiques de trois préparations postbiotiques obtenues à partir de souches inactivées par la chaleur : deux d'origine commerciale et une préparation d'origine locale. Plus spécifiquement, il s'agissait de :

- Évaluer l'activité antimicrobienne des trois postbiotiques vis-à-vis de souches pathogènes de référence.
- Évaluer le potentiel antioxydant des postbiotiques à le test de piégeage du radical libre DPPH.
- Déterminer l'activité anti-inflammatoire en mesurant la capacité des postbiotiques à inhiber la dénaturation de l'albumine.

IV.1. Matériel

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, nous nous sommes servis du matériel suivant :

IV.1.1. Matériel biologique

IV.1.1.1. Les souches probiotiques

Deux types de probiotique ont été utilisés : commercial et autochtone :

- Les probiotiques commerciaux choisis sont des compléments alimentaires vendu en pharmacie sous le nom de 'Suprabiotique' et ' Ultrabiotique'.
- Le probiotique autochtone est reconstitué de cinq souches lactiques probiotiques (LC1M, LC2M, LC3M17, LC2M'et LC7 MRS)

Tableau 8 : Les souches probiotiques utilisées.

Probiotique	Composition	Code
Ultrabiotique	*Bifidobacterium breve Lactobacillus paracasei Lactobacillus rhamnosus Lactobacillus helveticus Bifidobacterium lactis*+ Myrtille	**PB1**
Suprabiotique	*Bifidobacterium lactis BI-04 Lactobacillus acidophilus La-14 Lactobacillus salivariu Ls-33 Lactobacillus plantarum Lp-115 Lactobacillus casei Lc-11*	**PB2**
Locale	*Lactobacillus casei* LC1M *Lactobacillus plantarum* LC2M *Lactobacillus brevis* LC7 MRS *Lactobacillus casei* LC3M17 *Lactobacillus plantarum* LC2M'	**PB3**

IV.1.1.2. Les souches indicatrices

Il s'agit de cinq souches indicatrices représentées par les espèces suivantes :

- *Bacillus spizizenii* ATCC 6633 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Candida albicans* ATCC 10231 ;

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de biologie du centre universitaire de Mila.

IV.1.1.3. Les disques d'antibiotiques

Nous nous sommes servi des disques d'antibiotiques présentés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Les antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Code	Concentration (µg)
Amoxicilline	AX	25
Doxycycline	DO	30

IV.1.2. Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux suivants : le bouillon MRS (de Man-Rogosa et Sharp), le bouillon nutritif, la gélose MRS, la gélose nutritive et le milieu Mueller-Hinton.

La stérilisation des milieux est effectuée par autoclavage à 121°C pendant 10 minutes.

IV.1.3. Matériel et produit de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé pour la réalisation de notre travail est représenté dans le tableau 14.

Tableau 10 : les produits chimiques, appareillage et le petit matériel utilisés.

Réactif	Appareillage	Petit matériel
Albumine	Agitateur électrique (Stuart).	Anse de platine
Alcool	Autoclave (Pbibrand)	Bec bunsen
DPPH	Bain Marie (Memmert)	Béchers
Eau distillée	Balance (Kern)	Boîtes de Pétri
Eau physiologique	Balance analytique (Kern)	Embouts
Fuchsine	Etuves (Memmert)	Ecouvillon stérile
Huile d'immersion	Micropipettes (Socorex)	Entonnoirs
Lugol	Microscope optique (Optika)	Eppendorf
Méthanol	pH-mètre	Flacons
PBS	Pied à coulisse	Lames
Violet de gentiane	Réfrigérateur (Samsung)	Pinces
	Spectrophotomètre (Shimadzu, UV1800)	Pipette pasteur
	Vortex électrique (Topmix)	Portoirs
		Seringues filtrantes 0.22 um
		Spatule
		Tubes à essai

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Revivification et purification des souches probiotiques locales

Les cinq souches lactiques locales LC2M , LC3M17 , LC1M , LC2M' , LC7 MRS ont été cultivées sur bouillon MRS et placées en incubation à une température de 37°C pendant une durée de 24 à 48 heures. Un indicateur visuel du développement bactérien est observé : le milieu de. Ces modifications visuelles, la culture devient trouble et une pastille blanche se forme au fond du tube, témoignent de la croissance et de la viabilité des souches lactiques dans le bouillon MRS.

La purification des souches lactiques a été réalisée par une série de repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS. Pour ce faire, la gélose préalablement coulée et solidifiée dans des boites de Pétri a été ensemencée en utilisant la méthode des stries. Les boites ont ensuite été incubées à une température de 37°C pendant 24 heures jusqu'à ce que des colonies homogènes,

présentant la même forme, la même taille et la même couleur, soient obtenues **(Idoui et al., 2009)**.

IV.2.2. Confirmation de la pureté des souches

IV.2.2.1. Examen macroscopique

L'analyse de la morphologie et de la taille des colonies a été réalisée après ensemencement des échantillons sur gélose MRS. Cette culture a permis d'observer et de décrire les caractéristiques macroscopiques des colonies développées, notamment leur forme, leur aspect général, la nature de leurs bords, leur texture ainsi que leur teinte. La taille des colonies a également été mesurée afin de compléter cette caractérisation phénotypique **(De Man et al., 1960).**

IV.2.2.2. Examen microscopique

Après avoir réalisé une coloration de Gram, une étude microscopique des souches lactiques a été effectuée. Cette étude a été menée en examinant un frottis bactérien préparé à partir de colonies cultivées en pure culture.

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode standard. Un frottis bactérien a d'abord été préparé sur une lame propre, puis fixé à la flamme. La préparation a ensuite été recouverte de violet de gentiane et laissée en contact pendant 1 minute. Après rinçage, la lame a été immergée dans la solution de lugol pendant 1 minute afin de fixer le colorant. La lame a de nouveau été rincée à l'eau, puis décolorée par un passage rapide à l'alcool, suivi d'un rinçage immédiat à l'eau. La contre-coloration a été effectuée à l'aide de la fushine, laissée agir pendant 30 secondes, puis abondamment rincée à l'eau. La lame a été séchée à l'air ou au-dessus de la flamme d'un bec bunsen. Enfin, l'observation a été réalisée au microscope optique à l'objectif à immersion (×100) après dépôt d'une goutte d'huile à immersion au centre de la préparation **(Cappuccino et Sherman., 2011)**.

IV.2.3. Reconstitution du probiotique locale

La reconstitution du probiotique a été réalisée à partir d'un mélange de cinq souches lactiques. Pour ce faire, 1 mL de chaque souche, préalablement cultivée dans du bouillon MRS, a été prélevé et regroupé dans un même tube stérile, constituant ainsi un volume total de 5 mL. Ce mélange a ensuite été incubé à 37°C pendant 24 heures afin de favoriser la cohabitation et la croissance des différentes souches. À l'issue de cette incubation, une reculture a été effectuée en ensemençant le mélange dans un nouveau bouillon MRS frais, puis incubé à nouveau dans les mêmes conditions pendant 24 heures. Cette étape de reculture vise à homogénéiser la population bactérienne et à obtenir une culture stable et équilibrée des cinq souches lactiques **(Mathipa et Thantsha., 2015).**

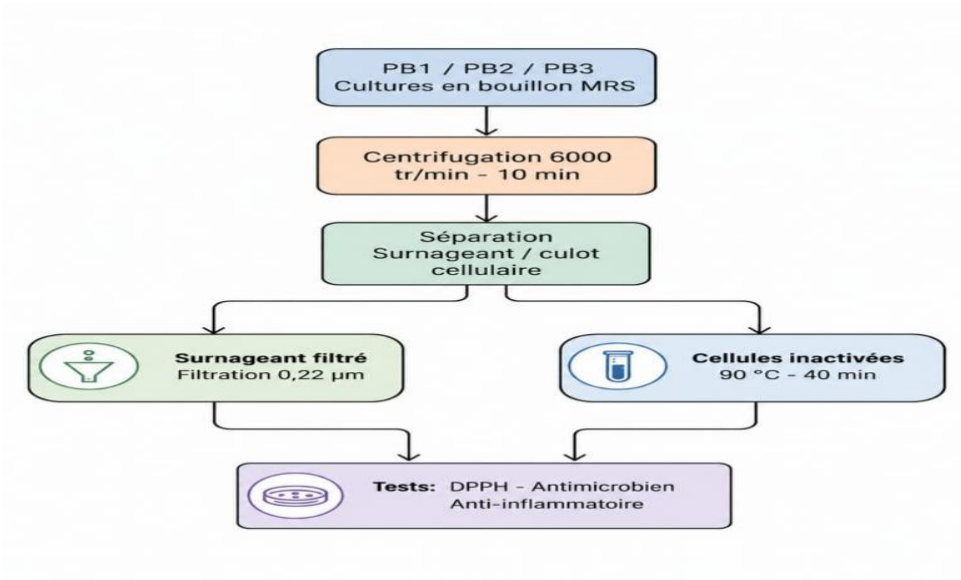
IV.2.4. Mise en culture et vérification des probiotiques commerciaux

Les souches probiotiques commerciales, désignées respectivement Ultrabiotique et Suprabiotique, ont été cultivées dans du bouillon MRS. Après ensemencement, les cultures ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. À l'issue de cette incubation, un repiquage a été réalisé par ensemencement en stries sur gélose MRS afin d'obtenir des colonies isolées. Les boîtes de Pétri ont été incubées dans les mêmes conditions pendant 24 à 48 heures. Par la suite, une coloration de Gram a été effectuée sur les colonies obtenues afin de vérifier la pureté et la morphologie des souches **(Cappuccino et Sherman., 2011)**.

IV.2.5. Préparation des fractions postbiotiques

Les préparations postbiotiques, désignées PB1, PB2 et PB3, ont été cultivées dans du bouillon MRS. Après incubation, les cultures ont été centrifugées à 6000 tr/min pendant 10 minutes afin de séparer le surnageant du culot cellulaire. Le surnageant a été récupéré dans des tubes stériles, puis filtré à travers des membranes de 0,22 µm afin d'éliminer toute trace de cellules résiduelles et d'obtenir une fraction enrichie en composés solubles libérés dans le milieu de culture. Cette fraction a été conservée et désignée sous le nom de surnageant filtré. Parallèlement, le culot cellulaire a été lavé avec de l'eau physiologique stérile, puis homogénéisé au vortex pour obtenir une suspension uniforme. Les cellules ainsi récupérées ont été inactivées par un traitement thermique au bain-Marie à 90°C pendant 40 minutes. Cette fraction, correspondant aux cellules inactivées, a été conservée pour les tests ultérieurs ***(Nealon et al., 2024)***.

Figure 12 : Schéma récapitulatif de préparation des fractions postbiotiques.



Parallèlement, la Figure suivante présente l'aspect macroscopique et visuel réel de nos différentes fractions (PB1, PB2 et PB3) obtenues au laboratoire après application de ce procédé, prêtes pour les tests ultérieurs d'activités biologiques.



Figure 13 : Aspect macroscopique au laboratoire des fractions postbiotiques obtenues.

IV.3. Contrôle de stérilité des postbiotiques préparés

Après traitement thermique, un contrôle de stérilité a été effectué afin de vérifier l'absence de viabilité cellulaire résiduelle. Des aliquotes de chaque préparation postbiotique ont été étalées sur gélose MRS et incubées à 37°C pendant 48 heures. L'absence de colonies observées à l'issue de l'incubation a validé l'efficacité du processus d'inactivation, confirmant ainsi que les préparations sont exemptes de toute forme viable et peuvent être utilisées en tant que postbiotiques **(Cappuccino et Sherman., 2011 ; Nealon et al., 2024).**

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* : activité antiradicalaire contre le radical DPPH

Le test DPPH repose sur la réduction d'un radical libre stable de couleur violette. En présence d'un composé capable de céder un électron ou un hydrogène, l'intensité de la coloration diminue, ce qui se traduit par une baisse de l'absorbance. Cette méthode permet d'estimer la capacité antioxydante des fractions testées.

Pour chaque fraction, 2 mL d'échantillon ont été mélangés avec 2 mL de solution de DPPH préparée dans le méthanol. Les mélanges ont été incubés à l'abri de la lumière pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées au spectrophotomètre à deux longueurs d'onde, 517 nm et 600 nm, selon la fraction analysée. Le taux de piégeage du DPPH a été calculé à l'aide de la formule suivante **(Dong et al., 2024)** :

d'inhibition = [(A témoin - A échantillon) / A témoin] x 100%.

Tableau 11 : Répartition des échantillons postbiotiques et de leurs témoins respectifs pour le test d'activité antioxydante

Fractions postbiotiques	Témoin	Échantillons		
Surnageant	MRS	PB1S	PB2S	PB3S
Cellules inactive	DPPH	PB1C	PB2C	PB3C

IV.5. Activité antimicrobienne des postbiotiques préparés

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion en puits sur milieu Mueller-Hinton **(Gajewska et al.,2025)**. Quatre souches de références et une levure ont été sélectionnées, *E. coli* ATCC25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ; *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ; *Bacillus spizizenii* ATCC6633 ; et *Candida albicans* ATCC10231. Toutes les bactéries références ont été activées et cultivées sur gélose nutritive ou en bouillon. Les colonies bactériennes ont ensuite été récoltées, remises en suspension dans de l'eau physiologique à 0,9 % et ajustées au spectrophotomètre à une concentration de 10^8 cellules/mL. En parallèle, les fractions de postbiotiques à tester ont été préparées. Un volume de 50 µl de chaque postbiotique a été placé dans des puits (6 mm), déjà perforés sur la gélose Mueller-Hinton inoculée par les souches indicatrices et solidifiée. Deux antibiotiques ont été utilisés comme témoin positif : l'amoxicilline et la doxycycline. Les boites de Pétri ont été maintenues une heure à température ambiante pour permettre la diffusion, puis incubées pendant 24h à 37°C. Après incubation, la présence de zones d'inhibition autour du puits a été mesurée **(Gajewska et al., 2025)**.

Sur le plan pratique et afin de garantir une asepsie rigoureuse indispensable à la validité de l'essai, les manipulations ont été entièrement réalisées au laboratoire autour du bec Bunsen (zone stérile), tel que cela est illustré dans la figure 13. Avant l'incubation.

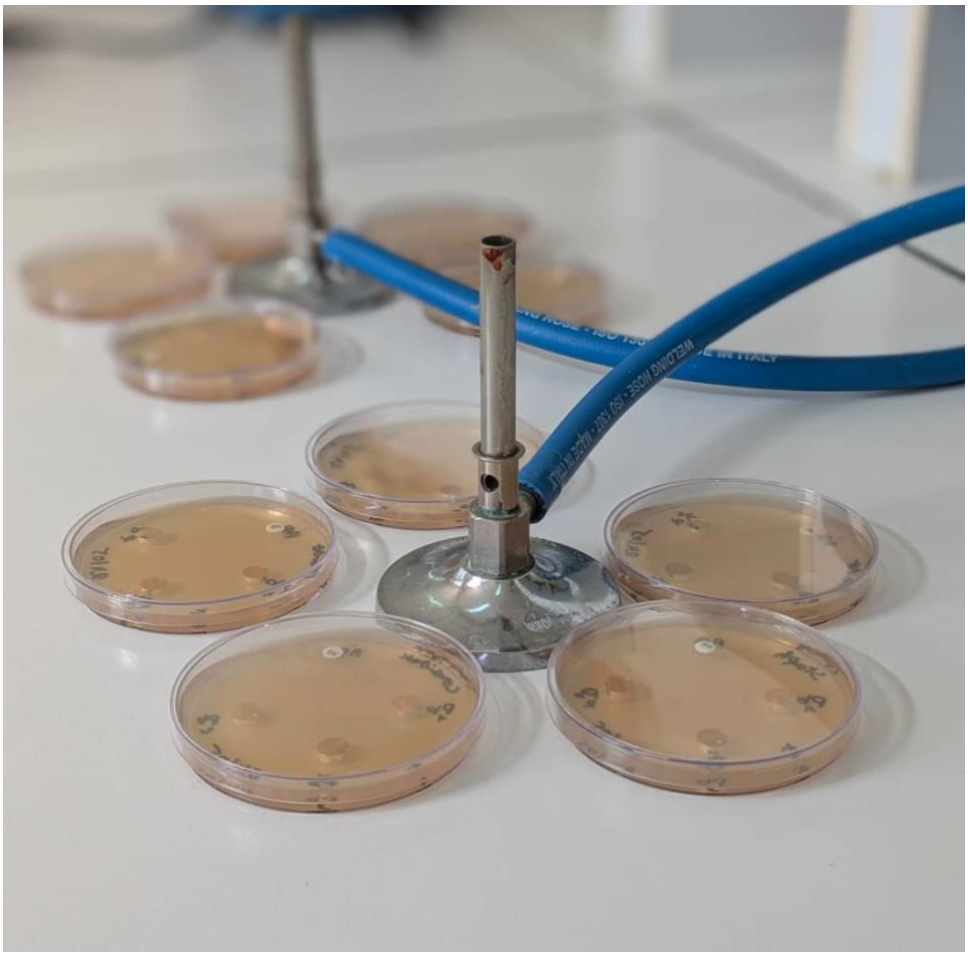


Figure 14 : Dispositif expérimental au laboratoire montrant la manipulation en zone stérile autour du bec Bunsen pour le test antimicrobien.

L'activité antimicrobienne des fractions postbiotiques a été évaluée par la méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton. Le principe méthodologique ainsi que les étapes successives de ce test allant de l'ensemencement uniforme du germe indicateur jusqu'à la saisie des valeurs des zones d'inhibition—sont explicités en détail dans le schéma de la figure 14.

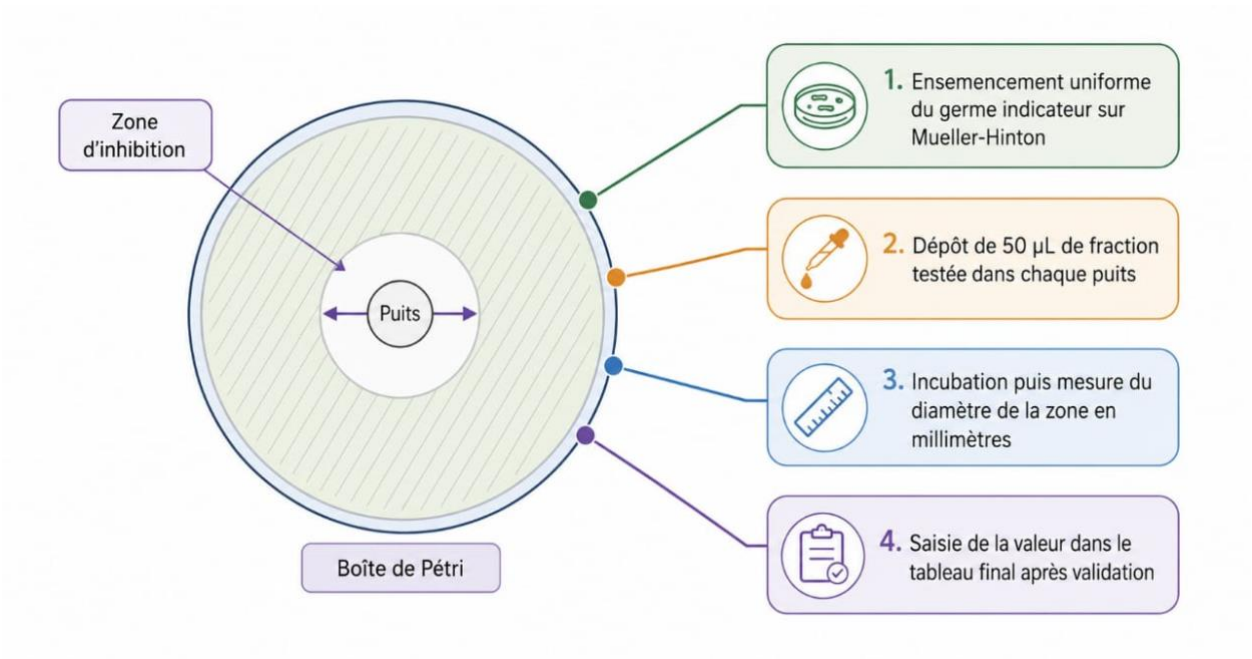


Figure 15 : Principe de mesure de l'activité antimicrobienne par diffusion en puits.

IV.6. Test *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de dénaturation thermique de l'albumine d'œuf **(Chandra et al., 2012)**. Cette méthode repose sur l'idée que certains composés peuvent limiter la dénaturation des protéines provoquée par la chaleur. Elle constitue un modèle in vitro simple permettant d'obtenir une première indication sur un éventuel potentiel anti-inflammatoire.

IV.6.1. Préparation des échantillons

Les trois souches bactériennes (PB1, PB2, PB3) ont été cultivées puis centrifugées à 6000 Tr/min pendant 10 minutes. Le surnageant a été éliminé et les culots bactériens obtenus ont été repris dans de l'eau physiologique, puis homogénéisés par agitation. Ces suspensions ont constitué les extraits bruts testés **(Mbaoji et al., 2021)**.

IV.6.2. Préparation de la solution de référence

L'aspirine, utilisée comme molécule de référence, a été préparée en dissolvant 0,2 g d'aspirine dans 20 mL d'eau distillée, sous agitation jusqu'à dissolution complète. À partir de cette solution mère, trois concentrations différentes ont été testées : 50 µg/mL, 100 µg/mL et 150 µg/mL, afin d'évaluer l'effet dose-dépendant.

Le mélange réactionnel a été préparé dans des tubes à essai en introduisant successivement 2000 µL d'extrait de souche (PB1, PB2 ou PB3), 2800 µL de tampon PBS à pH 6,4 et 200 µL d'albumine d'œuf frais.

L'aspirine a été testée dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits. Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 15-20 minutes, puis chauffés à 70 °C pendant 10 minutes afin d'induire la dénaturation **(Tlili et al., 2019).** Après refroidissement à température ambiante pendant 5-10 minutes, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 660 nm **(Chandra et al., 2012 ; Tlili et al., 2019).**

Pour chaque concentration, deux types de contrôles ont été réalisés :

· Un contrôle positif (albumine + PBS, sans échantillon ni aspirine),

· Un blanc (eau physiologique,).

Tous les essais ont été effectués en duplicata et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de la formule suivante :

% d'inhibition = [(A contrôle - A échantillon) / A contrôle] x 100.

Tableau 12 : Répartition des échantillons postbiotiques et de leurs témoins respectifs pour le test d'activité anti-inflammatoire .

Fractions postbiotiques	Témoin	Échantillons		
Surnageant	Albumine+PBS	PBS1-a	PBS2-a	PBS3-a
Cellules inactive		PBC1-a	PBC2-a	PBC3-a

Résultats et discussion

V. Résultats et discussion

V.1. Revivification, purification et confirmation des souches probiotiques

V.1.1. Examen macroscopique

La revivification et la mise en culture des 5 souches étudiées comprenant les cinq isolats locaux d'origine laitière (LC1M, LC2M, LC3M17, LC2M'et LC7 MRS) ainsi que les souches constituantes des compléments alimentaires commerciaux (PB1 et PB2) ont révélé une excellente viabilité et un développement bactérien homogène sur les milieux MRS.

En milieu liquide (bouillon MRS), l'observation visuelle après incubation a mis en évidence l'apparition d'un trouble homogène marqué dans l'ensemble des tubes, accompagné systématiquement par la formation d'une pastille ou d'un culot blanc au fond du tube. Ces modifications macroscopiques claires témoignent d'une croissance active et d'une viabilité optimale de toutes les souches testées.

Sur milieu solide (gélose MRS), le développement bactérien s'est traduit par l'apparition de colonies isolées après application de la méthode des stries. L'examen macroscopique approfondi de ces colonies montre un aspect morphologique typique et homogène pour les dix souches, caractérisé par :

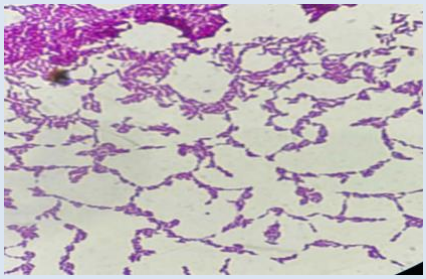
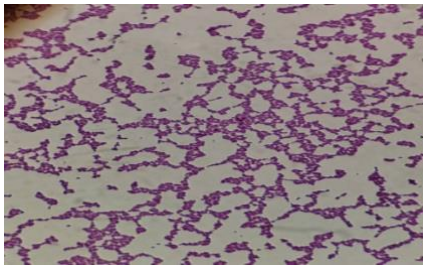
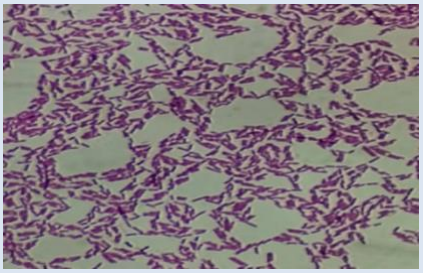
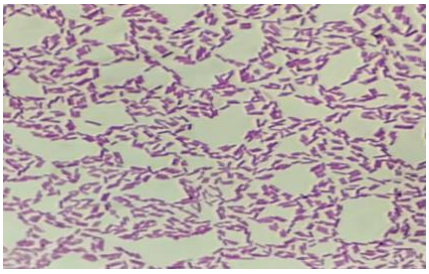
- Des colonies de petite taille (diamètre variant généralement entre 1 et 2 mm) ;
- Une forme ronde, lisse et légèrement bombée ;
- Des contours réguliers et bien définis ;
- Une couleur allant du blanc crème à l'opaque.

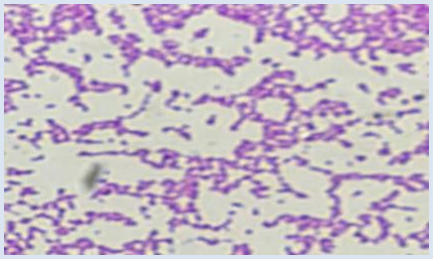
Ces caractéristiques macroscopiques et phénotypiques sont en parfaite conformité avec les critères d'identification standardisés des bactéries lactiques isolées de matrices laitières **(Bintsis, 2018 ; Salvetti et al., 2021)**. Cette uniformité morphologique et cette pureté visuelle observées sur les boîtes de Pétri confirment le succès des étapes de purification **(Cappuccino et Sherman, 2014)** et valident la qualité de notre matériel biologique initial, indispensable pour la suite des essais d'activités biologiques **(Gao et al., 2023)**.

V.1.2. Examen microscopique (Coloration de Gram)

L'étude microscopique après coloration de Gram a été menée afin de vérifier la pureté, la morphologie cellulaire ainsi que l'affinité tinctoriale des différentes souches d'intérêt. Les résultats de cette caractérisation morphologique sont regroupés dans le tableau 16 .

Tableau 13 : Résultats de la coloration de Gram des cinq souches.

Observation microscopique	Résultats
	Bacilles a Gram positive
	Bacilles a Gram positive
	Coccobacille en Chaînettes
	Coccobacille en Chaînettes

	Coccobacille en chaînettes

V.2. Préparation, aspect macroscopique et contrôle de stérilité des fractions postbiotiques

V.2.1. Revivification et confirmation macroscopique des probiotiques commerciaux

La revivification des souches destinées à la production des fractions postbiotiques a été validée avant l'étape de centrifugation. Cultivées sur milieu MRS (bouillon et gélose), les souches PB1, PB2 et PB3 ont présenté les caractères phénotypiques typiques des bactéries lactiques, confirmant leur viabilité et leur pureté avant le traitement :

En milieu liquide (bouillon MRS), un trouble homogène intense associé à un culot blanc a été observé, traduisant une activité métabolique optimale.

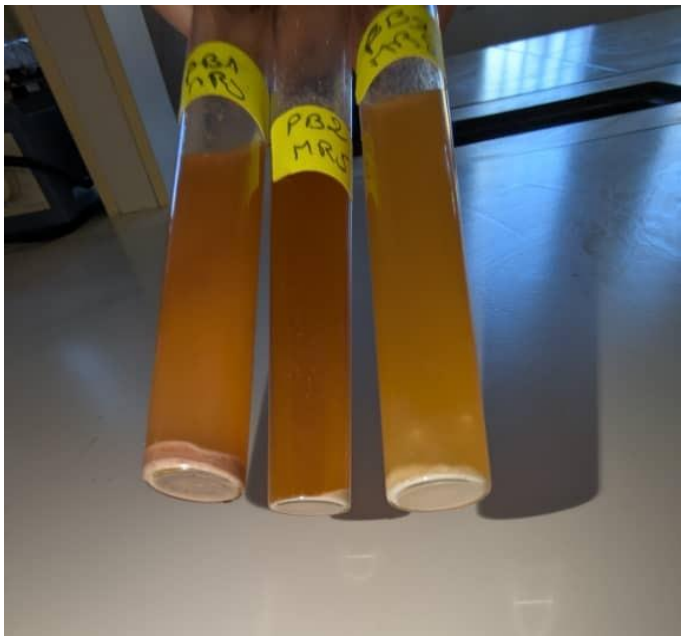


Figure 16 : Aspect macroscopique des cultures des souches étudiées sur milieu bouillon MRS.

Ces critères macroscopiques confirment que le matériel biologique de départ est viable, pur et conforme aux standards d'identification de la flore lactique, validant ainsi les étapes préliminaires essentielles d'isolement telles que préconisées par **Wang et al. (2024).**

V.2.2. Aspect macroscopique des fractions obtenues après séparation

L'examen macroscopique des fractions obtenues après cette étape de fractionnement montre :

Le sédiment cellulaire (culot) : L'obtention d'un culot bactérien compact et dense au fond du tube de centrifugation, regroupant la totalité de la biomasse cellulaire des souches mères.

Le surnageant libre de cellules (fraction postbiotique) : La récupération d'une phase liquide supérieure (PB1, PB2 et PB3) caractérisée par une limpidité absolue, avec une absence totale de débris cellulaires visibles à l'œil nu.

La coloration du surnageant varie du jaune clair au ambré, traduisant le profil normal du milieu MRS liquide après épuisement partiel des nutriments et libération des métabolites bactériens.



Figure 17 : Aspect macroscopique du culot cellulaire et du surnageant après centrifugation.

V.2.3. Aspect macroscopique des fractions isolées après séparation

Suite à l'étape de centrifugation séquentielle, les deux phases constitutives de la culture de chaque souche (PB1, PB2 et PB3) ont été séparées et transférées indépendamment dans des tubes à essais distincts, permettant la validation macroscopique de l'efficacité du fractionnement physique :

Les fractions solubles (surnageants isolés) : les tubes contenant les surnageants se présentent sous la forme d'une phase liquide homogène, caractérisée par une limpidité absolue, avec une absence totale de débris cellulaires ou de turbidité résiduelle visible à l'œil nu. La coloration de cette phase varie du jaune clair au ambré, traduisant le profil normal du milieu Bouillon MRS modifié suite à l'épuisement des nutriments et à la libération des métabolites d'intérêt.

Les fractions cellulaires (culots isolés) : Les culots bactériens sédimentés au fond des tubes dédiés apparaissent sous forme d'une biomasse compacte, dense et de coloration blanc crème à beige clair, représentant la concentration des cellules bactériennes isolées avant les étapes subséquentes.

Ce traitement garantit l'obtention de phases purifiées et prêtes pour les évaluations des activités biologiques.



Figure 18 : Aspect macroscopique des surnageants et des culots bactériens de **PB1**, **PB2** et **PB3** après isolement par centrifugation.

V.2.4. Validation de l'efficacité de l'inactivation thermique : Contrôle de stérilité

La validation de l'efficacité du traitement thermique appliqué pour l'obtention des postbiotiques a été confirmée par l'absence totale de croissance bactérienne après étalement des fractions PB1, PB2 et PB3 sur la Gélose MRS.

Après une période d'incubation de 24 à 48 heures à 37 °C, l'examen visuel des boîtes de Petri montre :

- Une absence totale de colonies bactériennes sur toute la surface de la Gélose ;
- Le maintien de l'aspect limpide et stérile du milieu solide.

Ces résultats factuels confirment la destruction complète des cellules végétatives et l'efficacité de la méthode d'inactivation thermique. Par conséquent, la stérilité des fractions postbiotiques obtenues (PB1, PB2 et PB3) est validée, garantissant que les activités biologiques étudiées ultérieurement sont exclusivement dues aux métabolites et composants cellulaires libérés.

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

V.3.1. Évaluation visuelle de l'activité antioxydante des surnageants

L'activité piégeuse de radicaux libres des fractions postbiotiques (surnageants de PB1, PB2 et PB3) a été initialement évaluée par une observation macroscopique du changement de coloration du radical libre stable DPPH.

À l'état initial, la solution de DPPH présente une coloration violette intense. Après incubation en présence des différents surnageants bactériens, un virement net de la couleur du violet au jaune clair a été observé dans tous les tubes d'essais.

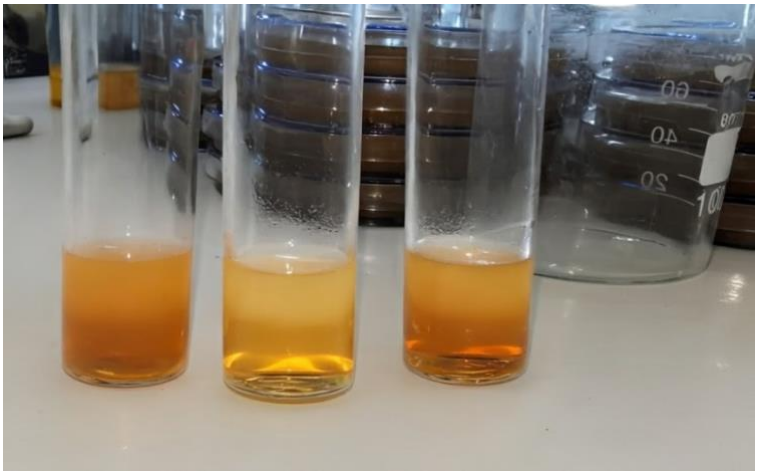


Figure 19 : Évaluation visuelle de l'activité antioxydante des surnageants par le test de décoloration du radical libre DPPH.

Ce changement de couleur (virement chromatique) constitue une preuve visuelle directe de la capacité antioxydante des postbiotiques testés. Le DPPH possède un électron célibataire responsible de sa coloration violette intense. Le passage au jaune clair atteste de la réduction du radical DPPH en sa forme stable, la diphénylpicrylhydrazine, par le biais d'un transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (donneurs d'hydrogène) provenant des métabolites actifs présents dans les surnageants des souches lactiques étudiées (**Herrera-Balandrano et al., 2021 ; Mousavi et al., 2023)**.

Le tableau 17 représente les valeurs d'absorbance brutes, mesurées aux longueurs d'onde respectives (A_{600} pour les surnageants et A_{517} pour les culots).

Tableau 14 : Valeurs des absorbances.

Fraction des postbiotiques	Temoin s	PB1S	PB2S	PB3S	Temoin C	PB1C	PB2C	PB3C
DO	1.0722	0.538	0.519	0.626	0.700	0.560	0.738	0.642

L'analyse comparative des densités optiques obtenues montre une corrélation inverse directe entre la valeur de l'absorbance et l'efficacité de l'activité antioxydante ; en effet, plus l'absorbance d'un échantillon est inférieure à celle de son témoin, plus son pouvoir de piégeage des radicaux libres est performant et prononcé :

- Fractions solubles (surnageants) : Une diminution hautement significative et optimale de l'absorbance est enregistrée pour l'ensemble des surnageants bactériens comparativement au témoin MRS (1,072). Les valeurs chutent de manière abrupte pour atteindre 0,538 pour PB1, 0,519 pour PB2 et 0,626 pour PB3. Cette baisse d'absorbance marquée constitue la preuve physique d'une excellente efficacité biologique. La souche PB2 présente ainsi le profil le plus performant, suivie par PB1 puis PB3.
- Fractions cellulaires (culots) : Pour les suspensions de cellules inactives, les variations par rapport au témoin eau physiologique (0,7) révèlent des profils nettement moins efficaces. Bien qu'une diminution modérée de l'absorbance soit observée chez PB1 (0,560) et PB3 (0,642) ce qui indique un potentiel antioxydant restreint, la souche PB2 affiche une absorbance de 0,738, supérieure à celle du témoin, ce qui confirme une absence totale d'efficacité ou de réactivité dans ces conditions expérimentales.

Pour quantifier précisément la capacité antioxydante et exprimer mathématiquement le pouvoir de piégeage induite par la baisse d'absorbance, la formule standardisée suivante a été appliquée, en utilisant les valeurs d'absorbance du tableau 17 :

% d'inhibition = [(A témoin – A échantillon) / A témoin] x 100

Tableau 15 : Évaluation de l'activité antioxydante (DPPH) des fractions bactériennes.

Échantillon	PB1S	PB2S	PB3S	PB1C	PB2C	PB3C
% D'inhibition	49.8 %	51.59 %	41.6 %	20 %	0 %	8.29 %

Conformément aux observations des absorbances brutes, les pourcentages d'inhibition confirment la supériorité de l'activité antioxydante des fractions solubles (surnageants) par rapport aux fractions cellulaires (culots). La fraction soluble de la souche PB2 enregistre le taux d'inhibition maximal avec 51,59 %, ce qui valide son fort potentiel d'application postbiotique, suivie de près par PB1 (49,81 %) et PB3 (41,60 %). À l'inverse, les structures cellulaires manifestent un pouvoir réducteur nettement plus faible, culminant à seulement 20,00 % pour PB1, s'abaissant à 8,29 % pour PB3, et s'annulant complètement (0 %) pour PB2. Cette prédominance de l'activité dans la phase soluble s'explique par le fait que les métabolites postbiotiques sécrétés (peptides, acides organiques) possèdent une plus grande biodisponibilité de groupements donneurs d'hydrogène libres que les composants structurels ou les débris membranaires liés après lyse **(Mousavi et al., 2023)**.

La représentation graphique comparative de ces taux d'inhibition pour les deux fractions 51.58 % postbiotiques (surnageants et culots) des trois souches est illustrée par la figure 19 ci-dessous :

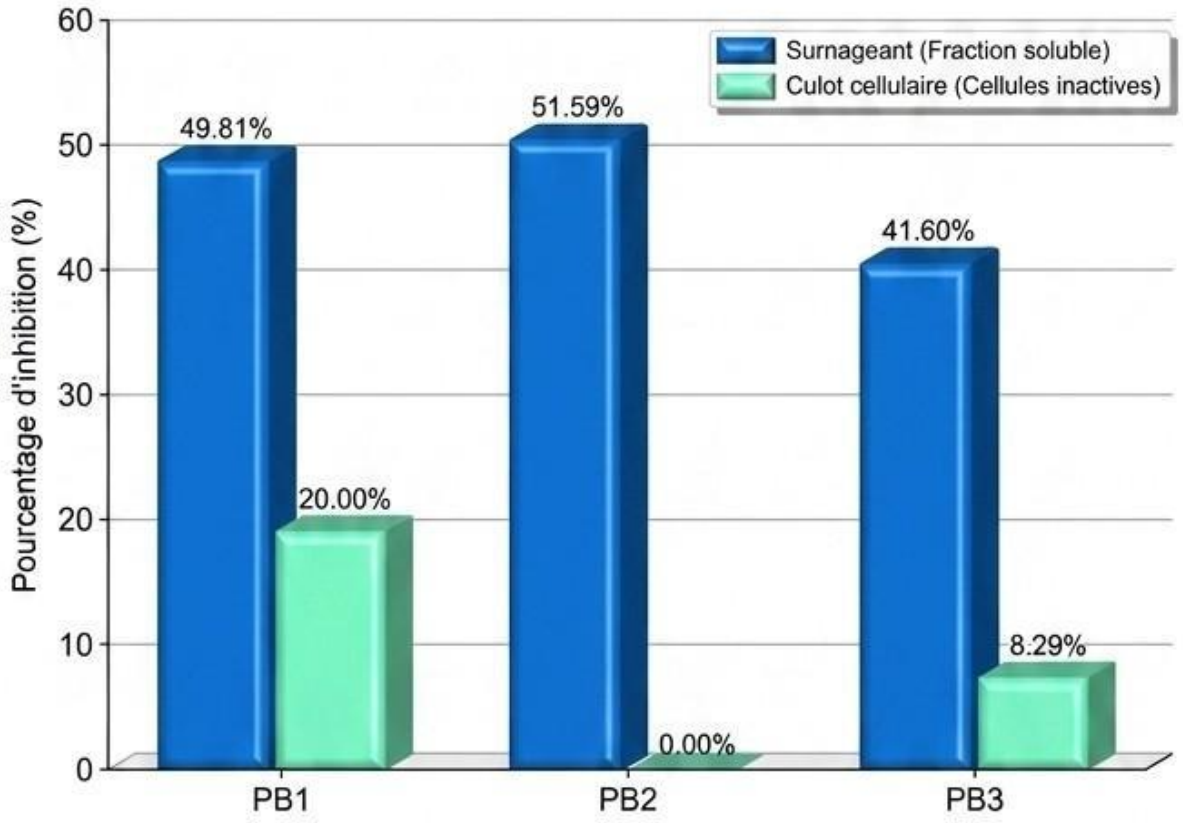


Figure 20 : Évaluation comparative du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les fractions solubles (surnageants) et cellulaires (culots) des trois souches postbiotiques.

V.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des fractions postbiotiques

Les diamètres des zones d'inhibition induits par les fractions solubles (surnageants filtrés : PB1S, PB2S, PB3S) et les fractions cellulaires (cellules inactives : PB1C, PB2C, PB3C) des trois souches bactériennes, testées sur milieu Mueller-Hinton (MH) face à cinq souches pathogènes de référence, sont regroupés dans le Tableau 18. Les antibiotiques de référence (AX : Amoxicilline et DO : Doxycycline) ont été introduits comme témoins positifs.

Tableau 16 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des fractions postbiotiques et des antibiotiques témoins vis-à-vis des souches pathogènes.

Souches	AX/DO	PB1S	PB2S	PB3S	AX/DO	PB1C	PB2C	BB3C
Bacillus spizizenii	0	0	0	0	0	0	0	0
Escherichia coli	20	0	0	0	20	0	0	0
Pseudomonas aeruginosa	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	14	20	15	13	14	0	15	0
Candida albicans	0	0	0	0	0	0	0	0

L'examen des données du tableau 18 révèle un profil d'inhibition hautement sélectif et variable selon la nature de la fraction postbiotique et la souche cible :

Sélectivité d'action vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* : seule la souche Gram-positive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 s'est révélée sensible aux traitements postbiotiques. Les fractions solubles (Surnageants) manifestent un pouvoir inhibiteur décroissant : PB1S induit la zone d'inhibition maximale avec 20 mm (surclassant le témoin antibiotique qui est à 14 mm), suivie de PB2S avec 15 mm et PB3S avec 13 mm.

Activité des fractions cellulaires (Culots) : Concernant les suspensions cellulaires inactives, seule la fraction PB2C a conservé une activité inhibitrice mesurable avec un diamètre de 15 mm contre S. aureus, tandis que PB1c et PB3c n'ont induit aucune zone d'inhibition (mm).

Résistance des autres souches cibles : Une absence totale d'inhibition (0 mm) est enregistrée vis-à-vis de *Bacillus spizizenii., Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* et de la levure *Candida albicans* pour l'ensemble des fractions testées, et ce, malgré la sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques témoins (19 mm et 20 mm).

Les aspects macroscopiques des zones d'inhibition obtenues par la méthode des puits vis-à-vis des différentes souches pathogènes testées sont illustrés par la figure suivante:

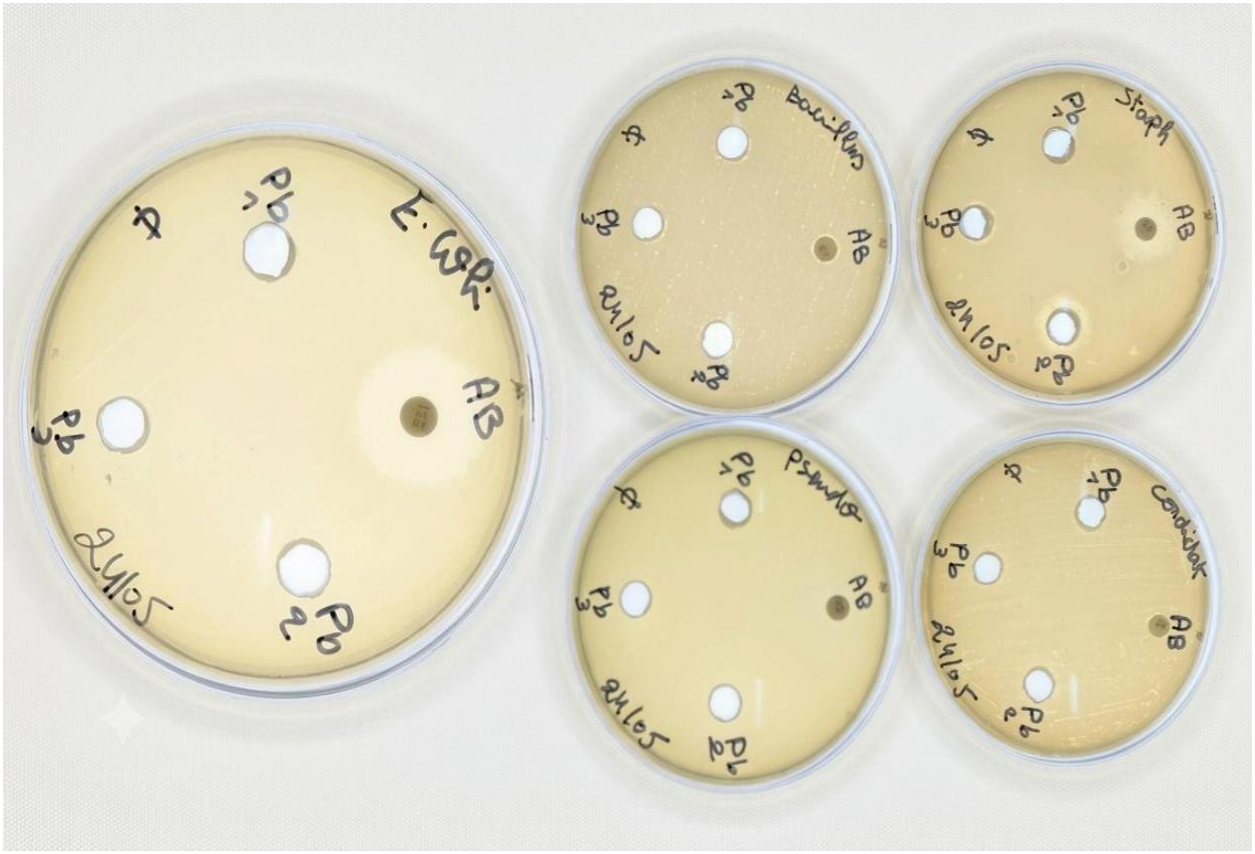


Figure 21 : Évaluation visuelle de l'activité antimicrobienne des fractions postbiotiques (surnageants) et du témoin antibiotique (AB) sur milieu MH vis-à-vis *d'Escherichia coli* (exemple d'absence d'inhibition par les postbiotiques).

Afin d'établir une synthèse comparative globale de la sensibilité des micro-organismes cibles face aux fractions solubles (surnageants) et cellulaires (culots) des trois souches (PB1, PB2, PB3), les profils d'inhibition ont été catégorisés dans le tableau 20 :

Tableau 17 : Profil comparatif de la sensibilité des souches pathogènes face aux fractions postbiotiques.

Souches pathogènes cibles	Nature du Gram / Type	Action des Surnageants (Fractions solubles)	Action des Culots (Fractions cellulaires)	Profil Global de la Souche Cible
***Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;**	Gram-positive	Forte inhibition (PB1S > PB2S > PB3S)	Inhibition sélective (PB2C uniquement)	Hautement Sensible
***Bacillus spizizenii* ATCC 6633 ;**	Gram-positive	Aucune inhibition	Aucune inhibition	Résistante
***Escherichia coli* ATCC 25922**	Gram-négative	Aucune inhibition	Aucune inhibition	Résistante
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;**	Gram-négative	Aucune inhibition	Aucune inhibition	Résistante
***Candida albicans* ATCC 10231 ;**	Levure/ Fongique	Aucune inhibition	Aucune Inhibition	Résistante

L'activité antimicrobienne sélective observée chez les fractions postbiotiques (solubles et cellulaires) des trois souches étudiées peut être corrélée à plusieurs facteurs biochimiques et structurels :

- **Supériorité des surnageants (Fractions solubles) :** La forte inhibition induite par PB1S, PB2S et PB3S s'explique par la libération active et l'accumulation de métabolites secondaires antimicrobiens dans le milieu de culture extracellulaire lors de la phase stationnaire de croissance. Ces postbiotiques solubles incluent principalement des acides organiques (acide lactique, acide acétique) qui abaissent le pH, ainsi que des

composés spécifiques tels que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène et des peptides antimicrobiens **(D'Almeida et al., 2026).**

- **Activité sélective des culots (Fractions cellulaires)** : Concernant la fraction cellulaire, seule PB2C a manifesté une inhibition. Cela suggère que chez cette souche particulière, certains composants structuraux de la paroi (tels que les acides lipotéichoïques ou les peptidoglycanes modifiés) ou des bactériocines liées à la surface cellulaire (cell-surface-associated bacteriocins) sont capables d'interagir directement avec la membrane des pathogènes, même après inactivation des cellules **(Aguilar-Toalá et al., 2018).**
- **Sensibilité sélective de *Staphylococcus aureus* (Gram-positive)** : La vulnérabilité exclusive de Staphylococcus aureus ATCC 25923 face aux fractions postbiotiques est liée à la structure de sa paroi cellulaire. Les bactéries à Gram-positif possèdent une paroi de peptidoglycane poreuse qui permet une diffusion directe et rapide des molécules inhibitrices (acides et bactériocines) vers la membrane cytoplasmique, provoquant sa dépolarisation et la lyse cellulaire **(Sabahi et al., 2023)**.
- **Résistance des souches à Gram-négatif et de *Candida albicans*** : À l'inverse, la résistance totale *d'Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida. Albicans* S'explique par leur barrière structurelle complexe. Les bactéries à Gram-négatif possèdent une membrane externe hydrophile riche en lipopolysaccharides (LPS) et pourvue de porines, ce qui empêche efficacement la perméabilité des macromolécules inhibitrices ou des composés hydrophobes. Quant à *Candida albicans*., sa paroi fongique rigide, composée de chitine et de glucanes, constitue un bouclier physique hautement sélectif contre les métabolites bactériens **(Sabahi et al., 2023).**

V.5. Test d'activité anti-inflammatoire *in vitro*

V.5.1. Évaluation de l'inhibition de la dénaturation protéique

L'évaluation du potentiel anti-inflammatoire *in vitro* des différentes fractions extraites de nos trois fractions postbiotiques (surnageants et culots cellulaires de PB1, PB2 et PB3) a été réalisée en déterminant leur capacité à inhiber la dénaturation thermique de l'albumine d'œuf. L'aspirine a été introduite dans le protocole expérimental à titre de molécule de référence (contrôle positif).

Les pourcentages d'inhibition obtenus pour chaque fraction ont été calculés par rapport à la valeur d'absorbance du témoin selon la formule suivante :

% d'inhibition = [(A témoin – A échantillon) / A témoin] x 100.

Afin de faciliter la comparaison visuelle entre l'efficacité des différentes fractions (surnageants et culots) et celle de la molécule de référence (aspirine), ces résultats ont été illustrés graphiquement par la figure 21. Cette représentation permet d'observer clairement la variation de l'activité biologique de chaque échantillon et de mettre en évidence les différences significatives en termes de capacité de stabilisation de l'albumine.

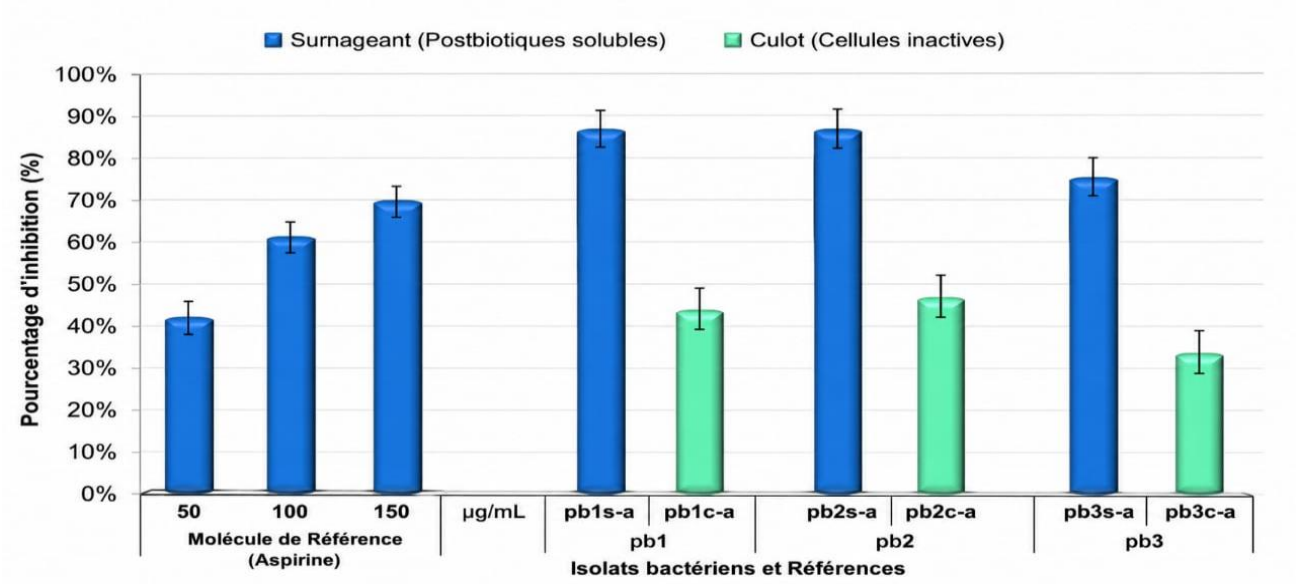


Figure 22 : Évaluation comparative du pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine d'œuf par les fractions bactériennes (Surnageants et Culots) et la gamme de référence de l'aspirine.

La dénaturation des protéines tissulaires constitue un événement biochimique clé et largement documenté lors du déclenchement de la cascade inflammatoire in vivo. Par conséquent, les substances capables de stabiliser la conformation structurale (tertiaire ou quaternaire) des protéines vis-à-vis d'un stress thermique présentent un intérêt thérapeutique majeur en tant qu'agents anti-inflammatoires potentiels.

L'analyse de nos résultats révèle que l'ensemble des fractions testées (qu'il s'agisse des surnageants ou des culots cellulaires) ainsi que la molécule standard exercent une action protectrice contre la dénaturation de l'albumine, bien que l'intensité de cette inhibition varie de façon notable.

- **Cinétique dose-dépendante de la molécule de référence**

L'introduction d'une gamme de concentrations pour l'aspirine (50, 100 et 150 {g/mL}) met en évidence une activité inhibitrice dose-dépendante. En effet, le taux d'inhibition progresse

proportionnellement avec la concentration, passant de 58,33 % à 69,70% Cette tendance confirme la validité et la sensibilité du modèle expérimental utilisé pour l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire.

• Efficacité protectrice remarquable des surnageants (Postbiotiques solubles)

Les surnageants de culture des isolats PB1 et PB2 se distinguent par les taux d'inhibition les plus performants de cette série, atteignant respectivement 71,21 % et 73,86 %. Il est particulièrement remarquable de noter que ces deux fractions acellulaires surpassent l'activité de l'aspirine, même à sa concentration la plus élevée (150 mu g/mL ; 69,70 %). L'isolat pb3 manifeste, quant à lui, une activité inhibitrice plus modérée évaluée à 48,86 %.

Ces observations indiquent que le milieu extracellulaire (surnageant) est hautement enrichi en métabolites secondaires actifs biosynthétisés et sécrétés par les bactéries lactiques au cours de leur croissance. Ces composés solubles qui incluent potentiellement des acides organiques, des peptides bioactifs, des exopoly saccharides ou des bactériocines agissent efficacement en stabilisant les liaisons hydrophobes et les ponts hydrogène de la protéine cible, prévenant son déploiement structural face à la chaleur de manière plus efficace qu'un anti-inflammatoire standard.

• Évaluation des culots et intérêt de la stratégie postbiotique

Les fractions cellulaires (culots) ont induit des taux d'inhibition de la dénaturation protéique plus homogènes mais nettement inférieurs à ceux enregistrés pour les surnageants, les valeurs oscillant étroitement entre 32,95 % et 35,98 %.

Sur le plan méthodologique, il convient de préciser que l'étape classique d'inactivation thermique par chauffage (bain-marie à 90°C) n'ayant pas été appliquée à ces fractions au laboratoire, les culots cellulaires évalués ici représentent des structures bactériennes vivantes (probiotiques) et non des débris membranaires ou des lysats cellulaires stabilisés (postbiotiques d'origine structurale).

Cet écart d'efficacité, qui varie pratiquement du simple au double en faveur des surnageants, met en évidence un aspect fondamental de notre recherche : les principaux vecteurs du potentiel anti-inflammatoire chez ces isolats sont majoritairement des biomolécules sécrétées et solubles. De plus, le maintien de la viabilité cellulaire au sein d'un milieu soumis à un stress thermique intense (70°C) génère des interactions biologiques complexes et une instabilité métabolique qui restreignent l'effet protecteur direct des cellules sur l'albumine.

En conclusion, ces données chiffrées valident et renforcent l'intérêt de privilégier l'approche postbiotique (via l'usage des surnageants) plutôt que le recours aux formes probiotiques

vivantes. Les postbiotiques s'affranchissent des contraintes inhérentes au maintien de la viabilité cellulaire tout en offrant une stabilité physico-chimique accrue et des performances anti-inflammatoires supérieures, comme l'attestent les excellents résultats obtenus pour les surnageants de nos isolats PB1 et PB2.

Conclusion

L'analyse des données scientifiques disponibles montre que les postbiotiques constituent une alternative particulièrement prometteuse grâce à leur sécurité clinique renforcée, leur stabilité technologique élevée et leur facilité d'intégration dans différentes formulations alimentaires et pharmaceutiques.

Par ailleurs, conformément au consensus de l'ISAPP, les études récentes démontrent que les postbiotiques et les dérivés microbiens exercent des effets bénéfiques significatifs sur l'homéostasie intestinale, la modulation du système immunitaire ainsi que la santé globale de l'hôte, aussi bien chez l'homme que chez l'animale.

Ce présent travail a permis de mettre en évidence le potentiel multifonctionnel des postbiotiques *in vitro* les évaluations biologiques réalisées au cours de cette étude ont permis de mettre en évidence plusieurs propriétés fonctionnelles des postbiotiques étudiés. Les essais antimicrobiens ont révélé une capacité d'inhibition vis-à-vis de différents microorganismes pathogènes, confirmant la présence de métabolites à activité antibactérienne. Les analyses antioxydantes ont également démontré une aptitude à neutraliser les radicaux libres, traduisant un potentiel protecteur contre le stress oxydatif. Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire observée suggère la capacité de ces préparations à moduler certains processus inflammatoires. L'ensemble de ces résultats met en évidence l'intérêt des postbiotiques comme source de composés bioactifs multifonctionnels pouvant être valorisés dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et biotechnologique.

Les résultats de cette étude préliminaire ouvrent la voie à de nombreuses perspectives, aussi bien fondamentales qu'appliquées:

- Caractérisation chimique approfondie: Identifier et quantifier les composés bioactifs responsables des activités observées (acides organiques, bactériocines, exopolysaccharides) par HPLC, GC-MS ou spectrométrie de masse.
- Optimisation du mode d'inactivation: Comparer différentes méthodes (chaleur, pH, ultrasons, UV) pour préserver au mieux les activités biologiques.
- Validation *in vivo*: réaliser des études sur modèles animaux pour confirmer l'efficacité en conditions physiologiques réelles (croissance, immunité, statut oxydatif).
- Essais cliniques et terrain: Envisager des études chez l'humain ou en élevage pour déterminer les doses efficaces et valider les bénéfices.
- Valorisation des souches locales: Poursuivre l'exploration de souches autochtones pour développer des postbiotiques adaptés aux contextes régionaux.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y. A., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abdel-Moneim, A. E., & Alagawany, M. (2022). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 106(4), 718–735.

Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. Trends in Food Science & Technology, 75, 105–114.

Ali, P., Khan, S., Al-Khalaifah, H., Rafiullah, Khan, R. U., Naz, S., Alhidary, I. A., & Abudabos, A. (2025). *Lactobacillus-enriched* Zophobas morio larvae impact performance, digestibility, immunity and economics in broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 109(5), 1192–1201.

Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C. R., & Sant'Ana, A. S. (2015). Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health benefits. Applied Microbiology and Biotechnology, 99(23), 9929–9940.

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. Journal of Functional Foods, 5(4), 1542–1553.

Azad, M. A. K., Sarker, M., & Wan, D. (2018). Immunomodulatory effects of probiotics on cytokine profiles. BioMed Research International, 2018, 8063647.

Balthazar, C. F., Guimarães, J. F., Coutinho, N. M., Pimentel, T. C., Ranadheera, C. S., Santillo, A., Albenzio, M., Cruz, A. G., & Sant'Ana, A. S. (2022). The future of functional food: Emerging technologies application on prebiotics, probiotics and postbiotics. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 21(3), 2560–2586.

Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to qualify microorganisms as "probiotic" in foods and dietary supplements. Frontiers in Microbiology, 11, 1662.

Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 12(5), 303–310.

Bron, P. A., Kleerebezem, M., Brummer, R. J., Cani, P. D., Mercenier, A., MacDonald, T. T., Garcia-Rodenas, C. L., & Wells, J. M. (2017). Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? British Journal of Nutrition, 117(1), 93–107.

Byakika, S., Mukisa, I. M., Byaruhanga, Y. B., & Muyanja, C. (2019). A review of criteria and methods for evaluating the probiotic potential of microorganisms. Food Science & Nutrition, 7(10), 3202–3215.

Canfora, E. E., Meex, R. C. R., Venema, K., & Blaak, E. E. (2019). Gut microbial metabolites in obesity, NAFLD and T2DM. Nature Reviews Endocrinology, 15(5), 261–273.

Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2011). Microbiology: A laboratory manual (9th ed.). Pearson/Benjamin Cummings.

Carlson, J. L., Erickson, J. M., Lloyd, B. B., & Slavin, J. L. (2018). Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. Current Developments in Nutrition, 2(3), nzy005.

Champagne, C. P., da Cruz, A. G., & Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. Current Opinion in Food Science, 22, 160–166.

Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(1), S178–S180.

Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins: a viable alternative to antibiotics? Nature Reviews Microbiology, 11(2), 95–105.

Cutting, S. M. (2011). *Bacillus* probiotics. Food Microbiology, 28(2), 214–220.

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Sepehri, Z., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. Foods, 8(3), 92.

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.

Dong, H., Ren, X., Song, Y., Zhang, J., Zhuang, H., Peng, C., Zhao, J., Shen, J., Yang, J., Zang, J., Li, D., Gupta, T. B., Guo, D., & Li, Z. (2024). Assessment of Multifunctional

Activity of a Postbiotic Preparation Derived from *Lacticaseibacillus paracasei* Postbiotic-P6. Foods, 13(15), 2326.

Duarte, M. E., Deng, Z., & Kim, S. W. (2024). Effects of dietary *Lactobacillus* postbiotics and bacitracin on the modulation of mucosa-associated microbiota and pattern recognition receptors affecting immunocompetence of jejunal mucosa in pigs challenged with enterotoxigenic F18+ Escherichia coli. Journal of Animal Science and Biotechnology, 15, 139.

Fenster, K., Freeburg, B., Hollard, C., Wong, C., Rønhave Laursen, R., & Ouwehand, A. C. (2019). The production and delivery of probiotics: A review of a practical approach. Microorganisms, 7(3), 83.

Flint, H. J., Scott, K. P., Duncan, S. H., Louis, P., & Forano, E. (2012). Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. Gut Microbes, 3(4), 289–306.

Gajewska, J., Zakrzewski, A., Byczkowska-Rostkowska, Z., & Czaplicki, S. (2025). Comparative Evaluation of Postbiotic Preparation Methods for Antibacterial Activity in Fresh Cheese Applications. Foods, 15(1), 6.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 14(8), 491–502.

Hao, R., Liu, Q., Wang, L., Jian, W., Cheng, Y., Zhang, Q., Hayer, K., Kamarudin Raja Idris, R., Zhang, Y., Lu, H., & Tu, Z. (2023). Anti-inflammatory effect of *Lactiplantibacillus plantarum* T1 cell-free supernatants through suppression of oxidative stress and NF-κB- and MAPK-signaling pathways. Applied and Environmental Microbiology, 89(10), e0060823.

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

Hong, H. A., Duc, L. H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiology Reviews, 29(4), 813–835.

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., & Karam, N.-E. (2009). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. Grasas y Aceites, 60(2), 177–183.

IPA. (2017). Guidelines for the identification of probiotic microorganisms. International Probiotics Association.

Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., & Fakiri, E. M. (2013). Health benefits of probiotics: A review. ISRN Nutrition, 2013, 481651.

Kelesidis, T., & Pothoulakis, C. (2012). Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. Therapeutic Advances in Gastroenterology, 5(2), 111–125.

Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. Cell, 165(6), 1332–1345.

Lam, K. L., & Cheung, P. C. K. (2013). Non-digestible long chain beta-glucans as novel prebiotics. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2(1), 45–64.

Lazar, V., Ditu, L. M., Pircalabioru, G. G., Gheorghe, I., Curutiu, C., Holban, A. M., Picu, A., Petcu, L., & Chifiriuc, M. C. (2020). Gut microbiota and metabolic diseases: A comprehensive review. Microorganisms, 8(7), 1048.

Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2008). Genes and molecules of *lactobacilli* supporting probiotic action. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 72(4), 728–764.

Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: Comparison with commensals and pathogens. Nature Reviews Microbiology, 8(3), 171–184.

Li, H.-Y., Zhou, D.-D., Gan, R.-Y., Huang, S.-Y., Zhao, C.-N., Shang, A., Xu, X.-Y., & Li, H.-B. (2021). Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: A narrative review. Nutrients, 13(9), 3211.

Liu, X., Zhang, Y., & Wang, J. (2023). Functional foods enriched with postbiotics: Challenges and opportunities. Trends in Food Science & Technology, 131, 112–125.

Lopez-Siles, M., Duncan, S. H., Garcia-Gil, L. J., & Martinez-Medina, M. (2017). *Faecalibacterium prausnitzii*: From microbiology to diagnostics and prognostics. ISME Journal, 11(4), 841–852.

Lovegrove, A., Edwards, C. H., De Noni, I., Patel, H., El, S. N., Grassby, T., Zielke, C., Ulmius, M., Nilsson, L., Butterworth, P. J., Ellis, P. R., & Shewry, P. R. (2017). Role of polysaccharides in food, digestion, and health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(2), 237–253.

Mahfuz, S., Song, H., & Liu, Z. (2023). Postbiotics as alternative growth promoters in poultry production. Journal of Applied Poultry Research, 32(3), 100345.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. Current Opinion in Biotechnology, 44, 94–102.

Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., Cotter, P. D., De Vuyst, L., Hill, C., Holzapfel, W., Lebeer, S., Merenstein, D., Reid, G., Wolfe, B. E., & Hutkins, R. (2021). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 18(3), 196–208.

Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. Nutrients, 9(9), 1021.

Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. Gut Pathogens, 10, 21.

Mathipa, M. G., & Thantsha, M. S. (2015). Cocktails of probiotics pre-adapted to multiple stress factors are more robust under simulated gastrointestinal conditions than their parental counterparts and exhibit enhanced antagonistic capabilities against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Gut Pathogens, 7, Article 5.

McFarland, L. V. (2010). Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. World Journal of Gastroenterology, 16(18), 2202–2222.

McFarland, L. V., Evans, C. T., & Goldstein, E. J. C. (2018). Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: A systematic review and meta-analysis. Frontiers in Medicine, 5, 124.

Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., Ficca, A. G., & Ruzzi, M. (2019). Health-promoting components in fermented foods: An up-to-date systematic review. Nutrients, 11(5), 1189.

Metchnikoff, E. (1907). The prolongation of life: Optimistic studies. G. P. Putnam's Sons.

Mishra, N., Garg, A., Ashique, S., & Bhatt, S. (2024). Potential of postbiotics for the treatment of metabolic disorders. Drug Discovery Today, 29(4), 103921.

Moreira, S. (2025). Postbiotics: Mechanisms of action and regulatory perspectives. Acta Portuguesa de Nutrição, 41, 46–53.

Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. Gut Microbes, 7(3), 189–200.

Moshfegh, A. J., Friday, J. E., Goldman, J. P., & Ahuja, J. K. (2008). Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. Journal of Nutrition, 138(7), 1400S–1404S.

Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., & Yadav, H. (2021). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. Microbial Cell Factories, 20(1), 168.

Nealon, N. J., Worcester, C. R., Boyer, S. M., Haberecht, H. B., & Ryan, E. P. (2024). Metabolite profiling and bioactivity guided fractionation of *Lactobacillaceae* and rice bran postbiotics for antimicrobial-resistant *Salmonella Typhimurium* growth suppression. Frontiers in Microbiology, 15, 1362266.

O'Callaghan, A., & van Sinderen, D. (2016). *Bifidobacteria* and their role as members of the human gut microbiota. Frontiers in Microbiology, 7, 925.

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions -- A review. International Journal of Medical Microbiology, 300(1), 57–62.

Ozen, M., & Dinleyici, E. C. (2015). The history of probiotics: From Metchnikoff to modern times. Archives of Clinical Microbiology, 6(1), 1–5.

Palo, P., Kumar, S., & Singh, R. (2022). Growth promotion and feed efficiency in livestock using postbiotics: A meta-analysis. Animal Nutrition, 11, 234–245.

Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. Journal of Food Science and Technology, 52(12), 7577–7587.

Peluzio, M. C. G., Martinez, J. A., & Milagro, F. I. (2024). Postbiotics and intestinal barrier integrity: Mechanistic insights. Nutrients, 16(2), 289.

Piqué, N., Berlanga, M., & Miñana-Galbis, D. (2024). Health benefits of postbiotics: From gut to systemic effects. Microorganisms, 12(1), 89.

Plaza-Díaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Vilchez-Padial, L. M., & Gil, A. (2019). Evidence of the anti-inflammatory effects of probiotics and synbiotics in intestinal chronic diseases. Nutrients, 9(6), 555.

Prasad, S., Patel, B., Kumar, P., & Lall, R. (2025). Postbiotics: Multifunctional microbial products transforming animal health and performance. Veterinary Sciences, 12(12), 1191.

Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., & Adams, M. C. (2017). Importance of food in probiotic efficacy. Food Research International, 100(1), 12–24.

Rastall, R. A., & Gibson, G. R. (2015). Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. Current Opinion in Biotechnology, 32, 42–46.

Rastogi, S., & Singh, A. (2022). Gut microbiome and human health: Exploring the role of Lactobacillus in maintaining intestinal homeostasis. Frontiers in Microbiology, 13, 867543.

Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. Frontiers in Microbiology, 9, 1785.

Rezene, A., Tedla, M., & Girmay, T. (2022). Traditional fermented foods and beverages as sources of probiotics. Journal of Food Quality, 2022, 1–12.

Riaz, R., & Nouman, H. M. (2025). A meta-analysis on the effects of postbiotics on growth performance and gut morphology in broiler chickens. Probiotics and Antimicrobial Proteins.

Roberfroid, M. B. (1995). The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. Journal of Nutrition, 125(11), 2828–2834.

Roberfroid, M. B. (2007). Inulin-type fructans: Functional food ingredients. Journal of Nutrition, 137(11), 2493S–2502S.

Roque, F., Raffi, P., Oliveira, R., & Caparroz, M. (2025). Postbiotics: An alternative for improving health and performance of poultry production. Microorganisms, 13(7), 1472.

Sabahi, S., et al. (2023). Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63(28), 9450–9465.

Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 18(9), 649–667.

Sanders, M. E., Akkermans, L. M. A., Haller, D., Hammerman, C., Heimbach, J. T., Hörmannsperger, G., & Huys, G. (2010). Safety assessment of probiotics for human use. Gut Microbes, 1(3), 164–185.

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Ouwehand, A. C., Reid, G., Salminen, S., & Vinderola, G. (2021). Probiotic use in at-risk populations. Journal of the American Medical Association, 325(16), 1661–1662.

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: From biology to the clinic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 16(10), 605–616.

Scarpellini, E., Basilisco, G., & Lacedonia, G. (2021). Postbiotics: A new frontier for human health. Nutrients, 13(12), 4386.

Scarpellini, E., Rinninella, E., & Gasbarrini, A. (2023). Postbiotics and digestive health: A clinical update. Journal of Clinical Gastroenterology, 57(5), 456–468.

Scott, K. P., Gratz, S. W., Sheridan, P. O., Flint, H. J., & Duncan, S. H. (2013). The influence of diet on the gut microbiota. Pharmacological Research, 69(1), 52–60.

Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. Nutrients, 5(4), 1417–1435.

Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P. S., Spier, M. R., Medeiros, A. B. P., Yamaguishi, C. T., Lindner, J. D. D., Pandey, A., & Thomaz-Soccol, V. (2010). The potential of probiotics: A review. Food Technology and Biotechnology, 48(4), 413–434.

Sommer, F., & Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota --- Masters of host development and physiology. Nature Reviews Microbiology, 11(4), 227–238.

Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: A long debate. Frontiers in Immunology, 11, 579858.

Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 17(11), 687–701.

Tamang, J. P., Cotter, P. D., Endo, A., Han, N. S., Kort, R., Liu, S. Q., Mayo, B., Westerik, N., & Hutkins, R. (2020). Fermented foods in a global age: East meets West. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(1), 184–217.

Tan, L., Zhang, W., & Chen, H. (2024). Immunomodulatory properties of postbiotics: Mechanisms and therapeutic potential. Cytokine & Growth Factor Reviews, 75, 45–58.

Tariq, H., Ahmed, S., & Khan, M. (2024). Postbiotics as feed additives for sustainable livestock production. Journal of Animal Science and Biotechnology, 15(1), 34.

Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., Gao, C., & Ran, C. (2020). Paraprobiotics and postbiotics of probiotic *Lactobacilli,* their positive effects on the host and action mechanisms: A review. Frontiers in Nutrition, 7, 570344.

Thierry, A., Falentin, H., & Deutsch, S. M. (2011). *Propionibacterium freudenreichii*: A beneficial bacterium for human health. International Dairy Journal, 21(9), 637–647.

Thorakkattu, P., Khanashyam, A. C., Shah, K., Babu, K. S., Mundanat, A. S., Deliephan, A., ... & Nirmal, N. P. (2022). Postbiotics: Current trends in food and pharmaceutical industry. Foods, 11(19), 3094.

Tlili, H., Hanen, N., Ben Arfa, A., Neffati, M., Boubakri, A., Buonocore, D., Dossena, M., Verri, M., & Doria, E. (2019). Biochemical profile and in vitro biological activities of extracts from seven folk medicinal plants growing wild in southern Tunisia. PLOS ONE, 14(9), e0213049.

Topping, D. L., & Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiological Reviews, 81(3), 1031–1064.

Upadhyaya, S. (2023). Probiotics and prebiotics: Current trends and future perspectives. Journal of Functional Foods, 100, 105378.

Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E., & Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. BMJ, 361, k2179.

Vinderola, G., Sanders, M. E., & Salminen, S. (2022). The concept of postbiotics. Foods, 11(8), 1077.

Wang, J., Zhang, P., Chen, S., Duan, H., Xie, L., & Yu, J. (2022). Microbiota and gut health: Promising prospects for clinical trials from bench to bedside. Gut Microbes, 14(1), 2290052.

Wang, X., et al. (2024). Isolation, identification, and evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from traditional fermented products. Frontiers in Microbiology, 15, 134567.

Wegh, C. A. M., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. International Journal of Molecular Sciences, 20(19), 4673.

Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2020). Probiotic: Conceptualization from a new approach. Current Opinion in Food Science, 32, 103–109.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70(4), 2782–2858.

Zmora, N., Suez, J., & Elinav, E. (2019). You are what you eat: Diet, health and the gut microbiota. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 16(1), 35–56.

Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics---A step beyond pre- and probiotics. Nutrients, 12(8), 2189.