



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

HADIOUCHE Nassima & KERFOUF Yasmine

Thème

**Produits alimentaires symbiotiques : cas d'association entre la
gamme d'*Acacia arabica* (prébiotique) et les bactéries
lactobacilles (probiotique)**

Soutenu le : 02/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme YALAOUI-GUELLAL Drifa</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BOUHENNI Hamida</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. DJOUAHRA DJAMILA</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promotrice de mémoire :

M^{me} BOUHENNI Hamida pour la qualité de son encadrement apportée, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions tout au long de ce travail. Nous voulons vraiment vous remercier car nous avons eu beaucoup de chance de vous avoir comme directrice de mémoire.

Nous adressons également nos remerciements ;

M^{me} GUELLAL Drifa, la Présidente du jury et nous voudront également remercier **M^{me} DJOUAHRA Djamila** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nous tenons à remercier tous les professeurs et les enseignants de l'Université Akli Mohand Oulhadj – **Bouira**, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre qui nous ont enseigné au cours de nos cinq années d'apprentissage.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à :

*Ceux qui, quel que soient les termes embrassés je n'arriverais jamais à leur exprimer mon respect et mon amour sincère, Pour son aide et soutien et sa patience, et pour le gout à l'effort qu'il a suscité en moi, de par sa rigueur. Cette aventure n'aurait certainement pas existé sans vous !..... **Mon cher père***

*A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et de ses dévouements. Source de ma vie, d'amour et d'affection, En témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse...que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.**Ma chère mère***

*A mes chers frères **Zohir** et **Islam** et à mon adorable petite sœur **Aya** pour leur amour et leurs encouragements...Que Dieu vous protège et vous offre de la chance et du bonheur.*

A ma grande mère et mon grand-père...Que dieu leur donne une longue vie.

*A toute ma famille **HADIOUCHE** et ma chère famille maternelle **BOUAUD** chaque un de son nom.*

*A mes chères amies **Hanane** et **Imane**... En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.*

*A ma chère **Ryma** au nom de l'amitié qui nous réunit, et au nom de nos souvenirs inoubliables.*

*A mon binôme **Kerfouf Yasmine** pour tous les moments et les souvenirs inoubliables durant cette expérience.*

Hadiouche Nassima

Dédicace

Ma reconnaissance se tourne en premier lieu vers Dieu le tout puissant.

Je dédie par la suite ce modeste travail :

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur.
Celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

A toi Mon père.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur.

A toi Ma mère.

*À mes chers frères Youcef et Lyes, Radouane, et à ma sœurs Siham et son partenaire Kamal,
Pour qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux, que Dieu vous garde pour moi.*

*A mon cher neveu : wail et mes nièces Bouchra, maya ont rendu ma vie plus belle, très heureuse
elhamdolillah. Que Dieu vous protège et prend soin de vous.*

*Amon beau frères Nassim et sa Famille, Je vous souhaite une vie pleine de joie, de bonheur, de
réussite.*

A Mon cher partenaire Lotfi

*L'homme le plus merveilleux de ma vie la source de ma joie, Mercie pour tous ; ton amour, ton
soutien*

A ma belle-mère, et mon beau-père,

Qui sont les plus chères pour moi, je leur souhaite une longue vie pleine de bonheur et de paix.

À toute ma famille parentale Kerfouf et maternelle Derbal, chacun par son nom

A mon binôme HADIOUCHE Nassima pour cette expérience inoubliable avec toi

Kerfouf Yasmine

Table des matières

I. SYSTEME DIGESTIF HUMAIN	5
I.1. INTESTIN GRELE	5
I.2. GROS INTESTIN.....	5
II. FLORE INTESTINALE	6
II.1. DEFINITION DE LA FLORE INTESTINALE	6
II.2. REPARTITION DE LA FLORE INTESTINALE	6
II.3. COMPOSITION DE LA FLORE INTESTINALE	7
II.4. FACTEURS MAJEURS INFLUENÇANT LE MICROBIOTE INTESTINAL	8
II.5. PRINCIPALES FONCTIONS DE LA MICROFLORE INTESTINALE.....	8
III. METHODES D'ANALYSE DE LA COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL	9
IV. DYSFONCTION DE LA FLORE INTESTINALE	10
IV.1. DEFINITION DE LA DYSBIOSE.....	10
IV.2. DYSBIOSE ET MALADIES.....	11
IV.2.1. <i>Dysbiose et maladies métaboliques</i>	11
IV.2.2. <i>Dysbiose et maladies immunitaires et inflammatoires</i>	11
V. RECONSTRUCTION DE L'EQUILIBRE INTESTINALE	12
I. PREBIOTIQUES ET LA FLORE INTESTINALE	14
I.1. DEFINITION DE PREBIOTIQUE	14
I.2. CRITERES DE SELECTION DES PREBIOTIQUES	14
I.3. CLASSES DES PREBIOTIQUES	15
I.4. MECANISMES D'ACTION ET FONCTIONS DES PREBIOTIQUES	15
I.5 LA GAMME ARABIQUE	16
1. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	16
2.CRITERES ORGANOLEPTIQUES DE LA GAMME ARABIQUE.....	20
II. PROBIOTIQUES ET FLORE INTESTINALE	21
II.1. DEFINITION DES PROBIOTIQUE	21
II.2. CRITERES DE SELECTION DES SOUCHES PROBIOTIQUES	21
II.3. CLASSES DES PROBIOTIQUES	22
II.4. PROBIOTIQUES COMMERCIALISES	22
II.5. MECANISMES D'ACTION DES PROBIOTIQUES ET LEURS EFFETS BENEFIQUES SUR LA SANTE	25
II.6. EFFET DES PROBIOTIQUES SUR CERTAINES MALADIES	26
II.6.1. MALADIES METABOLIQUES : DIABETE ET OBESITE.....	26

II.6.2. MALADIES INFLAMMATOIRES.....	26
II.6.3. MALADIES IMMUNITAIRES.....	27
III. RELATION SYMBIOTIQUE ENTRE LES PREBIOTIQUES ET LES PROBIOTIQUES.....	27
III.1. DEFINITION.....	27
III.2. MECANISMES D’ACTION.....	27
III.3. PRODUITS SYMBIOTIQUES.....	28
MATERIEL ET METHODES.....	31
I. OBJECTIF PRINCIPAL.....	31
II. TYPE ET LIEU D’ETUDE.....	31
III. POPULATION CIBLE.....	31
IV. CONDITION DU PRELEVEMENT ET DU TRANSPORT DES ECHANTILLONS.....	31
V. PREPARATION DE LA SOLUTION MERE.....	32
VI. PREPARATION DES DILUTIONS.....	32
VII. EXAMEN MACROSCOPIQUE.....	33
VIII. EXAMEN MICROSCOPIQUE.....	33
VIII.1. OBSERVATION DIRECTE DES SELLES A L’ETAT FRAIS.....	33
VIII.2. FROTTIS DES SELLES COLORE AU GRAM.....	34
IX. NUMERATION INDIRECTE DES MICROORGANISMES.....	34
2.EXTRACTION DE LA GAMME ARABIQUE.....	35
3.COMPOSITIONS CHIMIQUES.....	36
I.1. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE LA GAMME ARABIQUE.....	36
4.1 PREPARATION DES YAOURTS.....	38
4.1. LAIT DE VACHE ADDITIONNE PAR GAMME ARABIQUE.....	38
4.2. YAOURT NATURE ADDITIONNE PAR LA GAMME ARABIQUE.....	39
5.ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES PREPARATIONS.....	39
5.1. DETERMINATION DU PH.....	39
5.2. DETERMINATION DE L’ACIDITE.....	39
5.3. VISCOSITE.....	40
5.4. DETERMINATION DE LA MATIERE SECHE.....	40
I. OBJECTIFS.....	40
II. MATERIEL BIOLOGIQUE.....	41

III. ISOLEMENT ET PURIFICATION DES ISOLATS.....	42
IV. CARACTERISATION DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	42
V. STANDARDISATION DE L'INOCULUM.....	43
VI. APTITUDES PROBIOTIQUES.....	44
VI.1. RESISTANCE AUX PH GASTRIQUE.....	44
VI.2. RESISTANCE AUX SELS BILIAIRES.....	44
VI.3. TEST D'AUTO-AGREGATION.....	44
VI.4. CAPACITE D'ADHESION AUX CELLULES EPITHELIALES.....	44
VI.5. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	45
VI.6. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	45
I.1. EFFET DE LA GOMME ARABIQUE SUR LA CROISSANCE DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	45
RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	48
I. PRESENTATION DES CAS-TEMOINS.....	48
II. EXAMEN MACROSCOPIQUE DES SELLES.....	48
III. EXAMEN MICROSCOPIQUE DES SELLES.....	51
III.1. ETAT FRAIS DES SELLES.....	51
III.2. FROTTIS DES SELLES COLORE AU GRAM.....	52
IV. DENOMBREMENT DES CELLULES BACTERIENNES.....	57
IV.1. FLORE INTESTINALE ET L'AGE.....	58
IV.2. FLORE INTESTINALE ET MALADIES METABOLIQUES.....	58
IV.3. FLORE INTESTINALE ET MALADIES INFECTIEUSES.....	60
IV.4. FLORE INTESTINALE ET MALADIES AUTO-IMMUNITAIRES.....	61
IV.5. FLORE INTESTINALE ET MALADIES INFLAMMATOIRES.....	61
I. ANALYSE PHYSICOCHIMIQUE DE LA GAMME ARABIQUE.....	62
II. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA GAMME ARABIQUE.....	63
III. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE LA GAMME ARABIQUE.....	66
I. LAIT DE VACHE CRU.....	68
I.1. ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES.....	68
I.2. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES.....	69
II. YAOURT NATURE.....	70
II.1. ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES.....	70

II.2. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE.....	71
I. COMPARAISON ENTRE LE LAIT DE VACHE CRU ET LE YAOURT.....	71
I. CARACTERISATION DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	72
I.1. CRITERES MORPHOLOGIQUES	72
I.1.1. ASPECT MACROSCOPIQUE DES COLONIES.....	72
VI.1.1. ASPECT MICROSCOPIQUE DES LACTOBACILLES.....	73
VII. CARACTERISATIONS BIOCHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DES LACTOBACILLES.....	74
VIII. APTITUDES PROBIOTIQUES.....	78
VIII.1. RESISTANCE AUX PH GASTRIQUE.....	78
VIII.2. RESISTANCE AUX SELS BILIAIRES.....	79
VIII.3. TEST D'AUTO-AGREGATION.....	80
VIII.4. Capacité d'adhésion aux cellules épithéliales.....	80
VIII.5. Activité antibactérienne des lacto-bactéries isolées.....	81
VIII.6. Sensibilité aux antibiotiques des lacto-bactéries isolées.....	81
VIII.7. EFFET DE LA GOMME ARABIQUE SUR LA CROISSANCE DES LACTOBACILLES ISOLEES.....	83
I. EVOLUTION DE PH DE LAIT DE VACHE ET DE YAOURT ADDITIONNE PAR LA GA.....	83
II. EVOLUTION DE L'ACIDITE DU LAIT FERMENTE ET DU YAOURT ADDITIONNE PAR LA GA.....	84
CONCLUSION GENERALE.....	88
REFERENCES ET BIBLIOGRAPHIE	91

Liste des abréviations

A	<i>Acacia</i>
°D	Degrés Dornic
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGCC	Acides Gras à Chaines Courtes
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ARN	Acide ribonucléique
ATCC	<i>American Type Center Collection</i>
C	Masse volumique
CCR	Cancer colorectal
DI	Diamètre d’Inhibition
DO	Densité Optique
DT1	Diabète type 1
E	Echantillon
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>
FAO	<i>Food and agriculture organization</i>
FeCl₃	Chlorure de fer
FOS	Fructo-oligosaccharides
GA	Gomme Arabique
GOS	Galactooligosaccharides
H₂O₂	Peroxyde d’hydrogène
HCl	Chlorure d’hydrogène
IgA	Immunoglobulines A
IMO	Isomaltooligosaccharides
K	Densité
LB	Lactobacillus
LPS	Lipopolysaccharide
MRS	<i>Man, Rogosa, Sharpe</i>
MS	Matière sèche
NaCl	Chlorure de potassium
NaOH	Hydroxyde de sodium
OGA	<i>Oxytétracycline glucose-Yeast Extract Agar</i>
OMS	Organisation mondiale de la santé
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
SCFA	<i>Short-Chain-Fatty-Acid</i>
Th1 et Th2	Lymphocytes T helper 1 et 2
TSI	<i>Triple sugar iron</i>
UFC	Unité formant colonie
VF	Viande de foie
VRBL	<i>Violet Red Bille Lactose Agar</i>
XOS	Xylooligosaccharides

Liste des figures

Figure. 1 : Structure de l'intestine grêle (Tanguy, 2018).	5
Figure. 2 : Microbiote dans les différents segments du tube digestif (Nicolas 2016).	6
Figure. 3 : Méthodes d'analyses du microbiote intestinal (Er-Razine 2019; Nicolas 2016).	10
Figure. 4 : Critères de sélection des prébiotiques (Markowiak et Ślizewska 2017).	15
Figure. 5 : Classification prébiotique (GOS, galactooligosaccharides ; FOS, fructooligosaccharides ; XOS, xylooligosaccharides, IMO, isomaltooligosaccharides; AGPI, acides gras polyinsaturés)	15
Figure. 6 : Rôle des prébiotiques dans la régulation du microbiote (Grethel Teresa Choque Delgado et Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro 2018).	16
Figure. 7 : Quelques exemples des produits pharmaceutiques.	23
Figure. 8 : Principaux bienfaits des probiotiques (Nagpal et al. 2012).	26
Figure. 9 : Mécanismes d'action des symbiotiques et leurs effets (Markowiak et Ślizewska 2017).	28
Figure. 10 : Méthode de préparation des dilutions décimales.	32
Figure. 11 : Etapes de préparation de l'observation à état frais des selles.	33
Figure. 12 : Dénombrement de la flore intestinale en milieu solide.	35
Figure. 13 : Composition et aspect de la gamme arabique.	17
Figure. 14 : Diagramme de fabrication du lait fermenté enrichi par la gamme arabique.	39
Figure. 15 : Diagramme de fabrication du yaourt enrichi par la gamme arabique.	39
Figure. 16 : Viscosimètre à chute de bille (Thermo).	40
Figure. 17 : Provenance des bactéries lactiques.	41
Figure. 18 : Cellules épithéliales de poulet de chair.	41
Figure. 19 : Aspects et consistance des selles des personnes E ₅ et E ₁	49
Figure. 20 : Observation macroscopique des selles de la personne qui atteint le tuberculose	50
Figure. 21 : Observation microscopique à l'état frais des échantillons (avec ou sans lugol, GX400).	52
Figure. 22 : Observation microscopique de coloration de Gram des personnes saines avec des corpulences différentes (GX1000).	53
Figure. 23 : Observation microscopique de coloration de Gram des personnes diabétiques (GX1000).	55
Figure. 24: Observation microscopique de coloration de Gram de personne atteinte de tuberculose (GX1000).	56
Figure. 25: Observation microscopique de coloration de Gram de E ₇ et E ₁₀ (GX1000).	57
Figure. 26 : Aspects des colonies dans les différentes géloses de dénombrement.	57
Figure. 27 : Représentation graphiques de certains composants de la matière fécales des personnes obèse et /ou diabétiques.	60
Figure. 28: Critères organoleptiques de la gamme arabique.	19
Figure. 29 : Gomme arabique d'origine de Soudan et les solutions préparées.	63
Figure. 30 : Composition mono-saccharidique de la gomme arabique de la GA (Tebib 2015).	66
Figure. 31: Résultats d'activité antibactérienne de la gamme arabique sur certaines souches.	66
Figure. 32 : Boîte d'activité antibactérienne de la GA d'origine d'El Oued sur <i>E. coli-selles</i>	67
Figure. 33 : Résultat des tests de qualité du lait de vache cru et du yaourt	72
Figure. 34 :Résultats d'ensemencement des souches lactiques sur le milieu MRS.	73
Figure. 35 : Résultats de l'observation à l'état frais.	73
Figure. 36: Résultats de la coloration de Gram.	73

Figure. 37 : <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (Monteiro et al., 2019).	74
Figure. 38 : Croissance des trois souches lactiques à 37°C.....	75
Figure. 39 : Croissance des trois souches lactiques au milieu hyper-salé.	76
Figure. 40: Pouvoir coagulant	76
Figure. 41: Production d'acétone.....	77
Figure. 42 : Réduction de bleu de méthylène.	77
Figure. 43 : Test de type de fermentation.....	78
Figure. 44 : Test de fermentation des sucres.	78
Figure. 45 : Survie des lactobacilles à différents niveaux de pH	79
Figure. 46 : Tolérance des lactobacilles aux sels biliaires 1%	79
Figure. 47 : Pourcentages d'auto-agrégation des lactobacilles.	80
Figure. 48 : Résultats d'adhésion des lactobacilles aux cellules épithéliales.	81
Figure. 49 : Tolérance des lactobacilles à différents niveaux de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).. Erreur ! Signet non défini.	
Figure. 50 : Activité antagoniste de bactéries LB sur les bactéries pathogènes.	81
Figure. 51: Résultat d'antibiogramme des trois souches lactiques.....	82
Figure 52 : Croissance des LB en présence de la GA.	83
Figure. 53: Courbe d'évolution de pH de lait de vache et du yaourt additionné par la GA au cours de la période de post acidification.....	84
Figure. 54 : Courbe d'évolution de l'acidité du lait et du yaourt nature additionné par la gamme arabique au cours de la période de post acidification.	86

Liste des tableaux

Tableau. 1 : Abondance bactérienne au niveau du phylum du microbiote fécal humain.	7
Tableau. 2: Paramètre de choix des probiotiques (Markowiak et Śliżewska 2017).	21
Tableau. 3 : Groupes des micro-organismes probiotiques (Markowiak et Śliżewska 2017).....	22
Tableau. 4 : Quelques produits probiotiques disponibles en pharmacie à l’usage des Algériens.	24
Tableau. 5 : Critères d’inclusion et d’exclusion pour la pré-étude.....	31
Tableau. 6 : Milieux et techniques d’ensemencement.	34
Tableau. 7 : Classification taxonomique de la plante <i>Acacia arabic</i>	16
Tableau. 8 : Propriétés biologiques et physiologique de la gamme arabique.....	18
Tableau. 9 : Gomme arabique utilisée dans notre étude.....	19
Tableau. 10 : Tests de criblage chimique de l’extrait aqueux de la gamme arabique (Azzi 2013; Benbott et al. 2021)	36
Tableau. 11 : Tests de qualité de lait de vache et de yaourt.	38
Tableau. 12 : Origine des souches pathogènes.....	41
Tableau. 13 : Tests physiologiques.	42
Tableau.14 : Tests biochimique ; les enzymes bactériennes.	43
Tableau.15 : Tests biochimique ; les métabolites.....	43
Tableau. 16 : Paramètres de la population de pré-étude microbiologique.	48
Tableau. 17 : Résultats de l’observation macroscopique des échantillons recueillis.	48
Tableau. 18 : Résultats de l’examen à l’état frais des échantillons.	51
Tableau. 19: Analyse de la charge et la diversité microbienne dans les selles examinées à partir de la coloration de Gram.	52
Tableau. 20 : Résultats de dénombrement de certains micro-organismes de la flore intestinale.	58
Tableau 21 : Comparaison entre la charge microbienne fécale de l’adulte et de l’adolescents.....	58
Tableau. 22 : Comparaison entre la charge microbienne fécale de la personne de poids normal et la personne obèse.	59
Tableau. 23 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d’une personne diabétique obèse et d’une autre personne diabétique en surpoids.	59
Tableau. 24 : Moyennes des résultats de dénombrement par groupe des personnes en surcharge pondéral et groupes des personne diabétiques.....	60
Tableau. 25 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d’une personne avant et après une thérapie antituberculeuse.	61
Tableau. 26 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d’une personne saine avec une autre personne touchée par une maladie auto-immune.....	61
Tableau. 27 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d’une personne saine avec une autre personne touchée par une maladie inflammatoire.	62
Tableau. 28 : Résultat de l’analyse physicochimique de la gomme arabique.	63
Tableau. 29 : Résultats de la détection chimique des substances actives.....	64
Tableau. 30 : Résultats d’activité antibactérienne de la GA d’origine d’El Oued.	68
Tableau. 31 : Résultat de l’analyse physicochimique de lait de vache.....	69

Tableau. 32: Résultats du dénombrement du lait de vache.	69
Tableau. 33: Résultat de l'analyse physicochimique de yaourt nature.	70
Tableau. 34 : Résultats de l'analyse microbiologique de yaourt nature.	71
Tableau. 35 :Examen macroscopique des lactobacilles sur milieu MRS.	72
Tableau. 36 :Résultats de l'observation microscopique des souches lactobacille.	74
Tableau. 37 :Caractères biochimique et physiologique des souches lactiques.	74
Tableau. 38 : Abréviations, charges des disques et diamètres critiques (mm) des antibiotiques utilisés.	82

Introduction générale

Introduction générale

La Microbiote intestinal est un système interdépendant dans lequel chaque composant joue un rôle crucial. Cependant, plusieurs facteurs peuvent perturber cet équilibre, tels qu'une alimentation déséquilibrée, des traitements antibiotiques, le stress, etc. Lorsque les bactéries intestinales sont altérées ou présentes en nombre insuffisant, elles ne peuvent plus remplir leurs fonctions normales. Cela conduit à un état de dysbiose, caractérisé par un déséquilibre à la fois quantitatif (en termes de nombre de bactéries) et qualitatif (en termes de fonctions métaboliques) dans l'intestin. Cet état peut avoir des conséquences néfastes et être à l'origine de diverses affections intestinales et extra intestinales, telles que les maladies inflammatoires, les maladies auto-immunes, les allergies et les infections (**Wyatt *et al.*, 1990**).

Depuis le début des années 2000, de nombreuses études se sont intéressées au microbiote et ont révélé son potentiel fondamental et son importance. Ces découvertes ont ouvert la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques, notamment l'utilisation de microorganismes comme une alternative "écologique" aux traitements conventionnels dans de nombreuses pathologies. Les probiotiques, qui sont des bactéries vivantes administrées par voie orale, ont été proposés en tant que microorganismes dotés d'un potentiel magique. Ils renforcent la flore du corps et leur présence permet notamment de lutter contre la prolifération des bactéries pathogènes. Plusieurs études cliniques ont déjà démontré l'efficacité de certains probiotiques dans le traitement de maladies systémiques et infectieuses (**Ezzariga, 2015**).

Les probiotiques peuvent être naturellement présents dans certains aliments, tels que les yaourts et les produits laitiers fermentés, ou introduits dans des compléments alimentaires ou des médicaments. Les bactéries lactiques, telles que les *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*, ainsi que les bifidobactéries, sont parmi les probiotiques les plus connus et largement utilisés dans l'industrie alimentaire, notamment dans la fabrication de yaourts et d'autres produits laitiers fermentés (**Guidelines P, 2008**). Les bactéries lactiques sont souvent utilisées pour la prévention et le traitement de la dysbiose. Elles jouent un rôle important dans la santé humaine en dominant et en équilibrant la microflore intestinale (**Akbar *et al.*, 2019**).

Les probiotiques sont capables de survivre dans le tractus digestif, la maintenance de cette viabilité au niveau intestinal fait appel à des substances polysaccharides qui sont considérées eux même comme additifs alimentaires connus sous le nom de prébiotiques (**Benguier *et al*, 2015**). Dans ce cas, la gomme arabique (GA) est considérée comme prébiotique naturel (**Al-Baadani *et al.*, 2021**) qui se compose aussi d'un polysaccharide de plusieurs types de sucres (**Al-Assaf, Phillips, et Williams., 2005**).

Les substances symbiotiques, qui réunissent les probiotiques et les prébiotiques, permettent au probiotique de survivre et d'accroître ses bienfaits pour la santé de l'hôte. En combinant les avantages des probiotiques et des prébiotiques, les symbiotiques offrent des bénéfices synergiques. Il est important de noter que les effets des symbiotiques ne sont pas universels, mais dépendent de la combinaison spécifique de probiotiques et de prébiotiques présente dans le supplément symbiotique. Ainsi, les bienfaits des symbiotiques sont liés à cette combinaison précise et peuvent varier d'un produit symbiotique à un autre (**Géraldine Favre ,2004**).

L'objectif principal de cette pré-étude est d'explorer l'utilisation d'un produit symbiotique, qui'est composé à la fois de probiotiques « lactobacilles » et de prébiotiques « gamme *Acacia Arabica* », afin de rétablir l'équilibre du microbiote intestinal et prévenir le développement de maladies potentiellement dangereuses.

Ce présent manuscrit est divisé en deux parties :

La première partie est une synthèse bibliographique. Le premier chapitre concerne quelques notions importantes sur le microbiote intestinal, et mettre sous projection le phénomène de la dysbiose intestinale. Le deuxième chapitre porte des données générales sur les prébiotiques, définition des prébiotiques, critères de leur évaluation en termes de sécurité et effets fonctionnels et technologiques, les mécanismes d'action des prébiotiques au niveau intestinal. Le troisièmes chapitre concerne les probiotique, leur définition et les critères de choix des ainsi leur mode d'action. La deuxième partie inclut le protocole expérimental qui démontre les différentes étapes de manipulation, tel que l'étude de la flore intestinale, isolement et les purifications des souches lactique (d'origine selle, yaourt, lait) ainsi qu'étude des aptitudes probiotique, étude effets de la gamme acacia (prébiotiques) sur bactéries lactique (probiotique) et leur activité antibactérienne. Les résultats et leurs discussions qui se basent sur les différents résultats obtenus d'autres recherches.

**Partie : synthèse
bibliographique**

Chapitre I :
Présentation du microbiote
intestinal

Introduction

Le microbiote intestinal désigne les communautés des microorganismes qui résident dans le tube digestif, leur étude montre le rôle fondamental qu'il joue dans la physiologie intestinale et aussi dans la santé humaine d'une façon générale (Landman *et* Quévrain, 2016).

Ce chapitre présente la structure et le rôle du microbiote intestinal ainsi que les perturbations de son équilibre.

I. Système digestif humain

L'appareil digestif est l'ensemble des organes essentiel à la vie, responsables du processus de digestion et absorption des nutriments, que le corps utilise pour l'énergie, la croissance et la réparation cellulaires (Gonzales, 2020).

I.1. Intestin grêle

L'intestin grêle est un tube qui mesure environ 6 m chez l'homme. Il comprend trois parties : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (figure 1).

Sur le plan physiologique, il joue le rôle de terminer le processus de digestion et assure l'essentiel de l'absorption des nutriments grâce aux microvillosités qui sont situées au pôle apical des entérocytes de l'épithélium intestinal (Tanguy, 2018).

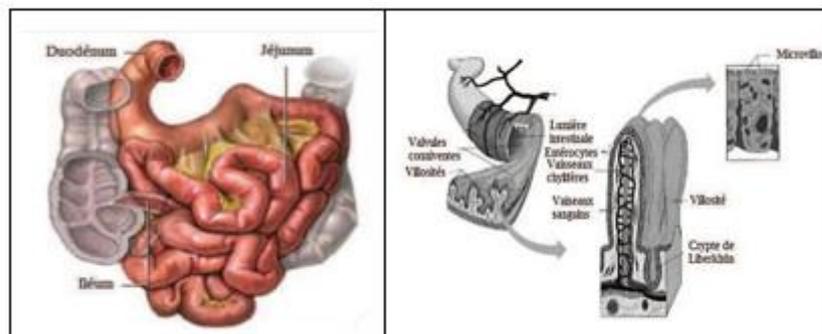


Figure. 1 : Structure de l'intestin grêle (Tanguy, 2018).

I.2. Gros intestin

Le Côlon mesure environ 1,5 m de long. Son épithélium ne comporte pas de villosités, mais elle présente de nombreuses cryptes. Ainsi, l'épithélium colique est constitué de colonocytes (cellules responsables de l'absorption de l'eau et des électrolytes), de cellules caliciformes et de cellules entéro endocrines (Tanguy, 2018).

II. Flore intestinale

Le tractus digestif humain, de la cavité buccale à l'anus, abrite une variété impressionnante de micro-organismes, comprenant des bactéries, des champignons, des parasites et des virus. Les intestins, qui constituent la partie du système digestif la plus étudiée en raison de la présence de la majorité des espèces microbiennes, abritent collectivement le microbiote intestinal. Ce dernier représente le plus vaste réservoir de microorganismes du corps humain (**Ludovic Coppé, 2018**).

II.1. Définition de la flore intestinale

Le microbiote intestinal est un système écologique complexe composé de micro-organismes unicellulaires, principalement des bactéries, mais aussi des virus, des champignons et des archées, qui résident dans le tractus gastro-intestinal. La composition du microbiote intestinal se forme progressivement pendant l'enfance, sous l'influence de divers facteurs tels que le mode d'accouchement, le terme de la grossesse et l'alimentation, et continue d'évoluer tout au long de la vie (**Landman et Quévrain., 2016**).

II.2. Répartition de la flore intestinale

La localisation et l'organisation spatiale du microbiote intestinal ne sont pas homogènes le long du tube digestif (**Clarke et al. 2019**). La concentration des bactéries dans le tube digestif augmente progressivement de l'estomac au côlon. Elle passe de 10^1 - 10^3 bactéries par gramme de contenu intestinal dans l'estomac à 10^{12} - 10^{14} bactéries par gramme de contenu intestinal dans le côlon. La quantité retrouvée dans le côlon est similaire à celle présente dans les fèces (**figure 2**).

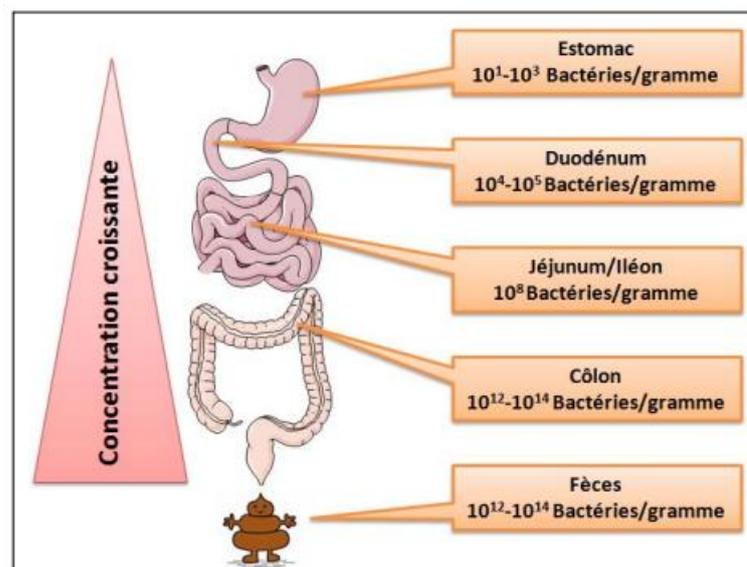


Figure. 2 :Microbiote dans les différents segments du tube digestif (**Nicolas 2016**).

L'estomac est un milieu très pauvre en bactéries (environ 100 bactéries par gramme de contenu stomacal) car son pH acide et la présence d'enzymes digestives ne sont pas favorables à la croissance bactérienne. Ensuite, la concentration en bactéries augmente le long du tractus 20 digestif pour être maximale dans le côlon (Nicolas 2016). La plus forte densité de bactéries est présente dans le côlon ayant un pH moyen de 6,4 à 7 (Clarke *et al.* 2019).

II.3. Composition de la flore intestinale

L'homme est parfois décrit comme un métagénome, il est composé de l'ensemble des gènes du génome humain d'une part et du microbiome bactérien d'autre part (Cani, Moens de Hase, et Van Hul 2021). Le microbiote intestinal humain est composé de 10^{14} bactéries et archées réparti en 1000 espèces bactériennes. Le génome du microbiome dans l'intestin humain contiendrait au moins 150 fois le nombre de gènes humains et la biomasse de l'intestin le microbiote peut atteindre à 1,5 kg (Lv *et al.* 2019).

Les 10^{14} bactéries sont principalement constituées de 5 phylums majeurs classés par ordre d'importance (tableau 1). Le microbiote intestinal est dominé principalement par deux phylums : les *firmicutes* et les *bacteroidetes* constituent plus de 90 % des espèces connues catégories phylogénétiques et dominent l'intestin sain (Gérard *et Vidal* 2019; Cani, Moens de Hase, et Van Hul 2021), alors que les *actinobactéries*, les *protéobactéries* et *Verrucomicrobia* sont des constituants fréquents, mais généralement mineurs (Cani, Moens de Hase, et Van Hul 2021).

Tableau. 1 : Abondance bactérienne au niveau du phylum du microbiote fécal humain.

Phylums	Présentation
<i>Firmicutes</i>	Des Bactéries à Gram positif jouent un rôle clé dans la nutrition et le métabolisme de l'hôte grâce à la synthèse SCFA. Par leurs produits métaboliques, les bactéries <i>Firmicutes</i> sont indirectement connectées avec d'autres tissus et organes et réguler la faim et la satiété (Stojanov, Berlec, et Štrukelj 2020).
<i>Bacteroidetes</i>	Des Bactéries à Gram négatif sont des immuno-modulateur. Leurs composants, lipopolysaccharides et flagelline, interagissent avec les récepteurs cellulaires et renforcent les réactions immunitaires par la synthèse de cytokines (Stojanov, Berlec, et Štrukelj 2020).
<i>Actinobacteria</i>	Des bactériennes à Gram positif ne représente qu'environ 3% des bactéries du microbiote. Elles comprennent en particulier le genre <i>Bifidobacterium</i> .
<i>Proteobacteria.</i>	contenant l'ordre des Entérobacterales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.

Le rapport *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) est largement reconnu comme ayant une influence importante sur le maintien d'une homéostasie intestinale normale. L'augmentation ou la

diminution du rapport F/B est considérée comme une dysbiose (**Stojanov, Berlec, et Štrukelj 2020**).

II.4. Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinal

Les caractéristiques de composition du microbiome intestinal sont influencé par un certain nombre de facteurs extrinsèques qui sont(**Clarke et al. 2019**):

1. Le mode de l'accouchement (césarienne ou par vagin) ;
2. Les schémas d'alimentation précoce (allaitement au sein vs lait maternisé) ;
3. La génétique de l'hôte ;
4. La géographie ;
5. Le stress ;
6. Le régime alimentaire occidentale ;
7. L'exercice physique
8. Le vieillissement
9. L'état pathologique ;
10. L'utilisation inappropriée d'antibiotiques.

Un certain nombre de facteurs intrinsèques également détermine la composition du microbiome intestinal, y compris les sécrétions gastriques, les immunoglobulines IgA et la production de peptides antimicrobiens, et la mobilité gastro-intestinale (**Clarke et al. 2019**).

II.5. Principales fonctions de la microflore intestinale

Le microbiote est reconnu comme un véritable « organe » fonctionnel en raison de son immense impact sur santé humaine. La grande majorité des microbes résident dans tractus intestinal influencent la physiologie de l'hôte en jouant des rôles fondamentalement importants dans (**Gérard and Vidal, 2019; Luu, 2018 ;Lv et al., 2019 ; Nicolas, 2016**):

- ✓ La digestion et la nutrition : la fermentation d'aliments autrement indigestes composés et la synthèse des vitamines essentielles
- ✓ La régulation immunitaire : la participation au barrière intestinale ; l'élimination des toxines et des cancérigènes
- ✓ Le métabolisme énergétique : la conversion du cholestérol et des acides biliaires, le métabolisme des toxines et des cancérigènes

En premier temps, les glucides non digérés par les enzymes de notre tube digestif haut sont métabolisés par certaines espèces bactériennes de notre microbiote qui fermentent

principalement les glucides en acides gras à chaînes courtes (acétate, propionate et butyrate) par plusieurs voies métaboliques (**Islam et al. 2022**).

En deuxième temps, le microbiote colique possède également une forte activité protéasique permettant l'hydrolyse des protéines en petits peptides puis en acides aminés. Ce processus fait intervenir des bactéries possédant des enzymes protéolytiques telles que les protéases chez les *Lactobacillus*. Les peptides peuvent être directement métabolisés par certaines espèces bactériennes permettant la libération d'acides aminés libres (**Belaid 2021**).

En dernier temps, le microbiote joue aussi un rôle dans la régulation de l'élimination et du stockage des graisses. Les lipides de la lumière colique proviennent de trois origines : les lipides arrivant du tractus intestinal d'amont (lipides alimentaires non absorbés par l'intestin grêle), les lipides provenant de la desquamation des colonocytes et les lipides bactériens. Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote. Le cholestérol colique, qui provient pour la majorité de la bile (70%) et pour le reste de l'alimentation (20%) et de la desquamation des cellules épithéliales intestinales (10%), est transformé en coprostanol par le microbiote, avec une efficacité très variable d'un sujet à l'autre. Ce coprostanol n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces (**Belaid 2021**).

La microflore et les cellules épithéliales intestinales de l'hôte entretiennent une relation symbiotique dont la conséquence est un effet de barrière protectrice efficace. La microflore résidente évite la colonisation de l'intestin par les bactéries potentiellement pathogènes et protège l'hôte de substances environnementales qui pourraient être nocives lors de leur présence dans le tube digestif (**Salminen et al, 1995**). La microflore commensale exerce également une fonction protectrice en prévenant les effets néfastes des bactéries pathogènes. En favorisant un pH légèrement acide grâce à la fermentation des bactéries lactiques et à la production d'acides gras à chaîne courte, elle inhibe le développement des germes potentiellement pathogènes dans le tractus digestif (**Mitsuoka, 1992**).

III. Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal

Plusieurs méthodes se confrontent pour analyser le microbiote intestinal, chacune ayant des avantages et des inconvénients. La mise en culture et la métagénomique sont des analyses taxonomiques, alors que la méta-transcription et Métabolomique sont des analyses fonctionnelles (**figure 3**).

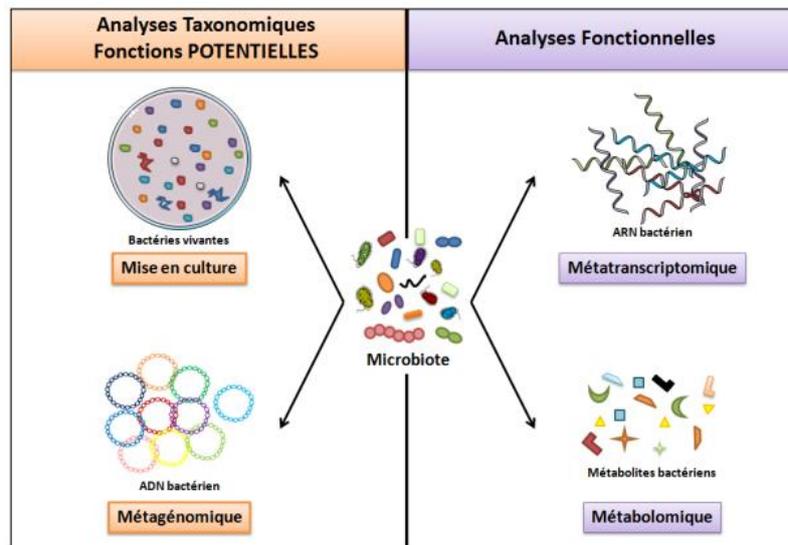


Figure. 3 : Méthodes d'analyses du microbiote intestinal (Er-Razine 2019; Nicolas 2016).

IV. Dysfonction de la flore intestinale

Dans des conditions normales d'individus en bonne santé, il existe une diapasonie et une régulation croisée entre l'hôte et le microbiote qui réside dans l'intestin, ce qui crée un équilibre homéostatique des bactéries afin que le tractus gastro-intestinal reste sain et exempt de prolifération de bactéries potentiellement pathogènes (DeGruttola *et al.* 2016). Cependant, lorsque la relation mutuelle entre les membres du microbiote, les produits métaboliques et le système immunitaire de l'hôte est perdue, une dysbiose se produit (Gagliardi *et al.* 2018).

IV.1. Définition de la dysbiose

La dysbiose intestinale est un déséquilibre ou des altérations dans la composition du microbiote intestinal (Hooks *et O'Malley* 2017). Elle conduit à des modifications dans les fonctions du microbiote intestinal et elle est impliquée dans développement de nombreuses pathologies (Luu 2018). La dysbiose peut être classée en trois types différents (De Luca *et Shoenfeld* 2019) :

- ✓ La perte d'organismes bénéfiques ;
- ✓ La croissance excessive d'organismes potentiellement nuisibles ;
- ✓ La perte de la diversité microbienne globale.

IV.2. Dysbiose et maladies

La dysbiose intestinale est une affection liée à diverses maladies, notamment le cancer du côlon, les maladies inflammatoires de l'intestin, les maladies neurologiques, les maladies rénales chroniques, les maladies inflammatoires systémiques comme la polyarthrite rhumatoïde, les troubles cardio-métaboliques comme l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 (Madan et Mehra 2020).

IV.2.1. Dysbiose et maladies métaboliques

L'obésité est définie comme étant une accumulation excessive du tissu adipeux pouvant atteindre plus de 50 % de la masse totale d'un individu. Selon les derniers résultats de l'enquête STEP Wise du ministère de la Santé en 2017, le taux de l'obésité est de 30% chez les femmes et de 14% chez les hommes en Algérie. En général, une augmentation du poids corporel est associée à un changement du microbiote identifié par une modification du rapport B/F avec une plus grande proportion de Firmicutes et un déclin de Bacteroidetes populations (Gérard et Vidal, 2019).

Le diabète de type 2 qui englobe les personnes ont une déficience en insuline et qui ont une résistance périphérique à l'insuline (American Diabetes Association 2018). En Algérie, la prévalence du diabète continue d'augmenter pour atteindre 14,4 % de la population (18 -69 ans) (Belhadj et al., 2019). Le diabète est une affaire de sucre, mais aussi de bactéries intestinales qui nous permettent de digérer les sucres lents en sucres simples qui fermentent en acides gras à courte chaîne. Les diabétiques auraient donc un microbiote moins riche en bactéries productrices d'acides gras à courte chaîne. En mourant, certaines bactéries libèrent des substances toxiques, dont la présence dans le sang est associée à un risque accru de diabète (Harsch et Konturek 2018).

IV.2.2. Dysbiose et maladies immunitaires et inflammatoires

L'inflammation est un processus physiologique complexe de défense utilisée par l'organisme, après une agression étrangère, vasculaire ou tissulaire, vise à éliminer ou isoler l'agresseur et maintenir l'intégrité des tissus enflammés (Sarkhel, 2015). L'inflammation est un processus biologique important, étroitement corrélé à l'immunité, quand le microbiote est bien diversifié, il existe un équilibre entre les bactéries préventives de l'inflammation et celles qui ont une action pro-inflammatoire. Mais en cas de dysbiose, les bactéries pro-inflammatoires prennent le dessus. Ces dernières se caractérisent par la présence de lipopolysaccharides (LPS) à leur surface, qui se

comportent comme des antigènes (des corps étrangers) : leur présence attire des globules blancs, les macrophages, qui produisent des composés pro-inflammatoires appelés cytokines, destinés à les neutraliser. La dysbiose augmentant la perméabilité intestinale, les LPS pénètrent facilement dans l'organisme, passent dans la circulation sanguine et parviennent à différents tissus, par exemple les articulations où ils ont exactement les mêmes effets que dans l'intestin. En outre, les cytokines produites dans l'intestin peuvent aussi agir à distance sur d'autres organes (**Inserm, 2016**).

V. Reconstruction de l'équilibre intestinale

De nombreuses stratégies thérapeutiques ont été développées pour rétablir la dysbiose intestinale qui comprennent (**Gagliardi et al. 2018**) :

* L'administration :

1. De bactéries probiotiques susceptibles de déplacer les bactéries potentiellement pathogènes et favoriser un rééquilibrage de la communauté microbienne.
2. De prébiotiques pour favoriser la prolifération de bactéries probiotiques ;
3. De combinaisons de probiotiques et de prébiotiques (appelés symbiotiques).

* La transplantation fécale.

Toutes ces stratégies partagent le même objectif de remplacer les microbes nocifs par des microbes plus favorables pour restaurer la dysbiose (**Gagliardi et al. 2018**).

Conclusion

En conclusion, le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans notre santé et notre bien-être. Cette communauté complexe de microorganismes interagit étroitement avec notre organisme, influençant divers processus physiologiques et métaboliques. Son impact s'étend au-delà de la digestion, affectant également notre système immunitaire. Comprendre et soutenir cet écosystème complexe ouvre des possibilités prometteuses pour le développement de thérapies et d'interventions visant à améliorer notre santé. Le chapitre présenté a fourni un aperçu de l'importance du microbiote intestinal et de ses interactions avec notre organisme et notre santé.

Chapitre II : Présentation des prébiotiques et probiotiques

Introduction

Dans le domaine de la nutrition et de la santé, les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, apportent des bienfaits pour la santé de l'hôte. En plus, les prébiotiques sont des ingrédients alimentaires non digestibles qui stimulent sélectivement la croissance ou l'activité de groupes bactériens spécifiques dans le côlon, susceptibles d'améliorer la santé de l'hôte (**Jean-Christophe Bocle, 2005**). Dans ce chapitre, on essaie de mettre l'accent sur ces deux notions.

I. Prébiotiques et la flore intestinale

La définition des prébiotiques est similaire à la définition des fibres alimentaires. Cependant, la définition des prébiotiques se différencie par la sélectivité pour certaines espèces (**Plămadă et Vodnar 2021**).

I.1. Définition de prébiotique

En 1995, Gibson et Roberfroid ont défini les prébiotiques comme « des composants indigestibles des aliments qui ont un effet bénéfique sur l'hôte par le biais d'une stimulation de la croissance de l'activité d'un nombre limité d'espèces bactériennes déjà présentées dans le tractus gastro-intestinal, ce qui peut contribuer à l'amélioration de la santé de l'hôte » (**Gibson et Roberfroid., 1995**). Selon cette définition, seuls quelques composés du groupe des glucides, tels que les β -fructanes à chaîne courte et longue (fructo-oligosaccharides et inuline), la lactulose et le galacto-oligosaccharides, peuvent être classés comme prébiotiques.

Une décennie plus tard, cette définition a été actualisée par ces mêmes auteurs (**Gibson et al, 2004; Roberfroid, 2007**) qui stipulent que « le prébiotique est un ingrédient dont la fermentation sélective conduit à des changements spécifiques, à la fois dans la composition et l'activité du microbiote gastro-intestinal, et procurant des bénéfices santé chez l'hôte ».

I.2. Critères de sélection des prébiotiques

Selon (**Markowiak et Śliżewska 2017**), le prébiotique doit :

1. Être résistant aux différents processus de digestion pour atteindre le colon.
2. Pouvoir être fermenté par la microflore intestinale.
3. Être bénéfique pour la santé de l'hôte.
4. Stimuler de façon sélective les probiotiques.
5. Rester stable durant les différents traitements alimentaires.

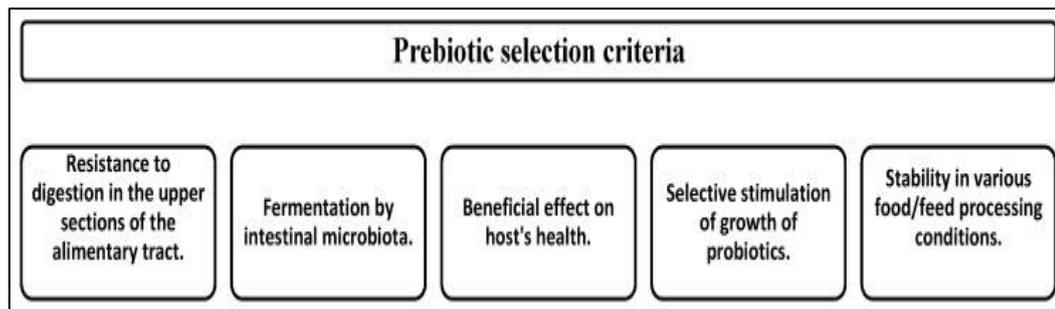


Figure. 4 :Critères de sélection des prébiotiques(Markowiak et Śliżewska 2017).

I.3. Classes des prébiotiques

La majorité des prébiotiques contiennent des glucides comme composant principal, mais il existe également d'autres classes telles que les polyphénols, les minéraux et les acides gras polyinsaturés qui exercent les mêmes propriétés prébiotiques (Plămadă *et* Vodnar 2021). Un classement simple des prébiotiques est présenté dans (la figure 5).

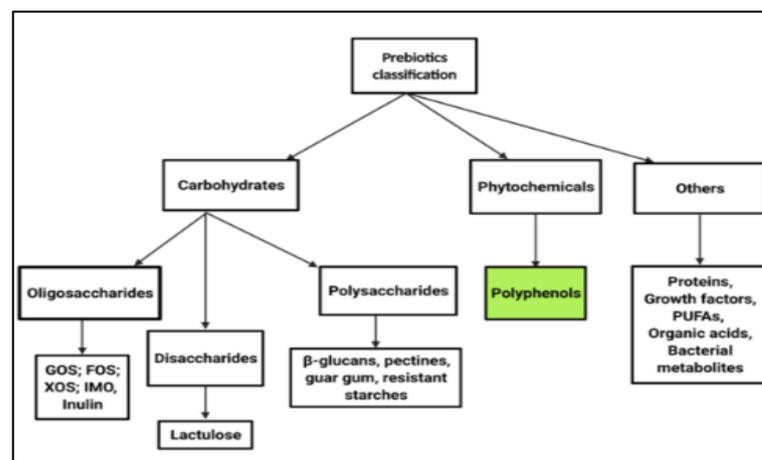


Figure. 5 : Classification prébiotique (GOS, galactooligosaccharides ; FOS, fructooligosaccharides ; XOS, xylooligosaccharides, IMO, isomaltooligosaccharides; AGPI, acides gras polyinsaturés).

A titre d'exemple, la gomme arabique (GA) est considérée comme prébiotique naturel (Al-Baadani *et al.* 2021) qui se compose d'un polysaccharide de plusieurs types de sucres (Al-Assaf, Phillips, et Williams., 2005).

I.4. Mécanismes d'action et fonctions des prébiotiques

La consommation d'aliments fonctionnels tels que les prébiotiques, les probiotiques et les composés phénoliques peut contribuer aux maladies non transmissibles. Il a été rapporté que la consommation de prébiotiques peut provoquer des changements positifs dans le microbiote intestinal. Le microbiote sain, composé principalement de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus*,

fermente des prébiotiques produisant des composés qui semblent jouer un rôle protecteur contre les maladies métaboliques (**figure 6**).

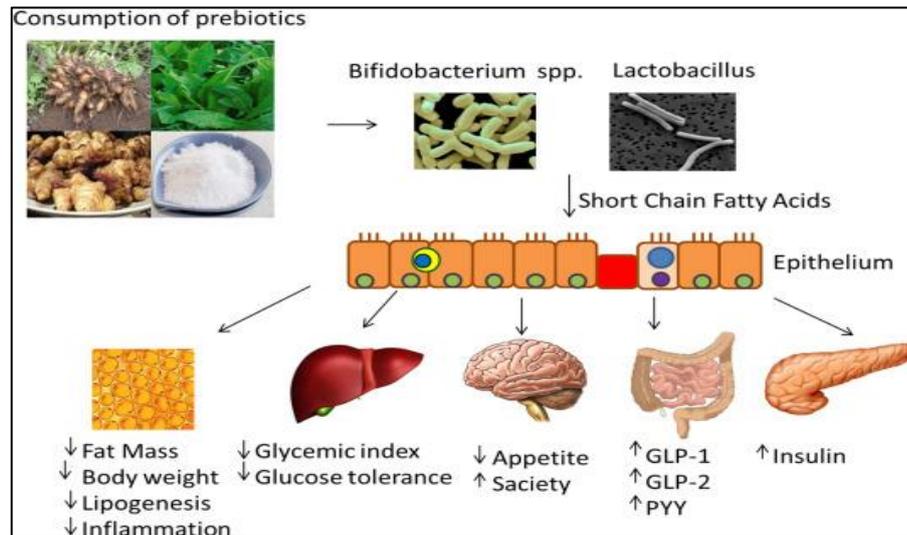


Figure. 6 : Rôle des prébiotiques dans la régulation du microbiote (Grethel Teresa Choque Delgado et Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro 2018).

Les modes d'action des prébiotiques ne sont pas tous bien expliqués. Il est admis selon certains études deux modes d'action. Il semble que certains prébiotiques favorisent la multiplication et l'activité de micro-organismes utiles ; d'autres sont susceptibles de modifier l'écosystème microbien intestinal, en modifiant les récepteurs des bactéries pathogènes présents au niveau de l'épithélium intestinal (Huyghebaert, Ducatelle, et Van Immerseel 2011).

I.5 La gamme arabique

1. Description botanique

La gomme arabique est considéré comme prébiotique nature (Al-Baadani *et al.* 2021) et son code ingrédient européen est E414. Elle se réfère à une substance solide élaborée à partir de la sève, qui est produite naturellement ou résulte d'une incision effectuée sur le tronc ou au pied des arbres du genre *Acacia* (tableau 2).

Tableau 2: Classification taxonomique de la plante *Acacia arabic*.

Règne	Végétal
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous- Classe	Rosidées
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
Genre	Acacia
Espèce	Arabica

Plus précisément, la GA est un polysaccharide acide fortement ramifié, hydro-colloïdal, totalement atoxique, un mélange de sels de calcium, de magnésium et de potassium d'un acide polysaccharidique, obtenue à partir des arbres cultivés en Afrique subsaharienne (Maghreb, Mali, Sénégal, Tchad, Égypte, Soudan, Niger, etc.) (A. Ahmed 2018). Bien qu'il existe plus de 1000 sous- espèces du genre Acacia Gums, seules deux sont importants à des fins commerciales : *Acacia senegal* et *Acacia seyal* (Musa, Ahmed, et Musa 2019). La GA avait des propriétés émulsifiantes, stabilisantes épaississantes la rendant très recherchée dans plusieurs domaines (A. Ahmed 2018).

Protéines (g)	0,11			
Carbohydrates (g)	6,13			
	Sucres réducteurs (g)			0,72
Lipides totales (g)	5,51			
Fibres alimentaires (g)	89,2			
	Fibres solubles			76,2
	Fibres insolubles			13
Minéraux	Na ⁺ (mg)			0,6
	Ca ⁺² (g)			0,25
	Mg (g)			5,85
	K ⁺ (g)	3,1		
	Fe (mg)	0,06		
Cendres (g)	3,2			
<p>A : Exemple de la gamme arabique commercialisée en Algérie.</p> <p>B : Gamme arabique <i>A. senegal</i> (Musa et al., 2019)</p>				

Figure.7: Composition et aspect de la gamme arabique.

Les qualités de la GA, solubilité élevée dans l'eau et basse viscosité, sont utilisées en tant qu'émulsifiant, stabilisant, épaississant ou encore adhésif. De plus, la gamme arabique ne possède aucune toxicité et présente un faible pouvoir calorique (Anne Guillaume-Gentil, 2016).

La gomme arabique d'excellente qualité est en forme de larme, ronde. Sa teinte varie de brun foncé, orangé au blanc selon la quantité de tanin, la couleur la plus claire est la meilleure (**Anderson, Hirst, et Stoddart 1967; Musa, Ahmed, et Musa 2019**). Les propriétés physiques de la gomme arabique peuvent varier selon l'origine et l'âge des arbres, le temps d'exsudation et le climat, également selon le lavage, le séchage, le blanchiment au soleil et les conditions de stockage peuvent affecter leurs propriétés physiques (**Musa, Ahmed, et Musa 2019**).

Il a été confirmé que la GA a plusieurs actions thérapeutiques, telles qu'être hypoglycémiant, antidiabétique, antioxydant, immuno-modulateur et antiulcèreux. Cette gomme est utilisée par les communautés pour se protéger contre les complications hépatiques, rénales et cardiaques chez les patients diabétiques et insuffisants rénaux chronique (**A. Ahmed 2018**). Le **tableau 3** détaille certains effets biologiques et physiologiques de la gomme arabique.

Tableau. 3 : Propriétés biologiques et physiologiques de la gomme arabique.

Effets	Explication
Agent antioxydant	Une supplémentation en GA chez les patients hémodialysés réduirait le stress oxydatif et par conséquent réduirait l'activation de l'état inflammatoire chronique associée à l'hémodialyse (Nour et al., 2020).
Agent anti-inflammatoire	La consommation de la GA comme complément alimentaire naturel peut moduler la gravité des maladies inflammatoires (Kaddam, L.A. et Kaddam, A.S., 2020 ; Nour et al., 2020). La digestion orale de GA (30 g/jour) a diminué le stress oxydatif et les marqueurs inflammatoires chez les patients hémodialysés (Nour et al., 2020).
Agent anticancéreux	Le traitement par GA qu'est diluée dans l'eau potable (10% poids /poids) a diminué le nombre de tumeurs de 70 (Aloqbi 2020).
Agent hypocholestérolémiant	Une prise quotidienne de la GA, pendant un mois, a réduit le cholestérol total. Cette diminution était limitée uniquement aux LDL et VLDL, sans effet sur les HDL et les triglycérides. Cette situation peut être justifiée par une excrétion accrue d'acides biliaires et de stérol neutre fécal ou à une modification de digestion et absorption des lipides (Montenegro et al. 2012).
Agent contre les maladies cardio-métaboliques	Il a été démontré que l'ingestion quotidienne de 20 g de la GA pendant 12 semaines améliore la satiété et réduit considérablement les apports énergétiques et glucidiques. Il améliore également la pression artérielle, la glycémie et les selles, tout en augmentant la satiété perçue. Celles-ci positionnent la GA comme un complément potentiel à la prise en charge des personnes atteintes ou à risque de développer un syndrome métabolique (Jarrar et al. 2021).
Agent hypoglycémique et anti-diabète	La consommation régulière de la GA diminue l'activité et l'expression de SGLT1 intestinal et ainsi le transport électro-génique du glucose. Elle a la capacité de réduire l'absorption du glucose, elle diminue de manière significative la glycémie à jeun et l'hémoglobine glyquée (Nasir, Babiker, et Salim 2016; Nasir et al. 2010).
Agent anti-diarrhée et maladies gastro-intestinales	La GA augmente l'absorption du sodium et de l'eau chez des modèles animaux atteints de maladies diarrhéiques (Wapnir et al. 1997).
Un probiotique	La GA dissoute dans l'eau est utilisée pour augmenter de façon sélective la

proportion de bactéries lactiques au niveau de l'intestin de l'homme (*Benyagoub et al. 2016; Montenegro et al. 2012*).

Pour préparer notre échantillon, 250 g de GA d'origine du Soudan (tableau 9) a été achetée chez un herboriste de la commune de Bouira.

Tableau. 4 : Gomme arabique utilisée dans notre étude.

Partie de la plante	Plante	Provenance	Image
Gomme arabique ou gomme <i>Acacia</i>	<i>Acacia senegal</i>	Soudan	

2. Critères organoleptiques de la gomme arabique

En accord avec nos résultats (**figure 8**), la gomme arabique est inodore avec un goût fade (**Al-Assaf, Phillips et Williams.,2005**) et sa solution est également incolore, insipide et n'interagit pas facilement avec d'autres composés chimiques (**Musa, Ahmed, et Musa 2019**).

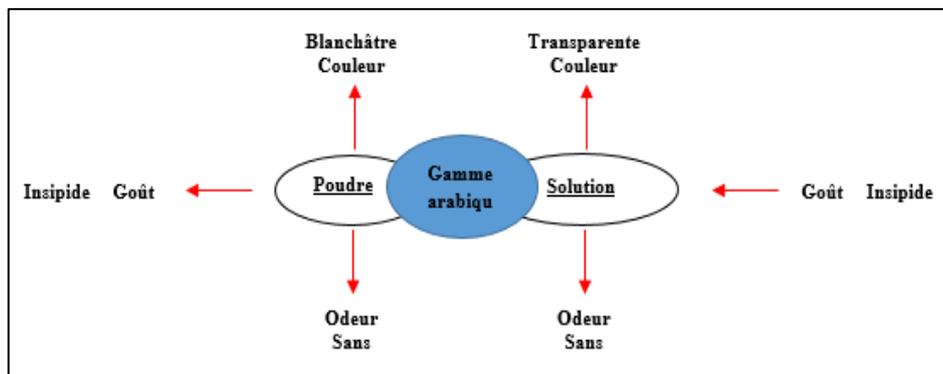


Figure.8 : Critères organoleptiques de la gomme arabique.

II. Probiotiques et flore intestinale

II.1. Définition des probiotique

En 2001, selon la définition de (OMS) et (FAO) les probiotiques sont micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels (**Bourlioux ,2007**).

II.2. Critères de sélection des souches probiotiques

Les probiotiques présentent des propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Les critères conventionnels qui peuvent être utilisés pour la sélection de ces souches comme étant probiotique incluent des critères fonctionnels ; sécuritaires et technologiques. Le **tableau 5** résume les critères de choix des souches probiotiques.

Tableau. 5: Paramètre de choix des probiotiques (**Markowiak et Śliżewska 2017**).

Critères	Propriétés requises
Sécuritaires	<ul style="list-style-type: none"> ○ D'origine humaine ou animale. ○ Isolé du tractus gastro-intestinal d'individus en bonne santé. ○ Historique d'utilisation en toute sécurité. ○ Identification diagnostique précise (traits de phénotype et de génotype). ○ Absence de la capacité de couper les sels des acides biliaires. ○ Aucun effet indésirable. ○ Absence de gènes responsables de la résistance aux antibiotiques localisés dans des éléments non stables.
fonctionnelle	<ul style="list-style-type: none"> ○ Compétitivité vis-à-vis du microbiote habitant l'écosystème intestinal. ○ Capacité à survivre et à maintenir l'activité métabolique et à se développer sur le site cible. ○ Résistance aux sels biliaires et aux enzymes. ○ Résistance au faible pH dans l'estomac. ○ Compétitivité vis-à-vis des espèces microbiennes habitant l'écosystème intestinal. ○ Activité antagoniste vis-à-vis des agents pathogènes. ○ Résistance aux bactériocines et aux acides produits par le microbiote intestinal endogène. ○ Adhésion et capacité à coloniser certains sites particuliers au sein de l'organisme hôte, avec un taux de survie dans le système gastro-intestinal.
technologiques	<ul style="list-style-type: none"> ○ Production facile de quantités élevées de biomasse et productivité élevée des cultures. ○ Viabilité et stabilité des propriétés souhaitées des bactéries probiotiques pendant le processus de préparation (congélation, lyophilisation), et de distribution de produits probiotiques. ○ Taux de survie élevé lors du stockage dans les produits finis (en conditions aérobies et micro-aérophiles).

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Garantie des propriétés sensorielles souhaitées des produits finis (dans le cas de l'industrie alimentaire). ○ Stabilité génétique. ○ Résistance aux bactériophages.
--	--

II.3. Classes des probiotiques

Les probiotiques comprennent les bactéries Gram positives, les bactéries Gram négatives et de nombreux autres organismes comme la levure, les bactériophages et les algues unicellulaires (**Pandiyan et al. 2013**). Les bactéries lactiques ont été largement utilisées comme souches probiotiques qui sont habituellement présentes dans l'intestin sains tels que les Lactobacilles et les Bifidobactéries (**Markowiak et Śliżewska 2017**). Certaines bactéries gram positives comme Bacillus, Enterococcus, Streptococcus agissent comme des souches probiotiques communes (**Markowiak et Śliżewska 2017**).

Tableau. 6 :Groupes des micro-organismes probiotiques (**Markowiak et Śliżewska 2017**).

Catégories	Présentation
Bactéries lactiques	<ul style="list-style-type: none"> - Un groupe de bactéries Gram-positives qui produisent principalement de l'acide lactique en tant que produit métabolique. - Ce groupe est composé de douze genres bactériens, parmi lesquels Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Enterococcus, Pediococcus et Bifidobacterium. - Certains genres, tels que les lactobacilles et les bifidobactéries, font partie du microbiote intestinal et sont considérés comme des bactéries commensales.
Bactéries non lactiques	Un groupe des bactéries qui ne produisent pas d'acide lactique, peuvent présenter un intérêt en tant que probiotiques, tels que E. coli et Bacillus subtilise .
Levures	<ul style="list-style-type: none"> - Ce sont des champignons unicellulaires présents dans les produits fermentés tels que la bière, les produits laitiers et les yaourts. - Bien que les levures du genre Saccharomyces ne fassent pas partie du microbiote naturel de l'organisme, elles sont utilisées comme probiotiques.

II.4. Probiotiques commercialisés

❖ Produits alimentaires

Il y a certains aliments contenant des bactéries vivantes, on peut citer (**Cui, et al. 2014**) :

- ✓ Yaourt : *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*.
- ✓ Olives : *Lactobacillus plantarum*
- ✓ Saucisson : *Lactobacillus sakei*

✓ Fromage : Lactobacillus et levures

❖ **Produits pharmaceutiques**

Le **tableau 7** et la **figure 9** illustrent certains produits pharmaceutiques utilisés par les algériens.



Figure. 9 : Quelques exemples des produits pharmaceutiques.

Tableau. 7 : Quelques produits probiotiques disponibles en pharmacie à l'usage des Algériens.

Produits	Forme	Traitement	Probiotiques	Prebiotiques	Site internet
Forever living active Pro B	Gélule	Confort Intestinal	<i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium B-bifidum</i>		www.jumia.dz .
Ultra-levure 200 mg	Gélule	Diarrhée	<i>Saccharomyces boulardii</i>		www.pharmnet-dz.com
Ultra biotique	Gélule	De prise d'antibiotiques, D'hygiène alimentaire insatisfaisante, De transit perturbé, De désordres intestinaux en général, De stress répété, De voyages à l'étranger.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>		http://laboratoires-nutrisante.dz
Lactocil	Gélules	Syndrome du côlon irritable Constipation –Diarrhée -Flatulence	<i>Lactobacillus sporogenes</i>	Fructo-oligosaccharides	www.NaturesOnly.dz
Immunostim®	Gélules ou sachets	Défenses de l'organisme	<i>Lactobacillus helveticus</i> Rosell-52 <i>Bifidobacterium infantis</i> Rosell-33 <i>Bifidobacterium bifidum</i> Rosell-71	Fructo-oligosaccharides, vitamine C	www.Alvityl.fr
Effidigest	Comprimés effervescents ou sachets	Ballonnement	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Extrait de malt Fructo-oligosaccharides Extrait de papaye Extrait d'ananas	http://laboratoires-nutrisante.dz
Enterogermina®	Suspension buvable	Déséquilibre microbien intestinal Rétablissement de la flore intestinale bactérienne, altérée par des traitements antibiotiques ou chimiothérapeutiques. Troubles gastro-intestinaux	Spores de <i>Bacillus clausii</i> , micro-organismes non pathogènes faisant partie du microbiote intestinal		https://www.pharmapresse.net

II.5. Mécanismes d'action des probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

Les probiotiques utilisent divers mécanismes d'action pour exercer un antagonisme envers plusieurs microorganismes (**Yan et Polk, 2009**). Parmi ces mécanismes :

❖ **L'inhibition de la croissance des pathogènes par :**

1. La production de substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène et les défensives (**Yan et Polk, 2009**)
2. La création d'un environnement défavorable à l'implantation et à la prolifération de bactéries pathogènes spécifiques par la modification du pH intestinal (l'acide lactique, acétique, propionique, etc.) (**Faure et al., 2013**).
3. La compétition pour les ressources nutritionnelles qui limite la disponibilité des nutriments nécessaires à la croissance des pathogènes (**Coudeyras et Forestier, 2010**).

❖ **L'amélioration de la fonction barrière :** les probiotiques renforcent l'effet barrière contre les pathogènes en s'opposant à l'implantation des micro-organismes pathogènes dans le tube digestif par (**Faure et al., 2013 ; Coudeyras et Forestier, 2010**) :

1. La stimulation de la production de mucines (des protéines forment une barrière physique sur les muqueuses) et de peptides antimicrobiens.
2. L'amélioration de l'intégrité de l'épithélium en favorisant la formation de jonctions serrées.

❖ **La modulation du système immunitaire :** les probiotiques peuvent exercer un effet immuno-modulateur. Il a été découvert que ces bactéries contribuent à l'homéostasie intestinale par une interaction avec le système immunitaire inné ou adaptatif (**Kim et al, 2016**).

D'une autre coté, plusieurs études ont démontré les multiples effets bénéfiques des probiotiques, la figure 8 expose les principaux bénéfiques des probiotiques.

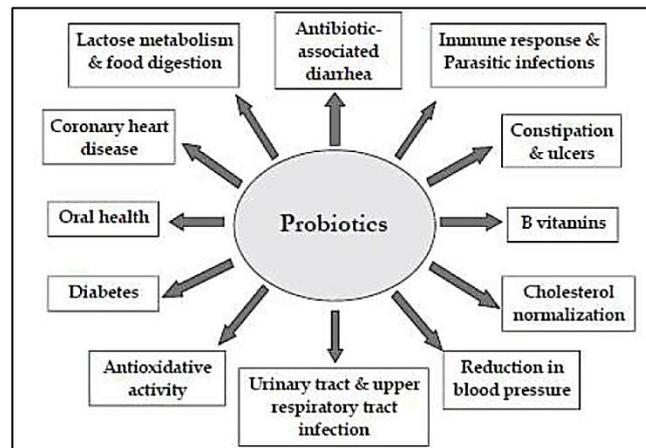


Figure. 10 : Principaux bienfaits des probiotiques(Nagpal *et al.* 2012).

II.6. Effet des probiotiques sur certaines maladies

Les probiotiques ont des bénéfices sur la santé humaine ; ces produits biotechnologiques sont utilisés dans la thérapie des plusieurs maladies.

II.6.1. Maladies métaboliques : Diabète et obésité

Une équipe de chercheurs américains a publié des résultats indiquant que les probiotiques pourraient potentiellement améliorer le contrôle de la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 2 et retarder la progression de la maladie (Perraudeau *et al.*, 2020). Certaines études montrent que la prise quotidienne de cinq souches de bactéries probiotiques, notamment *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis* et *Lactococcus lactis*, a démontré une réduction de l'obésité abdominale et une augmentation de l'activité des enzymes antioxydants chez des femmes obèses ou en surpoids. Ces résultats suggèrent que la consommation régulière de ces souches de bactéries probiotiques peut avoir des effets bénéfiques sur la composition corporelle et le métabolisme chez les personnes ayant un excès de poids. Cela souligne le potentiel des probiotiques comme complément alimentaire dans la gestion de l'obésité abdominale et l'amélioration de la santé métabolique (Gomes *et al.*, 2017).

II.6.2. Maladies inflammatoires

Plusieurs études ont été menées pour évaluer l'efficacité des probiotiques dans le traitement de la maladie de Crohn. L'efficacité potentielle de *Saccharomyces boulardii* dans le traitement d'entretien de cette maladie a été évaluée. Certains résultats ont indiqué des effets positifs de *Saccharomyces boulardii* en complément du traitement standard de la maladie de Crohn (Vidal,

2023). Ainsi une étude sur l'efficacité de trois souches probiotiques *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve* et *Lactobacillus acidophiles* dans la prévention des rechutes de la rectocolite hémorragique a été menée. Les résultats de cette suggèrent que l'utilisation de ces trois souches probiotiques dans un lait fermenté peut être bénéfique pour prévenir les rechutes chez les patients atteints de rectocolite hémorragique (**Ishikawa et al ,2003**).

II.6.3. Maladies immunitaires

Les probiotiques rentrent dans les réponses immunitaires tels que le cas des phénomènes allergiques, les probiotiques sont capables de moduler la balance entre les lymphocytes Th1 et Th2, ce qui réduit la réactivité des lymphocytes Th2 et limite les réactions allergiques (**Cross et Gill 2001; Grangette 2007**).

III. Relation symbiotique entre les prébiotiques et les probiotiques

III.1. Définition

La symbiose est une combinaison de probiotiques et de prébiotiques qui agissent en synergie. Cette association favorise spécifiquement la croissance et le développement des probiotiques, ce qui amplifie leurs effets positifs sur la santé (**Bourlioux, 2007**).

III.2. Mécanismes d'action

Les produits symbiotiques recombinent les effets négatifs des probiotiques et des prébiotiques, c'est-à-dire ils regroupent les effets de probiotiques et aussi de prébiotiques (**figure 11**).

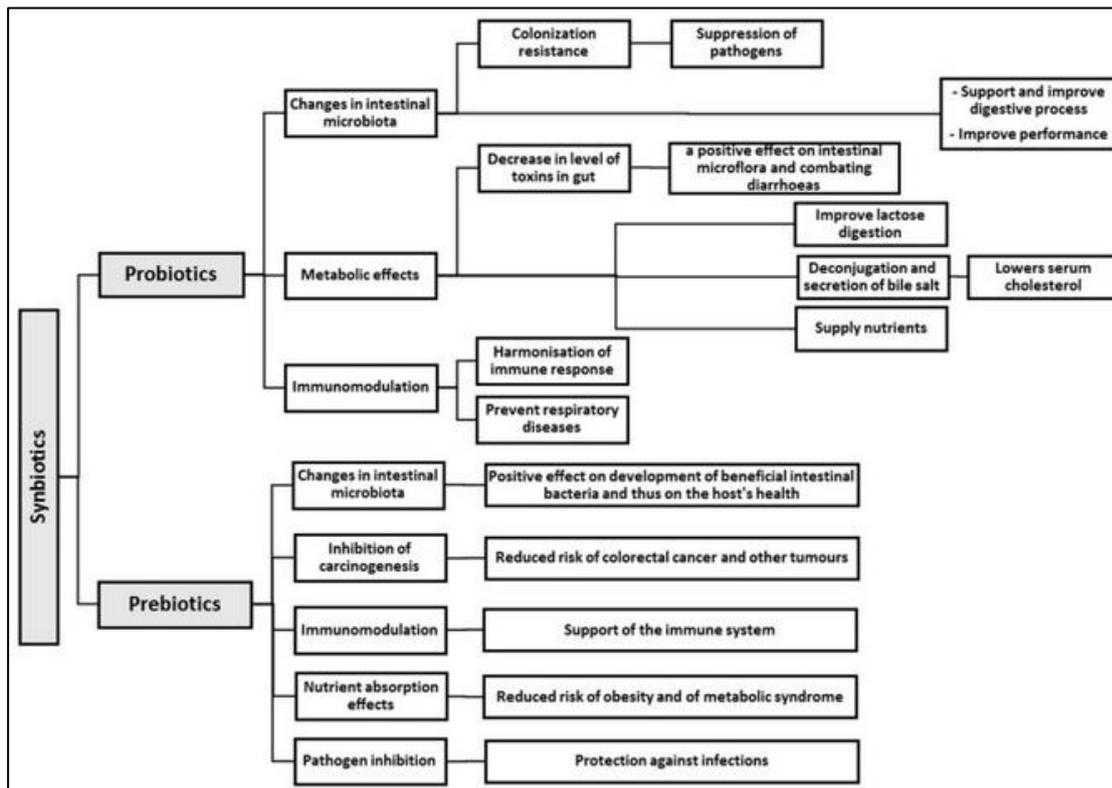


Figure. 11 : Mécanismes d'action des symbiotiques et leurs effets (Markowiak et Śliżewska 2017).

III.3. Produits symbiotiques

Un symbiotique est une combinaison d'une bactérie bénéfique et de ses probiotiques apparentés. On peut classer ces produits en :

- **Produits alimentaires symbiotiques :** certains yaourts peuvent être symbiotiques et le pain au levain peut également en contenir.
- **Produits pharmaceutiques symbiotiques :** Par exemple « *Lactocil* » et « *Immunostim®* ».

Conclusion

Les prébiotiques et les probiotiques représentent des stratégies prometteuses pour soutenir la santé intestinale et globale. Leur utilisation peut contribuer à prévenir les déséquilibres microbiens, à renforcer le système immunitaire et à promouvoir une digestion saine. Les études continues de ces approches ouvrent la voie à de nouvelles perspectives et à des applications cliniques potentielles pour améliorer notre bien-être et notre qualité de vie.

Partie pratique

Chapitre I :

Matériel et méthodes

Partie I : Dysfonctionnement de la flore intestinale lie aux maladies

I. Objectif principal

Dans cette partie de travail, notre objectif est d'analyser la relation existe entre le dysbiose intestinal et les maladies inflammatoires, immunitaires et métaboliques.

II. Type et lieu d'étude

Il s'agit d'une pré-étude cas-témoins qu'a été réalisée à partir des analyses microbiologiques des selles des patients. Cette pré-étude a débuté au 15 Avril 2023 et elle s'est poursuivie jusqu'au 10 de Mai de la même année au niveau de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre-Bouira.

III. Population cible

Notre pré-étude s'est portée sur une population adulte, des deux sexes âgés de 18 à 65 ans, de la wilaya de Bouira (annexe A). Du point de vue méthodologique, les patients qui ont été soumis à cette étude sont tirées de façon aléatoire. **Le tableau 8** illustre les critères d'inclusion et d'exclusion.

Tableau.8: Critères d'inclusion et d'exclusion pour la pré-étude.

Critère d'inclusion	Critère d'exclusion
Adulte âges de 18 ans à 65 ans.	Personne moins de 18 ans ou plus de 65 ans.
Personne habite à la wilaya de Bouira.	Personne gravement malade.
	Personne refuse la participation.

IV. Condition du prélèvement et du transport des échantillons

Avant de se lancer dans toute investigation sur les échantillons du patient, un consentement est signé par chaque patient qui le suit en assurant l'avis favorable et l'anonymat des patients (annexe B). Chaque personne incluse dans l'étude a reçu un pot sec, propre et étiqueté avec un code afin de prélever un échantillon de selles le lendemain matin. Avant tout prélèvement, certaines règles d'asepsie doivent être respectées pour éviter toute contamination possible de la flore intestinale, le volontaire devra obligatoirement :

- Eviter les aliments qui laissent des résidus ou qui colorent les selles.
- Se laver et désinfecter les mains avant la récolte de l'échantillon.
- Déféqueter dans un pot de crachat stérile et sec à bouchage hermétique pour récolter les selles.
- Les selles ne doivent surtout pas être mélanger aux urines.
- Les selles sont prélevées au moment des toilettes matinaux.
- Fermer hermétiquement et rapidement le pot qui contient l'échantillon.

Immédiatement, l'ensemble des échantillons recueillis sera transporté, dans une glacière contenant les sachets réfrigérants ($\approx 4^{\circ}\text{C}$), dans une période ne dépasse pas les deux heures afin d'être traité et examiné au laboratoire d'analyses microbiologiques le même jour. Dans cette pré-étude, nous avons recueilli dix échantillons des selles. Ceux-ci sont analysés au niveau de laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre.

V. Préparation de la solution mère

Dans des conditions d'asepsie (hôte microbiologique et bec bunsen), une solution de départ titrant 1/10 (10^{-1}) est préparée pour chaque échantillon des selles. Tout d'abord, une quantité de 2 g de matières fécales est pesée sur une balance électrique de haute précision, puis elle est remise dans un tube stérile (n° 01) qui contient 20 ml d'eau physiologiques stérile. Enfin, ce mélange est homogénéisé à l'aide de vortex. Nous avons laissé la suspension se reposer pendant 30 minutes afin de favoriser sa réactivation. Ensuite, à partir d'une solution mère, nous avons effectué des dilutions décimales, dans le but de faciliter le comptage et les observations microscopiques.

VI. Préparation des dilutions

Dans des conditions d'asepsie et sans oubli d'agiter les suspensions sur vortex, une série des dilutions est préparé pour chaque solution mère de tous les échantillons (**figure 12**) :

- En premier lieu, quatre tubes sont numérotés de 2 à 5 pour chaque échantillon des selles. Un volume de 18 ml de l'eau physiologique est remis dans tous tubes préparés.
- En deuxième lieu, un volume de 2000 μl (1000 μl = 1 ml) de solution mère homogène (10^{-1}) est prélevé à l'aide d'une micropipette aux embouts stériles et introduit dans le tube n° 2 pour obtenir la dilution 10^{-2} .
- En troisième lieu, un volume de 2000 μl de tube n° 2 homogène (10^{-2}) est transféré vers le tube n° 3 pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- Respectivement, les dilutions décimales 10^{-4} et 10^{-5} sont effectuées selon la démarche précédente.

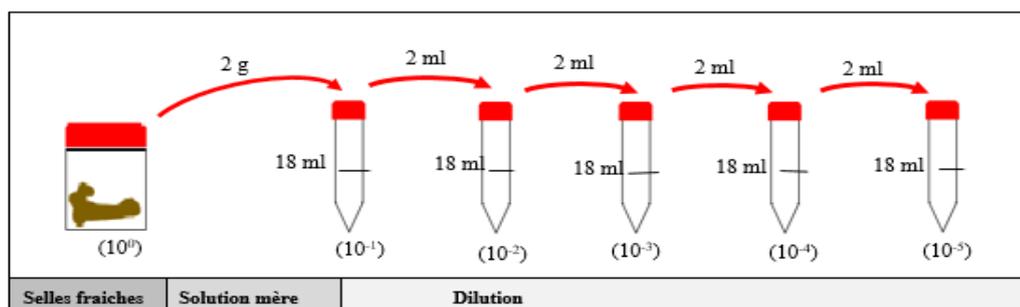


Figure. 12 : Méthode de préparation des dilutions décimales.

VII. Examen macroscopique

Il consiste à visualiser les caractères organoleptiques des selles (**annexe C**). Cet examen permet de noter la consistance (échelle de bristol), la couleur et la présence éventuelle de sang, de mucus ou d'autres éléments surajoutés et la présence de certains parasites (**World Health Organization 1993**).

VIII. Examen microscopique

L'examen microscopique englobe un examen à l'état frais (en l'eau physiologique et en solution iodo-iodurée) et un examen après coloration de Gram.

VIII.1. Observation directe des selles à l'état frais

On divise virtuellement la lame microscopique en deux parties afin de réaliser un examen en eau physiologique et un autre en iodo-iodurée (**figure 13**).

- **En eau physiologique :** D'abord, nous aurons prélevé des selles en superficie et en profondeur à différents endroits à l'aide d'une baguette en verre. Ensuite, nous aurons dilué ces particules de matières fécales dans de l'eau physiologique à 0,9%, où cette préparation ne doit pas être trop concentrée ni trop diluée. Enfin, nous aurons déposé une petite goutte de la solution mère entre lame et lamelle.
- **En iodo-iodurée :** Même procédure que l'examen précédent mais en délayant les matières fécales dans le Lugol.

La lecture observée les lames sous un faible grossissement (x10) afin de détecter les œufs et les larves des parasites intestinaux. Ensuite, il est conseillé de passer à un grossissement moyen (x40) pour examiner les formes végétatives et les kystes des protozoaires. Balayer toute la lame avec des mouvements en zig-zag soit de haut en bas soit de droite à gauche (**World Health Organization 1993**).

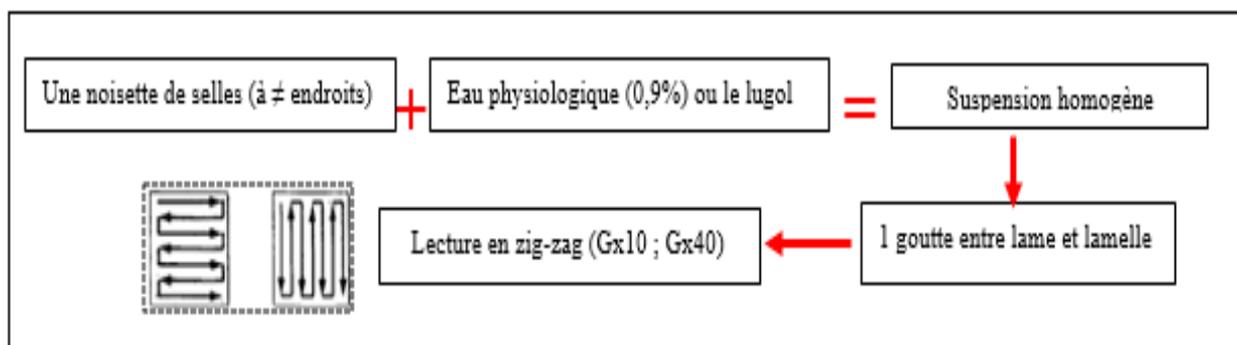


Figure. 13 : Etapes de préparation de l'observation à état frais des selles.

En général, l'observation microscopique à l'état frais se fait en lumière blanche : l'éclairage direct de la préparation ; le condensateur baissé si le microscope le permet ; le diaphragme fermé (lumière minimale) ; l'objectif x 40 à sec (sans huile). Pour la mise au point, l'objectif doit être réglé à environ 1 mm au-dessus de la lamelle.

VIII.2. Frottis des selles coloré au Gram

Pour la préparation du frottis, on suit les mêmes étapes de la préparation de la lame et le mélange de l'observation à l'état frais avec l'étalement et sans ajout de la lamelle. On fait passer la lame sur le bec bunsen quelquefois dans le but de sécher en évitant de brûler le frottis. La coloration de Gram comprend quatre principales étapes qui sont : la coloration primaire, le mordantage, le traitement par l'éthanol et la coloration secondaire (annexe D). En général, l'observation microscopique après coloration de Gram se fait en lumière blanche (lumière maximale) : le condensateur est monté jusqu'à la lame si le microscope le permet ; le diaphragme est ouvert (maximum de lumière) et l'objectif x 100 à immersion.

IX. Numération indirecte des microorganismes

Les protocoles cités en dessous sont repérés 2 fois pour toutes les dilutions de tous les échantillons. D'une façon décroissante, on commence tous jours par la solution la plus concentrée et on termine par la moins concentrée. Le **tableau 9** illustre les milieux (**annexe E**) et techniques d'ensemencement utilisés pour réaliser le dénombrement indirect de la flore intestinale.

Tableau. 9 : Milieux et techniques d'ensemencement.

Dénombrement	Milieu	Quantité	Instrument	Ensemencement	T°C	Durée
Germes aérobies totaux	Gélose PCA	2 boîtes : chacune contient 1 mL de dilution + gélose à 45°C.	Micropipette de 1000 µL	En masse	37	48 h
Levures et moisissures	Gélose OGA	2 boîtes : chacune contient 0,1 mL de dilution + gélose à 45°C.	Micropipette de 100 µL Râteau stérile à l'aide d'une pipette Pasteur	En surface par étalement	37	3 à 5 J
Bactéries lactiques	Gélose MRS	2 boîtes : chacune contient 1 ml de dilution + gélose à 45°C.	Micropipette de 1000 µL	En masse	37	48 à 72 h
Entérobactéries	Gélose VRBL	2 boîtes : chacune contient 1 ml de dilution + gélose à 45°C.	Micropipette de 1000 µL	En masse	37	24 h

Dans ce cadre, on utilise les techniques de numérotation suivantes :

- ❖ **Ensemencement en masse** : À l'aide d'une micropipette, un volume de 1000 µl de chaque tube de dilution homogène est prélevé aseptiquement et déposé dans le fond d'une boîte de Pétri vide et stérile, puis la gélose en surfusion (45° C) est versée. L'inoculum et le milieu

sont bien homogénéisés par des mouvements circulaires de la main, dans un sens, puis dans l'autre. Après solidification, les boîtes de Pétri sont incubées retournées.

- ❖ **Ensemencement en sur face** : En règle générale, on coule la boîte de Pétri avec le milieu de dénombrement fondue et on le laisse solidifier complètement pendant au moins 15 minutes. À l'aide d'une micropipette à cône stérile, on dépose 100 µl de suspension diluée et homogénéisée sur la gélose sèche, puis on étale bien ce volume avec la pipette râteau stérile du centre vers les bords où on inonde la totalité de la plaque gélosée sans toucher la paroi de la boîte de Pétri pour ne pas compliquer l'analyse du résultat obtenu par la suite. On laisse la boîte inondée pendant quelques minutes afin que la gélose puisse absorber l'humidité à la surface. En dernière étape, la boîte est retournée et incubée à 37°C dans l'étuve (**figure 14**).

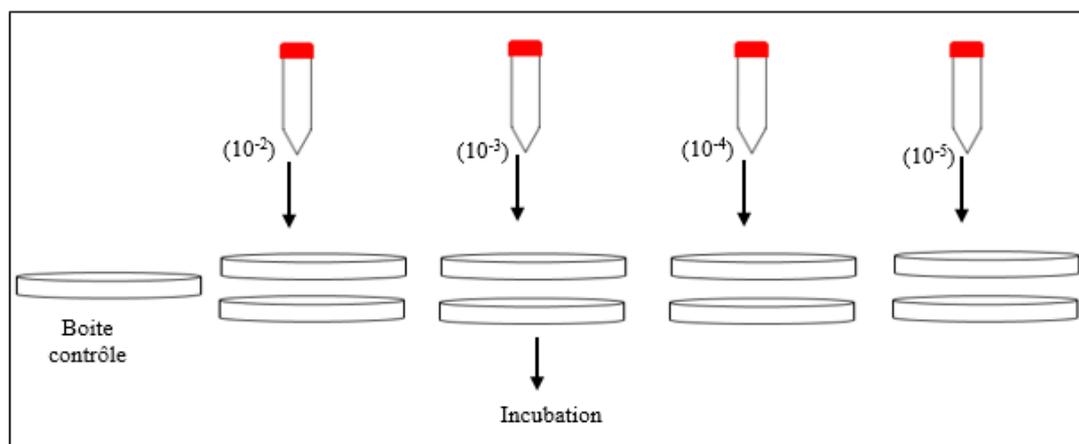


Figure. 14 : Dénombrement de la flore intestinale en milieu solide.

Selon la norme française XPV08-102, le décompte des colonies doit être réalisé de la manière suivante : chaque boîte sélectionnée ne doit contenir pas plus de 300 colonies et doit en contenir au moins 15 colonies (**annexe F**).

Partie II : Extraction, composition et effet de la gamme arabique

1.1 Objectifs

Dans cette partie, notre objectif est d'analyser et cribler la composition chimique de la gamme arabique et également d'étudier l'activité antibactérienne.

2.1 Extraction de la gamme arabique

2.1. Préparation de poudre

La gomme arabique a été bien lavée. Le séchage se fait à l'étuve à l'abri de l'humidité à température 45° pendant 3 jours après ça, est broyant la matière végétale séchée dans un moulin

électrique, et la poudre est conservée dans des bouteilles en verre scellées jusqu'à ce qu'elle soit utilisée.

2.2. Préparation des extraits aqueux

On a préparé l'extrait aqueux par méthode de macération (Coppen et Hone 1995). On ajoute à 100 ml d'eau distillé stérile avec 10 g de la gamme arabique, puis on laisse ce mélange à température ambiante du laboratoire, pendant 24 heures, et enfin on le filtre par un papier filtré.

3.1 Compositions chimiques

Les extraits ont été utilisés dans la détection de différents groupes chimiques : Tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, savon et les composés réducteurs (tableau 10).

Tableau. 10: Tests de criblage chimique de l'extrait aqueux de la gamme arabique (Azzi 2013; Benbott et al. 2021).

Groupe chimiques	Extrait (ml)	Réactifs	Indicateur de presence
Alcaloïdes	1	5 gouttes du réactif de Wagner Réactifs de Wagner (annexe G)	Précipité brun
Tanins	5	1 ml de FeCl ₃ 1%	Couleur bleu-vert (tanins Cathéchique) ou noir bleu-noir (tanins Gallique)
Flavonoïdes	5	1 ml HCl et 0,5 g de Mg (lire pendant 3 min)	Rose ou rouge
Anthocyanes	2	2 ml HCl (2N) avec quelques gouttes d'ammoniac	Couleur s'accroît par acidification puis vire de couleur une autre fois
Saponosides	10	Agitation violente et horizontale	Hauteur de mousse > 2 cm
Composés réducteurs	2	2 ml de liqueur de Réactif de Fehling (20 gouttes, annexe G)	Après 8 min dans un bain mari, Précipité rouge-brique

I.1. Activité antibactérienne de la gamme arabique

Pour évaluer l'effet antibactérien de la GA, nous avons réalisé des tests de résistance/sensibilité, par la méthode de diffusion en disque, sur différentes souches bactériennes, notamment *les lactobacillus d'origine selles, yaourt et lait* ; *E. coli d'origine selles* ; *Protues mirabilis d'origine urines* ; *Bacillus subtiles* : ATCC 6633 et *Staphylocoques aureus*: ATCC6538, aux solutions des différentes concentrations de la GA.

- ❖ **Préparation des solutions de différente concentration de la gamme arabique :** On a préparé trois solutions de la GA : 0,1 (10%) ; 0,2 (20%) et 0,3 g/ml (30%).
- ❖ **Préparation des disques :** Les disques sont préparés à partir de papier wattman, avec un diamètre de 6 mm. Ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.
- ❖ **Ensemencement :** On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne standardisée. Ensuite, on élimine l'excès de l'extrait et on frotte l'écouvillon sur la totalité de

la surface de gélose Müeller-Hinton (annexe J), de haut en bas ; on répète l'opération plusieurs fois, en tournant la boîte de Pétrie de 90° à chaque fois, sans oublier de faire tourner l'écouvillon sur lui-même. Pour finir l'ensemencement, on passe l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- ❖ **Disposition des disques chargés sur la gélose :** Les disques de papiers stériles ont été immergés dans les solutions de gommes et déposés sur les boîtes contenant de gélose MH préalablement ensemencés avec les souches à tester. Pour assurer la pré-diffusion, on laisse les boîtes 30 min à température de laboratoire, puis on retourne les boîtes et on les incube à 37°C durant 24 h.
- ❖ **Lecture :** L'action inhibitrice de la gamme arabique se traduit par la formation d'une zone d'inhibition (halo) autour de chaque disque. La lecture est réalisée à l'aide d'une règle.

Partie III : Effet d'incorporation de la gamme arabique sur les paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait fermenté type yaourt

I. Objectif

Notre objectif principal est d'étudier l'effet d'addition de la gamme arabique au lait de vache et au yaourt nature.

II. Echantillonnage et prélèvement

Un échantillon de 150 cl de lait cru (vache saine et non traitée par les antibiotiques) d'une collecte matinale a été récupéré chez un ménage rural de la commune d'Ahel elksar de Bouira.

Pendant le processus de prélèvement de lait cru, on suit les instructions de désinfection citées par (Firdaus 2017) pour réduire le risque de contamination par les micro-organismes présents sur la peau et les seins de chèvre et sur les mains de l'échantillonneur.

Après avoir nettoyé la tétine avec un coton imbibé d'éthanol à 70 %, on jette la première goutte de lait pour éviter la contamination. L'échantillon est recueilli proprement le matin dans des flacons stériles de 50 cl - soigneusement étiquetés (lieu et date de prélèvement) - qui sont placés dans une glacière contenant des blocs de glace et transportés vers le laboratoire où ils sont analysés.

III. Tests de qualité

Les suspensions mères sont préparées à partir de lait cru et de yaourt (1 ml de lait dans 9 ml de l'eau physiologique). Les dilutions préparées sont de 10^{-1} à 10^{-5} . Le dénombrement d'une éventuelle flore bactérienne évolutive à partir des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} et la recherche de

quelques bactéries pathogènes ont été réalisés afin d'évaluer la qualité microbiologique du lait cru et de yaourt (**tableau 11**).

Tableau. 11 : Tests de qualité de lait de vache et de yaourt.

Recherche et dénombrement	Gélose	Ensemencement	Incubation	Résultat positif
Flore mésophile aérobie totale	PCA	En masse	72 h à 37°C	1000 µL de lait cru + milieu en surfusion → Colonies
Coliformes fécaux	VRBL	En masse	48 h à 37°C	1000 µL de lait cru + milieu → Colonies
<i>Staphylococcus pathogènes</i>	Chapman	En surface	24 h à 37°C	Les colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol, Les autres espèces de <i>Staphylococcus</i> donnent des colonies plus petites, rosées et n'entraînant pas de virage du couleur.
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Viande de foie	En tube	48 h à 37°C	5 ml de lait pasteurisé + 15 de VF + sulfite de sodium + alun de fer + paraffine → Colonies entourés d'un halo noir.
<i>Levures et champignons</i>	OGA	En surface	72 h à 37°C	Milieu solidifié + 100 µL de lait cru → Colonies
<i>Lactobacilles</i>	MRS	En masse	24 h à 37°C	1000 de lait cru + milieu en surfusion → Colonies

4.1 Préparation des yaourts

4.1. Lait de vache additionné par gamme arabique

Un litre de lait de vache cru réchauffé à 37 °C, puis il est reparti en 20 pots stérile de 50 ml. La poudre de la gamme arabique est ajoutée au lait à un taux de 0% (0 g), 1% (0,5 g), 2 % (1 g) et 3 % (1,5 g) respectivement.

Les pots des différentes préparations (**figure 15**) sont sertis avec du papier aluminium et orientés la fermentation pendant un jour dans une étuve réglée à 45°C. Après, ces échantillons sont conservés au froid à 4°C pendant 21 jours.

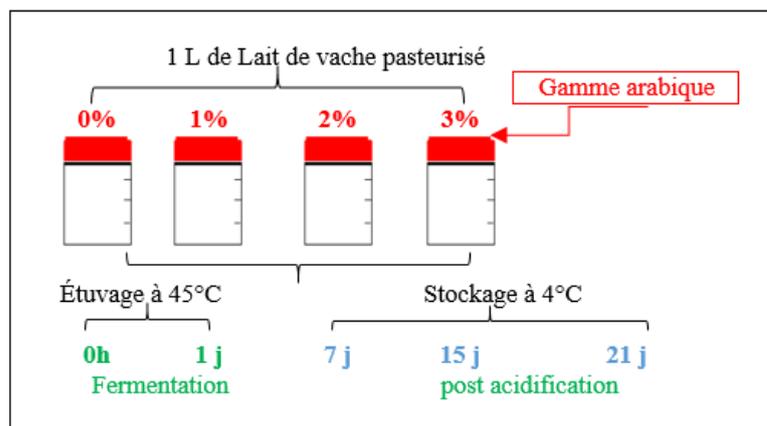


Figure. 15 : Diagramme de fabrication du lait fermenté enrichi par la gamme arabique.

4.2. Yaourt nature additionné par la gamme arabique

La poudre de la gamme arabique est ajoutée au yaourt nature (**annexe H**) fabriqué très récemment à un taux de 0% (0 g), 1% (0,5 g), 2 % (1 g) et 3 % (1,5 g) respectivement. Les 20 pots sont conservés au froid à 4°C pendant 21 jours (**figure16**).

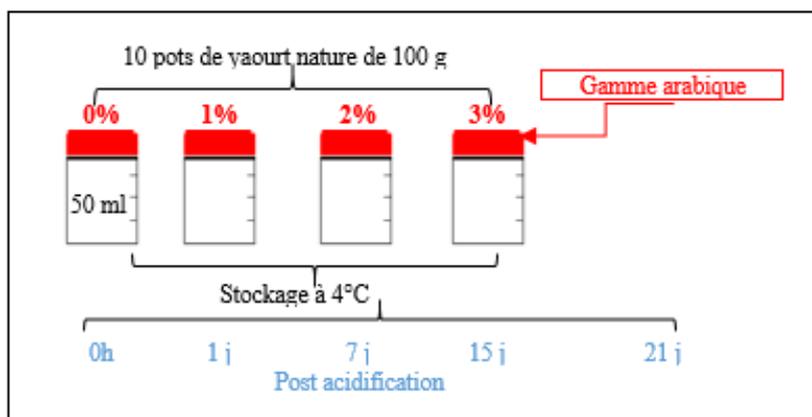


Figure. 16 : Diagramme de fabrication du yaourt enrichi par la gamme arabique.

5.1 Analyses physico-chimiques des préparations

5.1. Détermination du pH

La mesure du pH qui s'effectue à une température du lait à 20°C sur un pH-mètre étalonné par des solution base et acide. Avant chaque mesure l'électrode du pH-mètre est rincée avec l'eau distillé et séchée avec du papier absorbant. La mesure est effectuée en immergeant la pointe de l'électrode dans les préparations de temps zéro jusqu'au 21 jours.

5.2. Détermination de l'acidité

L'acidité est déterminée d'une façon précise par titration de 10 ml d'une prise de préparation lactique, qui contient l'acide lactique, à l'aide d'une soude caustique NaOH préparée à 1/9 N (la

dissolution de 4,445 g d'hydroxyde de sodium en pastilles dans un litre d'eau distillée) en présence de 4 à 5 gouttes de phénophtaléine comme indicateur de couleur, et la limite de neutralisation est indiquée par le virage du milieu au rose pale. La formule suivante est employée pour effectuer le calcul de l'acidité : **Acidité Dornic** ($^{\circ}D$) = $V_{NaOH} \times 1$. V_{NaOH} est le volume de soude s'écoulant pour titrer 10 ml ; $1^{\circ}D = 0,1$ g/l d'acide lactique.

5.3. Viscosité

La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube en verre équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisé (le poids = 14,998g, la masse volumique $C_1 = 8,129\text{g/cm}^3$ et le constant en fonction de la densité de la bille $K = 0,6453 \text{ m.p.s.cm}^3/\text{g.s}$). La viscosité dynamique ($V \text{ m.p.s}$) consiste à introduire la bille dans le tube rempli de yaourt ou de lait fermenté, cette bille parcourt une distance durant un temps (T) est effectuée par un chronomètre. La formule suivante est utilisée pour déterminer la viscosité : $V = K (C_1 - C_2) \times T$. Où ; C_2 : la masse volumique de yaourt ou lait g/cm^3 et T : le temps parcouru par la bille entre deux pots A et B.



Figure. 17 : Viscosimètre à chute de bille (Thermo).

5.4. Détermination de la matière sèche

Le principe de la méthode utilisée consiste à une dessiccation à l'étuve à $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 3 heures, d'une quantité déterminée de préparations (5 ml) dans une coupelle préalablement pesée, suivie d'une pesée du résidu sec total après refroidissement dans un dessiccateur garni d'anhydride phosphorique. La valeur de la matière sèche totale (MST), exprimée en g/l de lait ou de yaourt, est donnée par la relation suivante : $MST = \left(\frac{M_1 - M_0}{V} \right) \times 100$

Avec : M_1 : la masse en gramme, de la coupelle et du résidu après dessiccation et refroidissement. M_0 : la masse en gramme, de la coupelle vide. V : le volume en millilitres, de la prise d'essai.

Partie IV : Evaluation des aptitudes probiotiques de lactobacilles in vitro

I. Objectifs

L'objectif de cette partie consiste à évaluer la pharmacocinétique de lactobacilles isolés du lait de vache, de selles et du yaourt in vitro dans des conditions similaires à celles du transit digestif et d'étudier quelques propriétés probiotiques.

II. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour effectuer ce travail est le suivant :

- **Provenance des bactéries lactiques** : l'isolement des souches lactobacilles a été effectué à partir de lait de vache, de selles et de yaourt nature, et la conservation a été réalisée à une température de 4°C.



Figure. 18 : Provenance des bactéries lactiques.

- ❖ **Provenance des souches pathogènes** : Les souches pathogènes utilisées durant ce travail ont deux origines différentes (**tableau 12**).

Tableau. 12 : Origine des souches pathogènes.

Souches	Origine ou référence
<i>Protues mirabilis</i>	Urines
<i>Bacillus subtiles</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538

- ❖ **Cellules épithéliales intestinales** : Les cellules épithéliales de poulet de chair ont été préparées au niveau de laboratoire et elles ont servi pour étudier la capacité d'adhésion in vitro de notre souche lactique.



Figure. 19 : Cellules épithéliales de poulet de chair.

III. Isolement et purification des isolats

L'isolement 'Isolement a été effectué en utilisant des boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS, préalablement coulée et solidifiée. En portant 100 µl des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 48h en conditions d'anaérobiose. Les bactéries lactiques sont généralement des micro-aérophiles ; leur incubation en anaérobiose a été assurée par la mise des boites de Pétri dans du papier film. La purification conduira à une souche pure est d'une importance capitale, toutefois elle est très délicate et comporte plusieurs étapes. Cette phase consiste à réaliser des trois repiquages successifs sur gélose MRS (quadrant), avec une incubation à 37°C pendant 24 h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, Les souches présentent une apparence homogène en termes de forme et de couleur, ce qui indique leur pureté.

Premièrement, les boîtes de Pétri sont examinées à l'œil nu (examen macroscopique), puis on procède directement à la coloration de Gram (examen microscopique) et à la vérification de l'absence de la catalase et de l'oxydase. Les colonies qui ont satisfait à ces trois premiers critères sont ensuite soumises à une deuxième et à une troisième série de repiquages successifs jusqu'à atteindre une pureté totale. Par la suite, les souches purifiées sont soumises aux tests préliminaires énumérés ci-dessous. La classification des bactéries en fonction de leur Gram, de leur morphologie et de leur mode d'association a été réalisée à l'aide de la coloration de Gram. À partir du troisième repiquage, on prélève de chaque boîte de Pétri 4 à 5 colonies qu'on va introduire par piqûre centrale dans un tube de conservation contenant du bouillon nutritif à pH 6,2, puis incubé pendant 24 h à 37°C. Après leur croissance à leur température optimale, les cultures sont conservées à une température de +4°C, et les souches sont régulièrement renouvelées par repiquage tous les 4 jours.

IV. Caractérisation des lactobacilles isolées

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques (**tableau 13, 14 et 15**).

Tableau. 13 : Tests physiologiques.

Paramètres	Bouillon	Conditions	Résultats
Températures	Bouillon nutritif	Après inoculation du bouillon par les cultures pures, les tubes sont incubés pendant 24h à 48h aux températures 10°C, 39°C et 45°C, au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux	Les mésophiles poussent à 10°C alors que les thermophiles ne le font pas.
NaCl	Bouillon à 4% et à 6,5% de NaCl	Les cultures à tester ont étéensemencées sur des bouillons hypersalés, puis elles sont incubées à 37°C pendant 24h.	Croissance + (présence de trouble) Croissance - (absence de trouble)

Tableau.14 : Tests biochimique ; les enzymes bactériennes.

Enzymes	Produits		Résultats positif
Catalase	Eau oxygénée à 10V	/	Catalase ⁺ → Dégagement gazeux abondant sous forme de mousse Catalase ⁻ → Absence de gaz
Oxydase	Disque d'oxydase (OX)	/	Phénylène diamine oxydase ⁺ → composé rose/violet Phénylène diamine oxydase ⁻ → réactif incolore

Tableau.15 : Tests biochimique ; les métabolites.

Test	Milieu	Condition		Résultat
Coagulation	Lait écrémé stérile	24 h à 37°C	Le lait a été réparti en tubes. Chaque tube reçoit une culture à tester.	Coagulation + Coagulation -
Production d'acétoïne	Vogues Proskauer	10 min	5 gouttes des deux réactifs VPI et VPII ont été ajoutés à chaque tube coagulé, suivi d'une agitation.	Acétoïne ⁺ : virage rose puis rouge Acétoïne ⁻ : absence de virage
Croissance en milieu très oxydant	Lait de Sherman	24-48h à 37°C	Chaque culture à tester a étéensemencée dans le lait écrémé au bleu de méthylène à 0,1% et à 0,3%.	Réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait.
Type fermentaire	Milieu Gibson-Abdelmalek Gélose blanche	24 h à 37°C	Chaque culture à tester a étéensemencée dans le milieu Gibson-Abdelmalek, puis l'ajout de gélose blanche dans chaque tube de culture.	Homo-fermentation : Continuité entre le milieu et la gélose blanche. Hétéro-fermentation : Discontinuité entre le milieu et la gélose blanche (+ gaz).
Profil fermentaire des sucres	Milieu TSI	24 h à 37°C	Le milieu TSI a étéensemencé par les cultures bactériennes. Une couche de vaseline stérile a été versée à la surface du milieu pour favoriser l'anaérobiose.	Le virage de l'indicateur coloré traduit la fermentation du sucre testé.

V. Standardisation de l'inoculum

Trois à quatre colonies de la souche étudiée a été inoculé dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubé à 37°C pendant 18 h. Un ml de la souche étudiée a été inoculé dans 10 ml de l'eau physiologique. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm pour obtenir une charge bactérienne de 10⁸ UFC/ml. L'inoculum peut être modifié en ajoutant de la culture si son niveau est insuffisant, ou

de l'eau physiologique stérile si son niveau est trop élevé. Il est recommandé de réaliser l'ensemencement dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum.

VI. Aptitudes probiotiques

VI.1. Résistance aux pH gastrique

La capacité de survie de la souche dans un environnement acide a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (Kaewnopparat *et al.* 2013). Brièvement, 0,5 ml de la culture jeune a été introduit dans 5 ml de bouillon nutritif déjà ajusté à pH = 2, pH = 3, pH = 4 et pH 5,8. La résistance de la bactérie à ce facteur hostile a été estimée par la lecture de la densité optique à 620 après incubation de 2 h à 37°C. Le pourcentage de survie a été calculé par la comparaison des valeurs de la DO de la culture dans le bouillon nutritif à différents pH: $survie \% = \left(\frac{DO\ pH\ acide}{DO\ pH=5,8} \right) \times 100$

VI.2. Résistance aux sels biliaries

Nous avons utilisé le protocole décrit par (Handa *et Sharma* 2016) pour évaluer la résistance de la bactérie aux sels biliaries . 0,5 ml de la culture bactérienne jeune de 18 h a été inoculé dans 5 ml du bouillon nutritif à 0,3% de sels biliaries, suivi d'une incubation à 37°C pendant 4 h. Un témoin a été préparé dans les mêmes conditions. Le taux de survie a été déterminé par la mesure de la DO à 620 nm, en comparant les valeurs de la DO de la culture sur bouillons nutritif avec et sans sels biliaries. L'équation suivante a été appliquée : $survie \% = \left(\frac{DO\ sels\ biliaries}{DO\ témoin} \right) \times 100$

VI.3. Test d'auto-agrégation

Le culot bactérien de la souche incubé à 37°C pendant 18h a été récupéré par centrifugation (6000 rpm/10 min) et lavé deux fois avec du PBS (7.2) ; puis mis en suspension dans 4 ml du même tampon ; une agitation de 10 secondes a été procédée et l'absorbance de la suspension initiale a été ajustée à 0.6. Après une incubation à 37°C pendant 3 h, l'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde de 620 nm. Le pourcentage d'auto-agrégation a été exprimé en fonction de temps, en appliquant la formule (Dias, Duarte, *et Schwan* 2013) :

$Autoagrégation \% = [1 - (A_t - A_o) \times 100]$ Avec A_t : DO à t d'incubation et A_o : DO à t_o .

VI.4. Capacité d'adhésion aux cellules épithéliales

Ce test a été réalisé dans le but d'évaluer la capacité de la souche d'adhérer aux cellules épithéliales. La méthode décrite par (Lin *et Chien* 2007), a été appliquée et modifiée selon les étapes suivantes :

1. **Préparation de cellules épithéliales** : Un segment de l'intestin du poulet a été bien lavé par une solution de chlorure d'hydrogène (HCl) de concentration 6%, placé dans un bain de l'eau physiologique et soumis à une réfrigération à 4°C pendant 30 min afin de faciliter la récupération des cellules. Les cellules ont été récoltées en grattant la surface interne de l'intestin avec une lame stérile, Des dilutions décimales ont été effectuées jusqu'à une dilution de 10^{-4} . Ensuite, la suspension cellulaire obtenue a été examinée au microscope afin de vérifier qu'elle ne présentait aucune contamination
1. **Préparation des cellules bactériennes** : Le culot bactérien de la culture d'une nuit (18h) a été récupéré par centrifugation à 6000 rpm pendant 10 min ; suivi par deux lavages avec l'eau physiologique, le culot a été repris dans 2 ml de même solution suivis d'une observation microscopique (Gx100).
2. **Réalisation de test** : 1 ml de la suspension bactérienne a été mélangé avec 1 ml de la suspension des cellules épithéliales déjà préparées. Après l'incubation à 37°C pendant 45 min ; un frottis coloré avec le Violet de gentiane pendant 5 min a été réalisé. Le test est considéré positif si le nombre de cellules adhérees est supérieur à 15.

VI.5. Activité antibactérienne des lactobacilles isolées

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne, la gélose nutritive molle inoculée avec 20 µl d'une culture jeune de souches pathogènes. Après solidification, différents puits sont creusés et puis remplis par 50 µl du surnageant obtenu en centrifugeant de cultures bactériennes de 24 heures. Le diamètre de la zone d'inhibition entourant les puits a été mesuré et une zone claire de 1 mm ou plus a été considérée comme une inhibition positive.

VI.6. Sensibilité aux antibiotiques des lactobacilles isolés

La résistance des isolats aux antibiotiques a été réalisée selon (Das, Khowala, et Biswas 2016). Les antibiotiques utilisés sont : PIP (30 µg) ; CRD (30 µg) ; ERY (15 µg) et TE (30 µg). Les tests ont été réalisés en doublé et les diamètres de zone d'inhibition de croissance (mm), s'il y en a, ont été notés.

VI.7. Effet de la gomme arabique sur la croissance des lactobacilles isolées

A. Croissance des Lactobacilles dans les différentes solutions de gomme arabique

Dans des tubes contenant 5 ml de l'eau physiologique supplémentée par la poudre de la GA à 0%, 1% et 2% et 3%, ces milieux ont été stérilisés en autoclave. 100 µl de chaque culture bactérienne jeune standardiser. Après incubation pendant 24 h à 37 °C, la croissance des souches

a été examinée en mesurant les densités optiques par spectrophotomètre réglé à 620 nm et équipé d'une cuvette de 1 cm (**Bouguerra, 2021**).

B. Croissance des Lactobacilles dans le yaourt additionné de 3% de la gomme arabique

La gélose MRS est utilisée pour le dénombrement *des Lactobacillus* dans les préparations de 3% de gomme arabique du premier jour jusqu'au 21 jours de conservation à 4°C.

Chapitre II :

Résultats et discussions

I. Présentation des cas-témoins

Le **tableau16** illustre certaines informations sur la population de pré-étude microbiologique. Notre échantillon inclut des sujets diabétiques, des sujets touchés par les maladies infectieuses ou inflammatoires. Ces personnes ont un poids normal ou une surcharge pondérale.

Tableau. 16 : Paramètres de la population de pré-étude microbiologique.

E	Maladie	Age (ans)	sexe	Poids (kg)	Taille (cm)	IMC(Kg/m ²)	Corpulence	Médicaments
E1	Saine	24	F	55	1,64	20,45	Normal	Aucun
E2	Pré-diabétique	55	H	73	1,73	24,39	Normal	Aucun
E3	Obese	26	F	120	1,68	42,52	Obésité	Aucun
E4	Diabétique	65	H	90	1,8	27,78	Surpoids	Anti-diabète
E5	Diabétique	59	F	167	1,67	59,88	Obésité	Anti-diabète
E6	Tuberculose ganglionnaire	35	F	50	1,64	18,59	Normal	Antibiotique
E6*	Après 8 moi de traitement	36	F	56	1,64	20,82	Normal	Aucun
E7	Arthrose	60	F	56	1,66	20,32	Normal	Anti-inflammatoire
E8	Saine	13	F	38	1,48	17,35	Maigre	Aucun
E9	Diabétique	46	F	60	1,50	26,67	Surpoids	Anti-diabète
E10	Vitiligo	31	F	60	1,6	23,44	Normal	Immunosuppresseur

II. Examen macroscopique des selles

L'examen macroscopique (**tableau 17**) sous la lumière des échantillons de selles fraîches recueillis a démontré une différence entre la texture et la couleur, une présence des résidus alimentaires, une absence de formes parasitaires visibles à l'œil nu ainsi qu'une absence totale du sang, des glaires dans les différents échantillons.

Tableau. 17 : Résultats de l'observation macroscopique des échantillons recueillis.

Echantillon	Consistance			Couleur				Macroparasites	Résidus alimentaire	Eléments surajoutés		
	S-solide	Solide	Liquide	Brune	Sombre	Claire	Autre			Mucus	Sang	Autres
E1		+		+				-	+	-	-	-
E2	+			+				-	++	-	-	-
E3	+			+				-	+	-	-	-
E4	+			+				-	+	-	-	-
E5			+	+				-	-	-	-	-
E6	+						+	-	+++	-	-	-
E6*	+			+				-	+	-	-	-
E7	+			+				-	+	-	-	-
E8		+		+				-	+++	-	-	-
E9	+			+				-	+	-	-	-
E10	+			+				-	+	-	-	-

Nos résultats montrent qu'il existe une différence de couleur des selles. Les selles peuvent prendre différentes couleurs selon les aliments consommés, les médicaments pris ou l'état de santé de chacun. Toutes les selles sont de couleur normale, par contre les selles de patient E6 sont colorées à cause de traitement par les antibiotiques anti-tuberculose. Ainsi, les selles du patient tuberculeux (E6*) a pris une couleur brune ordinaire après l'arrêt du traitement.

La consistance de la matière fécale dépend de la vitesse à laquelle la matière a traversé l'intestin. Les selles de la majorité des personnes inclus dans notre étude sont semi-solides, à l'exception de celles des personnes E₁ et E₈ qui sont solides et celles de la personne E₅ qui sont liquides avec une forte odeur (**figure 20**).

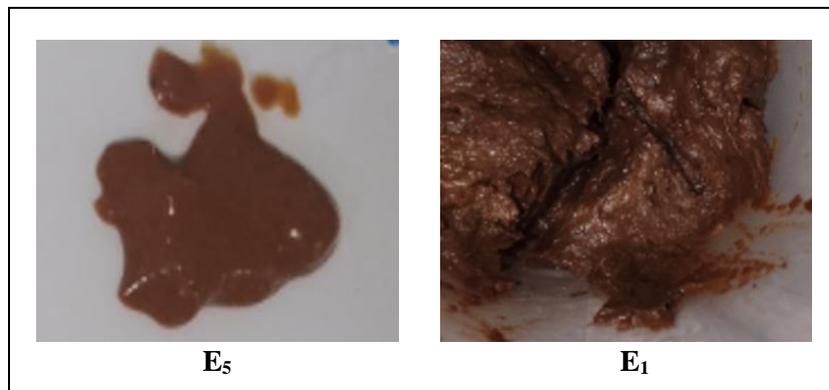


Figure.20 : Aspects et consistance des selles des personnes E₅ et E₁.

Physiquement, les personnes E₁ et E₈ sont plus jeunes, considérées comme des sujets sains non obèses et généralement les jeunes mangent une variété d'aliments constipants (les frites, les boissons gazeuses et etc.) et ils ne boivent qu'une petite quantité d'eau.

L'alimentation joue un rôle important sur le transit intestinal puisque les cellules microbiennes produisent de nombreuses enzymes nécessaires à la digérer les glucides et les protéines dans le côlon, ce que les cellules hôtes humaines ne peuvent pas. Le régime alimentaire a une forte influence sur la composition et la diversité microbiennes (**Kushugulova et al. 2018**). De nombreuses études in vivo et cliniques ont mis en évidence l'impact de la consommation de certains aliments sur la composition du microbiote intestinal (**Luu, 2018**). Par exemple, les régimes riches en graisses, les acides gras polyinsaturés et la viande ont été associés à une augmentation du risque de maladie intestinale. Ce risque de maladie intestinale inflammatoire pourrait être diminué en modulant la structure de la communauté du microbiote intestinal et/ou son métabolome avec un régime végétarien (**Gagliardi et al., 2018**). Généralement, un régime alimentaire riche en fibres conduit à un microbiote plus diversifié et stabilisé (**Frayssinhes 2017**). Le profil du microbiote intestinal peut être modulé par la consommation des probiotiques et des prébiotiques (**Luu, 2018**).

Les selles seront liquides si le transit est accéléré, ainsi la femme diabétique obèse a une diarrhée permanente. Les personnes atteintes de diabète présentent des symptômes digestifs plus fréquemment que le reste de la population générale, allant de 42 % à 76 %. Les principales maladies affectant le tractus gastro-intestinal inférieur et représentées par le tractus intestinal

sont la constipation, la diarrhée et l'incontinence fécale. Chez les Tunisiens (2022), la fréquence globale des symptômes digestifs était de 44,8%, principalement les ballonnements (18,9%), la diarrhée (11,7%), la constipation (8,6%), le syndrome du côlon irritable (8,6%) et l'incontinence fécale (8,2%) (**Harrabi et al., 2022**).

De surcroît, on remarque une variation dans l'apparition des fibres chez les différents patients : la quantité des fibres alimentaires est très visible chez le patient atteint le tuberculose E₆ et le patient sain E₈, moyennement visible chez la totalité des patients, mais elle n'est pas visible chez le patient diabétique obèse (E₅).

En général, les fibres alimentaires animales et végétales ne peuvent être digérées complètement et il est possible que les fibres insolubles ne changent pas beaucoup au cours de leur parcours digestif. Le patient E₈ a une constipation et une mal digestion des aliments consommés ce qui indique la présence d'un problème gastro-intestinal chez ce sujet. Au cours de traitement par les antibiotiques, le patient E₆ a des problèmes digestifs, car ses selles contiennent un grand morceau des aliments. Après le traitement, la digestion du patient E₆*est très améliorée et cela est démontré par la diminution des débris alimentaires dans ses selles (**figure 21**).



Figure. 21: Observation macroscopique des selles de la personne qui atteint le tuberculose .

L'antibiothérapie est une des grandes innovations dans les domaines de la médecine, de la santé publique et de l'agriculture. Un antibiotique est une substance qui permet l'empêchement de croissance et la destruction des bactéries présente dans le corps humain. Des études précliniques et cliniques ont constaté que les antibiotiques peuvent altérer la composition, la diversité, ainsi que les fonctions du microbiote intestinal humain, causant des désordres rapides et parfois persistants. Chez quatre adultes sains, la clindamycine a provoqué une perte dramatique de la diversité et de la représentation de certaines espèces du genre *Bacteroides*, ainsi qu'une augmentation des souches résistantes aux antibiotiques, lorsqu'elle a été administrée pendant une semaine (**Jernberg et al., 2007**).

III. Examen microscopique des selles

III.1. Etat frais des selles

L'examen microscopique permet de révéler les leucocytes fécaux, la mobilité par ciliature polaire (pathogènes), les formes végétatives et kystiques des protozoaires et des larves d'helminthes. En fonction du résultat obtenu (**tableau 18**), on note une absence totale de ces éléments sauf les débris alimentaires qui sont présents en grande quantité.

Tableau. 18 : Résultats de l'examen à l'état frais des échantillons.

Echantillons	Leucocytes fécaux.		Mobilité par ciliature polaire (pathogènes)		œufs et larves d'helminthes		Formes végétatives et kystiques des protozoaires		Débris	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
E1		-		-		-		-	(+ fibres)	
E2		-		-		-		-	(+ fibres)	
E3		-		-		-		-	(+++ fibres)	
E4		-		-		-		-	(+ fibres)	
E5		-		-		-		-	(+++ fibres)	
E6		-		-		-		-	(+++ fibres)	
E6*		-		-		-		-	(+ Graisse)	
E7		-		-		-		-		(-)
E8		-		-		-		-	(+++ fibres)	
E9		-		-		-		-	(+Graisse)	
E10		-		-		-		-	(+ Amidon)	

La **figure 22** montre que presque tous les échantillons des selles sont riches en fibres alimentaires. Cependant la charge en débris alimentaire est plus élevée chez les E₈, E₆, E₅ et E₃, moins chargé que chez les E₁ et E₂, E₄, E₆* et absent chez le E₇. Ces débris peuvent être issus de la digestion ou bien d'autres processus métaboliques, ou l'existence d'une déficience fonctionnelle digestive.

En plus, une grande quantité des graisses est presque identique chez les patients obèses E₃, E₅ et E₆* contrairement aux autres patients. De façon générale, la présence excessive de graisses non digérées est traduite par un déficit de bile ou de sucs pancréatiques ou un défaut d'absorption intestinale. La flore intestinale joue un rôle important dans la dégradation des selles biliaires et un dysfonctionnement de cette flore peut induire donc un problème de digestion des graisses alimentaire. Ces résultats montrent également la présence d'amidons dans les selles de E₅, dont l'augmentation traduit une accélération du transit intestinal ou une destruction de la flore

colique, chez ce patient, la diarrhée est observable, une complication fréquente du diabète de type 2, leurs causes sont multifactorielles et restant mal connues (**Piche et Hébuterne, 1998**).

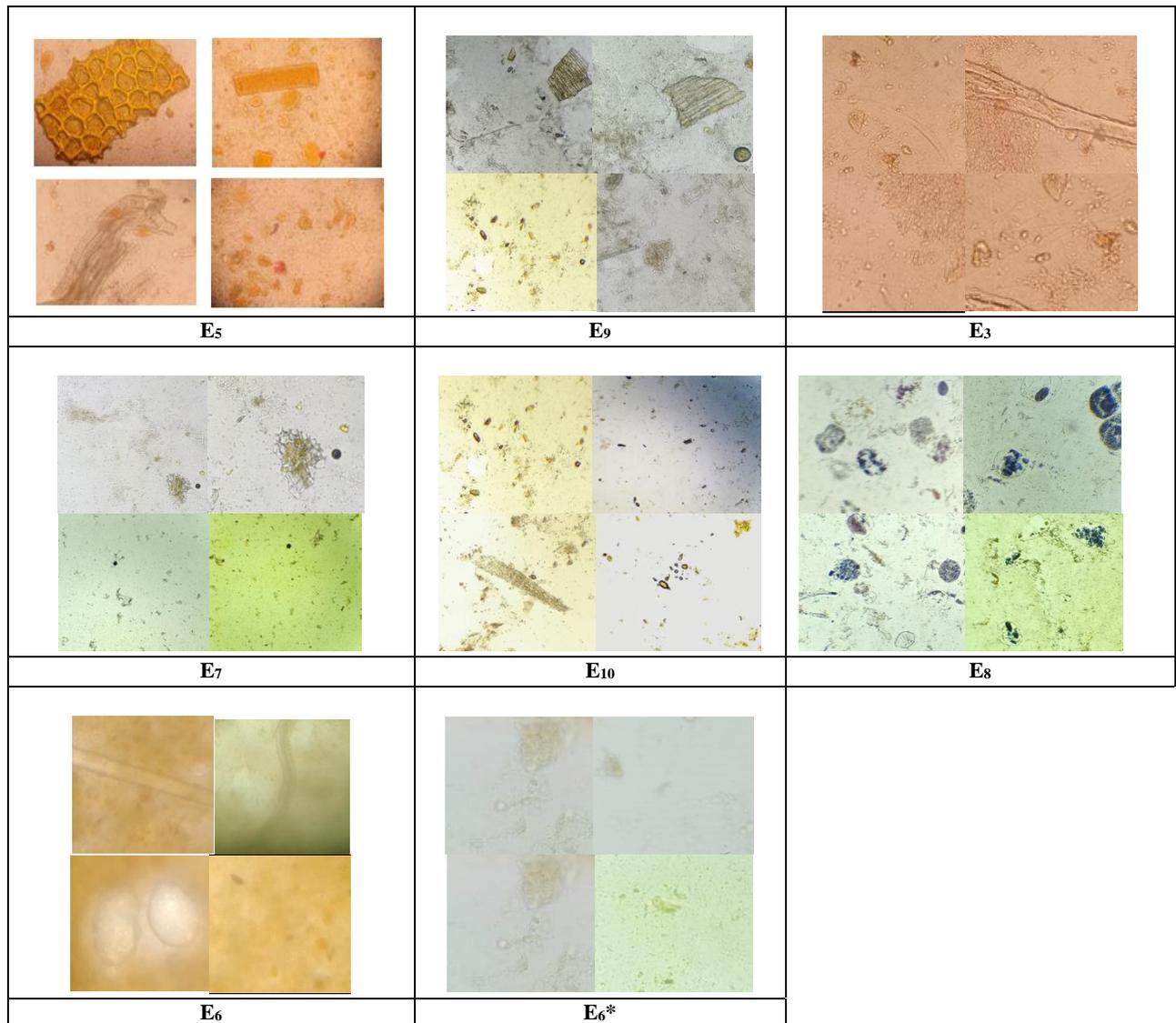


Figure. 22 : Observation microscopique à l'état frais des échantillons (avec ou sans lugol, GX400).

III.2. Frottis des selles coloré au Gram

Une différence significative de la charge et la diversité microbienne a été observée, après la coloration du Gram de dilution 10^{-2} des selles, entre les échantillons observés (**tableau 19**).

Tableau. 19: Analyse de la charge et la diversité microbienne dans les selles examinées à partir de la coloration de Gram.

Echantillons	Charge microbienne	Gram +/Gram -	Diversité des formes	
			Coques	Bacilles
E1	Moyenne	Très équilibré (+++/++)	++	++
E2	Un peu faible	Équilibré (++)	++	+++
E3	Très faible	Déséquilibré (+/++)	+	+++
E4	Faible	Équilibré (++)	+	+++
E5	Très faible	Déséquilibré (++)	+	++
E6	Faible	Déséquilibré (++)	+	+++
E6*	Moyenne	Équilibré (++)	++	++
E7	Faible	Équilibré (++)	+	++
E8	Abondante	Très équilibré (+++/++)	++	+++
E9	Faible	Équilibré (++)	++	++
E10	Moyenne	Déséquilibré (++)	+	+++

Dans notre étude, l'obésité et le diabète sont également associés avec la diminution de la charge et de la diversité du microbiote intestinal. Les personnes obèses et/ou diabétiques (E₂, E₃, E₄, E₅ et E₉) ont une charge et une diversité bactérienne moins que les sujet normaux (E₁ et E₈). Cependant, le sujet diabétique obèse E₅ est le cas qui possède moins des bactéries par rapport aux autres obèses (E₃ et E₄). Plusieurs études ont montré que l'augmentation de l'IMC est associée à la diminution de la diversité de la flore intestinale.

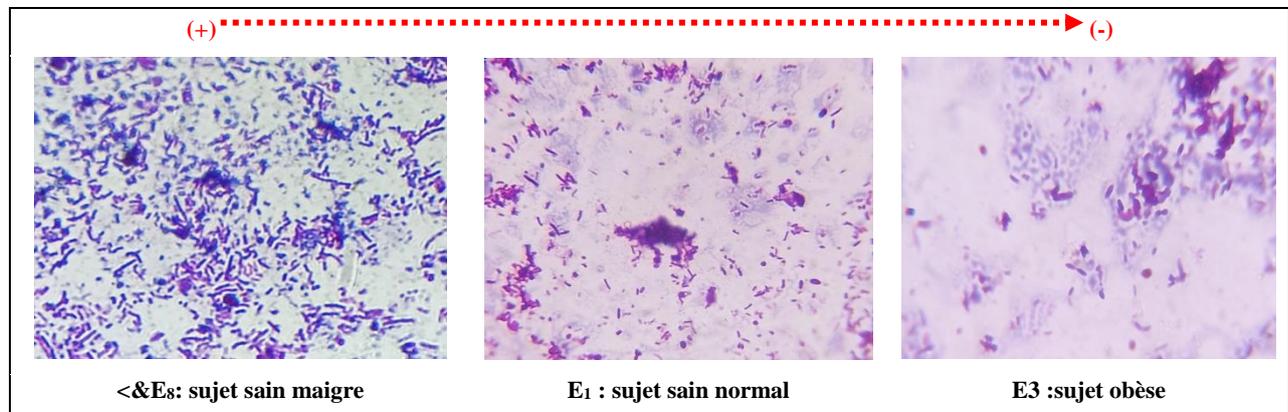


Figure. 23 : Observation microscopique de coloration de Gram des personnes saines avec des corpulences différentes (GX1000).

Les premières études sur l'obésité et le microbiote rapportent qu'une augmentation du poids corporel est associée à un changement du microbiote identifié par une modification du rapport Firmicutes/Bacteroidetes avec une plus grande proportion de *Firmicutes* (F, bactéries Gram positif) et un déclin de *Bacteroidetes* (B, bactéries Gram négatif) (Gérard et Vidal 2019).

Une étude d'analyse du microbiote fécal chez 12 humains obèses a également montré une augmentation du rapport F/B. Cependant, il a été démontré que cette diminution de *Bacteroidetes*

s'améliorait avec la perte de poids chez les personnes obèses (Ley et al., 2006). Au Japon, l'analyse génomique des selles de 23 sujets non obèses (IMC < 20 kg/m²) et de 33 sujets obèses (IMC ≥ 25 kg/m²) a montré un nombre significativement réduit de *Bacteroidetes* et un nombre plus élevé de F/B ratio chez les sujets obèses par rapport aux sujets non obèses. De plus, la diversité bactérienne était significativement plus élevée chez les sujets obèses par rapport aux sujets non obèses (**Kasai et al., 2015**). Des résultats similaires ont été rapportés chez 61 adultes ukrainiens chez lesquels le rapport F/B était significativement associée à l'indice de masse corporelle (IMC). Les individus avec un ratio F/B ≥ 1 ont été 23 % plus susceptibles d'être en surpoids que ceux avec un rapport F/B < 1 (**Koliada et al., 2017**). De même, les sujets qatariens (37 obèses et 36 maigres) présentaient un microbiote intestinal altéré ; les ratios F/B chez les sujets obèses et maigres étaient $2,25 \pm 1,83$ et $1,76 \pm 0,58$, respectivement (**Sohail et al., 2019**). Chez les écoliers kazakhs (**Xu et al., 2012**) et belges (Bervoets et al. 2013), le F/B rapport était significativement plus élevé dans les groupes obèses par rapport à celui des groupes témoins. Des recherches ont montré que les microbes des *Firmicutes* augmentent l'absorption des calories entraînant un gain de poids et les animaux obèses et les sujets humains ont tendance à avoir des niveaux plus élevés de *Firmicutes*. De plus, les microbes de le phylum *Firmicutes* augmentent l'absorption des acides gras et diminuent l'oxydation des acides gras, contribuant à une plus grande accumulation de graisse et à un gain de poids (**Islam et al., 2022**).

Plusieurs études n'ont observé aucune relation entre le rapport F/B et l'obésité, la prise de poids ou l'IMC. Duncan et al. (**Duncan et al., 2008**) n'ont suggéré aucune différence entre les *Firmicutes* et *Bacteroidetes* selon l'IMC. Hu et al., 2015 ont analysé les selles des coréens (âgés 13-16 ans), ils n'avaient révélé aucune différence significative dans le rapport F/B entre les obèses ($0,56 \pm 0,86$, IMC ≥ 30 kg/m²) et les normo-pondéraux ($0,50 \pm 0,53$, IMC < 25 kg/m²) (**Hu et al. 2015**). Au contraire, Schwartz et al. ont signalé un ratio inférieur de *Firmicutes* chez les adultes en surpoids par rapport aux témoins maigres (**Schwartz et al., 2010**).

Les écarts entre ces résultats contradictoires peuvent être dus aux habitudes alimentaires, à la physiologie de l'hôte, facteurs ainsi que les méthodologies utilisées dans leurs analyses (**Lv et al., 2019**). De plus, l'association entre le rapport F/B et l'obésité varie selon les populations spécifiques, les groupes d'âge, les genres, et les facteurs environnementaux et génétiques, et d'autres embranchements bactériens qui peuvent jouer un rôle important. Probablement, il existe un nombre limité d'espèces des phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes* qui sont associées à l'obésité. Certaines d'espèces bactérienne sont capable à produire plus d'enzymes responsables de la fermentation des glucides et des lipides alimentaires contribuant au développement de l'obésité (**Stojanov, Berlec, et Štrukelj 2020**).

Dans le cas où le diabète est associé à l'obésité, la dérégulation de la barrière muqueuse intestinale augmente la translocation du complexe LPS à travers la barrière épithéliale, avec une perpétuation de l'inflammation muqueuse et la génération d'une endotoxémie métabolique. Actuellement, il y a des preuves suggèrent une association entre les altérations de la régulation du microbiote intestinal et l'activation accrue des voies inflammatoires, conduisant à une altération de la signalisation de l'insuline (**Aloo et Oh, 2022**).

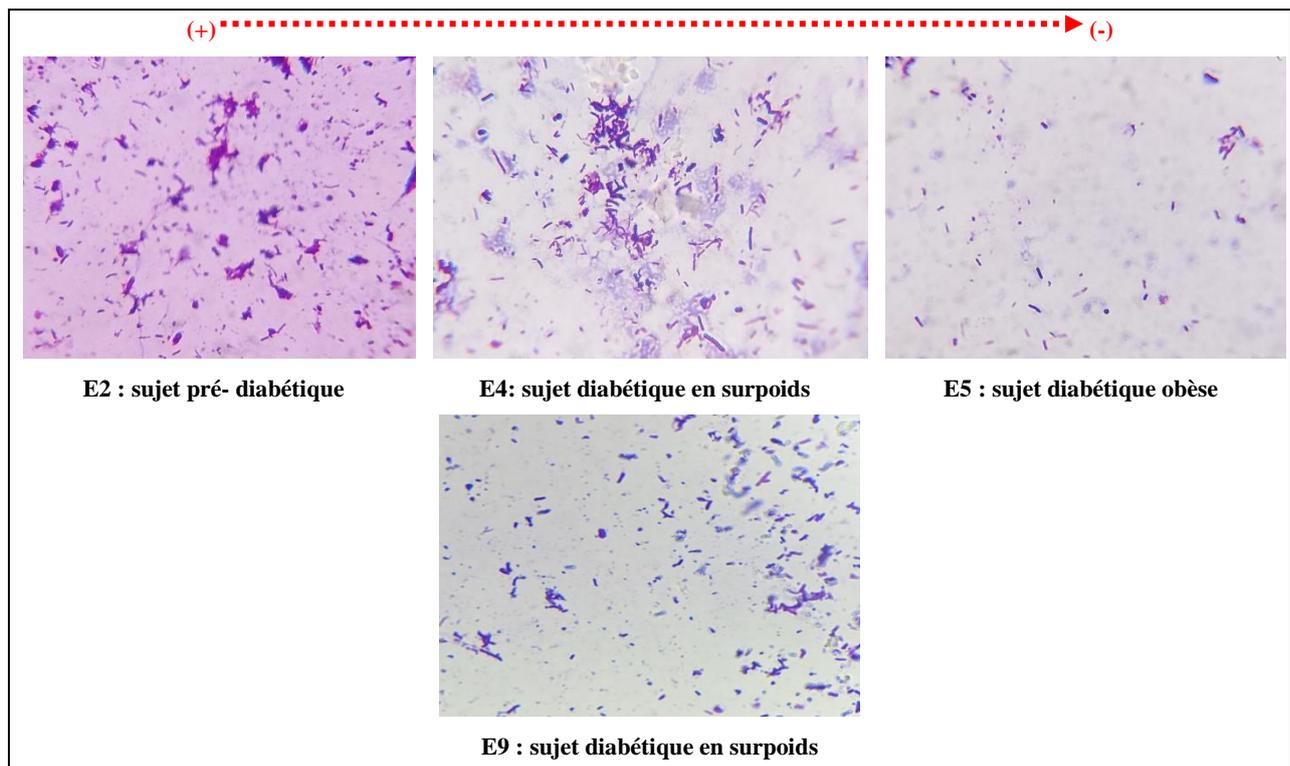


Figure. 24 : Observation microscopique de coloration de Gram des personnes diabétiques (GX1000).

Chez les diabétiques, la diminution de la diversité microbienne et l'augmentation de F/B ratio provoquent (**Ortega et al., 2020**) :

- ❖ La déséquilibre de la balance énergétique par la diminution de la production des acides gras à chaîne courte par la flore intestinale.
- ❖ L'endotoxémie est causée par augmentation des LPS circulants.
- ❖ L'inflammation chronique de bas grade est stimulée par le complexe LPS-récepteur TLR4 (*Toll Like Receptor 4*).
- ❖ L'augmentation du tissu adipeux grâce à la stimulation permanente de l'appétit.
- ❖ La résistance à l'insuline et à la leptine sont observées à cause de la dysrégulation des peptides intestinaux.
- ❖ L'altération de l'axe cerveau-intestin-microbiome par l'implication du système nerveux.

Les échantillons E₆ et E₆* sont provenues de la même personne. Cette personne a consommé les antibiotiques antituberculeux durant une année. Selon la **figure 25**, l'échantillon au cours de traitement (E₆) est le plus pauvre en bactéries intestinale comparativement à celui après six mois d'arrêt de la thérapie (E₆*). Certains auteurs ont mis en évidence que le déséquilibre de la flore intestinale persistait six mois à deux ans après l'administration (**Rashid et al., 2015**).

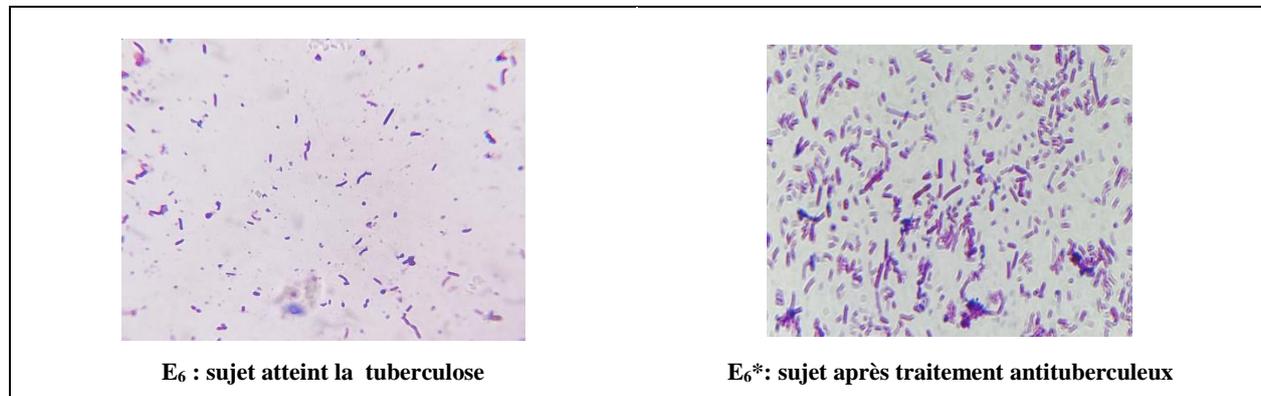


Figure. 25: Observation microscopique de coloration de Gram de personne atteinte de tuberculose (GX1000).

Les échantillons E₁₀ et E₇ sont des échantillons de personnes souffrant de maladies immunitaires et inflammatoires. Le sujet E₁₀ souffrait d'asthme et de vitiligo (**figure 26**). Nos résultats de coloration de Gramme montrent pas la présence d'une diminution de la diversité et de la charge de la flore intestinale chez ce sujet. Malgré que le vitiligo est une maladie auto-immune caractérisée par une dépigmentation de la peau due à la perte de mélanocytes et les anomalies du microbiote cutané ou intestinal sont associées à diverses maladies de la peau. En plus, une étude récente a révélé une plus faible abondance et diversité du microbiote intestinal dans les selles des patients atteints de vitiligo par rapport aux selles des témoins (**Bziouche et al., 2021**).

Le sujet E₇ souffrait d'arthrose (**figure 26**). Nos résultats de coloration de Gram montrent la présence d'une réduction de la diversité et de la charge de la flore intestinale chez ce sujet. Dans ce sens, le microbiote intestinal pourrait être impliqué dans la destruction articulaire et les douleurs arthrosiques, notamment par son rôle dans l'inflammation systémique de bas grade. Son mécanisme d'action dans l'arthrose est complexe, avec à la fois des effets directs de la dysbiose sur l'arthrose inflammatoire et des effets indirects via son rôle dans le syndrome métabolique et l'obésité (**Binvignat et al. 2021**).

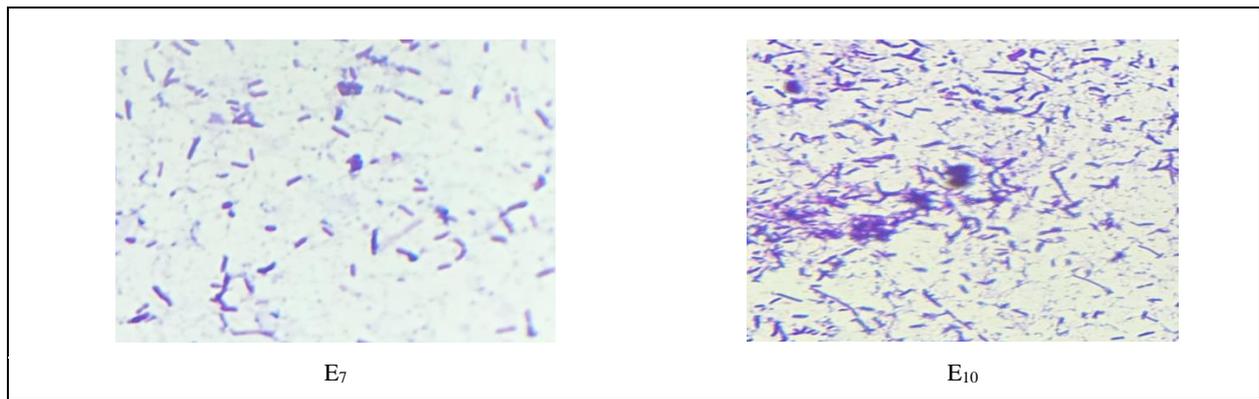


Figure. 26: Observation microscopique de coloration de Gram de E₇ et E₁₀ (GX1000).

IV. Dénombrement des cellules bactériennes

Nos résultats montrent une différence remarquable dans la morphologie des colonies entre les échantillons observés (**figure 27**).

Lorsque différentes dilutions d'échantillons fécaux ont été inoculées dans du milieu VRBL, des colonies rose pourpre, entourées ou non d'un halo de sels biliaires précipités sont apparues, indiquant la présence d'Enterobacteriaceae.

L'observation microscopique des colonies apparaissant sur la gélose MRS a noté la présence de petites colonies blanches, ce qui a confirmé la présence de bactéries lactiques dans les selles analysées.

Après l'incubation à 37°C pendant 72h à 5 jour, on constate que les levures apparaissent sous la forme de colonies blanches crémeuses lisses et de tailles différentes en surface sur le milieu OGA dont la charge variée d'un échantillon à un autre.

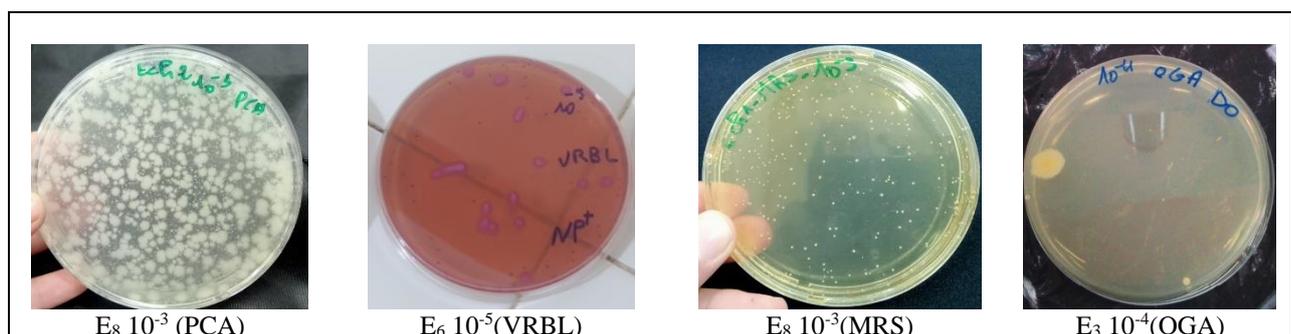


Figure. 27 : Aspects des colonies dans les différentes géloses de dénombrement.

La quantification microbienne vise à déterminer la concentration de bactéries ou de levures et de moisissures dans les selles d'un patient afin de dresser un tableau approximatif des perturbations du microbiote intestinal. Le **tableau 20** regroupe les résultats de plusieurs comptages microbiens fécaux.

Tableau. 20 : Résultats de dénombrement de certains micro-organismes de la flore intestinale.

Flores (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E6*	E7	E8	E9	E10
Bactéries aérobies totales	2,954	2,018	1,990	3,636	3,127	1,290	2,200	0,000	3,17	1,99	0,0584
Entérobactéries	0,222	3,00	1,000	2,600	0,001	5,600	4,155	0,010	0,016	5,18	1,20
Lactobacilles	2,880	3,20	0,000	0,126	0,000	0,031	0,041	0,152	2,66	24,00	2,55
Levures et moisissures	0,017	0,0363	0,354	0,000	0,509	0,025	0,0250	0,0292	0,000	0,333	0,000

IV.1. Flore intestinale et l'âge

Selon le tableau 21, l'homme plus âgé a plus de bactéries intestinales (bactéries à Gram négatif) que l'adolescente (3_{vs.}0,16UFC. ml⁻¹ *10⁷). Il existe de nombreux types de bactéries pathogènes qui entrent dans ce groupe, telles que *Salmonella* et *Proteus Sppetc*. En plus, les levures et moisissures sont détectés uniquement chez adulte âgés, ce qui confirme la présence d'une infection.

Tableau 21 : Comparaison entre la charge microbienne fécale de l'adulte et d'adolescents.

Paramètres	Adulte âgé E2	Adolescent E8
Age (ans)	55	13
Sexe	Homme	Fille
Poids (Kg)	73	38
Taille (m)	1,73	1,48
IMC (Kg.m ⁻²)	24,39	17,35
Corpulence selon l'OMS	Poids normal	Maigre
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,018	3,17
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	3	0,016
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	3,2	2,66
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,0363	0,000

IV.2. Flore intestinale et maladies métaboliques

Le **tableau 22** montre les résultats du comptage de la flore fécale d'un sujet de poids normal et d'un autre sujet obèse.

D'un côté, le sujet obèse avait plus d'Entérobactéries, qui sont des bactéries à Gram négatif et plus de levures et de moisissures que le sujet de poids normal, ce qui peut indiquer la présence des souches pathogènes dans les selles des sujets morbides. D'un autre côté, le sujet obèse n'avait pas des bactéries lactobacilles qui sont des bactéries à Gram positif par rapport au sujet de poids normal. Ainsi, le rapport entre les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif est déséquilibré, ce qui signale, la diminution de la diversité et de la charge bactérienne, la présence de dysbiose chez la personne obèse.

Tableau. 22 : Comparaison entre la charge microbienne fécale de la personne de poids normal et la personne obèse.

Paramètres	Personne normale E ₁	Personne obèse E ₃
Sexe	Femme	Femme
Age (ans)	24 ans 11 mois	26 ans 0 mois
Poids (Kg)	55	120
Taille (m)	1,64	1,68
IMC (Kg.m ⁻²)	20,45	42,52
Corpulence selon l'OMS	Poids normal	Obésité morbide
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,954	1,990
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,222	1,000
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,880	0,000
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,017	0,354

Selon le **tableau 22** et le **tableau 23**, les patients obèses et/ou diabétiques avaient des concentrations d'entérobactéries supérieures à 3.10⁷ UFC. ml⁻¹. Contrairement à un homme diabétique (E₄), une femme obèse diabétique (E₅) comme une femme obèse (E₃) n'a pas de lactobacilles dans les selles. Peut-être que l'apparition du diabète et/ou de l'obésité et leur développement ont détruit le microbiote intestinal.

Tableau. 23 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d'une personne diabétique obèse et d'une autre personne diabétique en surpoids.

Paramètres	Diabétique E ₅	Diabétique E ₄
Sexe	Femme	Homme
Age (ans)	59 ans 1 mois	65 ans 5 mois
Poids (Kg)	167	90
Taille (m)	1,67	1,80
IMC (Kg.m ⁻²)	59,88	27,78
Corpulence selon l'OMS	Obésité morbide	Surpoids
Age d'apparition de diabète (ans)	50	61
Durée de la maladie (ans)	9	4
Glycémie à jeun (g/l)	1,46	1,05
Glycémie postprandiale (g/l)	1,60	1,35
Hémoglobine glyquée (%)	6,50	6,60
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	1,20	0,95
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	3,127	3,636
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,001	2,600
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,000	0,126
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,509	0,000

Le rapport des bactéries à Gram positif (Lactobacilles) et bactéries à Gram négatif (Entérobactéries) est déséquilibré chez les deux groupes (**tableau 24 et figure 27**).

Tableau. 24 : Moyennes des résultats de dénombrement par groupe des personnes en surcharge pondérale et groupes des personne diabétiques.

Flores (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	Personnes en surcharge pondérale	Personnes diabétiques obèses
Bactéries aérobies totales	2,686 ±0,830	2,918±0,843
Entérobactéries	2,195 ±2,260	2,594±2,590
Lactobacilles	0,042 ±0,073	0,063±0,0890
Levures et moisissures	0,299 ±0,214	0,281± 0,258

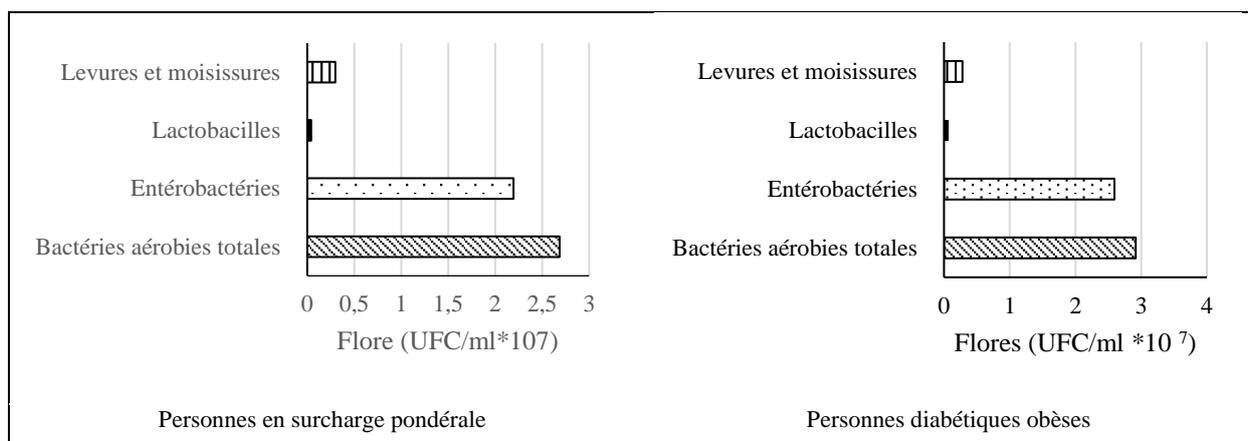


Figure. 28 : Représentation graphiques de certains composants de la matière fécales des personnes obèse et /ou diabétiques.

IV.3. Flore intestinale et maladies infectieuses

La tuberculose est une maladie infectieuse transmissible provoquée par *Mycobactérium tuberculosis*, son traitement repose sur la prise régulière d'antibiotiques. Nos résultats montrent que cette personne avait un nombre très élevé des *Entérobactéries* et inversement un nombre très faible des *Lactobacilles* avant et après le traitement antituberculeux. Cependant, il y a une diminution des bactéries à Gram négatif et un légère augmentation de concentration de bactéries à Gram positif après la thérapie par rapport à la période de la prise des antibiotiques.

Après le traitement, on note un gain de poids chez cette personne, comme première hypothèse, la consommation des antibiotiques et la réaction corporelle contre l'attaque des bacilles peuvent favoriser l'élévation de l'IMC. Les antibiotiques sont des substances qui inhibent ou tuent les bactéries pathogènes comme les *Mycobactérium tuberculosis*, mais les bactéries bénéfiques du corps. Ainsi, les antibiotiques altèrent la quantité et la qualité de l'ensemble du microbiote humain et surtout le microbiote intestinal.

Tableau.25 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d'une personne avant et après une thérapie antituberculeuse.

Paramètres	Avant le traitement	Au cours de traitement par (12 mois)	Après l'arrêt du traitement par (9 mois)
Age (ans)	30-34	35 et 5 mois	36 et 4 mois
Sexe	Femme	Femme	Femme
Poids (Kg)	51	47	56
Taille (m)	1,64	1,64	1,64
IMC (Kg.m ⁻²)	18,96	17,47	20,82
Corpulence selon l'OMS	Poids normal	Maigre	Poids normal
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	/	1,290	2,2
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	/	5,600	4,155
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	/	0,031	0,041
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	/	0,025	0,025

IV.4. Flore intestinale et maladies auto-immunitaires

Un taux très faible des lactobacilles a été trouvé chez la femme souffrant de Vitiligo, par rapport à la femme saine (**tableau. 26**). Cela indique la présence d'un problème dans l'équilibre de la flore intestinale chez la femme malade. La majorité des études ont confirmé la relation étroite qui existe entre la flore intestinale et le système immunitaire, également la relation entre le dysbiose et les différentes maladies immunitaire.

Tableau. 26 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d'une personne saine avec une autre personne touchée par une maladie auto-immune.

Paramètres	Personne saine E1	Personne malade E10
Sexe	Femme	Femme
Age (ans)	24	31
Poids (Kg)	55	60
Taille (m)	1,64	1,6
IMC (Kg.m ⁻²)	20,45	23,44
Corpulence selon l'OMS	Normal	Normal
Maladie	Sain	Vitiligo
Traitement	Rien	Immunosuppresseur
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,954	0
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,222	0,01
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,880	0,152
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,017	0,0292

IV.5. Flore intestinale et maladies inflammatoires

Selon nos résultats qui sont illustrés sur le **tableau 27**, la femme touchée par l'arthrose avait une faible diversité et charge bactérienne concernant les bactéries aérobies totales, les lactobacilles et les entérobactéries, mais une charge considérable en levures et moisissures comparativement à la femme saine. Ces résultats signalent le dysfonctionnement de flore intestinale. La majorité des études ont témoigné la relation bidirectionnelle qui existe entre la

flore intestinale et le système immunitaire et un problème et faiblesse de ce système peut provoquer l'inflammation chez l'individu ; pour cela le dysbiose intestinale et les maladies inflammatoire chronique sont associés.

Tableau. 27 : Comparaison entre la charge microbienne fécale d'une personne saine avec une autre personne touchée par une maladie inflammatoire.

Paramètres	Personne saine E ₁	Personne malade E ₇
Sexe	Femme	Femme
Age (ans)	24	60
Poids (Kg)	55	56
Taille (m)	1,64	1,66
IMC (Kg.m ⁻²)	20,45	20,32
Corpulence selon l'OMS	Normal	Normal
Maladie	Sain	Arthrose
Traitement	Rien	Anti-inflammatoire
Bactéries aérobies totales (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,954	0
Entérobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,222	0,01
Lactobactéries (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	2,880	0,152
Levures et moisissures (UFC. ml ⁻¹ *10 ⁷)	0,017	0,0292

I. Analyse physicochimique de la gomme arabique

Physiquement, la gomme arabique utilisée dans notre pré-étude est haute qualité, selon les critères d'Anderson *et al.*, 1967, de forme de larme, sa couleur est brune jaunâtre très pâle. De façon générale, les propriétés physiques de la gomme arabique peuvent varier selon l'origine et l'âge des arbres, le temps d'exsudation et le climat, également selon le lavage, le séchage, le blanchiment au soleil et les conditions de stockage peuvent affecter leurs propriétés physiques (Musa, Ahmed, *et* Musa 2019).

Dans notre pré-étude, la gomme d'Acacia a une haute solubilité dans l'eau chaude et froide et une viscosité relativement faible. Elle forme des solutions sur une large gamme de concentrations sans devenir très visqueuse (**figure29**). Évidemment, La plupart des gommages ne peuvent pas être dissous dans l'eau à des concentrations supérieures à 5% en raison de leur viscosité élevée, mais la gomme d'acacia peut donner des solutions jusqu'à 50% de concentration (A. Ahmed 2018; Anderson, Hirst, et Stoddart 1967; Musa, Ahmed, et Musa 2019). La capacité de gomme d'Acacia pour façonner ces solutions concentrées sans augmentation excessive de la viscosité est due au degré élevé de ramification dans la structure de la gomme et, donc petit volume hydrodynamique (A. Ahmed 2018; Anderson, Hirst, *et* Stoddart 1967). Dans le sens contraire, la gomme d'Acacia est insoluble dans les huiles et dans la plupart solvants organiques et est soluble dans l'éthanol aqueux jusqu'à une limite d'environ 60% d'éthanol (A. Ahmed 2018;

Anderson, Hirst, et Stoddart 1967). Nos résultats sont similaires à ces données de la littérature scientifique.

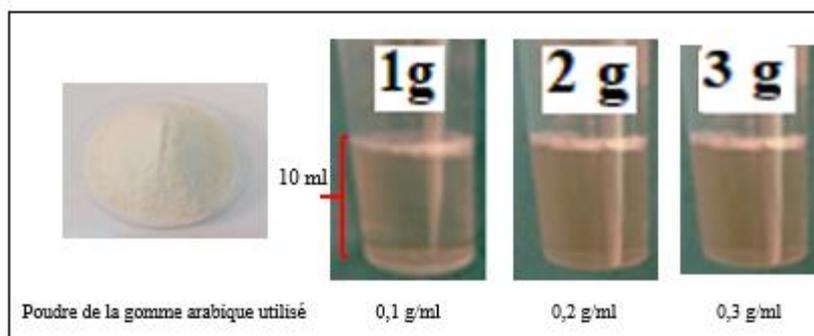


Figure. 29 : Gomme arabique d'origine de Soudan et les solutions préparées.

Chimiquement, la GA est un poly-anion qui est associé à des ions calcium, magnésium ou potassium pour former un sel d'acide polysaccharidique (**Benyagoub et al., 2016**). Le contenu principal de GA est arabe (substance acide), et lorsqu'il s'est décomposé, il a donné de l'arabinose. Ainsi, la GA est appelé acide arabique (**A. Ahmed 2018; Anderson, Hirst, et Stoddart 1967**). Ce type de gamme est un neutre ou légèrement acide (**Musa, Ahmed, et Musa 2019**) ; elle forme une solution fluide légèrement acide, avec un pH entre 4 à 6,41 (**Anderson, Hirst, et Stoddart 1967; Chikamai et Banks 1993; Musa, Ahmed, et Musa 2019; Yaumi et al., 2016**).

Nos résultats de l'analyse chimique de la gomme étudiée (**tableau 28**) également montrent que la solution de gomme arabique possède un pH acide avec une acidité moyenne est égale 55°. Ces variations entre les valeurs de pH peuvent être attribuées à la source/région de provenance de la GA et à l'influence de leur teneur en polysaccharides acides ; l'acidité de ces polysaccharides est due aux acides uroniques présents dans leurs structures (**S. Ahmed, Mohamed, et Karamalla, 2009**).

Tableau. 28: Résultat de l'analyse physicochimique de la gomme arabique.

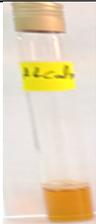
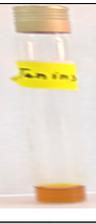
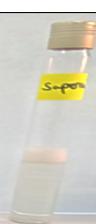
Gamme arabique	Solution de la gamme
Concentration (g/ml)	0,1
pH	5,29
Acidité (°D)	55
Viscosité	5,63
Matière sèche totale (g/l)	10

II. Composition chimique de la gamme arabique

Les résultats sont plus conflictuels en ce qui concerne les molécules actives existant dans la gamme arabique. Nous avons détecté certains métabolites secondaires d'extrait de la gamme préparé (0,1 g/l). Nos résultats indiquent que la GA utilisée contient des alcaloïdes, saponines et des composés réducteurs mais ne contient pas les flavonoïdes et les tanins (**tableau 29**), pourtant (**Elnour, et al., 2018**) a identifié les alcaloïdes dans la gomme arabique analysée et mais aussi les flavonoïdes, les tanins, l'acide phénolique et d'autres molécules. À notre connaissance, la composition chimique de la gamme arabique peut changer selon sa source, l'âge des arbres dont il provient, les conditions climatiques et le sol, la nature de l'eau, le stockage de la gomme, la nature de la plante peut être exposé au stress , ainsi que les différences dans les méthodes de détection utilisées et aussi l'équipement de laboratoire et les matériels de détection peuvent être périmés (**A. Ahmed 2018; Tebib, 2015**).

La teinte de la GA change en fonction de la quantité de tanins présents dans l'échantillon. Plus les tanins sont présents dans la gomme, plus cette dernière est sombres et moins solubilité dans l'eau (**Anderson, Hirst, et Stoddart 1967**). Dans notre travail, la gomme est de couleur claire, soluble dans l'eau et très visqueuses, ce qui signale l'absence des molécules tanins dans la GA utilisé. Il est bien démontré que la gomme arabique est un hétéro-polymère de polysaccharide et glycoprotéines avec un pourcentage élevé de glucides (proche à 97%) et un faible pourcentage de protéine (inférieur à 3%) (Musa, Ahmed, et Musa 2019). Les substances minérales de 100 g de la gamme arabique sont Ca 0,7%, Mg 0,2%, Na 0,01%, K 0,95%, Fe 0,001%, P 0,6%, et des traces indiscernables de Pb, Co, Cu, Zn, Ni, Cd, Cr et Mn (**A. Ahmed, 2018**).

Tableau. 29 : Résultats de la détection chimique des substances actives.

Molécules actives	Indicateurs	Résultats	
Alcaloïdes (Wagner)	Un précipité brun		++
Flavonoïdes	Une coloration rose ou rouge		---
Tanins	Une coloration bleu-vert ou bleu noire		---
Anthocyanes	Une coloration bleu violacé		---
Réducteurs	Un précipité rouge-brique		+++
Saponines	Une hauteur de mousse est plus proche de 1 cm		+++

La fraction protéique est responsable des propriétés émulsifiantes de la gomme. Les principaux acides aminés de la gamme arabique sont l'hydroxyproline, la sérine, la leucine, la thréonine, l'histidine, et l'acide aspartique (A. Ahmed, 2018).

La gamme arabique se compose de galactoarabanne qui donne par hydrolyse L-arabinose, D-galactose, L-rhamnose, acide D-glucuronique et acide 4- O-méthyl-D-glucuronique. La présence de sucres réducteurs témoignerait du pouvoir réducteur (groupes réducteurs libres) de la gomme

(A. Ahmed, 2018). Une étude biochimique de la gomme arabique de l'Acacia arabica cultivée en Algérie (Tebib, 2015) a révélé une richesse de la gomme en sucres : galactose, arabinose, glucose et rhamnose (figure 30). Ces quatre oses ont un pouvoir réducteur. Dans ce cas, on peut penser que la gamme choisie pour effectuer notre pré-étude contient des sucres simples réducteurs non identifiés qui réagissent avec le liqueur Fehling.

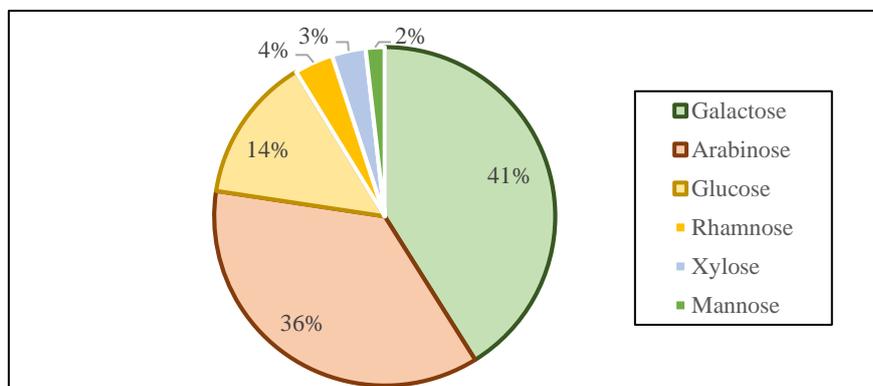


Figure. 30 : Composition mono-saccharidique de la gomme arabique de la GA(Tebib, 2015).

III. Activité antibactérienne de la gamme arabique

La GA est un exsudat phytochimique de la plante d'Acacia qu'est utilisé traditionnellement dans des applications médicales et est considéré comme protecteur contre les infections bactériennes (Baïen *et al.*, 2020). Nos résultats n'indiquent pas la présence de l'activité antibactérienne de la GA sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* qui des bacteries à Gram positif, et *Proteus mirabilis* et *E. coli* selle qui des bacteries à Gram negatif (figure31). L'absence de cette activité biologique est peut-etre due à l'utilisation des solutions de la GA, de forte concentration, de 0,1g/ml, 0,2g/ml et 0,3g/ml.

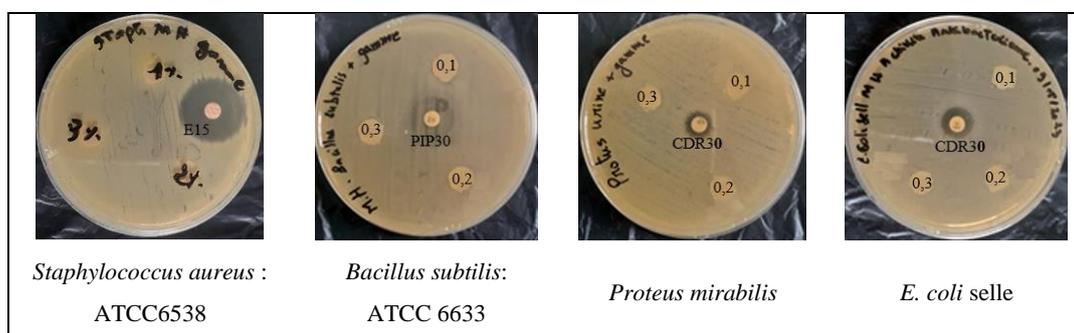


Figure. 31: Résultats d'activité antibactérienne de la gamme arabique sur certaines souches.

Au contraire à nos résultats, plusieurs études ont montré la présence d'activités antimicrobiennes chez la GA (Al-Behadli, Al-Wazni, et Alwan 2020; Baïen *et al.*, 2020). Shehu et al (2018) ont montré que les extraits méthanoliques de la GA présentait une activité

antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus creuset* certains champignons (Shehu et al., 2018).

Généralement, l'activité antimicrobienne inhibent la croissance des bactéries, empêchent la formation de colonies microbiennes et pouvant détruire les micro-organismes. Les résultats de cette activité (la méthode de diffusion sur gélose) ont indiqué que la GA (5 à 50 μ M) n'exerce qu'une activité antibactérienne modérée contre *P. aeruginosa*, tandis que *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis* n'étaient pas affectés par la présence de GA. Cependant, les zones d'inhibition de ces deux bactéries étaient translucides, signalant qu'un effet bactériostatique se produit, c'est-à-dire que la croissance ralentit, mais ne détruit pas les bactéries. Le taux de croissance de *Bacillus subtilis* dans le lait a également diminué de 40% après ajout de la gomme arabique montrant son effet bactériostatique sur *Bacillus subtilis* (Montenegro et al. 2012).

L'étude de Aloqbi (2020) a dévoilé l'effet important de la GA au tant qu'un agent anticancéreux et antibactérien vis-à-vis 12 souches (Aloqbi, 2020).

Pour vérifier nos résultats, on a remplacé notre l'échantillon de GA d'origine de Soudain par un autre échantillon locale d'origine d'El Oued. Le nouvel échantillon de la GA a couleur très foncé (figure 32), ce que nous permet d'estimer la richesse de cet échantillon par les tanins en basant sur la littérature scientifique.

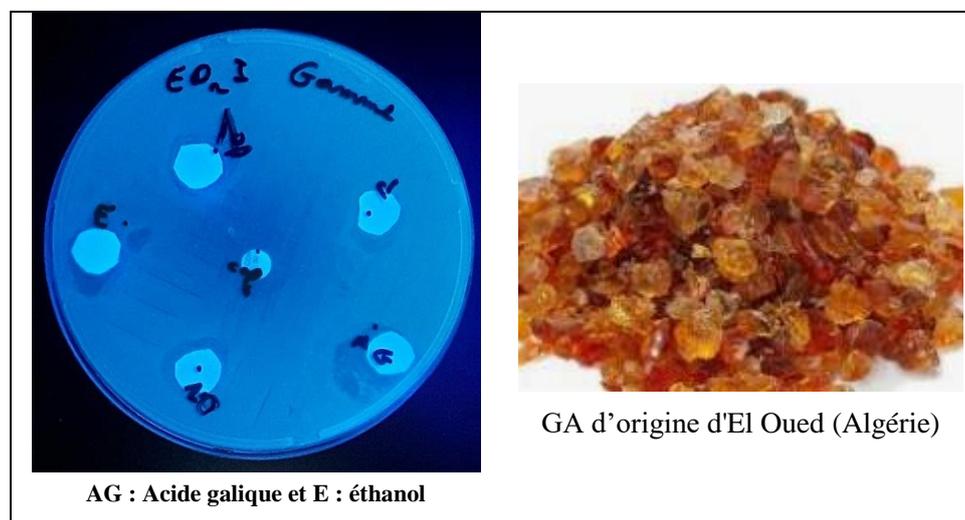


Figure. 32 : Boîte d'activité antibactérienne de la GA d'origine d'El Oued sur *E. coli-selles*.

Effectivement, les résultats de nos tests de confirmation indiquent la présence de l'activité antibactérienne de la GA d'origine d'El Oued sur l'ensembles les bactéries testées (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *LB-selles* et *E. coli-selles*), except *Proteus mirabilis* (tableau 30). L'analyse profonde de nos résultats montre que l'activité antibactérienne

de la GA se supprime lorsque la concentration de ses solutions est très fortes (100 g/l, 75 g/l ou 50 g/l). En plus, la majorité des réponses positif de l'activité antibactérienne (*Staphylococcus aureus*, *LB selleet E. coli selle*) sont apparues lors d'utilisation d'une dose est égal 1g/l. c'est très important de dire que la GA est un très bonne de l'inhibiteur d'*Escherichia colid*'origine matière fécale humaine.Selon Al-Behadliy et al (2020), l'extrait de la GA a montré un effet inhibiteur qui varie selon la concentration et selon le microorganisme (**Al-Behadliy, Al-Wazni, et Alwan, 2020**).

Tableau. 30 : Résultats d'activité antibactérienne de la GA d'origine d'El Oued.

Souches	Gram	Concentration des extraits aqueux de la gamme arabique de la wilaya d'El Oued (Algérie) et diamètre en mm de l'activité						
		100 g/l	75 g/l	50 g/l	25 g/l	10 g/l	5 g/l	1 g/l
Staphylococcus aureus : ATCC6538	+	0,00	0,00	0,00	0,00	11,00	0,00	13,00
Bacillus subtilis: ATCC 6633	+	0,00	0,00	0,00	11,00	0,00	0,00	0,00
Proteus mirabilis (urine)	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lactobacillus (selles)	+	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13,00
E coli (selles)	-	0,00	0,00	0,00	0,00	14,00	13,00	11,00

Le pouvoir antibactérien de la gomme arabique peut attribuer à :

1. Leurs métabolites secondaires: la présence de saponine, de glycosides de saponine, d'huile volatile, tanin hydrolysable, triterpénoïde, flavonoïdes, phénol et alcaloïdes (**Benyagoub et al., 2016**).
2. La présence des polysaccharides (**Ali et al., 2020**).
3. La teneur élevée en sel de Ca^{+2} , Mg^{+2} et K^{+} , de polysaccharides et de nombreux types d'enzymes telles que les oxydases, les peroxydases et les pectinases, dont certaines ont des propriétés antimicrobiennes (**Benyagoub et al., 2016; Montenegro et al., 2012; Saini et al., 2008**).

I. Lait de vache cru

I.1. Analyses physicochimiques

La connaissance des propriétés physicochimiques du lait revêt une importance incontestable car elle permet de mieux évaluer la qualité de lait utilisé. Le pH donne une idée sur l'état de fraîcheur du lait et sa diffère d'une espèce à une autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate et aussi selon les conditions environnementales et il dépend aussi de la nature des fourrages ingérés par l'animal et de la disponibilité en eau, ainsi que l'acidité est une notion importante permet de juger l'état de conservation du lait. La viscosité est en fonction de l'espèce, on distingue : Un lait visqueux chez les monogastriques ; on parle de lait albumineux. Un lait moins visqueux chez les herbivores,

c'est le lait est dit caséineux. La matière sèche totale ou l'extrait sec est l'ensemble des substances présentes dans le lait à l'exclusion de l'eau. La teneur en extrait sec du lait diffère selon l'espèce (100-600 g/l) (Alais, 1984).

Nos résultats montrent que le lait de vache utilisé dans notre étude est frais avec un pH= 6,71 et une acidité de 17°D (tableau 31) qui est l'équivalent de (1,7g/l) d'acide lactique, une teneur de (118,1 g/l) en matière sèche totale qui explique la richesse du lait en extrait sec.

Tableau. 31 : Résultat de l'analyse physicochimique de lait de vache.

Paramètres	Valeurs
Couleur	Jaunâtre
pH	6, 71
Acidité Dornic (°D)	17
Viscosité	5,88
Matière sèche totale (g/l)	118,1

I.2. Analyses microbiologiques

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée en effet de son pH voisin de la neutralité, qui le rend très facilement altérable par les microorganismes et. Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (Vignola L, 2002).

La flore originale des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (Vignola L, 2002).

Les résultats de dénombrement montrent que les *Lactobacilles* représentent la flore majoritaire (indénombrable) dans notre produit, une présence de flore mésophile aérobie totale, Coliformes fécaux par des nombres de germes appartient aux normes selon (Vignola L, 2002) avec une absence totale des *Staphylococcus pathogènes* et des *Clostridium sulfito-réducteurs*.

D'après les résultats obtenus, on dit que le lait utilisé dans notre étude est de bonne qualité car ne contient aucune trace de débris et de sédiments, il ne présente aucune saveur étrangère, ni couleurs ni odeur anormale, il respecte les normes en ce qui concerne le nombre de bactéries, exempt de produits chimiques (par exemple, antibiotiques, détergents) et il a une composition et une acidité normale.

Tableau. 32: Résultats du dénombrement du lait de vache.

Micro-organismes	Normes	Milieu	Cellules (UFC. 10 ³)
Flore mésophile aérobie totale	10 ⁵ - 10 ⁶	PCA	4,86
Coliformes fécaux	10 ² - 10 ³	VRBL	4,64
Levures et moisissures	0	OGA	3,28
<i>Staphylococcus pathogènes</i>	0	Chapman	0
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	< 50	Vionde de Foie	0
<i>Lactobacilles</i>	/	MRS	Indénombrable

II. Yaourt nature

II.1. Analyses physicochimiques

Le yaourt nature est un produit laitier coagulé qui est obtenu par une fermentation lactique grâce à *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* et de *Streptococcus salivarius thermophilus*. Les propriétés physico-chimiques du yaourt nature peuvent varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que la composition du lait utilisé, les souches bactériennes utilisées pour la fermentation, les conditions de fermentation et de stockage, ainsi que d'autres variables (**Luquet et carrieu.,2005**).

Le yaourt nature utilisée possède une couleur normal, un pH= 5 qui est un peu plus que certaines normes de **JORA** qui imposent un pH de (4,5 à 4,6) (**Luquet et carrieu.,) (Shatha et al.,2014)** et cela peut être dû à des variations dans les conditions de fermentation ou à des facteurs spécifiques liés à la production du yaourt, une acidité Dornic de 85°D qui respecte les normes de la réglementation Algérienne qui exige que, lors de la mise en consommation, la quantité d'acide lactique libre contenu dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8g pour 100g de produit et une viscosité de 10,16 indique une consistance moyenne pour le yaourt nature.

La matière sèche est la fraction massique des substances restantes après dessiccation complète de l'échantillon. Elle est exprimée en pourcentage ou en g/l (**Nongonierma et al., 2006**). Une teneur en matière sèche plus élevée peut indiquer une plus grande concentration de solides, tels que les protéines et les matières grasses, ce qui peut affecter la texture et la saveur du yaourt.

Tableau. 33: Résultat de l'analyse physicochimique de yaourt nature.

Paramètres	Valeurs
Couleur	blanche
pH	5
Acidité Dornic (°D)	80
Viscosité	10,16
Matière sèche totale (g/l)	

II.2. Analyse microbiologique

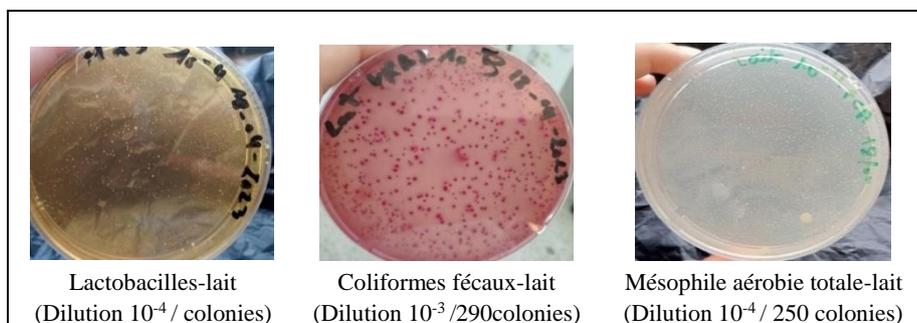
Selon la norme nationale parue au journal officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Pour considérer un produit comme produit contaminé il faut que le nombre de germes présent dans ce dernier dépasse le nombre fixé selon **JORA** (10 pour les coliformes totaux, 1 pour les coliformes fécaux, $<10^2$ pour les levures ainsi que pour les salmonelles et les moisissures aucun germe ne doit être présent). D'après nos résultats le yaourt utilisé dans notre étude ne contient aucun germe pathogène avec une présence normale des Lactobacilles. Ces résultats montrent que ce produit exempt de contamination bactérienne et de pathogènes, avec une présence bénéfique de lactobacilles. Cela suggère que le yaourt est de bonne qualité microbiologique.

Tableau. 34 : Résultats de l'analyse microbiologique de yaourt nature.

Micro-organismes	Normes (annexe I)	Milieu	Cellules (UFC.ml ⁻¹)
Flore mésophile aérobie totale	0	PCA	0
Coliformes fécaux	10-10 ²	VRBL	0
Levures et moisissures	0	OGA	0
<i>Staphylococcus pathogènes</i>	10-10 ²	Chapman	0
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	0	Vionde de Foie	0
<i>Lactobacilles</i>	/	MRS	5.10 ²

III. Comparaison entre le lait de vache cru et le yaourt nature

D'après les résultats de **figure 33**, on trouve que le lait de vache cru est plus riche que le yaourt en les lactobacilles, coliformes fécaux et bactéries mésophile aérobie totale. La flore de lait naturel se change peut-être en fonction de la race, la région géographique, le climat, de saison, de la nourriture, le suivie vétérinaire. Par contre, la flore du yaourt est standardisée est contrôlée selon certaines normes ajustées.



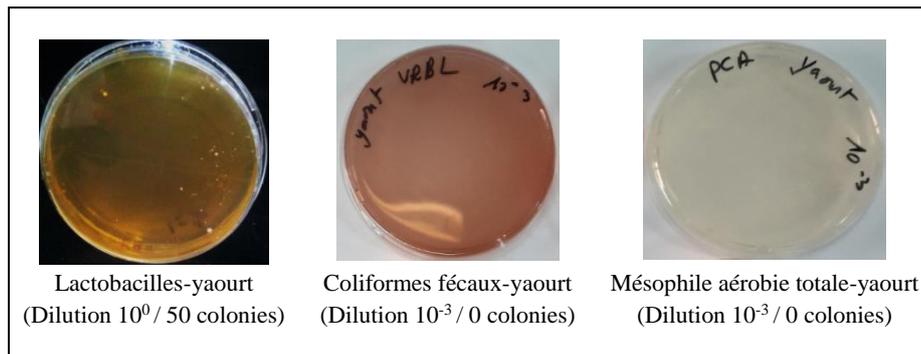


Figure. 33 : Résultat des tests de qualité du lait de vache cru et du yaourt.

I. Caractérisation des lactobacilles isolées

Après les isolation et purification des souches lactobacilles de différentes origines (selles, lait et yaourt nature, on a réalisé certains tests pour déterminer les critères de ces souches.

I.1. Critères morphologiques

I.1.1. Aspect macroscopique des colonies

L'observation macroscopique des colonies des souches lactobacille isolées après 24 h et 48 h sur le milieu MRS, a permis de révéler des différents aspects morphologiques (**tableau 35**).

Tableau. 35 : Examen macroscopique des lactobacilles sur milieu MRS.

Souches	<i>L. bulgaricus</i>	Lactobacille	Lactobacille
Origine	Yaourt nature	Lait de vache cru	Matière fécale humaine
Milieu de culture	MRS	MRS	MRS
Pureté	Colonies identiques	Colonies identiques	Colonies identiques
Forme	Ronde: circulaire et lenticulaire	Rondes	Rondes
Taille	petites	Grandes	Petites
Relief	Bombées	Bombées	semi-Bombées
Conteurs	Régulière lisse	régulière lisse	régulière lisse
Pigment	Blanchâtre	Blanche-crème	Blanche-crème

Les résultats d'identification morphologique suggèrent que les colonies obtenues sur la gélose MRS sont de couleur blanchâtre crème, rondes avec un contour régulier (**figure 34**). L'observation macroscopique des colonies montre que les lactobacilles présents dans le lait étaient plus grands par rapport aux colonies *lactobacilles bulgaricus* de yaourt nature et lactobacilles des selles. De plus, les colonies de *lactobacilles bulgaricus* de yaourt nature et lactobacilles de lait avaient une surface bombée, tandis que les lactobacilles des selles présentaient une surface semi-bombée. En ce qui concerne la pigmentation, les trois types de colonies présentaient un pigment de couleur blanche.



Figure. 34 : Résultats d'ensemencement des souches lactiques sur le milieu MRS.

VI.7.1. Aspect microscopique des lactobacilles

L'examen microscopique à l'état frais a révélé que les souches sont des bacilles, immobile, isolés ou en paires et en chaînes (**figure 35**).

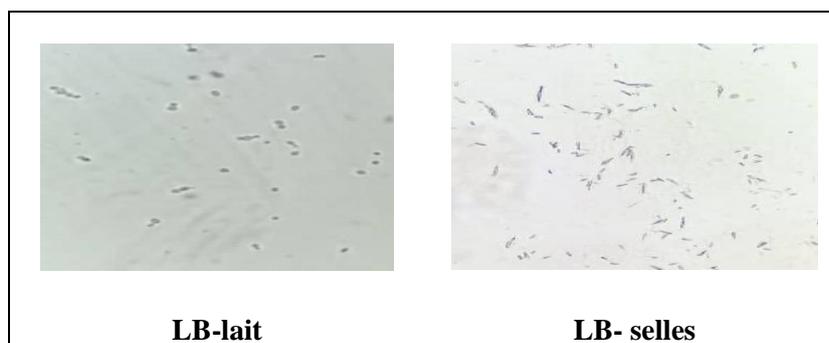


Figure.35 : Résultats de l'observation à l'état frais.

La coloration de Gram réalisée a montré la présence des cellules identiques avec une couleur violette ce qui indique la présence des bactéries Gram positif.

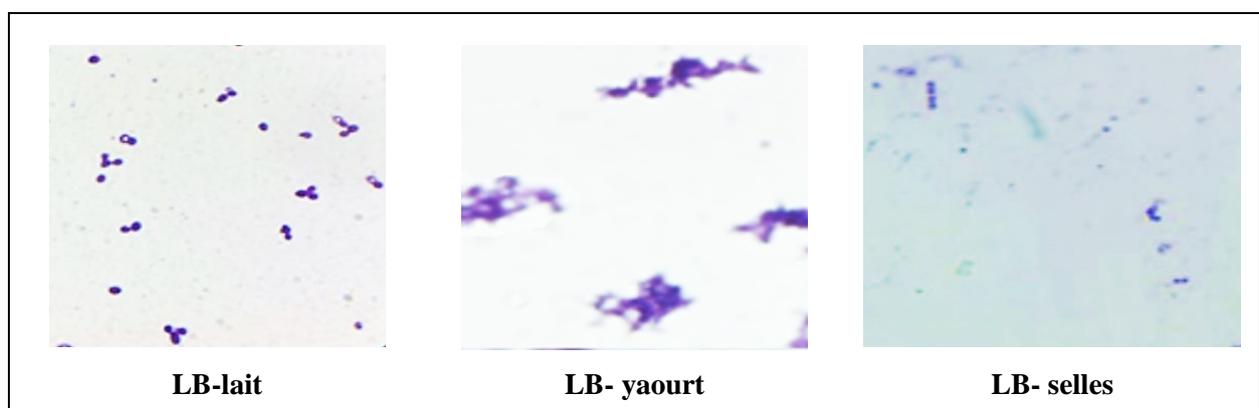


Figure. 36: Résultats de la coloration de Gram.

Les populations bactériennes traditionnellement utilisées dans la fabrication du yaourt comprennent des espèces telles que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Monteiro *et al.*, 2019).

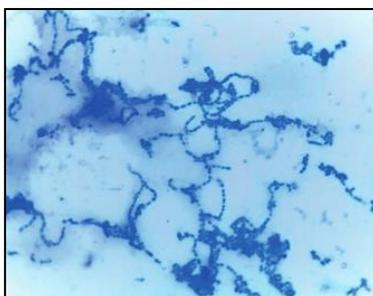


Figure. 37: *Lactobacillus bulgaricus* (Monteiro *et al.*, 2019).

Le **tableau 36** illustre les Résultats de l'observation microscopique des souches lactobacilles. Sur la base de ces résultats, il est possible de définir les trois souches isolées comme étant des genres de lactobacilles. Veuillez noter que l'identification précise du genre ou de l'espèce de lactobacilles nécessiterait des tests supplémentaires, tels que des tests biochimiques ou moléculaires spécifiques. Ces tests permettraient de confirmer l'identification et de déterminer l'espèce exacte du lactobacille. Nos résultats sont bien confirmés par les résultats de (Badis *et al.*, 2005) et (Bekhouche *et Boulahrouf.*, 2005).

Tableau. 36 : Résultats de l'observation microscopique des souches lactobacille.

Souches	LB- yaourt	LB-lait	LB- selles
Pureté	Cellules identiques	Cellules identiques	Cellules identiques
Forme	Bâtonnets	Coccobacilles	Coccobacilles
Regroupement	Isolés et/en paire	Isolés et/en paire	Isolés
Mobilité	Immobile	Immobile	Immobile
Paroi	Gram positif	Gram positif	Gram positif

VII. Caractérisations biochimiques et physiologiques des lactobacilles

L'identification des souches a été basée aussi sur la recherche de certain nombre de caractères biochimiques et physiologiques.

Tableau. 37 : Caractères biochimique et physiologique des souches lactiques.

Produit			<i>L. bulgaricus</i>	Lb -lait	Lb-selle
+	Température (C°)	4	(-)	(+)	(+)
		10	(-)	(++)	(++)
		37	(++)	(+++)	(+++)
		45	(+++)	(+)	(+)
Milieu hypersalé	Sel	4	(++)	(++)	(++)
		6,5	(-)	(+)	(+)

H ₂ O ₂ 10V	Catalase		(-)	(-)	(-)
Disques oxydase	Oxydase		(-)	(-)	(-)
Lait écrémé	Coagulation		(+)	(-)	(-)
Vogues Proskauer	Production d'acétone		(+)	(+)	(+)
Lait de Sherman	Milieu très oxydant		(+)	(-)	(-)
Gibson-Abdelmalek	Type fermentation		Homo	Hétéro	Hétéro
Milieu TSI	Fermentation	Glucose	(+)	(+)	(+)
		Lactose	(+)	(+)	(+)
		Saccharose	(+)	(+)	(+)

L'étude de la croissance des bactéries à différentes températures est appréciée selon la présence d'un trouble dans le bouillon nutritif, comme suite :

Pour ce test, on a vu que les *L. bulgaricus* ne s'accroissent pas à la température 4 C° alors que les bactéries d'origine de selles et lait poussent faiblement. À 10°C, les bactéries d'origine de selles et lait ont moyennement poussé. À température 37°C, toutes les souches ont toutes poussé, mais les souches d'origine de selles et lait croissent abondamment et les *L. bulgaricus* pousse ordinairement (**figure 38**). À 45°C, les lactobacilles d'origine de selles et lait poussent faiblement, excepté la souche *L. bulgaricus* qui a une aptitude à bien croître à cette température. De part ces résultats, on constate que les souches d'origine de selles et lait sont mésophiles et la souche *L. bulgares* est thermophile.

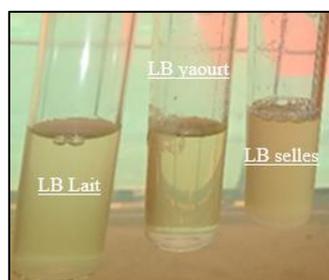


Figure. 38 : Croissance des trois souches lactiques à 37°C.

L'étude de la croissance bactérienne à différentes concentrations de NaCl est également évaluée selon la présence d'un trouble dans le bouillon nutritif. Un trouble abondant est observé dans le bouillon à 4% de NaCl pour toutes les souches (**figure 39**). Dans le bouillon de 6,5%, la souche *L. bulgares* croit difficilement ce qui apparaît sous forme d'un trouble faible et presque absent chez elle. Mais, les souches LB-selles et LB-lait ont une aptitude acceptable à croître à cette concentration de chlorure de sodium, qui s'est manifesté par la formation moyenne d'un trouble.



Figure. 39: Croissance des trois souches lactiques au milieu hyper-salé.

Dans notre étude, nous avons observé que les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, ainsi que les lactobacilles présents dans le lait et les selles, étaient dépourvus d'activité catalase et oxydase. Ces résultats sont cohérents avec les caractéristiques générales des lactobacilles, qui sont souvent considérés comme anaérobies facultatifs et utilisent principalement la fermentation pour leur métabolisme. Cela signifie que ces souches de lactobacilles ne produisent pas l'enzyme catalase, qui est responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. De plus, elles ne montrent pas d'activité oxydase, qui catalyse l'oxydation de substrats spécifiques. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par (M.K. Mouden *et al.*, 2007).

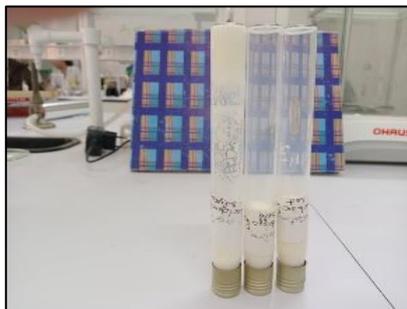


Figure. 40: Pouvoir coagulant.

La production de composés d'arômes (pouvoir aromatisant) est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. D'après Phalip *et al.* (1994), l'acétoïne est l'une des molécules aromatiques du catabolisme des acides aminés (acide aspartique), comme il peut avoir comme origine la dégradation totale ou partielle de l'acide citrique pendant la fermentation lactique (Phalip, Monneta, *et* Schmitt P., Renault P., Godonb J.J., *et* Divib C, 1994). D'après la figure, il apparaît que les trois souches produisent l'acétoïne dont l'anneau rouge le témoigne, donc elles ont un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des laits fermentés.



Figure. 41: Production d'acétone.

Le test de lait de *Shermane* est basé sur le mode respiratoire des souches ensemencées. La souche *L. bulgaricus* a réduit le bleu de méthylène, c'est-à-dire elle va tirer son oxygène (O₂) depuis le bleu de méthylène présent dans le lait, donc ce dernier va perdre sa couleur (**figure 42**), alors que lactobacillus de lait et lactobacillus des selles il y a aucune réduction de bleu de méthylène.



Figure.42:Réduction de bleu de méthylène.

En ce qui concerne au type de fermentation, on a observé la production de CO₂ chez les deux souches LB d'origine lait et matière fécale. Ces isolats sont considérés comme hétéro-fermentaires ; c'est-à-dire qu'elles fermentent le glucose avec la production de gaz. Cette catégorie des bactéries, qui fermente les hexoses et les pentoses en lactate, acétate /éthanol et CO₂, a généralement un faible pouvoir acidifiant et peut produire des substances aromatiques. Au contraire, la souche *L. bulgaricus* ne fabrique pas de gaz lors de la fermentation du glucose. Donc, l'absence totale de gaz pour cette souche est un indicateur du type homo-fermentaire (**figure 43**). Ce groupe de bactéries ne fermente que les hexoses par la voie d'Embden-Meyerhof en produisant presque exclusivement lactate (**Valcheva et al., 2006**).



Figure. 43 : Test de type de fermentation.

Dans le même sens, les trois souches LB sont capables de dégrader le saccharose, le lactose et le glucose en produisant de l'acide lactique (**figure 44**).

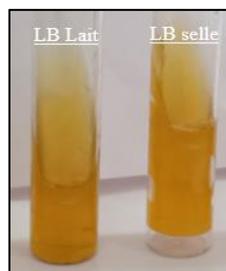


Figure. 44 : Test de fermentation des sucres.

VIII. Aptitudes probiotiques

VIII.1. Résistance aux pH gastrique

Les souches de lactobacilles utilisées doivent résister et rester viables pendant leur passage à l'estomac avant d'arriver au niveau de l'intestin, pour acquérir le statut probiotique. Afin de sélectionner les souches ayant ce potentiel probiotique, le test de capacité des souches lactiques isolées à survivre dans des conditions acides a été évaluée in vitro.

Après l'incubation des souches pendant 2h à 37°C dans le bouillon nutritif ajusté à (pH=2, pH=3, pH = 4, pH = 5,8 [pH témoin]), les résultats de calcul de la survie des lactobacilles montrent que le taux de survie était plus élevé à pH=4 par rapport à pH=3 et pH=2 pour tous les isolats testés avec un pourcentage de survie de 98,06% pour les LB-selles, 97% pour la souche *L. bulgaricus* et 44,26% pour LB-lait (**figure 45**). Une diminution légère de survie pour les trois souches à pH=3 par rapport à pH=4 et une réduction encore plus dans les conditions plus acides (pH=2), mais il existe toujours une résistance aux conditions acides, la souche *L. bulgaricus* et LB-selles représentent une survie plus élevée que la souche LB-lait ($p < 0,05$). Ces résultats démontrent que toutes les souches testées ont exprimé une résistance à l'acidité gastrique et cela leur permettrait de survivre dans l'estomac et atteindre l'intestin où ils peuvent exercer leurs

effets probiotiques. En accord avec nos résultats obtenus, des résultats de certains travaux de démontrent une bonne résistance chez les bactéries lactiques du Genre *Lactobacillus* aux pH bas entre 2 et 3 (Dunne *et al.*, 2001 et Mathara *et al.*, 2008).

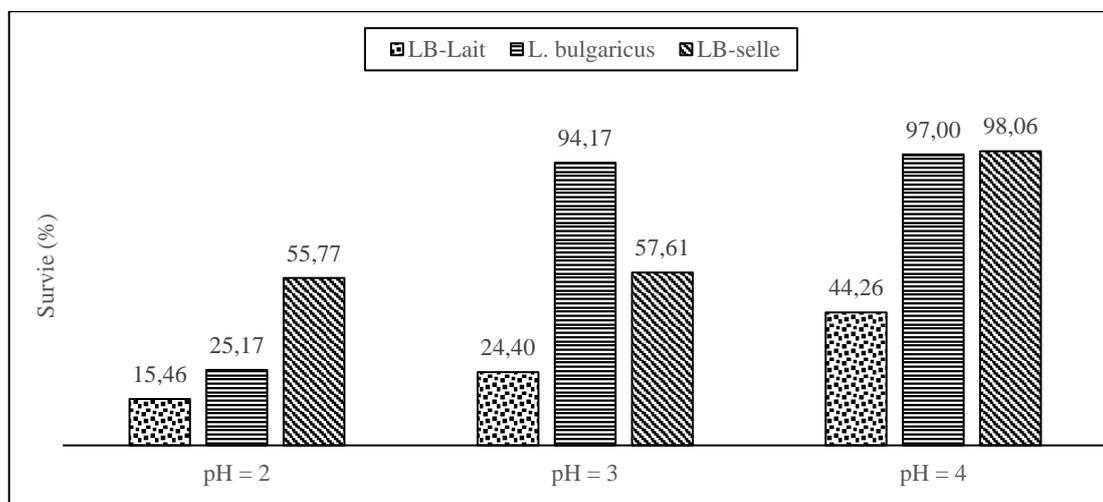


Figure. 45 : Survie des lactobacilles à différents niveaux de pH .

VIII.2. Résistance aux sels biliaries

L'étude de la survie des différentes souches lactiques après leur inoculation dans un bouillon nutritif à 0,3% de sels biliaries (figure 46) révèle que les trois souches présentent une tolérance variable aux sels biliaries : les souches *L. bulgaricus* et LB-selles présentent une tolérance légèrement supérieure aux sels biliaries par rapport à la souche LB-lait. D'après ces résultats, les lactobacilles étudiés ont une certaine tolérance aux sels biliaries ce qui suggère leur capacité potentielle à survivre dans l'environnement intestinal, où ils peuvent exercer leurs effets bénéfiques en tant que probiotique. Les résultats obtenus dans cette étude sont similaires à ceux rapportés par (Zommiti *et al.*, 2017).

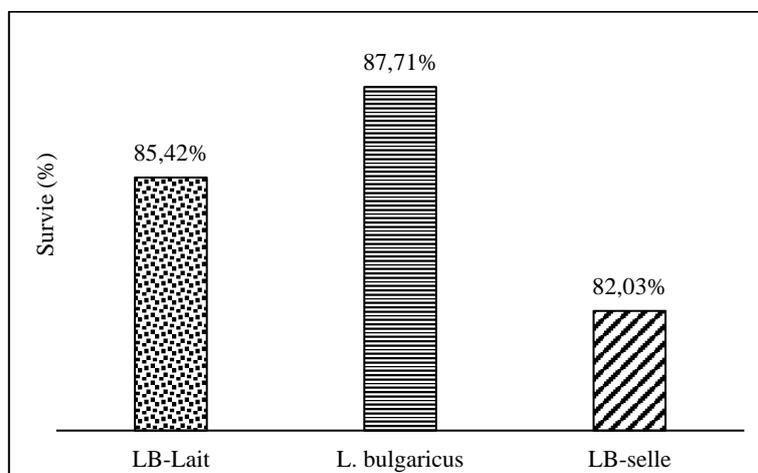


Figure. 46 : Tolérance des lactobacilles aux sels biliaries 1% .

VIII.3. Test d'auto-agrégation

L'auto-agrégation des lactobacilles est un processus par lequel les cellules regroupent pour former des agrégats. Ce processus peut jouer un rôle dans la colonisation et la persistance des lactobacilles dans l'environnement intestinal. Une capacité d'auto-agrégation peut favoriser la formation de biofilms et l'adhésion aux cellules de l'intestin. Nos résultats montrent que les lactobacilles étudiés présentent des capacités d'auto-agrégation variables, les souches LB-lait (61,80 %) et les *L. bulgaricus* (94%) présentent une plus grande capacité d'auto-agrégation que la souche LB-selles (48,90%) (**Figure 47**). Ces variations entre les souches peuvent être expliqués par plusieurs facteurs tels que les interactions entre les différentes souches et les conditions expérimentales. Cette capacité peut favoriser la persistance des lactobacilles dans l'intestin et leur capacité à exercer leurs effets bénéfiques. Les résultats d'études réalisés par (**Ferdjellah et al., 2013**) sur "les mécanismes d'auto-agrégation et co-agrégation et les facteurs impliqués dans ces deux propriétés des lactobacilles vaginaux" ont montré que les bactéries lactiques ont un pouvoir élevé d'auto-agrégation, constituant un mécanisme de protection et de défense et donne de ce fait les propriétés probiotiques à ces souches testées.

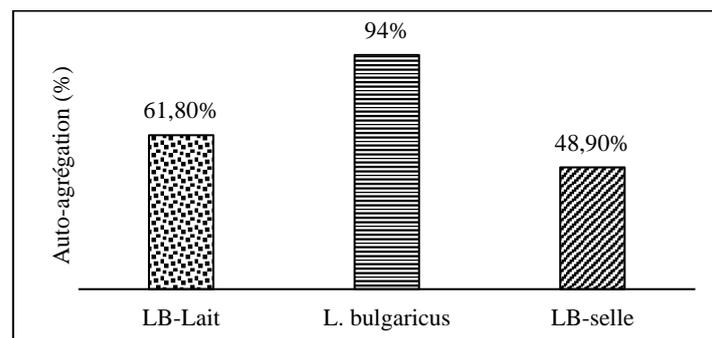


Figure. 47 : Pourcentages d'auto-agrégation des lactobacilles.

VIII.4. Capacité d'adhésion aux cellules épithéliales

Selon les résultats obtenus, on remarque une adhésion des trois souches lactique aux cellules épithéliales (**figure 48**). On considère notre test qu'il est positif car le nombre de cellules adhérees est supérieur à 15. Ces résultats sont similaires au celles de (**Ghebrioua et al., 2017**) dans leur étude sur les (propriétés adhésives d'une bactérie lactique du genre '*Lactobacillus*'), dans ce travail 6 souches de *Lactobacillus* ont été testé, parmi celle-ci 3 souches démontrant une forte adhésion aux microplaques en polystyrène et aux cellules épithéliales.

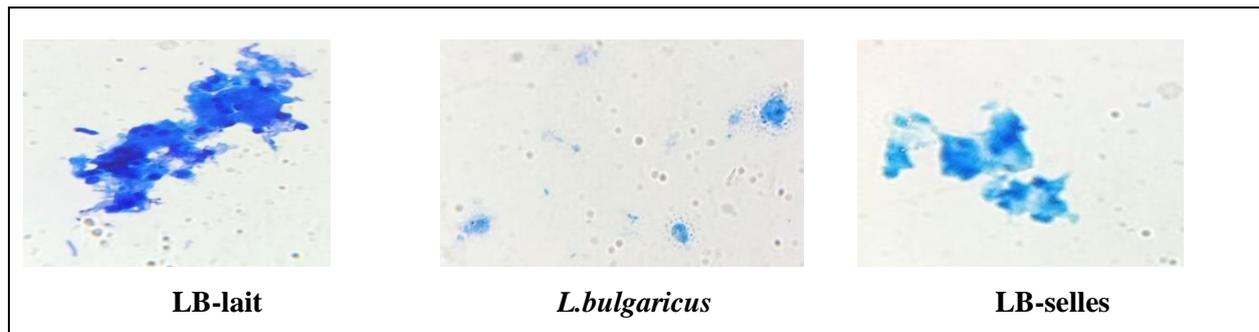


Figure. 48 : Résultats d'adhésion des lactobacilles aux cellules épithéliales.

VIII.5. Activité antibactérienne des lacto-bactéries isolées

Un probiotiques devant améliorer l'hygiène intestinale, il est important qu'il soit capable d'inhiber le développement des germes indésirables ; soit par la production de substances antagonistes de type bactériocines, acide organique, soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale (Malbezin, 2019). Il est clair d'après les résultats que certaines souches de bactéries lactiques peuvent simuler ou inhiber d'autres souches une fois mises en contact.

- La zone d'inhibition apparue signale la présence d'une réponse négative antagoniste qui est exercée par la bactérie LB-selles envers la souche pathogène *Protues mirabilis* leur diamètres des zones d'inhibition étaient plus de 20.
- L'absence des zones d'inhibition peut signaler la présence d'une interaction positive qui stimule la croissance des souches mises en contact LB-yaourt/ *Staphylocoques aureus* et LB-selles/ *Staphylocoques aureus* et LB-Lait / *Staphylocoques aureus* et LB-yaourt/ *Protues mirabilis* et LB-lait/ *Protues mirabilis*.

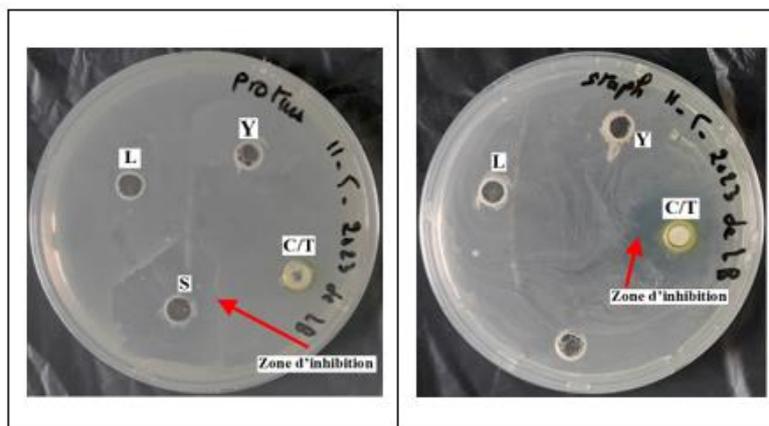


Figure.49 : Activité antagoniste de bactéries LB sur les bactéries pathogènes.

VIII.6. Sensibilité aux antibiotiques des lacto-bactéries isolées

Chaque souche a été soumise à un antibiogramme afin de déterminer leur résistance aux différents antibiotiques et mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 38** et **figure 50**. L'ensemble des lactobacilles étudiées sont très sensibles aux antibiotiques.

Tableau. 38 : Abréviations, charges des disques et diamètres critiques (mm) des antibiotiques utilisés.

Antibiotiques			Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
Nom	Abréviation	Charge (μg)	LB-lait	LB-yaourt	LB-selles
<i>chlorotétracycline</i>	CLT	30	22	27	7
Pipéracilline	PIP	30	7	16	20
Cefadroxil	CDR	30	7	10	8
Erythromycine	E	15	8	18	22

Les résultats montrent une forte sensibilité souches *Lactobasilus bulgaricus* et lactobacilles d'origine lait vis à vis l'antibiotique Chlorotétracycline (apparition d'une zone d'inhibition avec un diamètre de 27mm pour *Lactobasilus bulgaricus* et 22mm pour lactobacille d'origine lait) ainsi qu'une sensibilité moyenne aux autres antibiotiques.

Les lactobacilles d'origine selles possèdent une forte sensibilité vis-à-vis l'antibiotique Erythromycine ainsi que Pipéracilline (apparition d'une zone d'inhibition avec un diamètre de 22mm et 20mm respectivement), ainsi qu'une sensibilité moyenne aux autres antibiotiques.

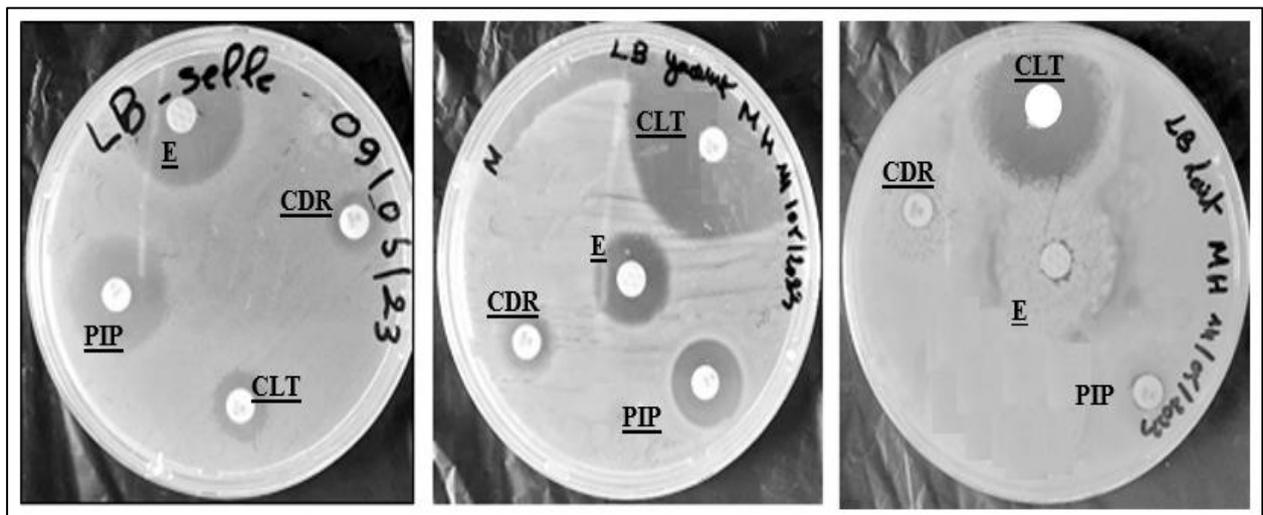


Figure. 50: Résultat d'antibiogramme des trois souches lactiques.

VIII.7. Effet de la gomme arabique sur la croissance des lactobacilles isolées

La GA peut avoir, aussi, des propriétés favorisant le développement des bactéries bénéfiques pour l'homme, par exemple, il a été annoncé que la GA est capable d'augmenter de manière sélective la proportion de bactéries lactiques et de bactéries bifidus au niveau la flore intestinale (Ross *et al.*, 1983).

L'homme et les animaux ne possèdent pas d'enzymes qui dégradent la gomme arabique dans l'intestin par contre elle est fermentée par les bactéries intestinales dans le colon (Musa, Ahmed, *et Musa*, 2019).

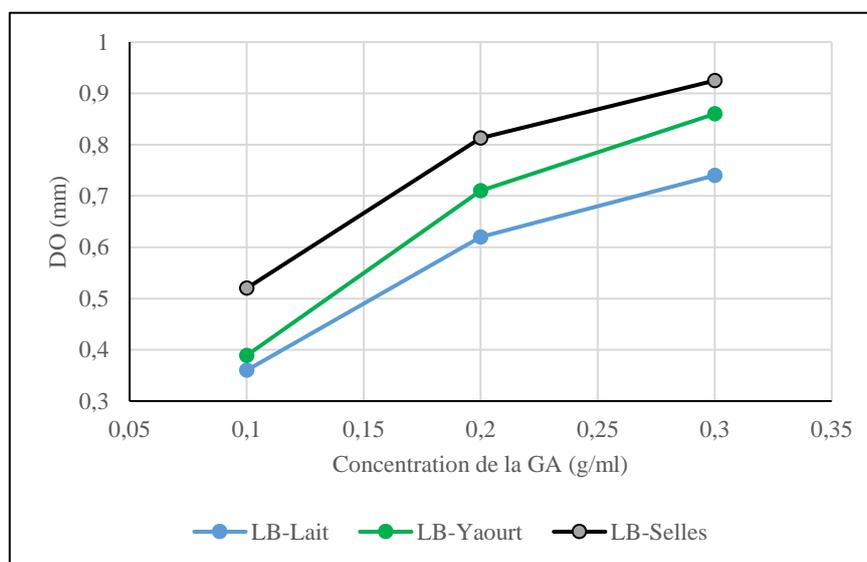


Figure.51 : Croissance des LB en présence de la GA.

I. Evolution de pH de lait de vache et de yaourt additionné par la GA

Les résultats des mesures de pH du lait et du yaourt après l'ajout de différentes concentrations de gomme arabique montrent une diminution des valeurs de pH des deux produits. Pour le lait lorsqu'il était exempt de gomme arabique (0%), le pH initial était de 6,71. Au fil du temps, le pH a légèrement diminué jusqu'à atteindre 4,34 après 21 jours. L'ajout de gomme arabique à des concentrations croissantes a entraîné une diminution plus prononcée du pH du lait. À des concentrations de 1%, 2% et 3% de gomme arabique, le pH initial était respectivement de 7,50, 7,00 et 6,80. Après 21 jours, le pH a diminué pour atteindre 4,30, 4,28 et 4,24 respectivement (figure24).

Pour le yaourt nature sans gomme arabique (0%) à un pH initial de 5. Au cours des premières 24 heures, le pH a légèrement diminué, puis il a continué à diminuer progressivement au fil du temps. L'ajout de gomme arabique à des concentrations croissantes a entraîné une légère augmentation du pH initial du yaourt. À des concentrations de 1%, 2% et 3% de gomme

arabique, les pH initiaux étaient respectivement de 5,18, 5,15 et 5,09. Au fil du temps, le pH a diminué pour atteindre 4,32, 4,30 et 4,26 après 21 jours (**figure 52**).

Ces résultats indiquent que l'ajout de gomme arabique peut affecter les niveaux de pH du lait et du yaourt, cela peut être attribué à l'activité fermentative des bactéries présentes dans les deux produits, qui métabolisent les nutriments et produisent de l'acide lactique. C'est résultats concordent les résultats obtenus par (**Shatha et al., 2014**).

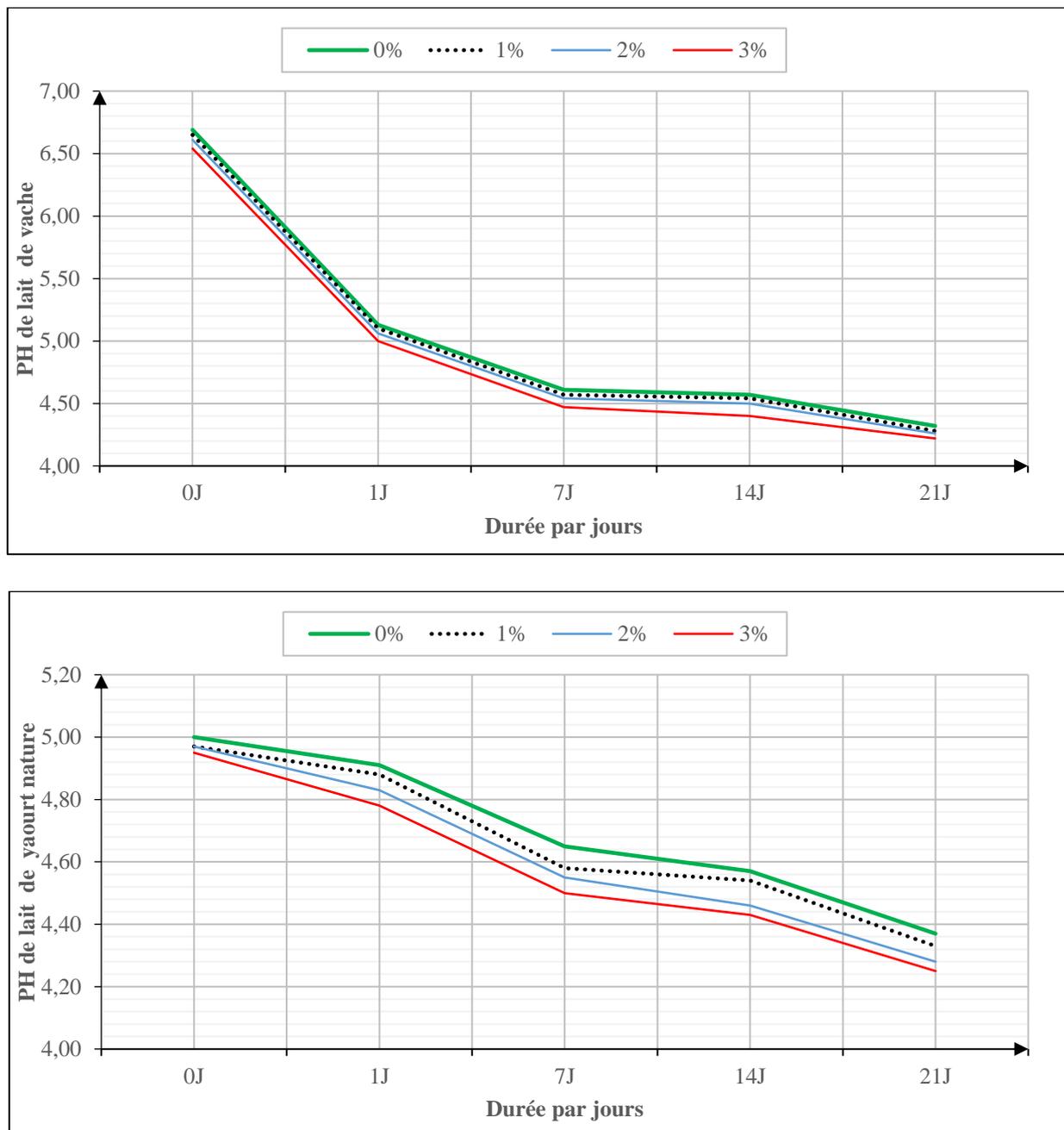


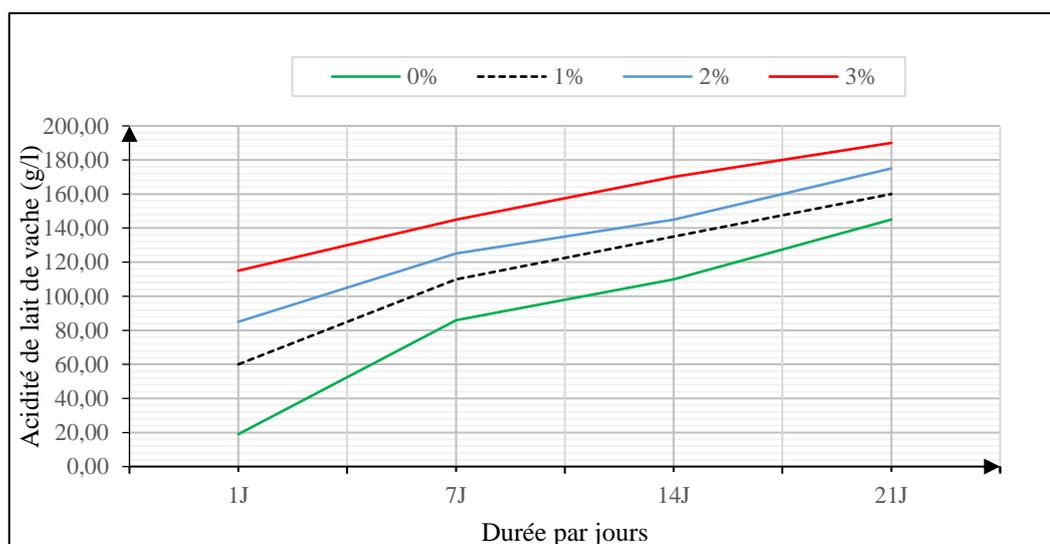
Figure. 52: Courbe d'évolution de pH de lait de vache et du yaourt additionné par la GA au cours de la période de post acidification.

II. Evolution de l'acidité du lait fermenté et du yaourt additionné par la GA

D'après les deux graphes une augmentation l'acidité Dornic du lait et du yaourt été observée après l'ajout de la gomme arabique et son augmentation croissante avec l'augmentation du pourcentage de gomme ajouté peuvent être expliquée de la manière suivante :

L'acidité Dornic exprime la quantité d'acide lactique dans un produit laitier. Lorsque la gomme arabique est ajoutée au lait, elle peut influencer le pH et l'acidité du mélange. La gomme arabique contient des polysaccharides qui peuvent agir comme prébiotiques pour les bactéries présentes dans nos produits ce qui entraîne une augmentation de l'activité métabolique de ces bactéries lactiques et donc l'augmentation de la production d'acide lactique, ce qui augmente l'acidité Dornic du lait et de yaourt. Noter que plus le pourcentage de gomme ajouté est élevé, plus il y aura de polysaccharides disponibles pour la fermentation par les bactéries lactiques donc la production d'acide lactique sera plus importante, entraînant une augmentation plus marquée d'acidité ce qui explique l'augmentation de cette dernière suite à l'augmentation de pourcentage de la gomme ajouté (**figure 53**).

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux mentionnés par(**Shatha et al., 2014**) dans son étude sur l'effet de l'ajout de gomme arabique dans des proportions différentes sur certains probiotiques du lait fermenté et étude du pouvoir inhibiteur contre certaines bactéries pathogènes, et cela par l'ajout de différents proportions (0,5% et 1,0%) de la gomme arabique à un lait suives par l'incubation à 37°C jusqu'à l'apparence de coagulation. Après l'incubation les mesures d'acidité montrent une augmentation d'acidité des produits après les deux niveaux de gomme arabique (0,5% et 1,0%) ajoutés par rapport au témoin.



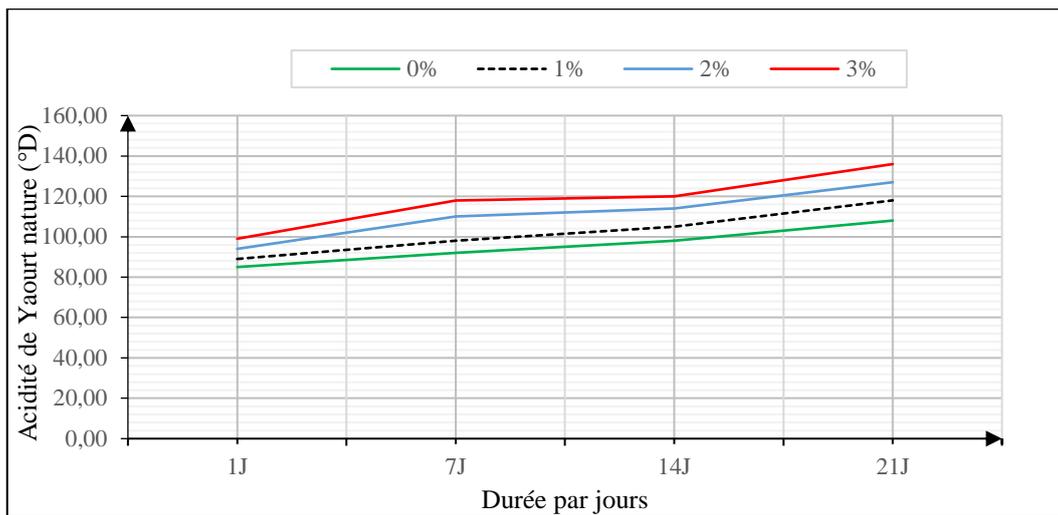


Figure. 53 : Courbe d'évolution de l'acidité du lait et du yaourt nature additionné par la gamme arabique au cours de la période de post acidification.

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans cette pré-étude qui avait pour but d'avoir un produit symbiotique composé de probiotiques « lactobacilles » et de prébiotiques « gamme *Acacia Arabica* », afin de rétablir l'équilibre du microbiote intestinal il ressort que :

- Le déséquilibre de la flore intestinale peut être une conséquence d'autres maladies tels que l'arthrose, le diabète et l'obésité.
- Les lactobacille étudiées (*Lactobacillus bulgaricus*, lactobacille d'origine lait et lactobacille d'origine selles) possèdent des aptitudes probiotiques tels que la résistance aux pH gastrique et aux sels biliaires, une auto-agrégation, et une bonne capacité d'adhésion aux cellules épithéliales.
- Les lactobacilles d'origine des selles étudiier possède une activité antibactérienne vis-à-vis la souche pathogène *Protues mirabilis*.
- La gomme d'*Acacia Arabica* possède un effet prébiotique sur les souches lactobacilles où il améliore leur croissance.

Une meilleure compréhension des mécanismes de protection conférés par les prébiotiques vis -à vis des probiotiques permettra d'améliorer encore leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé de l'homme. En perspective, il serait intéressant de mettre en évidence :

- L'identification du genre et de l'espèce des souches lactobacilles et l'étude de leurs caractérisations probiotiques pour identifier les souches qui possèdent des aptitudes probiotiques.
- Tester l'effet prébiotique de la gomme sur les souches identifiées.
- Tester l'effet de la gomme arabe sur d'autres souches bactériennes et sur d'autres types de microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme afin de voir si cette gomme est dotée d'un large spectre d'activité antimicrobienne.

Une analyse chimique de la gomme d'*Acacia arabica* permettrait de déterminer la nature des molécules favorisant la croissance des lactobacilles probiotiques, ainsi que de déterminer des agent(s) inhibiteur(s) de la croissance des microorganismes pathogènes, ensuite :

- ✓ Une extraction des molécules favorisant la croissance des probiotiques et purification des agents inhibiteurs des microorganismes pathogènes et leur caractérisation, en les soumettant aux différents traitements physico-chimiques (pH, températures, solvants...).

Une fois ceci réalisé, des protocoles seront adaptés pour la production industrielle d'un produit symbiotique possède des (probiotiques/prébiotiques).

**Références
bibliographiques**

Références et bibliographie

AFSSA. 2003. « Alimentation infantile et modification de la flore intestinale. Rapport du groupe de travail. <http://www.afssa.fr>. - Recherche Google ».

Ahmed, Abdelkareem. 2018. « Health Benefits of Gum Arabic and Medical Use ». In Gum Arabic, 183-210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812002-6.00016-6>.

Al-Assaf, Saphwan, Glyn O. Phillips, et Peter A. Williams. 2005. « Studies on Acacia Exudate Gums: Part II. Molecular Weight Comparison of the Vulgares and Gummiferae Series of Acacia Gums ». *Food Hydrocolloids* 4 (19): 661-67. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.09.003>.

Al-Baadani, Hani H., Saud I. Al-Mufarrej, Maged A. Al-Garadi, Ibrahim A. Alhidary, Ahmed A. AlSagan, et Mahmoud M. Azzam. 2021. « The Use of Gum Arabic as a Natural Prebiotic in Animals: A Review ».

Anderson, D. M. W., Edmund Hirst, et J. F. Stoddart. 1967. « Studies on Uronic Acid Materials. Part XXI. Some Structural Features of Acacia Arabica Gum ». *Journal of the Chemical Society C: Organic*, n o 0 (janvier): 1476-86. <https://doi.org/10.1039/J39670001476>.

Anne-Laure Tarrerias, Vianna Costil, Jean-Christophe Létard. 2014 « Régime alimentaire en cas de diarrhées ». Dans *Hegel 2014/Supp (N° 3)*, pages S29 à S30.

Arbia, Tebib. 2015. « L'analyse biochimique de la gomme arabique exsudée de l'Acacia arabica de l'USTO ». Université mohamed boudiaf des sciences et de la technologie d'oran. <https://www.ccdz.cerist.dz/admin/notice.php?id=0000000000000000858766000903>.

Azzi, R. 2013. « Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmacotoxicologique de figuier (Ficus carica) et de coloquinte(Citrullus colocynthis) chez le rat wister. » These doctorat en biologie, Tlemcen, Algerie: Université Abou Bekr Belkaid.

Bouguerra, Asma. 2021. « Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. » Université Ferhat Abbas, Sétif 1, faculté des sciences de la nature e de la vie.: Thèse de Doctorat.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llrente, C., & Gil, A.(2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.-

Coudeyras, S., & Forestier, C. (2010). Microbiote et probiotiques: impact en santé humaine. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(8), 611-650.

Bouridane, Hamida, Mohamed Sifour, Tayeb Idoui, Lejeune Annick, et Philip Thonard. 2016. « Technological and Probiotic Traits of the Lactobacilli Isolated From Vaginal Tract of the Healthy Women for Probiotic Use ». *Iranian Journal of Biotechnology* 14 (3): 192-201. <https://doi.org/10.15171/ijb.1432>.

Coppen, J., et G. Hone. 1995. « Gum Naval Stores : Turpentine and Rosin from Pine Resin. Non-Wood Forest Products series. No. 2. Rome: Food and Agriculture Organization. p. », 62.

Cossalter, C., Waimanalo Nitrogen Fixing Tree Association, et Farm Forest. 1991. « Acacia senegal: gum tree with promise for agroforestry ». Waimanalo, HI (USA) NFTA/FACT Net. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Acacia+senegal%3A+gum+tree+with+promise+for+agroforestry&author=Cossalter%2C+C.&publication_year=1991.

Coconnier MH, Klaenhammer TR, Kernéis S, Bernet MF and Servi AL. (1992). Proten-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture. *Applied and Environmental Microbiology* .58, 2034–2039

Coudeyras, S., & Forestier, C. (2010). Microbiote et probiotiques: impact en santé humaine. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(8), 611-650.

Cross M. L. et Gill H. (2001). "Can immunoregulatory lactic acid bacteria be used as dietary supplements to limit allergies ?" *International archives of allergy and immunology*. 125(2):112- 119

Das, Palashpriya, Suman Khowala, et Subhajit Biswas. 2016. « In Vitro Probiotic Characterization of *Lactobacillus Casei* Isolated from Marine Samples ». *LWT* 73 (novembre): 383-90. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.029>.

DEBRAY M., JACQUEMIN H., RAZAFINDRAMBO R., 1971- Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. *Travaux et documents de l'Orstom, Paris. France. Vol. 2013(2013): 8 P.*

Delzenne, Nathalie. 2003. « Oligosaccharides: State of the art ». *The Proceedings of the Nutrition Society* 62 (mars): 177-82. <https://doi.org/10.1079/PNS2002225>.

Dias, Francesca Silva, Whasley Ferreira Duarte, et Rosane Freitas Schwan. 2013. « Evaluation of adhesive properties of presumptive probiotic *Lactobacillus plantarum* strains ». *Bioscience Journal* 29 (novembre): 1678-86.

Fanny Perraudau , Paul McMurdie , James Bullard , Andrew Cheng , Colleen Cutcliffe , Achal Deo , John Eid , Jessica Gines , Mohan Iyer , Nicholas Justice , Wesley T Loo , Madeleine Nemchek , Marcus Schicklberger , Michael Souza , Brendon Stoneburner , Surabhi Tyagi , Orville Kolterman. 2020 «Improvements to postprandial glucose control in subjects with type 2 diabetes: a multicenter, double blind, randomized placebo-controlled trial of a novel probiotic formulation».

Faure, S., Pubert, C., Rabiller, J., Taillez, J., & Yvain, A. L. (2013). Que savons-nous des probiotiques?. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(528), 18-21.

Favre, Géraldine. 2004. « Prébiotiques et probiotiques, ont-ils un réel intérêt pour la santé? Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine ».

Fernandez MF, Boris S, Barbes C. (2002). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be in the gastrointestinal tract. *J. Appl. Microbiol.* 94, 449-455.

Firdaus, Ihsanul. 2017. « Laboratory Handbook on Bovine Mastitis ». National Mastitis Council(NMC),janvier.https://www.academia.edu/50651208/Laboratory_Handbook_on_Bovine_Mastitis.

Gerard Huyghebaert , Richard Ducatelle , Filip Van Immerseel. 2011 «An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers» *The Veterinary Journal* Volume 187, Issue 2, February 2011, Pages 182-188.

Gomes AC et al., The additional effects of a probiotic mix on abdominal adiposity and antioxidant status : A double-blind, randomized trial. *Obesity*. 2017 Jan ; 25(1) : 30-38.

Goulet, O. 2009. « La flore intestinale : un monde vivant à préserver ». *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* 22 (3): 102-6. <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2009.03.007>.

Granette C. (2007). "Probiotiques et régulation de la réponse immune allergique etInflammatoire." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 42: 76-85

Handa, Shweta, et Nivedita Sharma. 2016. « In Vitro Study of Probiotic Properties of Lactobacillus Plantarum F22 Isolated from Chhang – A Traditional Fermented Beverage of Himachal Pradesh, India ». *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 14 (1): 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.08.001>.

Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A et Otani T - 2003 Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis. *J Am Coll Nutr*, 22: 56-63.

Jean-Christophe Bocle. 2005. « Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte : Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults ». *vie-publique.fr*. 1 février 2005. <http://www.vie-publique.fr/rapport/27026-effets-des-probiotiques-et-prebiotiques-surla-flore-et-limmunité-de-l>.

Jean-Claude Rambaud, et Jean-Paul Buts. 2004. *Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives*. John Libbey Eurotext.

Kaewnopparat, Sanae, Nattakan Dangmanee, Nattha Kaewnopparat, Teerapol Srichana, Malyn Chulasiri, et Sukanya Settharaksa. 2013. « In Vitro Probiotic Properties of Lactobacillus Fermentum SK5 Isolated from Vagina of a Healthy Woman ». *Anaerobe* 22 (août): 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.04.009>.

Kim, J., Muhammad, N., Jhun, B. H., & Yoo, J. W. (2016). Probiotic delivery systems: a brief overview. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 46(4), 377-386.

Landman, C., et E. Quévrain. 2016. « Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique ». *La Revue de Médecine Interne* 37 (6): 418-23. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.12.012>.

Lin, T. Y., et M. -F. Chang Chien. 2007. « Exopolysaccharides Production as Affected by Lactic Acid Bacteria and Fermentation Time ». *Food Chemistry* 100 (4): 1419-23. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.033>.

Ludovic Coppé. 2018. « Dysbioses intestinales chez l'Homme : Causes, conséquences, prophylaxies et traitements ». UNIVERSITE DE LORRAINE FACULTE DE PHARMACIE. <https://hal.univlorraine.fr/hal-03297554>.

Marteau, P, et Doré,J. 2017. « Le microbiote intestinal. EMC-Gastro-entérologie, 12, 1-8. »

Marteau, Philippe R, Michael De Vrese, Christophe J Cellier, et Jürgen Schrezenmeir. 2001. « Protection from Gastrointestinal Diseases with the Use of Probiotics ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 73 (2): 430s-36. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.430s>.

Mathara JM, Schillinger U, Guigas C, Franz C, Kutima PM, Mbugua SK, Shin HK. Et Holzappel WH. (2008). Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. From traditional Maasai fermented milk products in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.* 126 ,57-64.

M. Belhadj , Z. Arbouche , M. Brouri , R. Malek , M. Semrouni , S. Zekri , D. Nadir , S. Abrouk. 2019 «BAROMÈTRE Algérie : enquête nationale sur la prise en charge des personnes diabétiquesBAROMETER Algeria: National survey on the care of people with diabetes»

Mitsuoka, T. 1992. « Intestinal Flora and Aging ». *Nutrition Reviews* 50 (12): 438-46. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1992.tb02499.x>.

Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., &Chatzifragkou, A. (2019). Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(16),6463-6472

N'Guessan, K., B. Kadja, G. Zirihi, D. Traoré, et L. Aké-Assi. 2009. « Screening Phytochimique de Quelques Plantes Médicinales Ivoiriennes Utilisées En Pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire) ». *Sciences & Nature* 6 (1).

Noudogbessi, J. P. A., A. K. Natta, F. P. Tchobo, G. S. Bogninou, F. T. D. Bothon, A. D. Bossou, G. Figueredo, P. Chalard, J. C. Chalchat, et D. C. K. Sohounhloué. 2013. « Phytochemical Screening of *Pentadesma Butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS ». *International Scholarly Research Notices* 2013 (mars): e172397. <https://doi.org/10.1155/2013/172397>.

Paulina Markowiak , Katarzyna Śliżewska. 2017 «Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health» *Nutrients*. 2017 Sep 15;9(9):1021. doi: 10.3390/nu9091021.

Perraudeau F, McMurdie P, Bullard J, et al Improvements to postprandial glucose control in subjects with type 2 diabetes: a multicenter, double blind, randomized placebo-controlled trial of a novel probiotic formulation *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2020;8:e001319. doi: 10.1136/bmjdr2020-001319.

Philippe Ducrotté, Guillaume Gourcerol. 2016. « Tube digestif et diabète ». atelier Atteinte digestive au cours du diabète

Salminen, S., E. Isolauri, et T. Onnela. 1995. « Gut Flora in Normal and Disordered States ». *Chemotherapy* 41 Suppl 1: 5-15. <https://doi.org/10.1159/000239391>.

Shatha, Shatha Allaith, Amer Mohammed Al Shaikh Thaher, et Rukaibaa Chechan. 2014. « The effect of adding Arabic gum in different ratios on some probiotics fermented milk and studying the inhibitory ability against some pathogenic bacteria .)décembre(12»

Sophie Coudeyras , Christiane Forestier. 2010 « Microbiota and probiotics: effects on human health » National Center for Biotechnology Information. *Can J Microbiol.* 2010 Aug;56(8):611-50. doi: 10.1139/w10-052.

Sumana Sarkhel 2015 Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja saponaria* Mol. saponin extract in mice. (Décembre)

Terragno, Luc, François DEBRU, Stéphane HERVE, et Philippe Teissier. 2009. Utilisation de la gomme arabique pour améliorer la croissance et la survie des bifidobactéries. European Union EP2079316A2, filed 1 octobre 2007, et issued 22 juillet 2009.

TREASE E., EVANS W.C. 1987- Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). *Journal of Medicine and scientific. Nigeria.* Vol. 4(3): 179- 182.). 56. Vidal - 2023 - Maladie de Crohn. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/crohn-maladie-de-3751.html#prise-en-Charge> (Consulté le 06/05/2023)

. Vidal. « Probiotiques », 2023. [En ligne] <https://eurekasante.vidal.fr/parapharmacie/complementsalimentaires/probiotiques-bifidobacteries-saccharomycetes.html> (consulte le 10/05/2023)

Wang, Yanbo. 2009. « Prebiotics: Present and Future in Food Science and Technology ». *Food Research International* 42 (1): 8-12..

Weiguo Cui , Nikhil S Joshi, Ying Liu, Hailong Meng, Steven H Kleinstein, Susan M Kaech «TLR4 ligands lipopolysaccharide and monophosphoryl lipid a differentially regulate effector and memory CD8+ T Cell differentiation» .

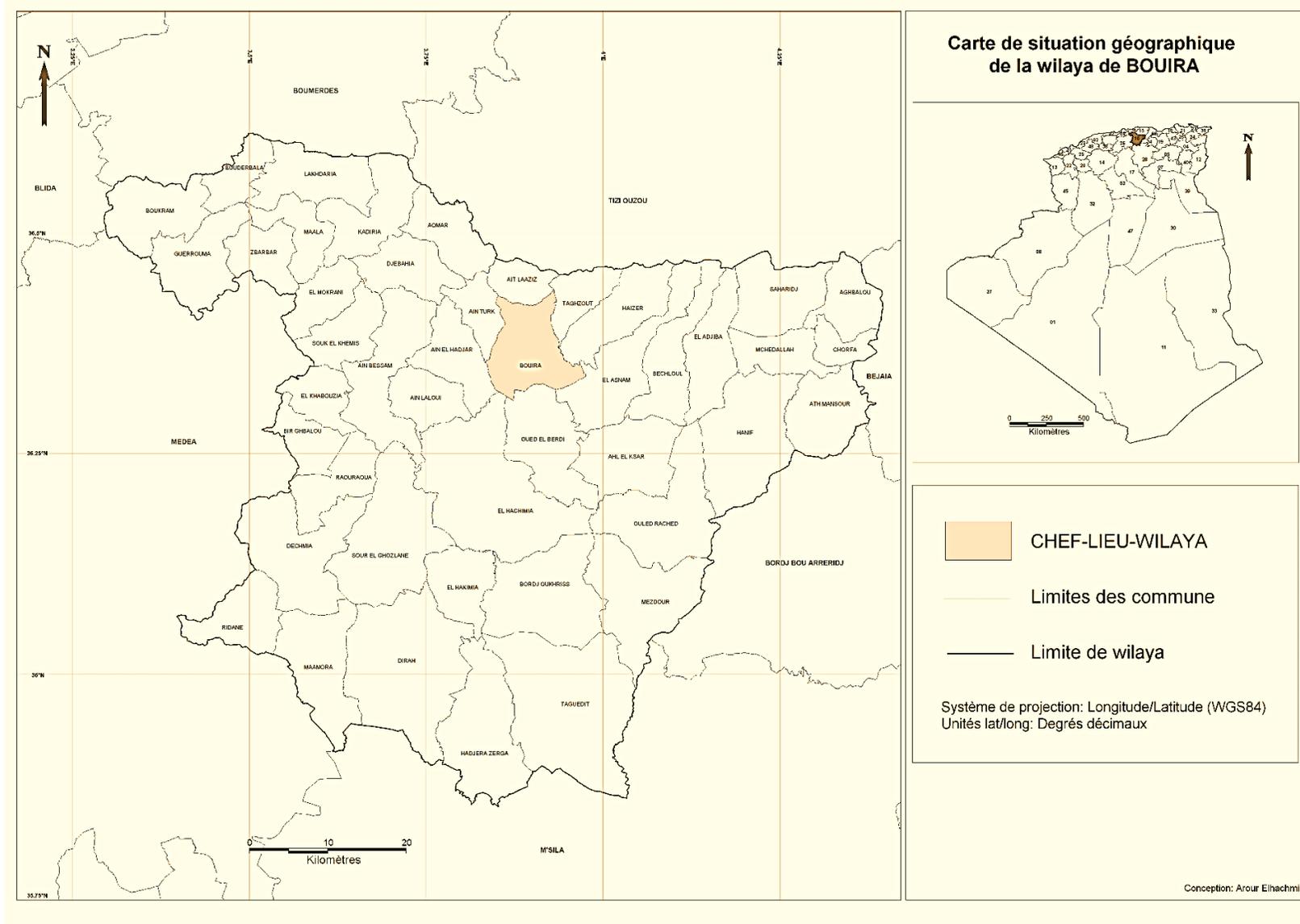
World Health Organization. 1993. « Parasitologie médicale : techniques de base pour le laboratoire ». Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37025>.

Yan, F., & Polk, D. B. (2009). Mechanisms of Probiotic Regulation of Host Homeostasis. In: Michail S., Sherman P.M. (Eds). *Probiotics in Pediatric Medicine* (pp. 55-56). Humana Press.

Zommiti M., Connil N., Ben Hamida J., Ferchichi M. (2017). Probiotic Characteristics of *Lactobacillus curvatus* DN317, a Strain Isolated from Chicken Ceca Probiotics & Antimicro. Prot. 9:415–424

Annexes

Annexe A :



Annexe B : Formulaire de consentement du participant

Je certifie avoir pris connaissance de toutes les questions ci-dessus et que les réponses données ont été fidèlement reproduites. De plus, je consens à ce qu'elles servent de base à une étude sur les facteurs déclenchant le diabète et l'obésité.

Date

		2022
--	--	------

 N° de la carte nationale Signature de la personne

(Le consentement est établi en deux exemplaires dont un exemplaire à remettre à l'intéressé(e)).

A lire attentivement avant de le signer. Ne pas hésiter à poser des questions si certains aspects semblent peu clairs ou si des précisions supplémentaires semblent nécessaires.

Intitulé du projet de Master :

Code de participant (e) : Date de naissance :

Sexe :

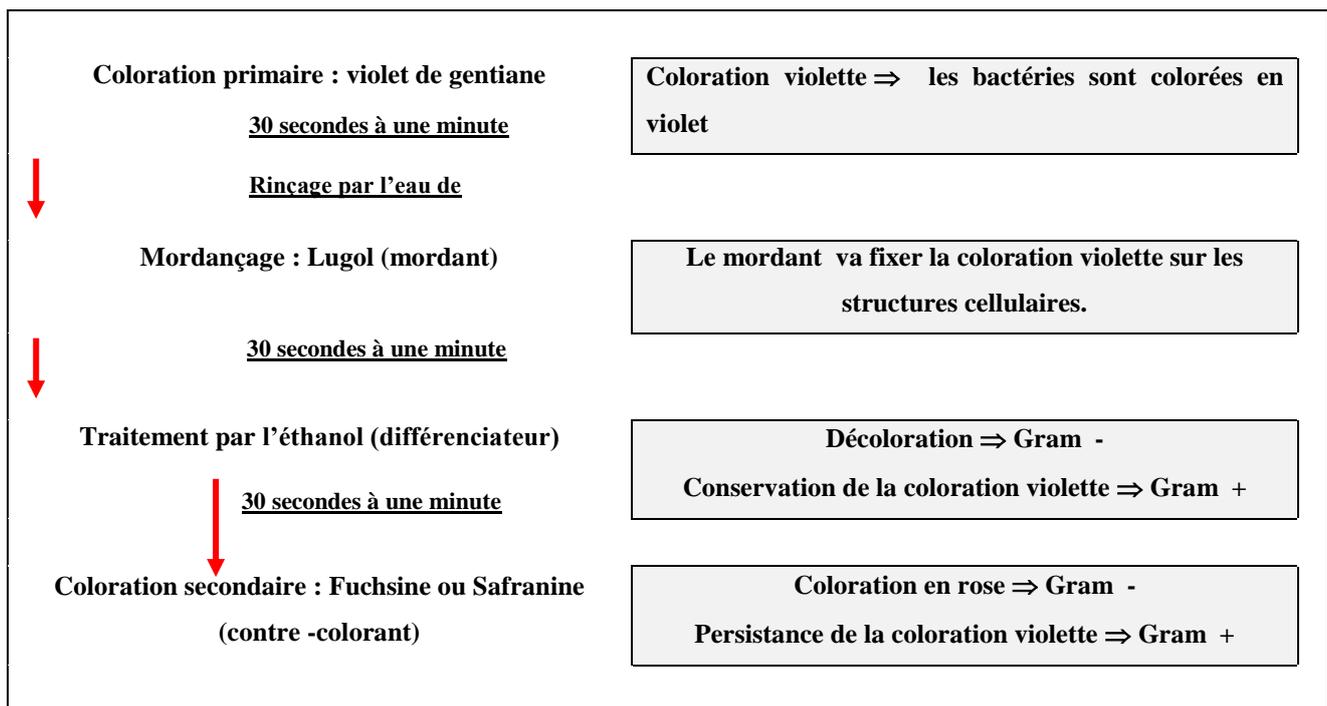
Lieu et date :

Signature du patient/de la patiente

Annexe C : Caractères organoleptiques des selles

Consistance (échelle de Bristol)	 Forme de saucisse  Morceaux irréguliers	 Petites boules de selles dures  Forme de saucisse grumeleux  Saucisse + craquelures à la surface	 Mousseux  Liquide
	Semi- solide (pas de constipation ou diarrhée)	Solide solides (cas de constipation)	Pâteuse ou liquide (cas de diarrhée)
Couleur			
	Normal: brune	Sombre (putréfaction) : brune foncée ou noire	Claire (absence de la bile) : jaune ou blanche
Résidus alimentaire	(+) Fibres musculaires mal digérées graisses neutres cellulose digestible amidon 		
	Présence		Absence
Macroparasites			
Éléments surajoutés	Mucus (glaires intestinales)	Sang	Autres

Source: Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time, Lewis SJ, Heaton KW, Scand J Gastroenterol, 1997 Sep;32(9):920--4.

Annexe. D : Technique de coloration de Gram

Annexe E : Composition des milieux gélosés de dénombrement pour 1000 ml de l'eau distillée.

Gélose	Incubation	Comptage	Composants	Mesures
PCA (Plate Count Agar)	48-72 h à 37°C	10-300 colonies.	Peptone de caséine	5 g
			Extrait de levure	2,50 g
			Glucose	1 g
			Agar	15 g
			pH	7,0 ± 0,2
OGA (Oxytetracycline-Glucose- Yeast Extract Agar)	48-72 h à 37°C	10 - 100 colonies.	Extrait de levure	5 g
			Glucose	20 g
			Oxytétracyclique	0,1 g
MRS (Man, Rogosa et Sharpe)	48-72 h à 37°C	< 300 colonies	Peptone	10 g
			Extrais de viande	10 g
			Extrait de levure	5 g
			Glucose	20 g
			Tween 80 (sorbitanne monoléate)	01 g
			Hydrogéo-orthophosphate dipotassique	02 g
			Acétate de sodium, trihydraté	02 g
			Citrate d'ammoniaque	02 g
			Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
			Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g
			Agar-agar	15 g
pH	6,5			
VRBL (Violet-Red-Bile- Lactose)	24 h ± 2 h à 37°C	15 -150 colonies.	Peptone	7 g
			Extrait de levure	3 g
			Chlorure de sodium	5 g
			Sels biliaires	1,5 g
			Glucose	10 g
			Rouge neutre	30 mg
			Cristal violet	2 mg
			Agar	12 g
			pH	7,4 ± 0,2
Viande de foie	24 h ± 2 h à 37°C	/	Peptone viande-foie	30,00
			Sulfite de sodium	2,50
			Glucose	2,00
			Citrate ferrique ammoniacal	0,50
			Amidon soluble	2,00
			Agar	11,00
Chapman (mannitol salt agar)	24 h ± 2 h à 37°C	15 -150 colonies	Peptone	10
			Extrait de viande de bœuf	1
			Chlorure de sodium	75
			Mannitol	10
			Rouge de phénol	0,025
Agar	15			

Annexe. F : Dénombrement des bactéries.**Cas 01 : une seule boîte**

– **Règle :** Une boîte exploitable est une boîte qui contient de 15 à 300 colonies.

– **Formule :** $N = \frac{\text{Nombre d'UFC dans la boîte (UFC/mL)}}{Vd' inoculum déposé} \times \text{Facteur de dilution}$

– **Exemple :**

Facteur de dilution	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	Calcul
Nombre des colonies UFC. mL ⁻¹	400	333	33	4	$N = \frac{33 \text{ (UFC. mL}^{-1}\text{)}}{0,1 \text{ mL}} \times 10^4$ $= 3,3 \cdot 10^6 \text{ UFC. mL}^{-1}$
Boîtes exploitables (15 à 300 colonies)	Non	Non	Oui	Non	

Cas 02 : deux boîtes

– **Règle :** Le nombre de microorganismes par ml d'échantillon est calculé à partir des boîtes retenues au niveau de deux dilutions successives.

– **Formule :**

$$N = \frac{\text{somme des nombre d'UFC dans les boîte (UFC/mL)}}{1,1 \times Vd' inoculum déposé} \times \text{Facteur de dilution (le moins fort)}$$

– Les résultats sont exprimés par le nombre d'unité formant une Colonie (UFC) (Colony Forming Unit) par ml ou par gramme présentes dans l'échantillon.

– **Exemple :**

Facteur de dilution	10 ²	10 ³	10 ⁴	Calcul
Nombre des colonies (UFC. mL ⁻¹)	291	28	3	$N = \frac{291 + 28 \text{ (UFC. mL}^{-1}\text{)}}{1,1 \times 0,1 \text{ mL}} \times 10^3 = 2,9 \cdot 10^8 \text{ UFC. mL}^{-1}$
Boîtes exploitables (15 à 300 colonies)	Non	Oui	Non	

Annexe G : Composition des solutions utilisée

Solution	Composition	Mesures
200 mL de Violet de Gentiane	Cristal violet	2 g
	Phénol	4 g
	Ethanol (90°GL)	20 mL
	Eau distillée	200 mL
100 mL de Lugol 5% (solution iodo-iodurée)	Iode métalloïdique	05 g
	Iodure de potassium	10 g
	Eau distillée	100 mL
200 mL de Fuchsine	Fuchsine basique	2 g
	Phénol	10 g
	Ethanol	20 mL
	Eau distillée	200 mL
Eau physiologique 0,9 %	Eau distillée	1000 mL
	NaCl	09 g
Eau oxygénée 10°		50 mL
liqueur de Fehling V/V	Solution A : 45 g de sulfate de cuivre (CuSO_4) dans 1 000 ml d'eau distillée	
	Solution B : 200 g de tartrate de sodium et de potassium, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) et 150 g d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 1 000 ml d'eau distillée	
Réactif de Wagner	Iodure de potassium	2 g
	Iode	1,27 g
	Eau distillée	100 ml
Réactif de Voges-Proskauer (VPI)	α Naphtol	6 g
	Alcool éthylique à 90°	100 ml
Réactif de Voges-Proskauer (VPII)	40% de potassium hydroxide dans de l'eau pure	

Annexe H : Composition des milieux d'identification des bactéries lactiques.

Lait UHT (Ultra Haute Température), Partiellement écrémé, sous le label Candia

Composition pour 100 ml	Quantité
Glucides dont sucres	4,8 g/4,8 g
Protéines	3,3 g
Sel	0,10 g
Calcium	120 mg

Yaourt nature (soummam)

Valeurs nutritionnelles moyennes pour 100g		نسبة القيمة الغذائية المتوسطة في 100g	
Energie KJ	202.56	الطاقة كيلوجول	
Kcal	48.22	كيلو حريرة	
Matières grasses (g)	1.9	الدهون (غ)	
dont acides gras saturés (g)	1.24	منها الاحماض الدهنية المشبعة (غ)	
Glucides (g)	4.28	الكاربوهيدرات (غ)	
dont lactose (g)	4.28	منها اللاكتوز (غ)	
Protéines (g)	3.50	البروتينات (غ)	
Sel (g)	0.11	الملح (غ)	
Calcium (mg)	132.05	الكالسيوم (مغ)	

Lait de Sherman

Composition	Quantité
Lait écrémé stérile en tubes	9 ml
Bleu de méthylène à 1% stérilisé à 20 min à 120 °C	1ml

Gélose semi-solide au lait citraté

Composition	Quantité
Lait écrémé stérile	5 ml
Citrate de sodium	0,25 ml
Gélose blanche	3 ml

Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.

Milieu de Gibson et Abd EL Malek

Composition	quantité
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	50 g
Jus de tomate à pH 6,5	100 ml
Lait	800 ml
Gélose nutritive ordinaire	200 mL

pH 6,5 ; répartir en tube à essai (8 à 10 ml) ; stériliser par tyndallisation, 3 fois 30 minutes à 100°C à 24 h d'intervalle.

Bouillon hypersalé (pH 7.2)

Composition	Quantité
Extrait de viande	5g
Glucose	5g
Peptone	15g
NaCl	40/65g
Eau distillée	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Milieu TSI (Triple Sugar Iron)

Composition	Quantité
Extrait autolytique de levure	3,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Peptone	20,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Glucose	1,0 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Citrate de fer (III)	0,3 g
Rouge de phénol	24,0 mg
Agar agar bactériologique	9,0 g
Eau distillée	1000ml

Résumé :

Le déséquilibre de la flore intestinale représente un problème pour la santé de l'homme et qui peut être une conséquence de plusieurs maladies inflammatoires, métaboliques etc. Cette recherche vise à étudier l'effet prébiotique de la gomme d'*Acacia arabica* sur la croissance de certaines souches de lactobacilles. La gomme arabique est un polysaccharide naturellement présent dans la sève de certaines espèces d'acacia, elle est connue pour ses propriétés prébiotiques, c'est-à-dire sa capacité à favoriser la croissance sélective de bactéries bénéfiques dans le tractus gastro-intestinal. Dans cette étude une extraction et préparation des extraits aqueuses de la gomme ont été réalisés afin d'étudier quelques caractéristiques biochimiques de la gomme ainsi que son activité antibactérienne, plusieurs tests d'aptitudes probiotiques ont été réalisés sur les souches lactobacilles après leur isolement et leur purification ainsi que l'étude de leur activité antibactérienne sur certaines souches pathogènes, ainsi que l'étude de l'effet de la gomme arabique sur la croissance des lactobacilles isolées. Les résultats ont montré une activité antibactérienne des lactobacilles isolées vis-à-vis la souche *Protues mirabilis* ainsi qu'une augmentation significative de ces dernières en présence de gomme arabique par rapport au témoin. Ces résultats suggèrent que la gomme arabique peut jouer un rôle bénéfique en tant que prébiotique en favorisant la croissance des bactéries lactiques probiotiques. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action de la gomme arabique et déterminer les conditions optimales de son utilisation en symbiose avec les lactobacilles probiotiques.

Mots clés : *Acacia*, Prébiotiques, Probiotiques, Symbiose

Abstract:

The imbalance of the intestinal flora represents a problem of pure human health and may be a consequence of several inflammatory diseases, metabolic etc. This research aims to study the prebiotic effect of *Acacia arabica* gum on the growth of certain strains of lactobacilli. Gum Arabic is a polysaccharide naturally present in the sap of certain species of acacia, it is known for its prebiotic properties, that is, its ability to promote the selective growth of beneficial bacteria in the gastrointestinal tract. In this study an extraction and preparation of aqueous extracts of the gum were carried out to study some biochemical characteristics of the gum as well as its antibacterial activity, several probiotic heads were performed on lactobacillus strains after isolation and purification, as well as the study of the effect of gum Arabic on the growth of isolated lactobacilli. The results showed an antibacterial activity of the gum against the *Protues mirabilis* strain and a significant increase in the growth of probiotic lactic acid bacteria in the presence of gum Arabic compared to the control. These results suggest that gum Arabic can play a beneficial role as a prebiotic in promoting the growth of probiotic lactic acid bacteria. However, further studies are needed to better understand the mechanisms of action of gum Arabic and determine the optimal conditions for its use in symbiosis with probiotic lactobacilli.

Keywords : *Acacia*, Prebiotics, Probiotics, Symbiosis

ملخص:

عدم توازن النباتات المعوية مشكلة تتعلق بصحة الإنسان الخالصة وقد يكون نتيجة للعديد من الأمراض الالتهابية والأبيض وما إلى ذلك. يهدف هذا البحث إلى دراسة التأثير البريبيوتيكي لصبغ أكاسيا أرابيكا على نمو سلالات معينة من اللاكتوباسيلي. الصمغ العربي هو عديد السكاريد الموجود بشكل طبيعي في عصارة أنواع معينة، وهو معروف بخصائصه البريبيوتية، أي قدرته على تعزيز النمو الانتقائي للبكتيريا المفيدة في الجهاز الهضمي. في هذه الدراسة، تم إجراء استخراج وإعداد مستخلصات مائية من اللثة لدراسة بعض الخصائص الكيميائية الحيوية للعلكة بالإضافة إلى نشاطها المضاد للبكتيريا، وتم إجراء العديد من رؤوس البروبيوتيك على سلالات اللاكتوباسيلوس بعد العزل والتنقية، بالإضافة إلى دراسة تأثير الصمغ العربي على نمو اللاكتوباسيلي المعزول. أظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للبكتيريا للثة ضد سلالة بروتوس ميرابيليس وزيادة كبيرة في نمو بكتيريا حمض اللاكتيك البروبيوتيك في وجود الصمغ العربي مقارنة بالتحكم. تشير هذه النتائج إلى أن الصمغ العربي يمكن أن يلعب دوراً مفيداً كبريبيوتيك في تعزيز نمو بكتيريا حمض اللاكتيك البروبيوتيك. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لفهم آليات عمل الصمغ العربي بشكل أفضل وتحديد الظروف المثلى لاستخدامه في التعايش مع البروبيوتيك لاكتوباسيلي.

الكلمات المفتاحية: أكاسيا، البريبيوتكس، البروبيوتيك، التكافل

