



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 : Microbiologie appliquée

Présenté par :

BENDJEDI Nour Elhouda & AIT Kaci Inas

Thème

Pré-étude sur l'impact chimique agroalimentaire sur
le microbiote intestinal humain

Soutenu le : 13/09/2023 à 10 h

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
REKAB DJABRI Hamza	MCA	Univ. de Bouira	<i>Président</i>
BOUHENNI Hamida	MCB	Univ. de Bouira	<i>Promotrice</i>
LIBDIRI Farid	MCA	Univ. de Bouira	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

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 désirons remercier tous les professeurs de l'université de Bouira, qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

Premièrement, nous voudrions adresser toute ma reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame BOUHENNI Hamida, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Deuxièmement, nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que Monsieur LIBDIRI Farid nous faites en acceptant d'examiner notre travail. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour votre bienveillance et votre simplicité avec lesquelles vous nous avez m'accueillis. Veuillez trouver ici, cher examinateur, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

Troisièmement, nous tenons à remercier avec plus grande gratitude Monsieur REKAB DJABRI Hamza l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous ne saurions comment remercier le laboratoire d'hygiène de wilaya de Bouira (Etablissement public de santé de proximité de Bouira) pour cette contribution qui nous a permis de mener à bien ce travail. Merci pour l'intérêt que vous portez à la recherche. Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

Dédicace

Au premier lien, je tiens à remercier mon dieu pour cette réussite.

* * *
** ** **

*A mon père Omar, mon ange gardien, qui sans lui je ne pouvais ni vivre ni arriver
à ce que je sois.*

* * *
** ** **

*A ma mère Naçira, la lumière de ma vie, pour son amour, soutien et patience.
J'espère qu'un jour mon bon dieu me donnera l'occasion de les honorer et de leur
rendre ce qu'ils méritent.*

* * *
** ** **

A mon Marie Oussama latereche

* * *
** ** **

*A mon frère Abd el wahab ma joie et ma fierté, que dieu les garde et les protège
et ma sœur Nawal.*

* * *
** ** **

*A toutes mes amies A toute ma famille.
Enfin, je remercie toute personne qui occupe une place dans mon coeur.*

Bendjedi Nourelhouda

Dédicace

Je dédie le fruit de ce modeste travail avec amour et

Sincérité

* * *
** ** **

À ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses

Sacrifices pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À mon père, pour son soutien, son affection et la confiance

Qu'il m'a accordé.

* * *
** ** **

À mes frères

Sofiane, Aghilas et Hacène pour leur soutien moral tout au

Long de mes études.

* * *
** ** **

À ma chère Warda qui m'a aidé a supporté les moments difficiles.

Sans oublier mon binôme Nourelhouda.

* * *
** ** **

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Ait Kaci Inas

Sommaires

Remerciement	a
Liste des abréviations	g
Liste des figures	h
Liste des tableaux	0
Introduction générale	2
Partie théorique	3
1. Définition d'un contaminant chimiques dans les aliments	5
2. Classification des contaminants chimiques dans les aliments	5
3. Pesticide	6
3.1. Définition des pesticides	6
3.2. Classification des pesticides	6
3.3. Impact des pesticides sur la santé humaine	7
4. Antibiotiques	7
4.1. Définition des antibiotiques	7
4.2. Classification des antibiotiques et leurs mode d'action	8
4.3. Impact Des résidus d'antibiotiques sur la santé humaine	9
5. Additifs alimentaires	9
5.1. Définition des additifs alimentaires	9
5.2. Classification des additifs alimentaire	10
5.3. Impact des additifs alimentaires pour la santé humaine	12
1. Définition de la microflore intestinale	14
2. Composition du microbiote intestinal humain	15
3. Facteurs influençant la diversité du microbiote intestinal	16
4. Rôle de la flore intestinale	16
4.1. Rôle immunitaire	16
4.2. Rôle digestif	17
4.3. Rôle métabolique	17
5. Dysbiose intestinale	17
6. Effets toxicologiques des pesticides sur le microbiote intestinal	18
7. Effets des antibiotiques sur le microbiote intestinal	19
8. Effets des additifs alimentaires sur la microflore intestinale	20
Partie pratique	22

1. Objectifs de recherche	24
1.1. Objectif principal	24
1.2. Objectifs secondaires	24
2. Type et lieu de pré-étude	24
3. Population cible	25
4. Matériel utilisé	25
4.1. Auto-questionnaire destiné aux agriculteurs	25
4.2. Souches bactériennes	26
4.3. Produits chimiques	26
5. Etude microbiologique des selles des agriculteurs	26
5.1. Condition du prélèvement et du transport des échantillons de selles	26
5.2. Préparation de la solution mère et des dilutions	27
5.3. Examen macroscopique	27
5.4. Examen microscopique	28
5.4.1 Observation directe des selles à l'état frais	28
5.4.2 Frottis des selles coloré au Gram	28
5.5. Numération indirecte des microorganismes	29
6. Etude des effets des pesticides sur la microflore intestinale	30
6.1. Choix des pesticides	30
6.2. Préparation des doses d'insecticide chlorpyrifos « AKOFOS 48 EC »	30
6.2.1 Solution initiale de concentration de 1 g/L et gamme de dilutions	30
6.2.2 Activité antibactérienne	31
6.3. Contamination des légumes et des fruits par les pesticides	32
6. Détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair	32
7. Aditifs alimentaire	34
1. Résultats de pré-enquête	37
1.1. Description de la population de pré-étude	37
1.2. Sujets et indicateurs de la flore humaine	37
2. Pesticides et complications	39
1.1. Etude de la microflore intestinale des agriculteurs	39
1.1.1. Examens macroscopiques et microscopiques des selles	39
1.1.2. Dénombrement des cellules bactériennes	42
A. Résultats des bactéries aérobies totales (PCA)	42
B. Résultats de dénombrement des entérobactéries (VRBL)	43

C. Résultats de dénombrement des bactéries lactiques (MRS)	43
D. Résultats de dénombrement des levures et des moisissures (OGA)	44
2.1. Effets des pesticides sur la flore intestinale	44
2.1.1. Activité antibactérienne de Chlorpyriphos	44
2.1.2. Recherche des résidus de pesticide dans les fruits et légumes	46
3. Effet d'acide chlorhydrique sur la flore intestinale	48
4. Activité antibactérienne des antibiotiques	49
5. Activité antibactérienne des additifs alimentaires	52
Conclusion générale	54
Référence et bibliographie	56

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AH : amine hétérocyclique

CIRC : centre international de recherche sur cancer

HAP : hydrocarbure aromatiques polycyclique

HBCD : hexabromocyclododécane

RFB : retardateurs de flammes bromés

OMS : Organisation mondial de la santé

Bap : benzo(a)pyrene

PCB : polychlorobiphényle

PCDD : polychloré dibenzo-p-dioxine

PCDF : poluchloré dibenzofurane

TCDD : Tétrachlorodibenzo-para-dioxine

Liste des figures

Figure 1 : Modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux Pesticides.	7
Figure 2 : Résistance aux antibiotiques.	9
Figure 3 : Densité bactérienne dans les différents compartiments du tube digestif humain .	14
Figure 4 : Définitions de la dysbiose .	18
Figure 5 : Ensemencement sur milieu MH.	32
Figure 6 : Protocole expérimental de la méthode de quatre boites.	33
Figure 7 : Indicateur du dysfonctionnement de la flore humaine.	38
Figure 8 : Douleurs abdominales chez les agriculteurs en fonction de type de pulvérisateur	38
Figure 9 : Observation microscopique à l'état frais des échantillons étudiés (G×400).	40
Figure 10 : Observation microscopique de coloration de Gram des échantillons (G×100).	41
Figure 11 : Résultat après 72h l'incubation dans le milieu PCA.	42
Figure 12 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu VRBL.	43
Figure 13 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu MRS.	43
Figure 14 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu OGA de différentes dilutions.	44
Figure 15 : Effet antibactérien du Chlorpyrifos sur les cinq espèces bactériennes, dont deux souches d'origine intestinale	45
Figure 16 : Diagramme représente l'effet d'insecticide sur <i>Et.coli</i> , <i>lactobacillus</i> sp	46
Figure 17 : Résultats obtenus des échantillons à différents légumes et fruits.	47
Figure 18 : Activité antibactérienne de l'eau chlorée de différents pH.	48
Figure 19 : Diagramme représente la densité optique des suspensions bactéries et solutions de l'eau chlorée ayant des différents pH.	49
Figure 20 : Activité antibactérienne des quatre extraits de foies de poulet contre <i>Staphiloccoccus aerues</i> et <i>Bacilus subtilis</i> .	50
Figure 21 : Activité antibactérienne des additifs alimentaires.	53

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des contaminants chimique .	5
Tableau 2 : Classification des pesticide en fonction de leurs cible.	6
Tableau 3 : Grandes familles d'antibiotiques.	8
Tableau 4 : Types des additifs alimentaires selon leur origine .	11
Tableau 5 : Actuelle sur la perturbation du microbiote intestinal due à l'exposition aux pesticides.	19
Tableau 6 : Critères d'inclusion et d'exclusion pour la pré-enquête.	25
Tableau 7 : Souches bactériennes et leur origine.	26
Tableau 8 : Milieux et techniques d'ensemencement.	26
Tableau 9 : Milieux et techniques d'ensemencement.	29
Tableau 10 : Gamme des dilutions préparées à partir d'une solution de pesticide de 1g/l.	31
Tableau 11 : Matériel de réalisation de l'activité antibactérienne de l'insecticide et des extraits des végétaux.	31
Tableau 12 : Familles d'antibiotiques recherchées selon les souches de références.	34
Tableau 13 : Préparation de solutions initiales des colorants alimentaires.	34
Tableau 14 : Différentes dilutions des colorants alimentaires.	35
Tableau 15 : Caractéristiques de la population étudiée.	37
Tableau 16 : Résultats de l'observation macroscopique des échantillons collectés.	39
Tableau 17 : Résultats de l'examen à l'état frais des échantillons selle.	40
Tableau 18 : Comptage des colonies sur les trois milieux solides (UFC/ml x 10 ⁵)	42
Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des différentes doses du chlorpyriphos en fonction des souches testées.	46
Tableau 20 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des différentes doses de chlorpyriphos en fonction des souches testées.	47
Tableau 21 : Densité optique selon des suspensions bactériennes et les solutions de l'eau chlorée ayant des différents pH.	48
Tableau 22 : Diamètre des zones d'inhibition des extraits de quatre échantillon de foie.	50
Tableau 23 : Diamètre des zones d'inhibition des trois additifs alimentaires (mm).	52

Liste des annexes

Annexe a : Autorisation de stage	62
Annexe b : Questionnaire destiné aux agriculteurs sur l'utilisation des pesticides	63
Annexe c : Caractères organoleptiques des selles	66
Annexe d : Technique de coloration de Gram	67
Annexe e : Composition des milieux gélosés de dénombrement pour 1000 ml de l'eau distillée.	
68	
Annexe f : Dénombrement des bactéries.	70
Annexe g : Composition des solutions utilisée.	71
Annexe h : Fiche technique d'insecticide.	72

Introduction générale

Introduction générale

L'alimentation humaine joue un rôle essentiel dans notre santé et notre bien-être. Elle englobe les choix que nous faisons pour notre régime alimentaire quotidien, et comprend une variété de nutriments tels que les protéines, les glucides, les lipides, les vitamines et les minéraux. Nos habitudes alimentaires peuvent avoir un impact sur notre énergie, notre croissance, notre système immunitaire et même notre humeur. Une alimentation équilibrée et diversifiée est importante pour maintenir un mode de vie sain (« **Nations Unies au Gabon** » 2020).

L'exposition des êtres humains aux substances toxiques présentes dans les aliments est devenue un grave problème de santé publique. Même si la production de certaines de ces substances a été interdite en raison de leur dangerosité avérée pour les humains, elles persistent dans l'environnement, ce qui entraîne leur accumulation dans la chaîne alimentaire. La toxicité de nombreuses de ces substances sur les cellules et les organes humains est désormais mieux documentée. Cependant, l'impact de ces composés sur le microbiote intestinal humain est un domaine de recherche récent en pleine expansion, comme l'indique une étude récente (**Comtet-Marre et al., 2020**).

La contamination chimique est un problème mondial de sécurité alimentaire (**Scanlan, 2007**). Il existe de nombreuses substances potentiellement toxiques dans l'environnement qui peuvent contaminer les aliments que les gens consomment.

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture peut causer de la pollution. Les médicaments utilisés chez les humains et les animaux peuvent également polluer les masses d'eau et présenter un danger pour la santé des consommateurs (**Anses, 2011**).

L'équilibre de la microflore intestinale joue de nombreux rôles pour le bien-être et la santé de l'homme. Par contre, le déséquilibre de cette microflore pourrait participer au développement de nombreuses pathologies.

L'exposition aux produits chimiques d'origine alimentaire se fait principalement via l'alimentation (**Comtet-Marre et al., 2020**).

Notre travail s'intéresse au déséquilibre de la microflore intestinale qui est causé principalement par l'alimentation contaminée par les produits chimiques. Dans ce cadre de recherche, notre objectif principal est d'étudier le déséquilibre de la microflore intestinale humaine en présence de certains contaminants alimentaires.

Ce présent manuscrit est subdivisé en deux parties :

La première partie représente la synthèse bibliographique. Cette partie inclut deux chapitres qui sont :

- Chapitre I : Contaminants chimiques ;
- Chapitre II : Présentation du microbiote intestinal.

La deuxième partie est consacré pour la pratique effectuée. Cette partie est fragmentée en deux chapitres qui sont :

- Chapitre I : Matériel et méthodes ;
- Chapitre II : Résultats et discussion.

Partie théorique

Chapitre I

Contaminants chimiques dans l'alimentation humaine

Les contaminants pesticides sont des substances indésirables présentes dans les aliments qui peuvent nuire à la santé humaine. Ceux-ci peuvent provenir de diverses sources, notamment de l'environnement, des processus de production et de l'emballage. Ces contaminants comprennent les résidus de pesticides, les métaux lourds, les produits chimiques utilisés dans la transformation des aliments et les contaminants environnementaux.

1. Définition d'un contaminant chimiques dans les aliments

La Santé Canada (2008) définit un contaminant alimentaire comme « toute substance chimiqués non intentionnellement ajoutés aux aliments ». Ce polluant peut provenir (**Canada, 2008**): De l'environnement et entrer dans la chaîne alimentaire ; d'une contamination accidentelle ; de la transformation des aliments ; naturellement dans les aliments (toxine).

2. Classification des contaminants chimiques dans les aliments

Les micropolluants, qu'ils soient d'origine environnementale, vétérinaire ou phytosanitaire peuvent contaminer les aliments d'origines végétale et animale mais aussi l'eau que nous consommons (

Tableau 1).

Tableau 1 : Classification des contaminants chimiqués (Lesa, 2019).

Classe	Contaminants	Composé	Danger possible
Polluants organiques	Pesticides	Chloropyriphos	Symptôme neurologique et carcinogène
	Dioxine	Composés organiques chlorés	Carcinogène
	Hydrocarbure aromatiques polycyclique	Bap	Carcinogène
	Retardateurs de flammes bromés	PBDE ; HBCD ; TBBPA ; phénol ; PBB	Des effets cutanés, respiratoires, nerveux, mutagènes et cancérigènes
Métaux lourds	Arsenic	Métalloïde toxique	Toxicité cardiovasculaire ; Reproductive et développementale ;
	Mercuré	Poisson source de mercure	Neuro-toxicité,
	Plomb	Contamination des aliments par plomb	Néphro-toxicité et dysfonctionnement tubulaire rénal ;
	Cadmium	Contamination environnementale par cadmium	Immunotoxicité et cancérogénicité
Résidus des médicaments	Antibiotiques	Utilisé dans industrie animale	Tétracyclines : insuffisance intestinale

			Quinolones : agents pathogènes résistants aux médicaments
			Macrolides : hypersensibilité et choc anaphylactique
			Sulfamides : lésions rénales et néphropathie
Substances toxique transfère a l'aliment	Additifs alimentaires	Couleur ; saveur ; texture	Allergique Cancérogène
	amines hétérocycliques	Cuisson à haute température	
	nitrosamines	Arome. Sel	

3. Pesticide

1.1. Définition des pesticides

Le terme "pesticide" recouvre un domaine plus large et plus générale que les expressions "produit phytopharmaceutique" ou "produit Protection des végétaux » (**González-Barbosa et al., 2017**).

Selon la Comité européen des pesticides (1992), les pesticides représentent « toute substance ou combinaison des substances destinées à repousser, détruire ou contrôler les ravageurs, y compris vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces végétales indésirables ou les animaux qui causent des dommages ou sont autrement nuisibles pendant le processus de production, transformation, stockage ou transport de denrées alimentaires, de produits agriculture, etc. »

1.2. Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être classifiés en plusieurs catégories en se basant sur différents critères tels que leur cible, leur structure chimique, leur durabilité dans l'environnement ou encore leur mécanisme d'action, comme expliqué par **Djeffal en 2014**. Fondamentalement, ces produits phytosanitaires se regroupent en trois grandes familles en fonction de leur objectif principal : les herbicides qui ciblent les plantes, les fongicides qui s'attaquent aux champignons, et les insecticides qui visent les insectes (comme indiqué dans le **Tableau 2**).

Tableau 2 : Classification des pesticide en fonction de leurs cible.

Classes	Définitions (Mairif, 2014)	Définitions (Mairif, 2014)
---------	----------------------------	----------------------------

Herbicides	Les pesticides les plus utilisés dans le monde. Ils sont destinés à éliminer les végétaux entrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.	Composés chlorophénoxy Pentachlorophénol Crésol nitrophénol Paraquat, diquat
Insecticide	Ils sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en éliminant ou en empêchant leur reproduction.	Organophosphates Carbamates Organochlorés Perythrine et pyréthroïde
Fongicide	Ils permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries.	Benzène substitués Thiocarbamates Dithiocarbamates Composés organométhalliques

1.3. Impact des pesticides sur la santé humaine

Chaque année, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'il y a un million de cas graves d'empoisonnement aux pesticides dans le monde, dont environ 220 000 mort (**Comités de Protection des Personnes, 2002**).

Les effets indésirables des pesticides peuvent survenir immédiatement ou sur une courte période, après exposition ou absorption de poison, d'intoxication aiguë à chronique (**Tron et al., 2001**). L'exposition aux pesticides se caractérise par de multiples voies l'exposition, car ces substances peuvent pénétrer dans l'organisme au contact de la peau, avaler et inhaler. Les différents modes d'exposition de l'homme aux pesticides sont illustrés dans la **Figure 1**

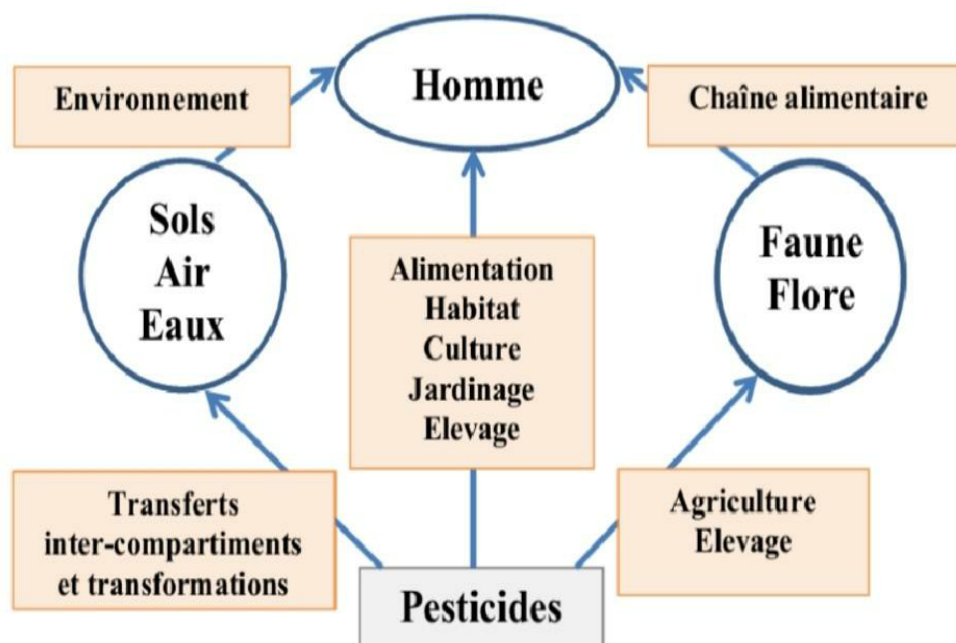


Figure 1 : Modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux Pesticides (Comités de Protection des Personnes, 2002).

2. Antibiotiques

2.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est un agent antibactérien naturel ou synthétique, microbien ou chimiquement synthétisé, capable d'inhiber en particulier la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme spécifique qui affecte les mécanismes essentiels de l'embryon. Pour être actif, un antibiotique doit pénétrer la bactérie sans n'être détruit ni modifié, se lier à la cible et perturber la physiologie bactérienne (Akash et al., 2019). En effet, les antibiotiques ont :

- Un effet antibactérien (spectre d'action) ;
- Une toxicité sélective (mode d'action) ;
- Une activité en milieu organique (pharmacocinétique).
- Une bonne absorption et distribution dans le corps.

2.2. Classification des antibiotiques et leurs mode d'action

Il y a deux modes d'action des antibiotiques (Gaudy et al., 2005) :

- Bactériostatique, s'il n'y a qu'une simple inhibition de croissance bactérienne ;
- Bactéricide, si la bactérie est morte.

Les cinq cibles des antibiotiques sont (**Selman-Waksman, 2010**) :

- La paroi bactérienne (bêta-lactamines, glycopeptides) ;
- La synthèse des peptidoglycanes
- La synthèse de l'ADN (quinolones, nitro-imidazolés) ;
- La synthèse protéique (macrolides, aminosides, cyclines) ;
- L'inhibition compétitive (sulfaméthoxazole et triméthoprime).

- Les principales familles d'antibiotiques (**Talbert et al., 2009**) sont mentionnées sur le

Tableau 3. Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

- l'origine (naturelle, semi-synthétique et synthétique),
- le mécanisme d'action,
- le spectre d'action,
- et la composition chimique.

Tableau 3 : Grandes familles d'antibiotiques.

Classes	Exemples	Activité	Mécanisme d'action
Bêtalactamines	Pénicillines	Bactéricide	Inhibition de la synthèse de la paroi des bactéries.
Aminosides	Streptomycine	Bactéricide	Inhibition de la synthèse protéique
Phénicoles	Chloramphenicol	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique

Cyclines	Tétracyclines	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique
Macrolides	Macrolides	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique
Polypeptides	Polymyxine B	Bactéricide	Inhibition de la synthèse de la membrane plasmique.
Sulfamides	Sulfonamides		Inhibition de la synthèse de l'acide folique
Quinolones	Quinolones urinaires	Bactéricide	Inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien
Divers antibiotiques	Rifamycines	Bactéricide	Plusieurs

2.3. Impact Des résidus d'antibiotiques sur la santé humaine

En général, on peut résumer les conséquences des résidus des antibiotiques dans l'alimentation dans les points suivants :

- L'invasion de certaines populations bactériennes faisant partie de la flore normale entraînant le développement d'autres populations bactériennes pouvant être pathogènes ou pathogènes opportunistes. Ce phénomène est appelé « abaissement des barrières microbiologiques » (Chataigner et Stevens, 2003) ou "résistance réduite à la colonisation (Vollaard & Clasener, 1994). La **Figure 2** explique la relation entre la résistance bactérienne et les résidus d'antibiotiques dans les aliments.
- Les risques toxiques résultent de l'absorption répétée d'aliments contenant des résidus antibiotiques et leur accumulation dans le corps humain, il dépend aussi la dose et le type d'antibiotique consommé (Jeon et al., 2008).
- Ces résidus provoquent une réponse immunitaire allergique (Jeon et al., 2008).
- Ce sont des cancérigènes à long terme (Layada, 2016).

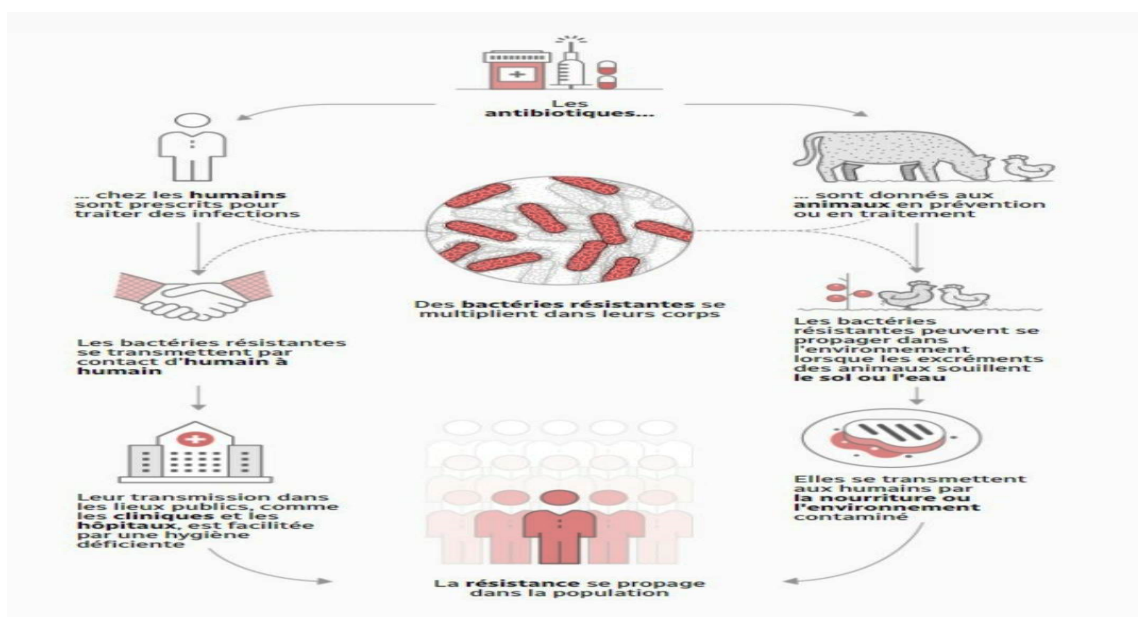


Figure 2 : Résistance aux antibiotiques (Simone, 2021).

3. Additifs alimentaires

1.1. Définition des additifs alimentaires

Un additif peut être décrit comme une substance qui ne peut pas être normalement consommée en tant qu'aliment de base, qu'elle ait ou non une valeur nutritive, et qui n'est pas considérée comme un ingrédient essentiel dans la création d'un aliment, comme l'a défini l'APAB en 2011.

A titre d'exemple, une boisson gazeuse (soda) est une boisson constituée d'eau, de gaz carbonique, de sucre ainsi que d'additifs alimentaires (Meunier, 2011).

Il y a un grand nombre des additifs alimentaires qui sont utilisés dans différents produits dont les boissons gazeuses. Comme leurs noms l'indiquent, les additifs sont des produits ajoutés aux produits alimentaires de base dans le but d'en améliorer la conservation, la couleur, le goût et l'aspect.

1.2. Classification des additifs alimentaire

En 2012, l'Algérie a mis en place le décret exécutif 12-214 qui concerne les additifs alimentaires. Ce décret s'inspire du Codex Alimentarius, un système international de classification utilisant le système de numérotation SIN. Selon cette réglementation, les fabricants algériens sont légalement tenus d'indiquer sur l'emballage de chaque produit alimentaire un

numéro SIN suivi d'un chiffre spécifique. Par exemple, un numéro SIN suivi du chiffre 1 correspond à un colorant, du chiffre 2 à un conservateur, du chiffre 3 à un antioxydant, du chiffre 4 à un stabilisant, du chiffre 5 à un correcteur ou un régulateur, et du chiffre 6 à un exhausteur de goût (**voir le Journal Officiel de la République Algérienne N° 30, 2012**).

Il convient de souligner que pour les produits d'origine européenne, l'équivalent du système de numérotation "SIN" utilisé en Algérie est le système "E". Ainsi, tous les additifs alimentaires ayant un code d'identification européen se composent de la lettre "E" suivie d'un numéro spécifique qui permet de les classer dans différentes catégories. Par exemple, le code E 100 est associé aux colorants, le code E 200 aux conservateurs, le code E 300 aux agents anti-oxygène, et le code E 400 aux agents de texture, conformément aux directives du Journal Officiel de la République Algérienne N° 30, 2012.

Par exemple, E 100 pour les colorants, E 200 pour les conservateurs, E 300 pour les agents anti-oxygène, E 400 pour les agents de texture (**Journal Officiel de la République Algérienne N° 30, 2012**).

Selon le **Tableau 4**, il existe 8 classes des additifs alimentaires en fonction de leur objectifs d'utilisation. Généralement, des concentrations élevées d'additifs alimentaires sont utilisées dans les sucreries, les desserts, les barres de céréales, les boissons et presque tous les aliments manufacturés surgelés.

Tableau 4 : Types des additifs alimentaires selon leur origine (**Dar et al., 2017**).

Type	Objectif de l'ajout	Exemples	Utilisation
Conservateurs	Il empêchent la croissance de microbes ou la détérioration et aide à préserver la saveur, la texture, la comestibilité et la valeur nutritive des aliments.	Nitrites (le nitrite de sodium)	Biscuits, champignons surgelés, boissons gazeuses, cornichons, sauces, fruits secs, jus de fruits, produits à base de pommes de terre, produits à faible teneur en sucre, céréales, produits carnés.
		Sulfites (dioxyde de soufre, sulfite de sodium 221),	
		Sorbates (le sorbate de sodium, le sorbate de potassium).	

		Benzoate (benzoate de sodium, l'acide benzoïque)	
Édulcorants	Ils fournissent un goût sucré comme celui du sucre avec ou sans les extra-calories	Édulcorants caloriques : Dextrose, Sirop de glucose, cristallin Fructose, sirop de maïs.	Aliments et boissons transformés, préparations pour soupes, boissons sucrées, jus de fruits, bonbons, confitures de fruits, gelées
		Édulcorants artificiels : Saccharine, Aspartame, Acésulfame-K, Sucralose	
Additifs de couleur	Tout colorant ou pigment utilisé pour rendre les colorants alimentaires existants plus brillants	Couleur caramel (ce qui donne le brun cola et l'or de la bière) : colorants azoïques,	Glace, boissons gazeuses, poisson, boissons gazeuses, desserts, bonbons, sauces, vin.
Saveurs et épices	Ils sont ajoutés pour améliorer la saveur des aliments	Arômes chimiques : alcools, esters, cétones et pyrazines.	Snacking, glaces, yaourts, boissons, biscuits, cornichons, sauces
		Arômes naturels : fruits, noix, fruits de mer, mélanges d'épices, légumes et vin	
Exhausteurs de saveurs	Ils sont utilisés pour faire ressortir la saveur sans ajouter une saveur de leur source naturelle	Glutamate monosodique (E621), Glutamate mono-potassique (E623), Diglutamate de calcium (E626), Acide guanylique (E627), Guanylate de sodium (E630),	Confiseries, boissons, snacks, gommes, sauces, soupes, vins, cidres, glaces, yaourts, boissons
		Acide inosinique	
Agents anti-agglomérants	Ils sont composés anhydres conservés sous forme de poudres ou de matériaux granulés	Ferrocyanure de sodium, décahydraté, propylène glycol,	Lait en poudre, Biscuit, médicaments.
		Silicate de magnésium, Oxyde de magnésium, Cellulose, Calcium, silicate, dioxyde de silicium	Chips de pommes de terre, céréales pour petit-déjeuner
Émulsifiants	Ils sont solubles dans la graisse et dans l'eau et forment une émulsion	Ester de polyglycérol (PGE), ester de sorbitan (SOE), ester de PG (PGME), lécithine, lécithine de soja, stéaroyl dilaciate de calcium CSL	Lait, fromage, lait en poudre, lait écrémé, glaces- crèmes, yaourts

Agents de contrôle du pH	Ils contrôlent l'acidité et l'alcalinité et conservent la saveur des aliments	Acidulants ; Acide lactique (E270), Acide malique (E296), Acide phosphorique (E338). Agents alcalinisants ; Citrate de potassium, Carbonate de calcium, Acétate de calcium, Bicarbonate de sodium, Lactates de sodium	Produits laitiers, boissons sucrées, glaces, fruits confitures et gelées
--------------------------	---	---	--

1.3. Impact des additifs alimentaires pour la santé humaine

L'utilisation d'additifs alimentaires a considérablement augmenté au cours des dernières décennies. On estime qu'environ 85 % de l'alimentation occidentale est actuellement composée de divers aliments transformés. Actuellement, en moyenne, chaque personne consomme entre 3,63 et 4,54 kg d'additifs alimentaires par an, certaines personnes en consommant bien plus (**Dar et al., 2017**).

Le risque associé à l'utilisation toujours croissante d'additifs alimentaires en grande quantité dans notre vie quotidienne constitue un risque énorme pour notre système immunitaire, entraînant divers troubles et maladies (**Dar et al., 2017**). Gaiani (2009) a cité les principaux effets des AA sur la santé humaine (**Gaiani, 2009**), qui sont :

- Effets cancérigènes au niveau des acides nucléiques génétiques ;
- Effet mutagène et surtout mutations contagieuses héréditaires ;
- Effet dangereux sur la reproduction : l'adultes (capacité de reproduction) et le fœtus (risques tératogènes qui comprennent les malformations) ;
- Effets neurotoxiques tardifs ;
- Effet immunologique : la toxicité pour les organes (rate ou thymus) et les tissus (lymphocytes) ;
- Effet sensibilisant : l'intolérance individuelle se produit à petites doses ;
- D'autres effets : hyperactivité infantile, problèmes intestinaux et dépendance.

Conclusion

Les contaminants chimiques en agriculture proviennent de diverses sources, notamment les pesticides, les résidus de médicaments vétérinaires, les métaux lourds, les produits chimiques de transformation et les additifs alimentaires, et posent un risque important pour la sécurité alimentaire. Ces contaminants peuvent avoir des effets négatifs sur la santé humaine lorsqu'ils sont présents en concentrations élevées dans les aliments. Ils peuvent provoquer des maladies graves telles que des troubles neurologiques, des cancers et des problèmes de développement chez les enfants. La réglementation alimentaire vise à limiter la présence de contaminants chimiques dans les aliments en fixant des limites maximales autorisées et en surveillant leur respect. Cependant, il est important de toujours être vigilant pour garantir la sécurité des aliments que nous consommons. Il est également important de sensibiliser le public à ce problème et de promouvoir des pratiques agricoles durables et des méthodes de production alimentaire plus sûres pour réduire le risque de contaminants chimiques dans l'approvisionnement alimentaire

Chapitre II

Microflore intestinale humaine

Introduction

Le corps humain est constitué de multiples microbiotes, présents au niveau de la cavité buccale, de la peau, des poumons et même au niveau vaginal. Ce chapitre se concentre sur le microbiote intestinal, qui représente l'unité écologique la plus importante et la plus diversifiée parmi ces divers microbiotes.

Cette étude fait de même en abordant uniquement toutes les bactéries présentes dans l'intestin humain sous le terme de microbiote intestinal.

1. Définition de la microflore intestinale

Le microbiote intestinal, également connu sous le nom de flore intestinale, est un complexe d'organismes microscopiques qui résident dans le système digestif humain, en particulier dans l'intestin. Cette communauté de micro-organismes, non pathogène pour l'homme, recouvre la surface de la muqueuse intestinale et comprend des champignons, des virus, des levures, des archées et principalement des bactéries. La densité de ces bactéries peut atteindre jusqu'à 10^{14} cellules, soit 100 fois plus que le nombre de cellules dans le corps humain. Cette densité augmente progressivement de l'estomac jusqu'au côlon, qui est également appelé le gros intestin, où le microbiote est le plus abondant. Cette figure peut illustrer cette variation. Le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans la digestion, l'immunité et divers aspects de la santé humaine. (Corblin, 2020; Fernandez, 2014) comme on peut le voir par la suite sur la **Figure 3**.

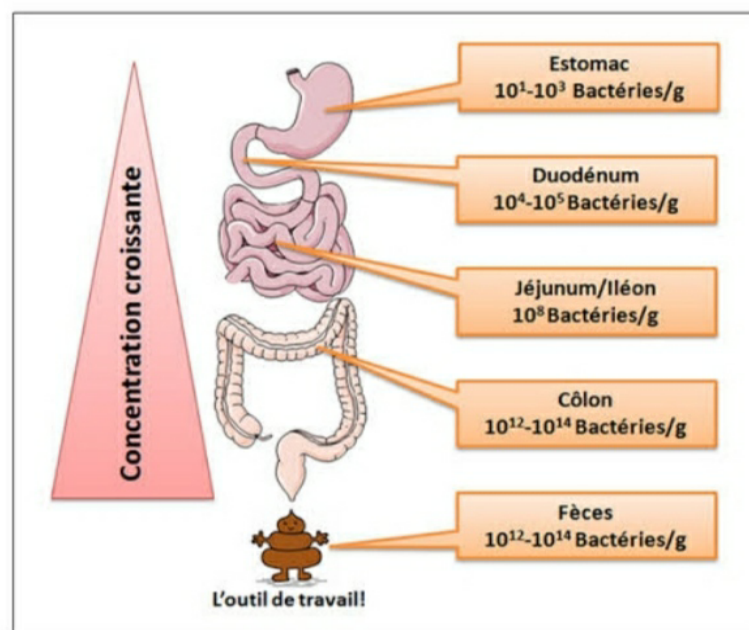


Figure 3 : Densité bactérienne dans les différents compartiments du tube digestif humain (Nicolas, 2016) .

Chez l'homme la microflore intestinale renferme environ 95% des bactéries de l'organisme y est retrouvée avec une variété de 160 à 200 espèces différentes. Son poids peut atteindre jusqu'à 2 kilogrammes et son métagénome contient 100 fois plus de gènes que le génome humain, soit environ 200 000 gènes (Fernandez, 2014; Marteau & Shanahan, 2003).

Le microbiote intestinal est un élément clé de l'écosystème intestinal, aux côtés de la muqueuse digestive qu'il recouvre et du système immunitaire avec lequel il interagit. Il est reconnu comme un organe à part entière, fonctionnant en symbiose avec le corps humain et assumant diverses fonctions essentielles (Corblin, 2020).

Composition du microbiote intestinal humain

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, le microbiome comporte 100 fois plus de gènes que le génome humain (Cani et al., 2021).

Chez un individu humain, le microbiote intestinal est composé de 10^{14} bactéries et archées réparti en 1000 espèces bactériennes. De plus, 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). Le microbiote intestinal est dominé principalement par deux phylums : les *firmicutes* et les *bacteroidetes* constituent plus de 90 % des espèces connues catégories phylogénétiques et dominant l'intestin sain microbiote (Cani et al., 2021; Gérard & Vidal, 2019), alors que les *actinobactéries*, les *protéobactéries* et *Verrucomicrobia* sont des constituants fréquents, mais généralement mineurs (Cani et al., 2021).

Les 10^{14} bactéries sont principalement constituées de cinq phylums majeurs classés par ordre d'importance :

1. Les *Firmicutes* sont à Gram positif et jouent un rôle clé dans la nutrition et le métabolisme de l'hôte grâce à la synthèse SCFA. Par leurs produits métaboliques, les bactéries *Firmicutes* sont indirectement connectées avec d'autres tissus et organes et réguler la faim et la satiété (Stojanov et al., 2020).
2. Les *Bacteroidetes* sont Gram-négatif et associé à l'immunomodulation. Leurs composants, lipopolysaccharides et flagelline, interagissent avec les récepteurs

cellulaires et renforcent les réactions immunitaires par la synthèse de cytokines (Stojanov et al., 2020).

3. Les *Actinobacteria* constituent le troisième phylum majoritaire, regroupant des espèces bactériennes Gram + à haut pourcentage en GC. Il ne représente qu'environ 3% des bactéries du microbiote. Les *Actinobacteria* comprennent en particulier le genre *Bifidobacterium*.
4. Les *Proteobacteria* contenant l'ordre des Entérobactériales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.
5. Les *Verrucomicrobia*

2. Facteurs influençant la diversité du microbiote intestinal

Les caractéristiques de composition du microbiome intestinal sont influencé par un certain nombre de facteurs, l'ensemencement initial et la trajectoire vers une diversité et une stabilité saines de type adulte étant déterminés par le mode de l'accouchement (césarienne vs par vagin) et les schémas d'alimentation précoce (allaitement au sein vs lait maternisé). La génétique de l'hôte joue également un rôle, tout comme la géographie lieu, alors que le stress tout au long de la vie peut être considéré comme une menace pour la diversité du microbiome intestinal. On pense également qu'un régime occidentalisé compromettent l'intégrité du microbiome intestinal, alors qu'un apport accru en fibres est associé à une diversité accrue. L'exercice pourrait également favoriser la stabilité d'un microbiome de santé, bien que le processus de vieillissement soit associé à une diversité de plus en plus restreinte, tout comme de nombreux états pathologiques et excessifs/ utilisation inappropriée d'antibiotiques (Clarke et al., 2019).

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).

3. Rôle de la flore intestinale

Le microbiote intestinal humain est indispensable aux bon fonctionnement physiologique de l'organisme.

1.1. Rôle immunitaire

Un rôle d'effet barrière, il joue sur la modulation du système immunitaire dès les premières années de vie, le microbiote est en effet nécessaire pour que l'immunité intestinale apprenne à distinguer les espèces amies (commensales) des pathogènes (**Islam et al., 2022**).

1.2. Rôle digestif

Le rôle de l'intestin est essentiel dans le processus de digestion et d'absorption des nutriments. Voici quelques-unes de ses fonctions principales (**Belaid, 2021**):

- Ils assurent la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles.
- Ils facilitent l'assimilation des nutriments grâce à un ensemble d'enzymes dont les cellules humaines sont dépourvues.
- Ils assurent l'hydrolyse de l'amidon, de la cellulose, des polysaccharides...
- Ils participent à la synthèse de certaines vitamines (vitamine K, certaines vitamines B) et à trois acides aminés essentiels : la valine, la leucine et l'isoleucine.
- Ils régulent plusieurs voies métaboliques : absorption des acides gras, du calcium, du magnésium.

1.3. Rôle métabolique

□ La présence de la flore intestinale, également connue sous le nom de microbiote intestinal, revêt une importance capitale pour le maintien de la santé des cellules du système digestif. Cette importance se manifeste principalement par son rôle dans l'élimination des protéines excédentaires ou anormales, ainsi que dans la régulation des signaux de transduction et des processus du cycle cellulaire, comme l'a **souligné Belaid en 2021**. Cependant, il convient de noter que la compréhension exacte de la manière dont le microbiote intestinal exerce ces fonctions nécessite des recherches supplémentaires pour approfondir nos connaissances sur ce sujet.

□ Les bactéries présentes dans le microbiote intestinal jouent un rôle dans la transformation des lipides. Elles utilisent une enzyme appelée lipase pour convertir les lipides en triglycérides. Par la suite, ces triglycérides subissent une hydrolyse, se décomposant en acides gras qui comportent de 20 à 22 carbones non métabolisables. De plus, ils génèrent des acides gras insaturés contenant 18 carbones, lesquels subiront une réduction ultérieure, comme l'a démontré **Code en 2023**.

□ Une fonction métabolique majeure du microbiote intestinal est sa capacité à dégrader certains nutriments non digestibles par l'hôte (**Adak et Khan, 2019**).

2. Dysbiose intestinale

La dysbiose intestinale désigne un déséquilibre ou une perturbation de la composition du microbiote intestinal, comme illustré dans la Figure 4. Cette situation engendre des changements dans le fonctionnement normal du microbiote intestinal et est associée à l'apparition de diverses affections pathologiques, comme l'a mis en évidence **Luu en 2018**.

La dysbiose intestinale peut être catégorisée en trois principaux types : la diminution d'organismes bénéfiques, la prolifération excessive d'organismes potentiellement nuisibles, et la réduction de la diversité microbienne globale. De plus, il est important de noter que ces trois types ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent coexister dans le microbiote intestinal. Cette complexité peut avoir des implications significatives pour la santé digestive et globale, soulignant ainsi l'importance de maintenir un équilibre microbiotique optimal pour favoriser la santé intestinale (**De Luca & Shoenfeld, 2019**).

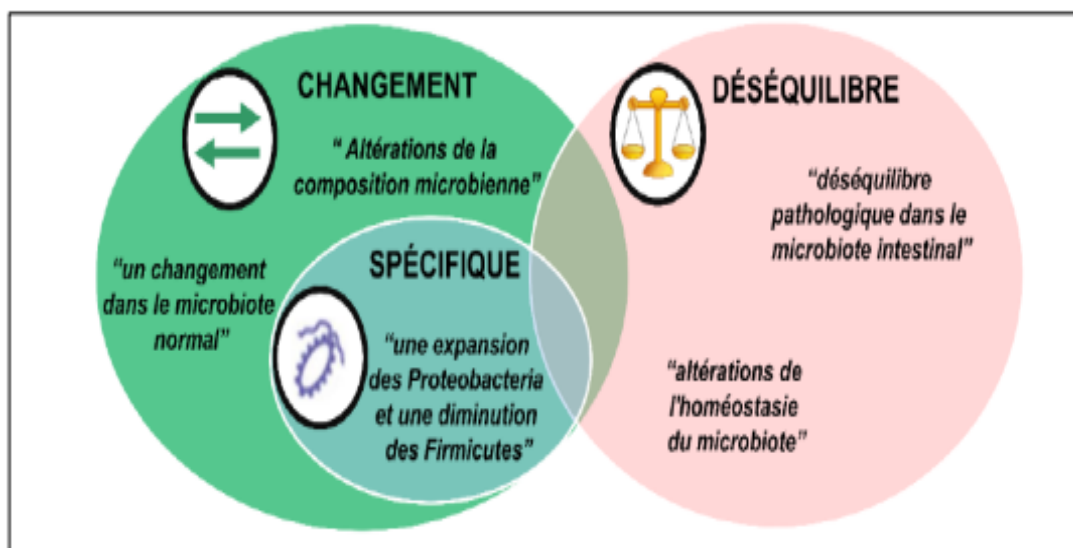


Figure 4 : Définitions de la dysbiose (Hooks & O'Malley, 2017).

Un nombre croissant de recherches suggèrent que le microbiote intestinal, qui joue un rôle important dans l'immunité et le métabolisme de l'hôte, interagit avec les xénobiotiques tels que les polluants chimiques environnementaux et les contaminants nouvellement formés dans les aliments (Comtet-Marre et al., 2020).

3. Effets toxicologiques des pesticides sur le microbiote intestinal

L'impact des pesticides sur le tube digestif est particulièrement intéressant, entraînant des altérations des communautés du microbiote intestinal et une dysbiose (Giambò et al., 2021). Récemment, une analyse approfondie des effets des pesticides sur le microbiote de différents organismes a été réalisée par Giambò, Teodoro, Costa et Fenga (Tableau 5). Les données d'un total de 117 articles sur l'action des pesticides ont été examinées dans le microbiote intestinal de diverses espèces.

À partir des données quantitatives et qualitatives de ces articles examinés, un mécanisme pathogène commun a été proposé, soulignant que les pesticides perturbent la composition et la fonctionnalité typiques du microbiome intestinal avec la modulation de différents types de phylum. Ces anomalies conduisent à des déséquilibres métaboliques importants, en particulier dans les voies métaboliques liées à l'énergie et aux graisses, au stress oxydatif et aux dommages à l'ADN.

Le microbiote altéré après une exposition aiguë aux pesticides change le développement des structures intestinales, notamment la diminution de la prolifération cellulaire dans les cryptes, l'expression des marqueurs des cellules souches ainsi que des marqueurs des cellules sécrétoires,

la réduction du nombre de cellules caliciformes et de la protéine mucine et la diminution des niveaux d'expression de repères de jonctions étanches.

Le microbiote intestinal pourrait modifier des métabolites spécifiques ou des voies métaboliques spécifiques, affectant davantage l'hôte. Par conséquent, leurs rôles dans les effets toxiques induits par les pesticides doivent être étudiés en profondeur

Tableau 5 : Actuelle sur la perturbation du microbiote intestinal due à l'exposition aux pesticides.

Pesticide		Espèce	Perturbation intestinale	Auteurs
Herbicide	Glyphosate	Abeilles	Diminution des Protéobactéries et des Actinobactéries	(Motta et al., 2020)
		Souris	Diminution des Firmicutes et Augmentation des Bacteroidetes	(Pu et al., 2020)
Insecticides	Sulfate d'endosulfan, Imidaclopride	Souris	Augmentation des Actinobactéries, Protéobactéries, Bacteroidetes Diminution des Firmicutes	(Yan et al., 2021)
		Crabs	Augmentation des Bacteroidetes Diminution des Protéobactéries	(Yang et al., 2020)
Fongicides	Thirame, Chlorothalonil, procymidone	Poulet	Diminution des Firmicutes et Protéobactéries	(Kong et al., 2020)

4. Effets des antibiotiques sur le microbiote intestinal

Les médicaments les plus fréquemment prescrits pour les maladies infectieuses sont les antibiotiques. Toute en ciblant principalement les bactéries pathogènes, les antibiotiques attaquent également les microbes intestinaux bénéfiques, entraînant une altération de la composition du microbiote.

Le tractus gastro-intestinale est l'organe le plus sensible aux antibiotiques pris par voie orale. L'intestin possède trois barrières : une barrière physique constituée des cellules épithéliales intestinales reliées par des jonctions serrées intra-épithéliales, une barrière sécrétoire composée de mucus et de peptides antimicrobiens et une barrière immunologique composée de différents types de cellules immunitaires et de biomolécules. En plus d'affecter le microbiote intestinal, les traitements antibiotiques endommagent les trois barrières intestinales. Les changements induits par les antibiotiques dans la composition du microbiote intestinal modifient la production de

mucine, de cytokines, affaiblissant la barrière des cellules épithéliales intestinales (**Kesavelu & Jog, 2023**).

Différents niveaux de preuve confirment que l'administration d'antibiotiques entraîne une dysbiose du microbiote intestinal, qui implique principalement une réduction de la diversité globale des espèces du microbiote intestinal, y compris la perte de certains taxons importants qui provoque des changements métaboliques, des altérations de l'expression des gènes, de l'activités des protéines et du métabolome intestinal, une colonisation compromise la résistance aux bactéries nocives envahissantes l'émergence de microbes résistants aux antibiotiques. De plus, les changements induits par les antibiotiques dans le microbiote intestinal perturbent les interactions hôte-microbiote, entraînant une infectiosité accrue et des infections intestinales aiguës (**Kesavelu & Jog, 2023**).

5. Effets des additifs alimentaires sur la microflore intestinale

L'utilisation des additifs alimentaires s'est rapidement développée dans le monde au cours des dernières décennies et devrait encore augmenter à l'avenir. Ces dernières années, un nombre croissant d'études réalisées chez l'animal ont rapporté les effets néfastes de certains additifs alimentaires couramment utilisés sur l'homéostasie intestinale, suggérant un lien entre leur consommation et le développement/aggravation de maladies intestinales et métaboliques humaines (**Laudisi et al., 2019**). Si le microbiote intestinal est contaminé par des additifs alimentaires, il peut être modifié, favorisant la croissance de différentes espèces ou limitant d'autres, provoquant un déséquilibre entre elles, affectant leurs actions.

Une exposition à long terme à de faibles doses d'émulsifiants alimentaires polysorbate 80 et carboxyméthylcellulose a rapporté des effets indésirables sur l'homéostasie intestinale chez les souris qui ont présenté des symptômes similaires à ceux observés chez les patients atteints du syndrome métabolique (**Chassaing et al., 2015**).

Les édulcorants artificiels non caloriques sont des additifs alimentaires courants qui confèrent un goût sucré et une faible teneur en calories. Ils sont largement présents dans les boissons gazeuses, les snacks et les produits laitiers. Suez et coll. ont montré que la prise orale à long terme de saccharine induisait une intolérance au glucose et une dysbiose chez la souris.

Ruiz et ses collaborateurs ont signalé une exacerbation de l'inflammation intestinale chez des souris atteintes de *colite* et nourries avec un régime enrichi en titanium dioxide (colorant blanc).

Probablement, le titanium dioxide puisse compromettre la tolérance intestinale aux antigènes alimentaires et aux bactéries commensales (**Ruiz et al., 2017**).

Le ϵ -polylysine est un polymère organique fabriqué à partir de lysine (un acide aminé), il est au même temps un conservateur alimentaire et un agent antibactérien. En effet, une prise prolongée de l'homopolymère cationique ϵ -polylysine puisse déclencher des altérations permanentes de la composition microbienne et induire des colites (**Shahare et al., 2013**).

Conclusion

Les effets des additifs alimentaires sur la microflore intestinale varient en fonction du type d'additif et de la sensibilité individuelle. Certains additifs pourraient potentiellement perturber l'équilibre de la microflore, ce qui pourrait avoir des conséquences sur la santé digestive et immunitaire à long terme. Cependant, des recherches plus approfondies sont nécessaires pour comprendre pleinement les impacts spécifiques de chaque additif sur la santé intestinale. Il est conseillé de consommer des aliments naturels et équilibrés pour préserver la santé de la microflore intestinale.

Partie pratique

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Objectifs de recherche

1.1. Objectif principal

Notre objectif principal est d'étudier l'effet des contaminants chimiques (les pesticides, les antibiotiques, le chlore dans l'eau et les additifs alimentaires) sur la flore intestinale humaine in vitro.

1.2. Objectifs secondaires

Notre objectif principal nous permet de tirer plusieurs objectifs secondaires, qui sont :

1- Etudier l'effet des pesticides sur la microflore intestinale humaine à partir :

- L'analyse des données recueillies à l'aide d'un questionnaire destiné aux agriculteurs ;
- Le dénombrement des espèces de la flore intestinale chez les personnes saines et personne exposés aux pesticides
- La recherche des résidus des pesticides dans les différents aliments (fruits et légumes) par la méthode de diffusion sur gélose ;
- La confirmation de l'activité bactéricide des solutions de pesticide de différentes concentrations.

2- Etudier l'effet des antibiotiques sur la microflore intestinale humaine à partir :

- La recherche des résidus antibiotiques dans la fois du poulet par la méthode de diffusion sur gélose.
- La confirmation de l'activité antibactérienne des solutions d'antibiotique de différentes concentrations.

3- Etudier l'effet des additifs alimentaires sur la microflore intestinale humaine à partir un test d'activité antibactérienne des additifs alimentaires (colorants alimentaires/boissons).

2. Type et lieu de pré-étude

Il s'agit d'une pré-enquête épidémiologique descriptive qui est complétée par :

- 1- Une pré-étude cas-témoins qu'a été réalisée à partir des analyses microbiologiques des selles des personnes exposées aux pesticides à long durée. Elle a débuté au 15 Mars 2023 et elle s'est poursuivie jusqu'au 15 avril de la même année au niveau de laboratoire d'hygiène EPSP de Bouira (**Annexe a**).
- 2- Une pré-étude expérimentale qu'a été effectuée à partir la recherche des résidus des pesticides et des antibiotiques dans certains aliments, et la réalisation de test d'activité antibactérienne des additifs alimentaires. Cette partie a été pratiquée au niveau de laboratoire de notre Faculté SVN de l'université de Bouira, durant 15 jours.

3. Population cible

Notre pré-enquête s'est portée sur une population adulte, de sexe masculin âgés de 18 à 65 ans, de la wilaya de Bouira. Du point de vue méthodologique, les agriculteurs qui ont été soumis à cette pré-enquête sont tirées de façon aléatoire. Le **Tableau 6** illustre les critères d'inclusion et d'exclusion.

Tableau 6 : Critères d'inclusion et d'exclusion pour la pré-enquête.

Critère d'inclusion	Critère d'exclusion
Adulte âgés 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.

4. Matériel utilisé

4.1. Auto-questionnaire destiné aux agriculteurs

Le questionnaire (**Annexe b**) comprendre un ensemble des rubriques principales qui a leur tour contient des questions, dont la plupart sont facultatif (contient plusieurs options). Il contient les éléments suivants :

- Identification de l'enquêté : l'âge, la résidence, nombre d'enfants... etc.
- Identification de l'exploitation : nous avons posé des questions sur l'investisseur par
- Les mesures de sécurité prises lors du traitement et les risques inhérents
- Local de stockage
- Gestion des déchets de pesticides
- Pesticides et santé de l'Agriculteur
- Questions sur le microbiote qui sont tirées du questionnaire auto-administré en ligne de l'enquête Ifop, auprès d'un échantillon de 985 personnes, représentatif de la population française âgée de 18 ans et plus, du 25 au 29 août 2017.

4.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées sont notées sur le **Tableau 7**.

Tableau 7 : Souches bactériennes et leur origine.

Souches bactérienne	Origine
<i>E. coli</i>	Matière fécale humaine
<i>Lactobacilles</i>	Matière fécale humaine
<i>Proteus mirabilis</i>	Urines humaines
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538

4.3. Produits chimiques

Le **Tableau 8** illustre en détail les produits chimiques qui sont utilisés dans notre pré-étude.

Tableau 8 : Milieux et techniques d'ensemencement.

Classe	Produits
Insecticides « AKOFOS 48 EC »	Il contient 480 g/l de Chlorpyriphos (Annexe)
Antibiotiques	Disques : Erythromycine (E15), Pipéracilline (PIP30), Céfadroxil (CDR30)
	Poudres : Macrolides et tétracycline
Additifs alimentaire	SIN141 : Complexe cuivrique de chlorophylline sodique (colorant vert)
	E102 : Tartrazine (colorant jaune)
	E131 : Bleu patenté V (colorant bleu)

5. Etude microbiologique des selles des agriculteurs

5.1. Condition du prélèvement et du transport des échantillons de selles

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. 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.
- Déféquer 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

5.2. Préparation de la solution mère et des dilutions

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. 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 :

- 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 μ l (1000 μ l =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 μ l 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.

5.3. 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**).

5.4. 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.

5.4.1 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.

- 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 stériles.
- 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**). 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.

5.4.2 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.

5.5. 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 le plus

concentrée et on termine par le moins concentré. 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 minute. À l'aide une micropipette à cône stérile, on dépose 100 µl de suspension diluée et homogénéisé 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.

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**).

6. Etude des effets des pesticides sur la microflore intestinale

L'utilisation des pesticides est devenue une pratique très courante dans l'agriculture conventionnelle. Cependant, ces produits chimiques ne sont pas sans inconvénients, notamment par leur effet néfaste sur la santé humaine.

6.1. Choix des pesticides

Une étude algérienne a été effectuée sur 160 échantillons de fruits et légumes frais et 84 échantillons de grains de blé et d'orge, de farines de blé tendre et de semoules de blé dur. Leurs résultats de recherche multi-résidus montrent que 57,5% des échantillons de fruits et légumes, et 62 % des échantillons de blé et d'orge contenaient au moins un résidu de pesticide. Selon la même étude, les pesticides représentant un risque aigu associé à la consommation de pomme de terre sont : le chlorpyrifos et la lambda-cyhalothrine. Elle dévoile également que le chlorpyrifos peut être ingéré quotidiennement par les consommateurs algériens (**Mebdoua, 2017; Mebdoua et al., 2017**).

Dans cette partie, on a étudié l'impact des deux pesticides (le chlorpyrifos et la lambda-cyhalothrine) sur certaines souches.

6.2. Préparation des doses d'insecticide chlorpyrifos « AKOFOS 48 EC »

6.2.1 Solution initiale de concentration de 1 g/L et gamme de dilutions

Dans des conditions de sécurité, on mélange 2083 µl de l'insecticide chlorpyrifos « AKOFOS 48 EC » avec 1l de l'eau désutilité stérile dans un flacon en verre stérile pour préparer une solution de concentration de 1 g/l.

On prépare les solutions de différentes doses, selon la loi de dilution suivante (**Tableau 10**) :

$$\text{Concentration initiale } (C_0) \times \text{volume initial } (V_0) = \text{Concentration finale } (C_F) \times \text{volume finale } (V_F)$$

Tableau 10 : Gamme des dilutions préparées à partir d'une solution de pesticide de 1g/l.

	Dose 0	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
Solution mère (g/l)	1	1		1	1
Solution fille (g/l)	0	0,01	0,05	0,1	0,5
Volume de solution mère de 1g/l (ml)	0	0,5	2,5	5	25
Volume d'eau désilé stérile (ml)	50	49,5	47,5	45	25
Volume de solution fille (ml)	50	50	50	50	50

6.2.2 Activité antibactérienne

Le Tableau 11 illustre le matériel nécessaire pour tester l'activité bactéricides d'insecticide choisi par la méthode de diffusion.

Tableau 11 : Matériel de réalisation de l'activité antibactérienne de l'insecticide et des extraits des végétaux.

Disque	Solution	Antibiotiques	Milieu	Instrument	Souches
Des disques de papier Wattmen d'un diamètre de 6 mm	≈10 µl de la solution de chaque dose de pesticide	CRF30	MH	Ecouvillon	<i>E. coli -selles</i>
		PIP30			<i>LB-selles</i>
		PIP30			<i>Staphylococcus aureus</i>
		CRF30			<i>Proteus mirabilis</i>
		E15			<i>Bacillus subtiles</i>

❖ Les disques sont préparés à partir de papier wattman, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

❖ L'ensemencement a été réalisé de la manière suivante :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
 - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de Mueller-Hinton (MH) de haut en bas.
 - Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 90° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
 - Passer 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 d'insecticide et déposés sur les boîtes contenant de gélose MH préalablementensemencés avec les souches à tester (**Figure 5**). 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 solution 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.

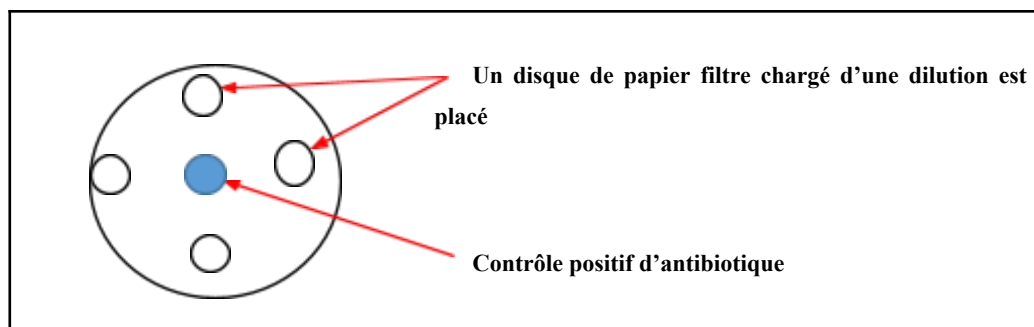


Figure 5 : Ensemencement sur milieu MH.

6.3. Contamination des légumes et des fruits par les pesticides

On a réalisé une extraction aqueuse de légumes et des fruits qui sont achetés du marché d'une manière aléatoire. Trois légumes qui sont la courgette, pomme et terre et la tomate, et un fruit qui est la fraise, sont extraits

Les légumes et les fruits sont lavés avec une solution de chlorhydrique de 6%, puis rincés plusieurs fois par l'eau physiologique stérile.

- Une quantité de 10g de l'échantillon broyé et homogénéisé est pesée dans des tubes de centrifugation de 50 ml, puis un volume de 10 ml d'eau physiologique est ajouté.

- Le tube bien vissé est agité vigoureusement, et manuellement pendant 5 min à l'aide d'un agitateur vortex, puis centrifugé à 2000 g pendant 5 min.
- Le surnageant obtenu est transféré dans un autre tube de centrifugation, puis centrifugé, pour la deuxième fois, à 2000 g pendant 5 min.
- L'extrait aqueux est prélevé et conservé pour 3 heures uniquement.

L'activité antibactérienne est réalisée, selon la méthode de diffusion de disque vide ; où le **Tableau 11** numérote le matériel nécessaire pour ce test.

2. Détection des résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet de chair

La méthode est couramment appelée « méthode des quatre boîtes » ou encore « méthode des quatre plaques » par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA, 2000). La méthode officielle utilise deux bactéries à plusieurs pH : *Bacillus subtilis* à pH 6 ; 7,2 et 8 et *Micrococcus luteus* à pH 8.

Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôts des échantillons sont révélatrices de la présence potentielle d'antibiotiques. Les différentes étapes de cette méthode sont résumées dans la **Figure 6**.

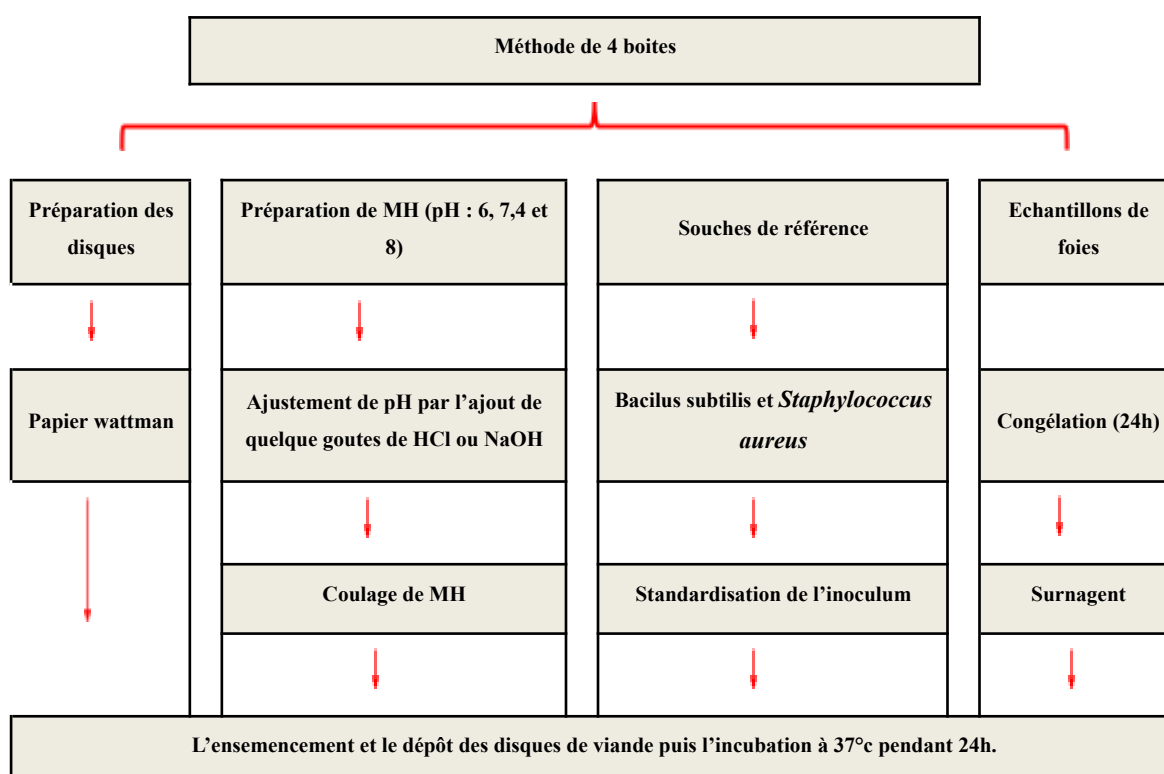


Figure 6 : Protocole expérimental de la méthode de quatre boîtes.

- ❖ Echantillonnage et prélèvement de la viande : Au total, quatre échantillons de foies ont été prélevés de façon aléatoire sur les boucheries de la ville de Bouira. Ces échantillons ont été mis dans des sachets de congélation en plastique puis conservés dans une glacière avec des conservateurs de glace et transportés jusqu'au laboratoire de notre Faculté SNV où ils ont été stockés à une température de -20°C .
- ❖ Les échantillons congelés sont décongelés à l'aire libre. Ensuite, 5 g de chaque échantillon est prélevé, pesé et broyé avec un mortier stérile contenant 45 ml d'eau physiologique stérile. Les échantillons sont déposés dans des tubes de centrifugation stériles et ils sont centrifugés à 4.000 tours pendant 5 minutes. Enfin, le surnageant est récupéré pour faire le test.
- ❖ Les souches utilisées dans notre étude sont : *Bacillus subtilis* ATCC6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC6538. Ces souches utilisées sont repiquées dans le Bouillon Nutritif et incubées à 37°C pendant 24h. La vérification de la pureté des souches se fait sur le milieu gélose Nutritif pour *Bacillus subtilis* et chapemen pour *Staphylococcus aureus* par la méthode d'ensemencement en quadrant, cette pureté est confirmée par des tests macroscopique et microscopique jusqu'à l'obtention d'un aspect macroscopique pure, ainsi la coloration de Gram est réalisée pour compléter cette vérification de la pureté.
- ❖ A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farlandou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.
- ❖ La technique de l'activité antibactérienne des antibiotiques est la même que les tests présents des pesticides. Quatre disques correspondant quatre échantillons de foies avec un disque au centre correspondant au antibiotique témoin sensible (**Tableau 12**) sont disposés sur la surface de la gélose MH.

Tableau 12 : Familles d'antibiotiques recherchées selon les souches de références.

	Boite 01	Boite 02	Boite 03	Boite 04
pH	6	7,4	8	8
Souches	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
Famille d'ABT	Bêta-lactamines	Sulfamides	Glycopeptides	Macrolides
Antibiotiques	Pipéracilline 30 µl	Sulfamides-Triméthoprime 200 µl	Vancomycine 5 µl	Erythromycine 15 µl

3. Aditifs alimentaire

Les solutions initiales de trois additifs alimentaires sont préparées selon les données mentionnées sur le **Tableau 13**.

Tableau 13 : Préparation de solutions initiales des colorants alimentaires.

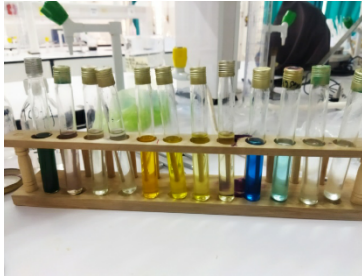
Code de l'additif	E102	E131	SIN141
Couleur	Jaune	Bleu	vert
Forme	poudre	poudre	liquide
Quantité	3 g	3 g	3 g
Volume d'eau stérile ajouté (ml)	10	10	7
Concentration g/l	300 g/l	300 g/l	30%

Des séries de dilution sont préparées à partir des solutions initiales ; dans des conditions d'asepsie (**Tableau 14**) : D'abord, un volume de 9 ml de l'eau physiologique stérile est remis dans trois tubes. Ensuite, un volume de 1000 µl de solution initiale homogène est prélevé et

introduit dans le tube n° 2. Enfin, un volume de 1000 µl de tube n° 2 homogène est transféré vers le tube n° 3.

Tableau 14 : Différentes dilutions des colorants alimentaires.

Code de l'additif	E102	E131	SIN141
Solution initiale	300 g/l	300 g/l	30%
Dilution 1	30 g/l	30 g/l	3%
Dilution 2	3 g/l	3 g/l	0,30 %
Dilution 3	0,3 g/l	0,3 g/l	0,03 %



La technique de l'activité antibactérienne des antibiotiques est la même que les tests présents des pesticides et des antibiotiques. Quatre disques correspondant quatre dilutions pour chaque colorant alimentaire avec un disque au centre correspondant au antibiotique témoin sensible sont disposés sur la surface de la gélose MH.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats de pré-enquête

1.1. Description de la population de pré-étude

Le **Tableau 15** illustre quelques caractéristiques de la population enquêtée (39 individus) qui est représentée par les jeunes adulte de 34 ans.

Nos données montrent que presque 18% des acteurs de l'agriculture ne lisent pas les étiquettes des produits phytosanitaires qui sont classés parmi les produits chimiques les plus dangereux et 17 % de ces individus utilisent des pulvérisateurs automatiques et parfois même manuel. En moyenne, ces jeunes ont travaillé par ces produits pendant plus de 7 ans. Plus de 44 % des agriculteurs avaient également un surpoids ($25 < \text{IMC} < 30 \text{ Kg/m}^2$) ; l'exposition aux pesticides est un facteur de dysbiose intestinale et cette affection est un facteur de risque de l'obésité.

Tableau 15 : Caractéristiques de la population étudiée.

Paramètres		Valeurs
N (%)		40 (100%)
Age (ans)		34,79 \pm 7,32
Poids (Kg)		76,08 \pm 9,85
Taille (m)		1,77 \pm 0,069
IMC (Kg/m ²)		24,24 \pm 2,92
Durée d'utilisation des pesticides (ans)		7 \pm 4,44
Corpulence	Normaux	23 (56%)
	En surpoids	17 (44%)
Lisez-vous les étiquettes	Oui	32 (82,10%)
	Non	7 (17,90%)
Avez-vous reçu une formation	Oui	35 (89,70%)
	Non	4 (10,30%)
Type de pulvérisateur utilisé	Manuel	2 (5,13%)
	Automatique	30 (76,92%)
	Mixte	7 (17,95%)

1.2. Sujets et indicateurs de la flore humaine

Nos résultats montrent que 44 % des individus inclus dans la pré-enquête ont des douleurs abdominales et 38 % ont un gonflement du ventre (**Figure 7**).

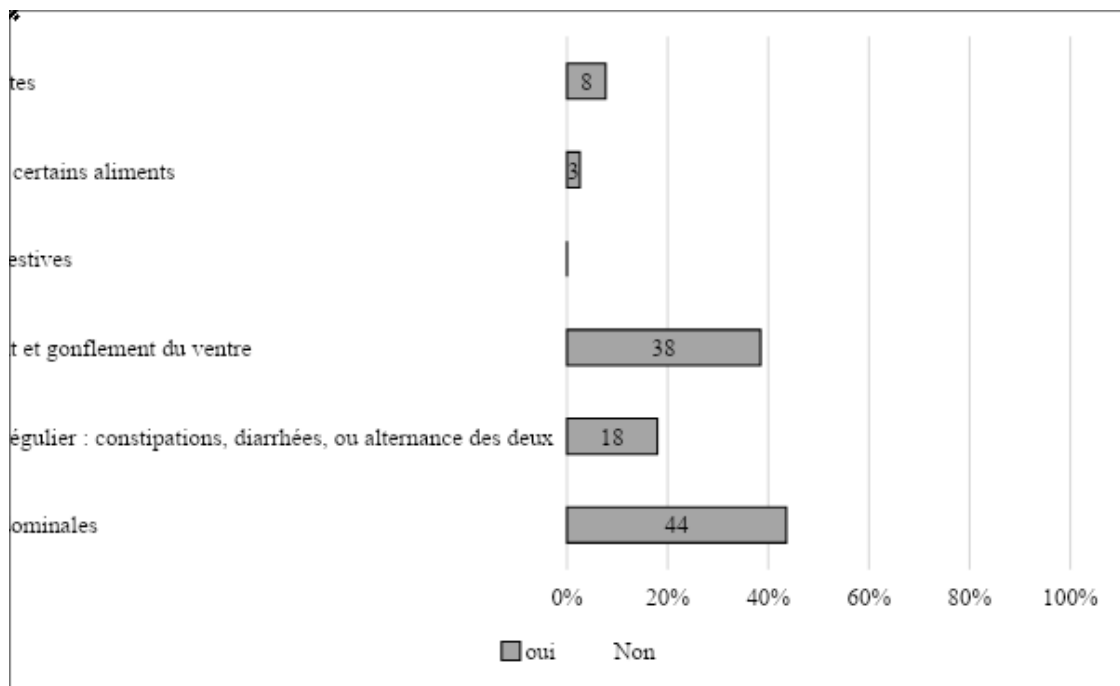


Figure 7 : Indicateur du dysfonctionnement de la flore humaine.

La **Figure 8** indique que l'ensemble des individus qui utilisent un pulvérisateur manuel et 71% qui utilisent un pulvérisateur manuel et automatiques avaient des douleurs au niveau du ventre. La différence entre ces trois groupes est significative ($p < 0,048$).

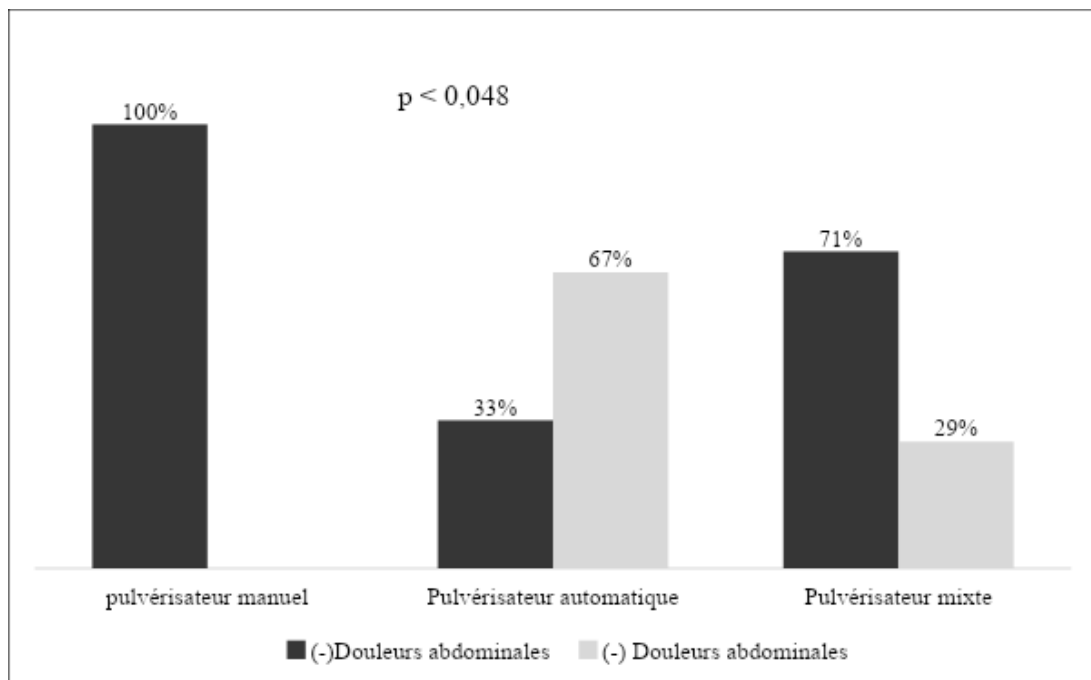


Figure 8 : Douleurs abdominales chez les agriculteurs en fonction de type de pulvérisateur utilisés.

2. Pesticides et complications

1.1. Etude de la microflore intestinale des agriculteurs

1.1.1. Examens macroscopiques et microscopiques des selles

A. Examens macroscopique

L'examen macroscopique (**Tableau 16**) 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 16 : Résultats de l'observation macroscopique des échantillons collectés.

Cas –témoins		S 1	S 2	P1	P2	P 3	P4
	Semi solide	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)
Consistance	Solide						
	Liquide					(+)	
	Brune	(+)	(+)			(+)	(+)
	Sombre				(+)		
Couleur	Claire						
	Autre couleur			(++ +)			
Macro-parasites		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Résidus alimentaires		(-)	(+)	(++)	(-)	(-)	(+)
	Mucus	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Eléments surajoutés	Sang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Autres	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

B. Examen microscopique

❖ Observation directe des selles à l'état frais

L'examen microscopique (**Tableau 17** et **Figure 9**) 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, on note une absence totale de ces éléments sauf les débris alimentaires qui sont présents en grande quantité.

Tableau 17 : Résultats de l'examen à l'état frais des échantillons selle.

E	Leucocytes fécaux.		Mobilité par ciliature polaire (pathogènes)		les œufs et larves d'helminthes		les formes végétatives et kystiques des protozoaires		Débris	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
S1		-		-		-		-	++	
S2		-		-		-		-	++	
P1		-		-		-		-	++ +	
P2		-		-		-		-	++ +	
P3		-		-		-		-	++	

P 4		-		-		-		-	++ +	
--------	--	---	--	---	--	---	--	---	---------	--

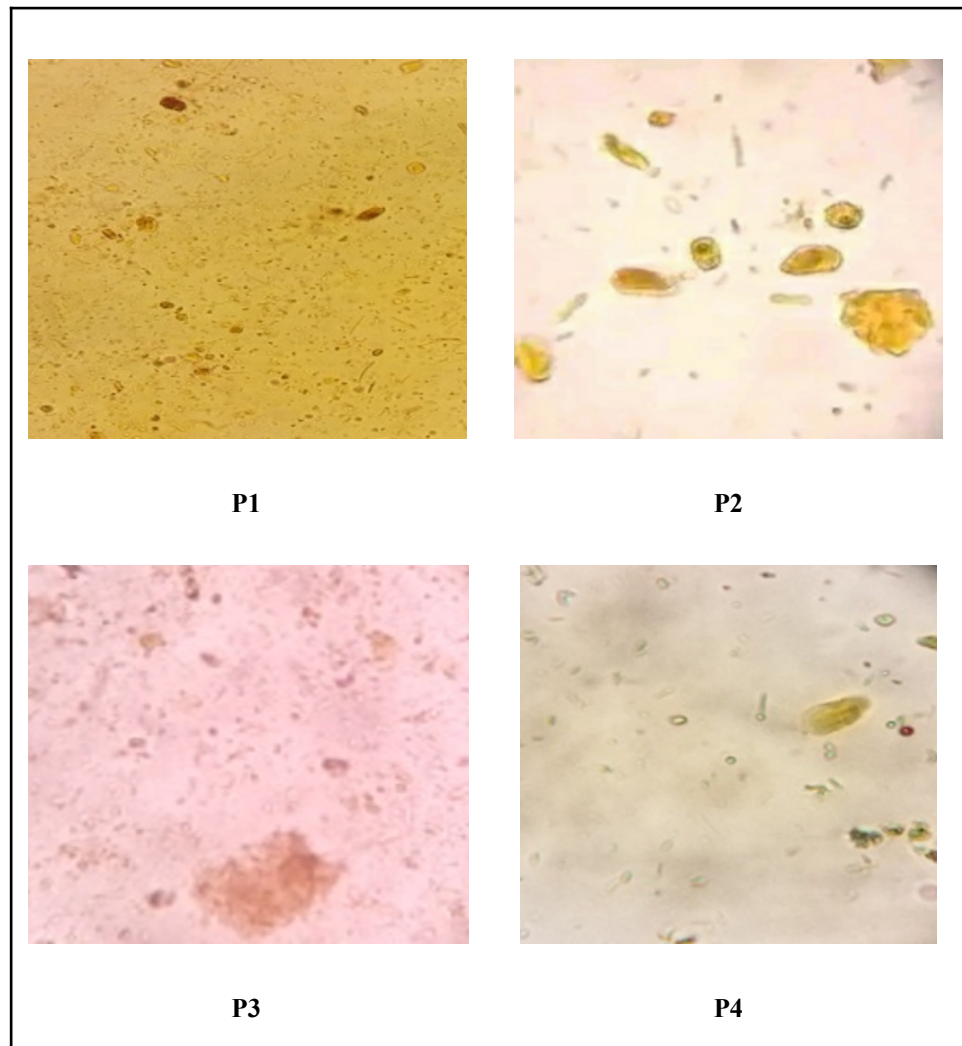


Figure 9 : Observation microscopique à l'état frais des échantillons étudiés (G×400).

❖ Résultats de coloration de Gram

Une différence significative de la charge et la diversité microbienne a été observée après la coloration du Gram entre les échantillons S1 et S2 des personnes Saines et les échantillons P1, P2, P3 et P4 des personnes exposées aux pesticides

Les échantillons les plus pauvres en bactéries intestinales sont les échantillons des personnes exposées aux pesticide à une langue durée qui dépasse une année. Les pesticides sont des substances chimiques inhibent la croissance bactérienne.

D'après nos résultats (**Figure 10**), il y a un équilibre entre les bactéries gram positives et les bactéries Gram négatives dans les selles des sujets normaux (s1 et s2). Ce qui renforce

ces résultats est le rapport F/B. Les bactéries Gram négative sont plus dominantes chez les patients exposés aux pesticides mais avec une déférence dans les formes des bactéries. Ces résultats montrent qu'il y a une dysbiose intestinal chez les exposés.

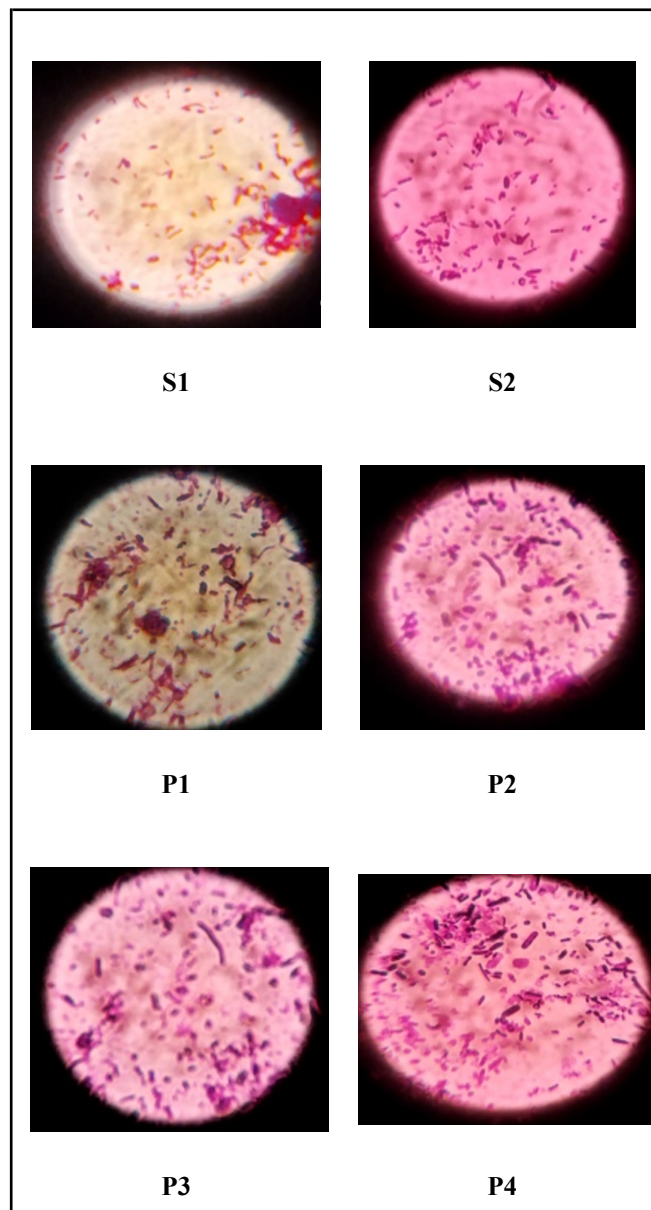


Figure 10 : Observation microscopique de coloration de Gram des échantillons étudiés (G×100).

1.1.2. Dénombrement des cellules bactériennes

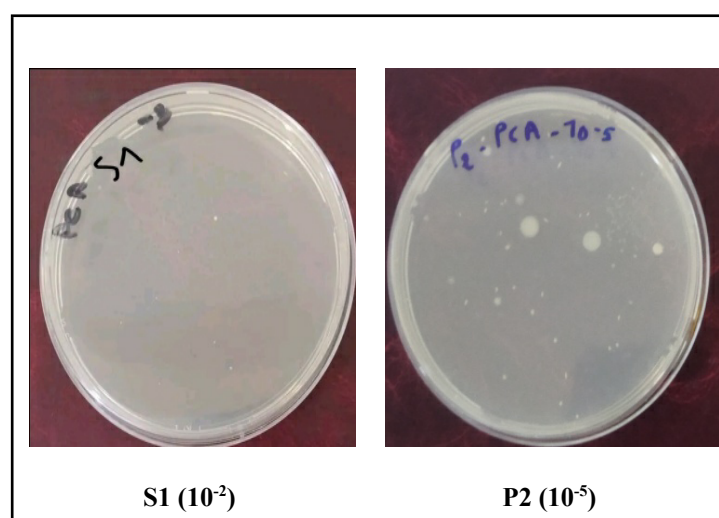
Après la culture des six échantillons dans des milieux spécifiques, les résultats de dénombrement obtenus sont mentionnés sur le **Tableau 18**.

Tableau 18 : Comptage des colonies sur les trois milieux solides (UFC/ml x 10⁻⁵)

Echantillons	bactéries aérobies totales	Entérobactéries	bactéries lactiques
Milieu	PCA	VRBL	MRS
S1	/	1.9	2.2
S2	2.5	2.5	/
P1	3.9	10.3	11.3
P2	3.1	29	5.8
P3	11.4	19.6	2.8
P4	28	12.3	12

A. Résultats des bactéries aérobies totales (PCA)

Après 72 heures d'incubation, les colonies apparaissent blanches ou crème, avec une forme fusiforme et une taille petite à moyenne (**Figure 11**). Nos résultats montrent qu'il y a un grand écart entre les échantillons de la matière fécale ce que concerne la charge en bactéries, les échantillons des agriculteurs (P1, P2, P3 et P4) sont concentrés en mésophiles aérobies totales par rapport aux autres sujets (S1 et S2). Après le dénombrement des colonies, la plupart des résultats des échantillons se situaient autour de $(3.1 \times 10^5 \text{ UFC.ml}^{-1})$. Les échantillons P3 et P4 (28×10^5) et ($11.4 \times 10^5 \text{ UFC}$) ont montré les résultats les plus élevés,

**Figure 11** : Résultat après 72h l'incubation dans le milieu PCA.

B. Résultats de dénombrement des entérobactéries (VRBL)

Après incubation à 37°C pendant 48 heures dans le milieu VRBL, des colonies circulaires plates avec des bords lisses ou réguliers ont été observées (**Figure 12**). Ces colonies présentent une coloration rouge ou rose, et leur diamètre est d'environ 0,5 mm.

Le dénombrement des colonies a révélé que les résultats des échantillons se situaient entre (2×10^5 UFC.ml⁻¹) et (29×10^5 UFC.ml⁻¹). L'échantillon (ES1) a présenté le résultat le plus faible avec une charge de (1.9×10^5 UFC.ml⁻¹), tandis que l'échantillon de la personne (P2) a montré le résultat le plus élevé avec une charge de (29×10^5 UFC.ml⁻¹).

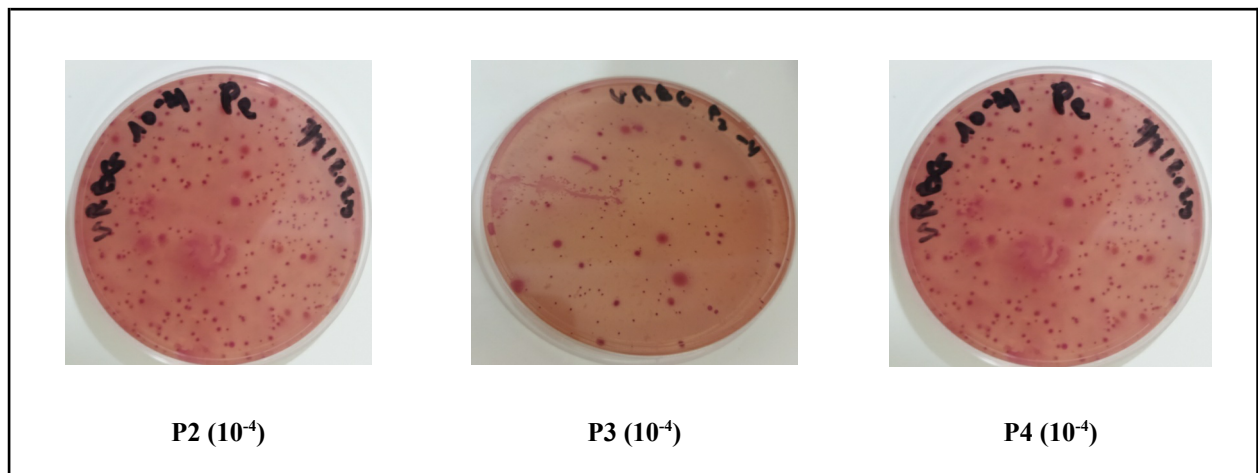
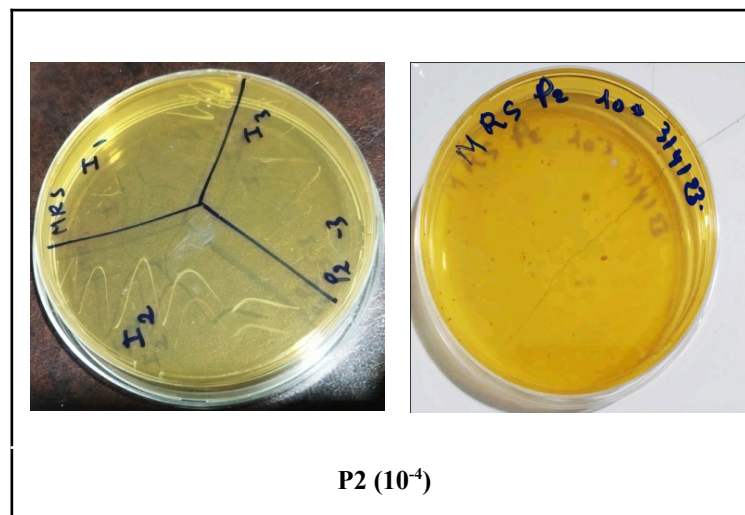


Figure 12 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu VRBL.

C. Résultats de dénombrement des bactéries lactiques (MRS)

Après 72h d'incubation dans le milieu MRS, on a obtenu des colonies blanches circulaires ou irrégulières avec une texture lisse ou granuleuse. Ces colonies présentent un diamètre d'environ 0,5 mm.



P2 (10⁻⁴)

Figure 13 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu MRS.

Le dénombrement des colonies dans le milieu MRS a révélé une concentration d'environ (7×10^5 UFC.ml⁻¹). L'échantillon (P4) a présenté le nombre de colonies le plus élevé, avec une charge de (12×10^5 UFC.ml⁻¹), tandis que l'échantillon (ES1) a affiché le nombre de colonies le plus faible, avec une charge de (2.2×10^5 UFC.ml⁻¹).

D. Résultats de dénombrement des levures et des moisissures (OGA)

Après 5 jours d'incubation à 22°C (**Figure 14**), les colonies de levures et de moisissures ont montré les caractéristiques suivantes : la plupart des colonies étaient blanches, de forme circulaire, certaines étaient irrégulières avec une bordure lisse, tandis que d'autres étaient filamenteuses. Dans la boîte d'échantillon (ES2), une colonie de levure de couleur rose avec une forme circulaire et une bordure filamenteuse a été obtenue. En outre, des colonies circulaires blanches, bombées et à texture lisse, de taille très petite, ont été observées, mais elles étaient des colonies bactériennes.

Les résultats obtenus étaient indénombrables, pour les échantillons (P3), (P4) et (ES2), étaient un nombre de colonies de levures et de moisissures ne dépassant pas 2. En revanche, les boîtes des échantillons (P1), (P2) et (ES1) étaient vides, et les autres colonies observées étaient des bactéries et non des levures ou des moisissures.

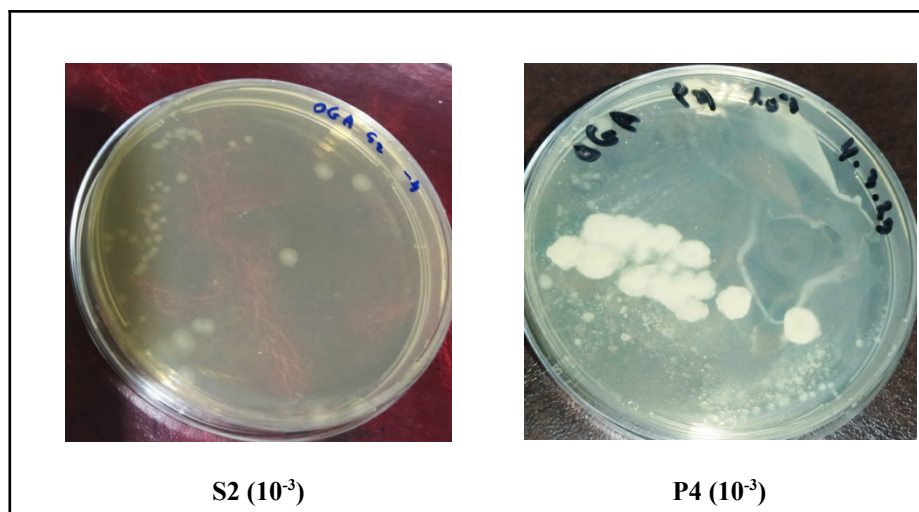


Figure 14 : Résultat après 48h d'incubation dans le milieu OGA de différentes dilutions.

2.1. Effets des pesticides sur la flore intestinale

2.1.1. Activité antibactérienne de Chlorpyrifos

L'interdiction pure et simple de l'utilisation des pesticides n'est actuellement pas possible en raison des problèmes de sécurité alimentaire et du manque d'alternatives viables pour un remplacement à grande échelle.

Le chlorpyrifos est l'un des pesticides les plus couramment utilisés dans le monde et ses résidus sont souvent présents dans les fruits, les légumes, les céréales et les produits laitiers, ainsi que dans l'eau de boisson. Il pourrait néanmoins être capable de provoquer une dysbiose du microbiote intestinal et d'affecter indirectement la santé humaine.

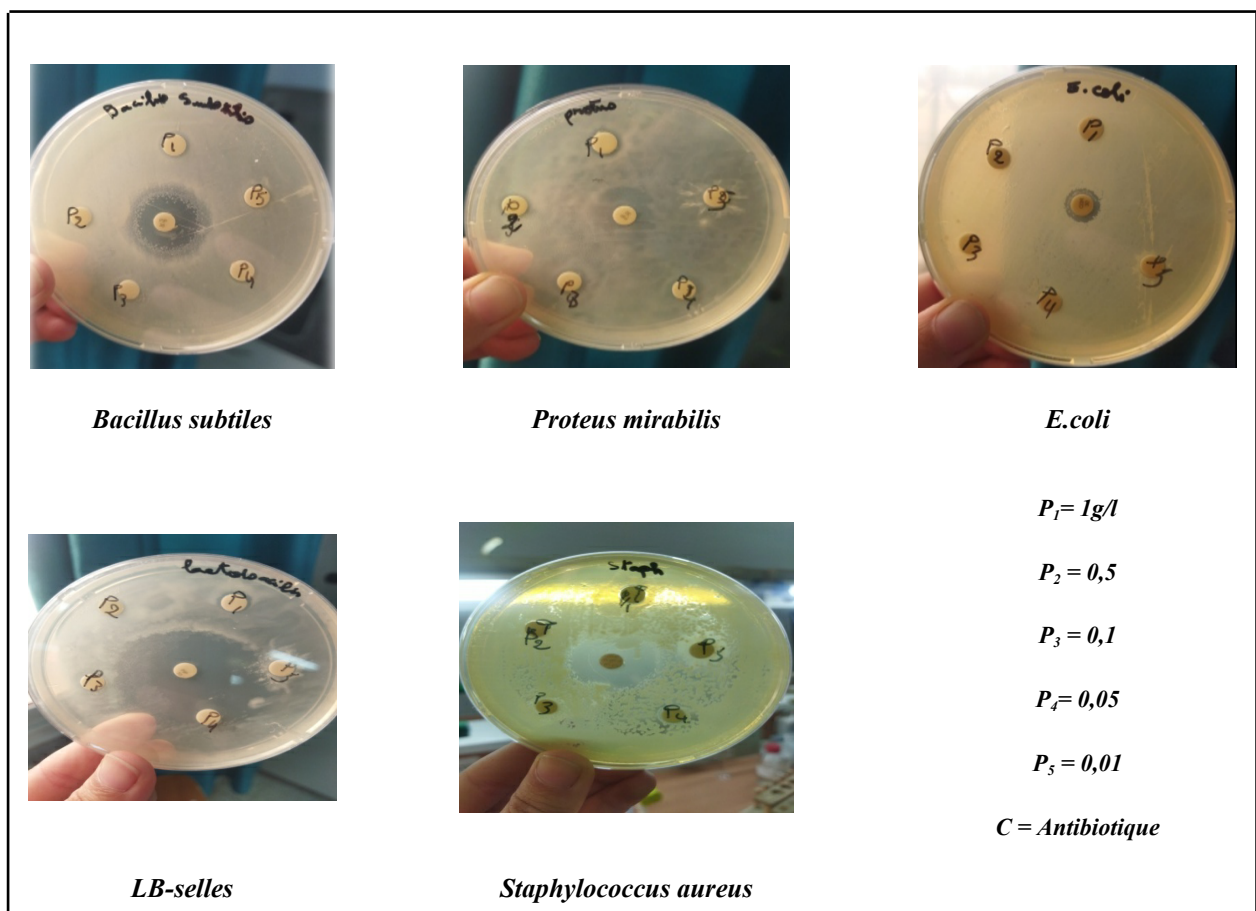


Figure 15 : Effet antibactérien du Chlorpyrifos sur les cinq espèces bactériennes, dont deux souches d'origine intestinale

Trois modèles d'effet d'inhibition peuvent être observés selon le diamètre des zones d'inhibition dans de différentes concentration du pesticide, ces trois modèles sont : Pas d'effet ≥ 9 mm, effet intermédiaire (15-19 mm) et effet élevé (≥ 20).

Le **Tableau 19** montre l'effet antibactérien du Chlorpyrifos sur les cinq espèces bactériennes, dont deux souches d'origine intestinale. Ainsi, nos résultats montrent que les fortes concentrations de chlorpyrifos ont un effet sur toutes les bactéries étudiées. Alors que les concentrations inférieures à 0,05 ont eu un effet inhibiteur lent (10-14mm) contre *Proteus mirabilis* et un effet intermédiaire contre *Bacillus subtilis*. Tandis qu'un effet inhibiteur élevé de 20mm et plus a été enregistré chez *Staphylococcus aureus*.

Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des différentes doses du chlorpyrifos en fonction des souches testées.

Souches	ATB	C	0,01	0,05	0,1	0,5	1
<i>E.coli -selles</i>	CDR30	20	19	12	7	3	0
<i>LB-selles</i>	PIP30	54	25	30	12	9	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	E15	45	27	18	11	8	2
<i>Proteus mirabilis</i>	CDR30	14	13	11	9	9	6
<i>Bacillus subtilis</i>	PIP30	28	19	14	7	4	1

Concernant les souches d'origine intestinale, leurs résultats présents sont confirmés par les résultats mentionnés sur la **Figure 16**. Les concentrations faibles de l'insecticide ont un effet antibactérien sur *Lactobacillus sp.* et *E. coli* alors les fortes doses n'ont pas d'effet. La croissance de ces souches intestinales considérablement diminue lorsque la dose du chlorpyrifos est très faible.

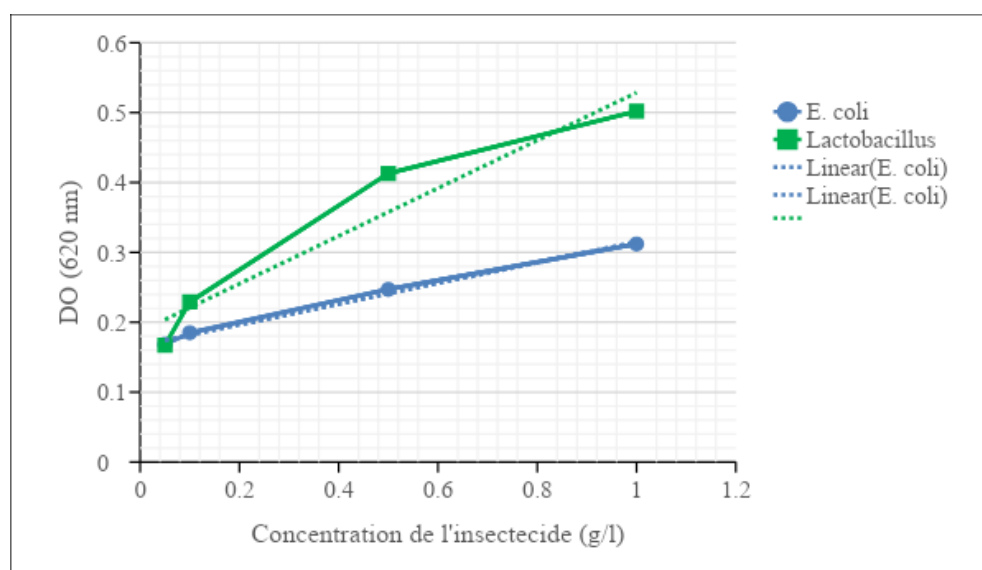


Figure 16 : Diagramme représente l'effet d'insecticide sur *Et.coli*, *lactobacillus* sp

2.1.2. Recherche des résidus de pesticide dans les fruits et légumes

La recherche des résidus de pesticides a concerné quatre échantillons de fruits/légumes (tomates, fraises, pommes de terre et courgette). La **Figure 17** illustre la présence des résultats positifs concernant les fraise, les tomates.

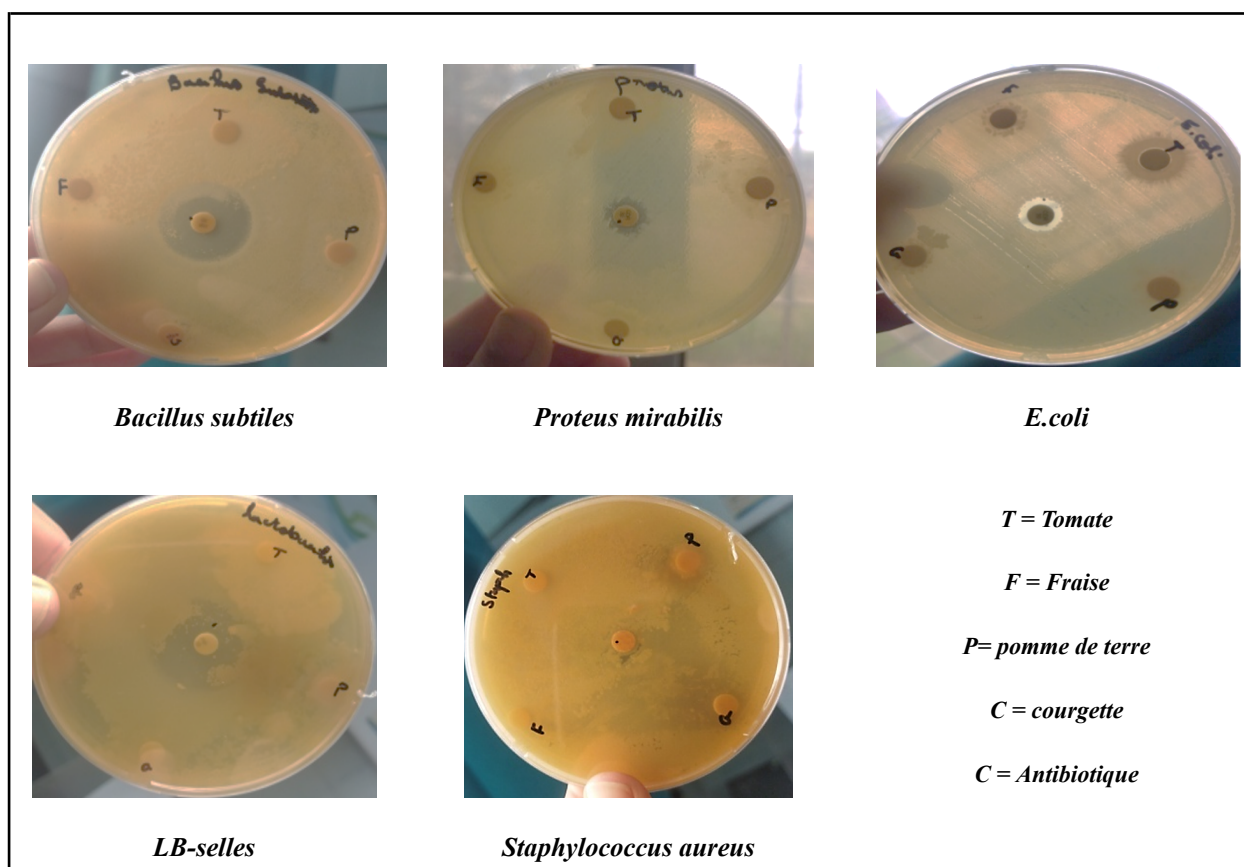


Figure 17 : Résultats obtenus des échantillons à différents légumes et fruits.

En Algérie, une étude portée sur la détection des résidus de pesticide sur 120 échantillons de fruits (pommes, poires, prunes, pêches, nectarines, raisins, figues, abricots, fraises) et 40 échantillons de légumes (tomates, laitues, pommes de terre, courgette) réalisé par Mebdoua S. (2017) a révélé plus de 57,5% d'échantillons contaminés.

Tableau 20 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des différentes doses de chlorpyriphos en fonction des souches testées.

Bactérie	ATB		Tomates	Pomme de terre	Courgettes	Fraises
<i>E.coli</i> -selles	CDR30	9	25	19	16	15

LB-selles	PIP30	19	32	20	10	7
Staphylococcus aureus	E15	7	18	27	12	17
Proteus mirabilis	CDR30	4	30	24	20	11
Bacillus subtilis	PIP30	19	40	38	24	22

Notre étude est très limitée à un seul type de fruits et à trois légumes, et ce qui est insuffisant pour évaluer une exposition totale aux pesticides. Par conséquent, la surveillance de plus de résidus de pesticides dans une plus grande variété de fruits et légumes devrait être développée afin de garantir l'apport alimentaire selon les normes internationales de sécurité sanitaire des aliments.

3. Effet d'acide chlorhydrique sur la flore intestinale

Le **Tableau 21** et la **Figure 18** montrent l'effet du pH sur la croissance bactériennes des deux souches *Escherichia coli* et *Lactobacillus* en mesurant la densité optique selon croissance bactériennes dans les différents pH (2,3 et 4). La plupart des bactéries se développent à des pH proches de la neutralité, ce qui correspond au pH du cytoplasme bactérien et est optimal pour les activités enzymatiques bactériennes. Lorsque le microorganisme est confronté à un environnement trop acide ou trop basique, il régule son pH intracellulaire jusqu'à un certain point. Une acidification ou une alcalinisation importante du milieu a pour effet de ralentir considérablement la croissance bactérienne, voire d'entraîner la mort cellulaire lorsque des enzymes indispensables sont inhibées. Les microorganismes ont mis en place des mécanismes de réponse au stress leur permettant de survivre dans des conditions de pH limites. Trois modèles d'effet d'inhibition ont été observés selon le diamètre des zones d'inhibition dans de différentes concentrations du pesticide. Ces 3 modèles : Pas d'effet ≥ 9 mm, effet intermédiaire (15-19 mm) et effet élevé (≥ 20) (pH=2 (45mm pour *e.coli* et 67mm pour *lactobacillus sp.*).

Tableau 21 : Densité optique selon des suspensions bactériennes et les solutions de l'eau chlorée ayant des différents pH.

Bactérie	pH = 4	pH = 3	pH = 2
<i>E.coli</i> <i>-selles</i>	(-)	(-)	45
<i>LB-selles</i>	(-)	(-)	67

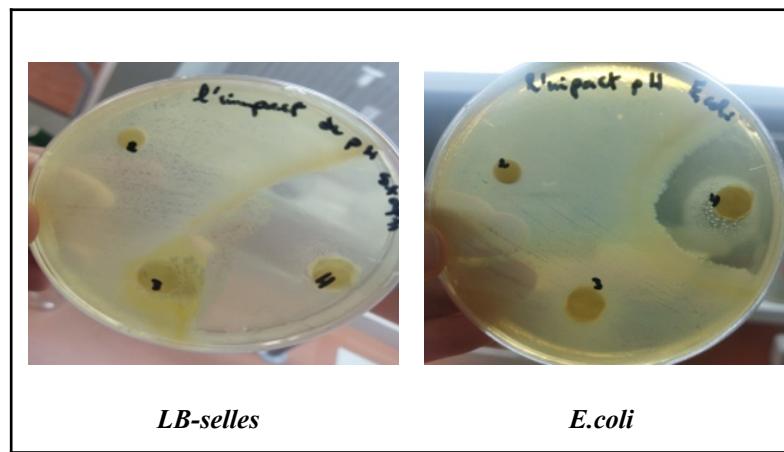


Figure 18 : Activité antibactérienne de l'eau chlorée de différents pH.

La **Figure 19** montre que la souche *Lactobacillus* d'origine matière fécale est très sensible au chlore par rapport à la souche *E. coli*.

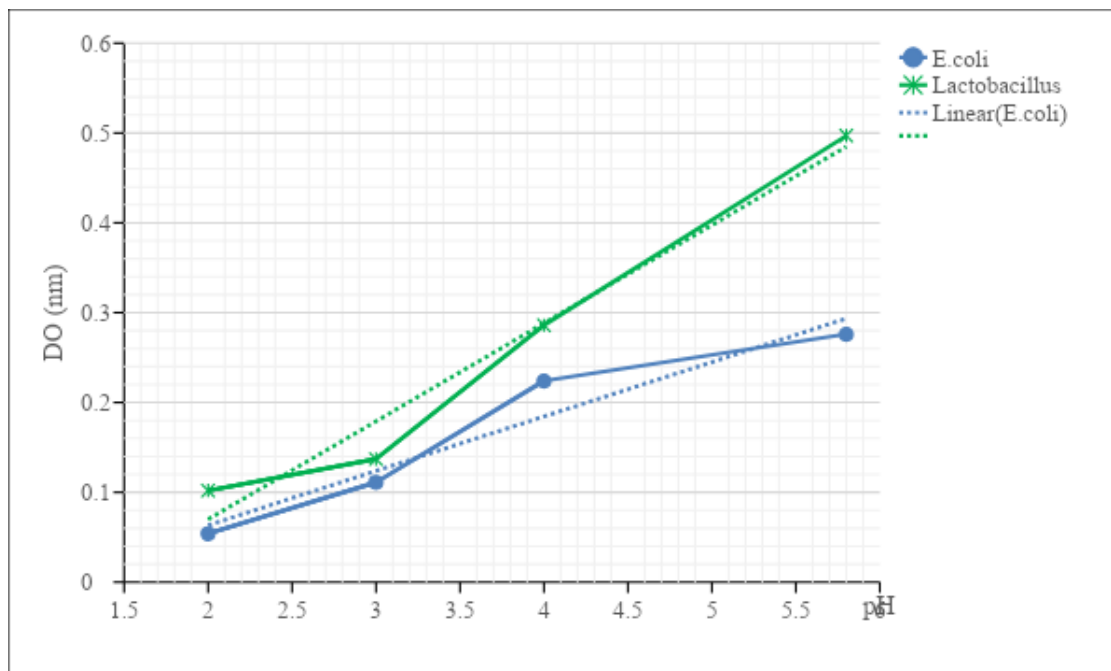


Figure 19 : Diagramme représente la densité optique des suspensions bactéries et solutions de l'eau chlorée ayant des différents pH.

4. Activité antibactérienne des antibiotiques

Dans le cadre de la recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande volaille, nous avons mené une étude préliminaire dont le foie de poulet de chair a fait l'objectif de notre analyse. Pour cela nous avons utilisé la méthode de quatre boîte en présence des bactéries sensible aux antibiotiques (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*).

Selon Remdane (2015), les disques d'antibiotiques témoins doivent présenter une zone d'inhibition nettement supérieure ou égale à 12 mm, diamètre du disque compris. Pour chacune des boîtes sont considérés comme positifs, les échantillons de viande donnant des zones d'inhibition supérieurs à 8 mm sont considérés comme contenant des résidus d'antibiotiques.

D'après non résultats exprimés dans la **Figure 20**, les résultats ont montré que la présence des zones d'inhibition autour des extraits des échantillons de foies.

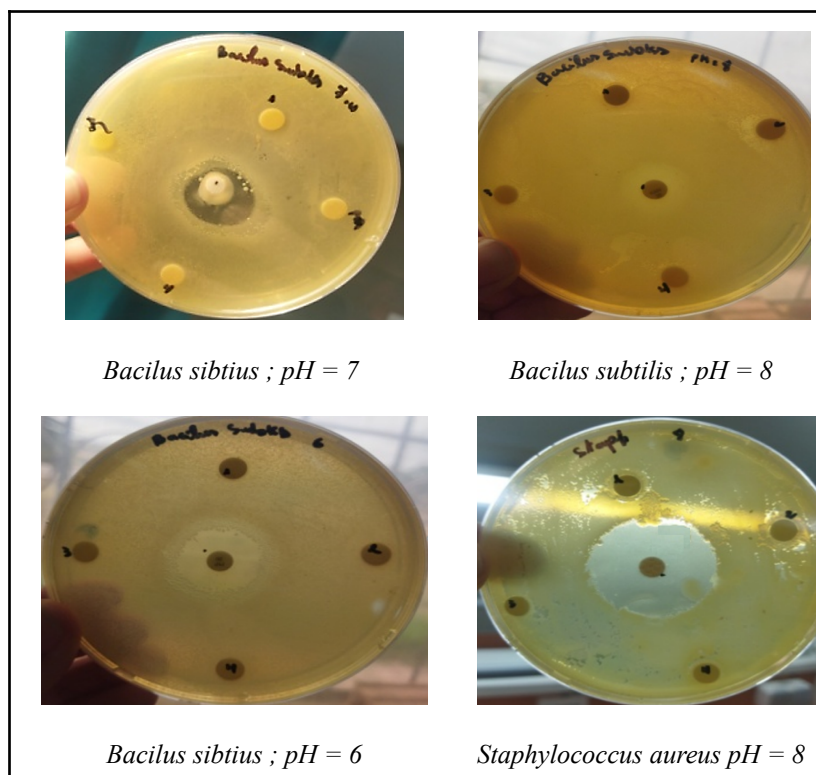


Figure 20 : Activité antibactérienne des quatre extraits de foies de poulet contre *Staphylococcus aerues* et *Bacillus subtilis*.

Dans notre étude, nous avons analysé quatre échantillons de foie, les résultats sont présentés dans le **Tableau 22**. Les quatre échantillons présentent des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*, ce qui signifie la présence des résidus de certaines bêta-lactamines et des macrolides.

Les résultats obtenir pour Bacillus subtilis montrent :

- pH = 6 : la présence des résidus d'antibiotiques de la famille des bêta-lactamines ou des tétracyclines dans l'échantillon F1

- pH = 8 : la présence des résidus d'antibiotiques de la famille des aminosides dans les échantillons F1/F2/F3
- pH = 7,5 : l'absence des résidus des sulfamides dans les quatre échantillons de foie.

Tableau 22 : Diamètre des zones d'inhibition des extraits de quatre échantillon de foie.

Souches	pH	ATB		F1	F2	F3	F4
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	E15	36	++	++	++	++
<i>Bacillus subtilis</i>	6	PIP30	18	++	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	8	E15	13	++	++	++	-
<i>Bacillus subtilis</i>	7,5	Am	21	-	-	-	-

Dans le cadre de la recherche des résidus d'antibiotiques, plusieurs études (dans le monde) ont été faites, nous citons les suivantes :

- En Suisse, une étude réalisée portant sur l'effectif total de 55 échantillons de viande de volaille provenant de différente région du monde a révélé que 20 échantillons positifs en présence des résidus d'antibiotique, soit un taux de 36% (**SISQA, 2003**).
- Au Sénégal, deux études menées par (**Alamedji et al., 2004**) ont rapporté des taux de positivité de 3% et 9,8 % respectivement.
- En Royaume Unie, le plan de surveillance des résidus d'antibiotique dans la viande a révélé un taux de positivité de 0,8% en 2000, de 3,97% en 2002 et 0,2% en 2003 (**Mavis, 2003**).
- En Tunisie, une étude portée sur la détection des résidus d'antibiotiques sur 10 échantillons [muscle (5) et foie de volaille (5)] par (**Ben Ali, 2007**), les résultats ont montré que tous les échantillons sont négatifs, ce qui veut dire 0% de résidus d'antibiotiques.

Un certain nombre de raisons peuvent nous permettre d'expliquer les résultats négatifs :

- La bonne gestion des élevages de poulets de chair garantit un statut sanitaire de haut niveau et par conséquent une moindre utilisation des substances à activité antibiotique.
- Contrairement aux certains éleveurs, d'autres, qui sont bien formés, utilisent les antibiotiques de façon prudente et rationnelle.
- Depuis la fin de 2005, les pays de l'Union Européenne ont obligé la restriction et par fois l'interdiction même de l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation animale.
- L'instauration et l'application de la réglementation, de contrôles, de plans de surveillance et de sanction rigoureuse.
- La prise de conscience des différents acteurs de la production animale (éleveur, producteurs d'aliments de bétail et vétérinaire), des dangers de la présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale et ce par le biais d'importantes campagnes de sensibilisation.
- En Algérie, une étude, qui est portée sur la détection des résidus d'antibiotiques dans des échantillons de foies de poulet réalisée par **(Boughanem & Kebir, 2017)**, a révélé que tous les échantillons sont positifs, le taux de décontamination globale est de 100%.

Ces résultats positifs voudraient donc dire que la présence des résidus d'antibiotique dans les denrées alimentaires d'origine animale est un problème bien réel et probablement généralisé dans notre pays, causé essentiellement par l'utilisation anarchique des antimicrobiens, le non-respect des protocoles thérapeutiques lors d'une antibiothérapie (le plus souvent appliqué par l'éleveur lui-même)

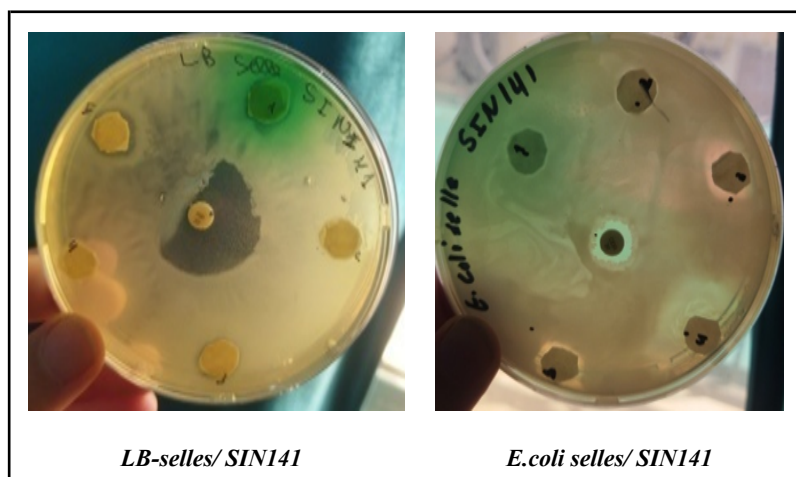
5. Activité antibactérienne des additifs alimentaires

Selon le Tableau 23 et la Figure 21:

- Le colorant E102 n'a aucun effet sur *Lactobacillus* (-) ≥ 9 mm, alors que les effets inhibiteurs élevés (++++) (≥ 20) des colorants alimentaires SIN141 et E131 ont été enregistrés
- Aucun effet inhibiteur (-) ≥ 9 mm n'a été constaté pour les trois colorants E102, E131, SIN141 chez *E. coli* après le même traitement avec les mêmes concentrations des trois colorants.
- Il est important de noter que les concentrations de colorants utilisées
- N'ont pas le même effet contre les différentes espèces bactériennes, il faut donc Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'additifs alimentaires.

Tableau 23 : Diamètre des zones d'inhibition des trois additifs alimentaires (mm).

Colorant	SIN141	E102	E131
E. coli selle	8	7	9
LB selle	23	7	25



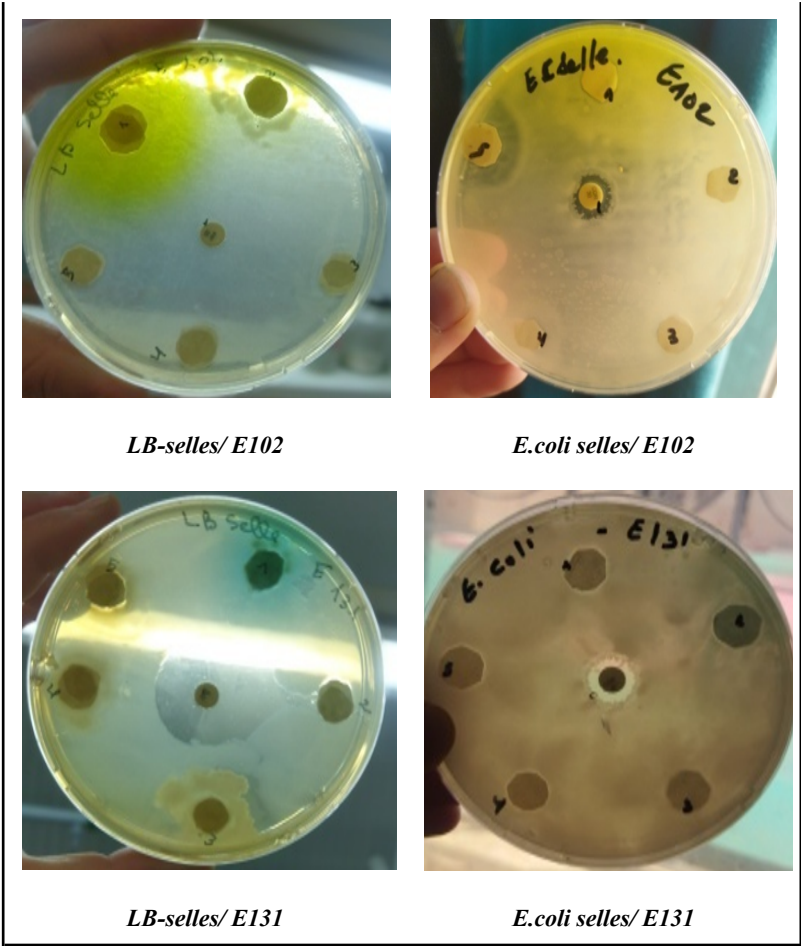


Figure 21 : Activité antibactérienne des additifs alimentaires.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'impact des contaminants chimiques agroalimentaires sur le microbiote intestinal humain est un sujet préoccupant et complexe. Les recherches suggèrent que certaines de ces substances peuvent perturber l'équilibre délicat du microbiote, pouvant conduire à des conséquences néfastes pour la santé. Ces perturbations pourraient potentiellement altérer la digestion, l'absorption des nutriments et même jouer un rôle dans le développement de certaines maladies métaboliques et inflammatoires.

Cependant, il est important de noter que les interactions entre les contaminants chimiques, le microbiote et la santé humaine sont encore en cours d'étude, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre pleinement les mécanismes sous-jacents et les effets à long terme.

Notre objectif principal est d'analyser l'effet de certains contaminants sur les souches bactériennes de la flore intestinale humaine.

Notre travail a montré que :

- L'exposition aux pesticides a provoqué des maladies intestinales telles que le gonflement (44%) et les douleurs abdominales (38%), c'est le cas des agriculteurs.
- L'exposition aux pesticides augmente le risque de surpoids (44%) et de dysbiose intestinale.
- La diminution de la densité de la population bactérienne, le manque des lactobacilles et augmentation des bactéries gram négatives sont des indicateurs du déséquilibre de la microbiote intestinal.
- Les pesticides à faible dose agissent négativement sur la croissance de la flore intestinale.
- L'eau très chlorée (comme l'eau de robinet) et les additifs alimentaires (comme les colorants), inhibent considérablement les lactobacilles qui sont des bactéries bénéfiques de la flore intestinale

Les résultats ont révélé des associations entre certains contaminants et des altérations du microbiote, il est donc important de maintenir une alimentation saine et de réduire l'exposition aux contaminants chimiques lorsque cela est possible pour préserver la santé de la flore intestinale et par conséquent notre bien-être général.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Akash, M. S. H., Fiayyaz, F., Rehman, K., Sabir, S., & Rasool, M. H. (2019). Gut microbiota and metabolic disorders : Advances in therapeutic interventions. *Critical ReviewsTM in Immunology*, 39(4).

Alamedji, R. B., Cardinale, É., Biagui, C., & Akakpo, A. J. (2004). Recherche de résidus de substances à activité antibactérienne dans la chair de poulet consommée dans la région de Dakar (Sénégal). *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 157(2), 67-70.

Anses. (2011). *Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2) Tome 2*.

APAB, (Association des Producteurs Algériens de Boisson). (2011). *Guide des bonnes pratiques d'hygiène, industries algérienne des jus de fruit, nectars et produit dérivés*.

- Belaid, H. A.-R. (2021). *Nouvelles approches de la translocation bactérienne digestive dans l'insuffisance rénale chronique terminale : Focus sur les lipopolysaccharides circulants, l'inflammation et le microbiote intestinal* [Phdthesis, Université Bourgogne Franche-Comté]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03667168>
- Ben Ali, A. (2007). *Detection of residues antibiotics in food using a microbiological method; Detection de residus d'antibiotiques dans les aliments par une methode microbiologique.*
- Boughanem, S., & Kebir, L. (2017). *Recherche des résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet commercialisée à l'unité d'abattage avicole de Taboukirt (Tizi-Ouzou)* [PhD Thesis]. Université Mouloud Mammeri.
- Canada, S. (2008, janvier 31). *Contaminants chimiques* [Déclarations;documents d'information]. <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/aliments-nutrition/salubrite-aliments/contaminants-chimiques.html>
- Cani, P. D., Moens de Hase, E., & Van Hul, M. (2021). Gut microbiota and host metabolism : From proof of concept to therapeutic intervention. *Microorganisms*, 9(6), 1302.
- Chassaing, B., Koren, O., Goodrich, J. K., Poole, A. C., Srinivasan, S., Ley, R. E., & Gewirtz, A. T. (2015). Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*, 519(7541), Article 7541. <https://doi.org/10.1038/nature14232>
- Cietap. (2003). *Guides produits phytosanitaires, réglementation et bonnes pratiques. Phytoma-la défense des végétaux*. 560, 13-42.
- Clarke, G., Sandhu, K., Griffin, B., Dinan, T., Cryan, J., & Hyland, N. (2019). Gut Reactions : Breaking Down Xenobiotic-Microbiome Interactions. *Pharmacological Reviews*, 71, 198-224. <https://doi.org/10.1124/pr.118.015768>
- Code, S. P. (2023). *Promotes healthy gut flora in adults following antibiotic intake.* <https://www.pensersante.fr/un-microbiote-sensible-et-fragile>
- Comités de Protection des Personnes. (2002). *Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires.*
- Comtet-Marre, S., Mosoni, P., & Peyret, P. (2020). Effets des polluants environnementaux et alimentaires sur le microbiote intestinal. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 55(5), 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2020.07.004>
- Corblin, M. (2020). *L'implication du microbiote intestinal dans l'apparition des troubles dépressifs* [PhD Thesis].
- Dar, H., Shivani, C., Srivastava, K., Azam, Z., Anupam, R., Mondal, R., Tomar, G., Singh, A., Mishra, P., & Srivastava, R. (2017). Immunomodulatory Effects of Food Additives. *International Journal of Immunotherapy and Cancer Research*, 3, 19-31. <https://doi.org/10.17352/2455-8591.000015>
- De Luca, F., & Shoenfeld, Y. (2019). The microbiome in autoimmune diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, 195(1), 74-85. <https://doi.org/10.1111/cei.13158>
- Djeffal, A. (2014). *Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate «méthomyl» chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C* [PhD Thesis]. Université de Annaba-Badji Mokhtar.
- Fernandez, B. (2014). *Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes* [PhD Thesis]. Université Laval.
- Gaiani, C. (2009). *Les additifs alimentaires : Le meilleur et le pire.*

- Gaudy, C., Buxeraud, J., & Mereghetti, L. (2005). Antibiotiques : Pharmacologie et thérapeutique. *Collection pharma*.
- Gérard, C., & Vidal, H. (2019). Impact of gut microbiota on host glycemic control. *Frontiers in endocrinology*, 10, 29.
- Giambò, F., Teodoro, M., Costa, C., & Fenga, C. (2021). Toxicology and microbiota : How do pesticides influence gut microbiota? A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5510.
- González-Barbosa, E., Mejía-García, A., Bautista, E., Gonzalez, F. J., Segovia, J., & Elizondo, G. (2017). TCDD induces UbqH7 expression and synphilin-1 protein degradation in the mouse ventral midbrain. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(10), e21947.
- Hooks, K. B., & O'Malley, M. A. (2017). Dysbiosis and Its Discontents. *mBio*, 8(5), e01492-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.01492-17>
- Islam, M. R., Arthur, S., Haynes, J., Butts, M. R., Nepal, N., & Sundaram, U. (2022). The Role of Gut Microbiota and Metabolites in Obesity-Associated Chronic Gastrointestinal Disorders. *Nutrients*, 14(3), 624. <https://doi.org/10.3390/nu14030624>
- Jeon, M., Kim, J., Paeng, K.-J., Park, S.-W., & Paeng, I. R. (2008). Biotin–avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk. *Microchemical Journal*, 88(1), 26-31.
- Journal Officiel de la République Algérienne N° 30. (2012). *Décret exécutif nA 12-214 du 23 Joumada Ethania 1433 correspondant ... D'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires*. <https://www.joradp.dz/FTP/jo-francais/2012/F2012030.pdf>
- Kesavelu, D., & Jog, P. (2023). Current understanding of antibiotic-associated dysbiosis and approaches for its management. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 10, 20499361231154443.
- Kong, A., zhang, C., Cao, Y., Cao, Q., Liu, F., Yang, Y., Tong, Z., Rehman, M. U., Wang, X., & Huang, S. (2020). The fungicide thiram perturbs gut microbiota community and causes lipid metabolism disorder in chickens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111400. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111400>
- Laudisi, F., Stolfi, C., & Monteleone, G. (2019). Impact of Food Additives on Gut Homeostasis. *Nutrients*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/nu11102334>
- Layada, S. (2016). *Mise en évidence des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale «cas du lait de vache»* [PhD Thesis].
- Lesa, R. (2019). Personal experience of using a case study for a doctorate. *Kaitiaki Nursing Research*, 10(1), 68-70.
- Luu, H. T. (2018). *Microbiote intestinale, cancer du sein et métabolisme lipidique* [Thèse de doctorat, Université de Nantes]. <http://www.theses.fr/2018NANT1007/document>
- Lv, Y., Qin, X., Jia, H., Chen, S., Sun, W., & Wang, X. (2019). The association between gut microbiota composition and BMI in Chinese male college students, as analysed by next-generation sequencing. *The British Journal of Nutrition*, 122(9), 986-995. <https://doi.org/10.1017/S0007114519001909>
- Mairif, S. (2014). *Contribution à l'étude de l'effet toxique des pesticides à usage domestique utilisé en Algérie* [PhD Thesis].

- Marteau, P., & Shanahan, F. (2003). Basic aspects and pharmacology of probiotics: An overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 725-740. [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00055-6](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00055-6)
- Mavis. (2003). *Medecine Act Veterinary Information Service, Bulletin d'information du Veterinary Medicines Directorate*. www.vmd.Gov.uk
- Mebdoua, S. (2017). *Recherche des résidus de pesticides dans quelques cultures stratégiques en Algérie* [PhD Thesis].
- Mebdoua, S., Lazali, M., Ounane, S. M., Tellah, S., Nabi, F., & Ounane, G. (2017). Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Algeria. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 10(2), 91-98.
- Meunier, C. (2011). Les boissons rafraîchissantes sans alcool: Définition, composition et place dans les apports nutritionnels. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 46(1), H5-H12.
- Motta, E. V. S., Mak, M., De Jong, T. K., Powell, J. E., O'Donnell, A., Suhr, K. J., Riddington, I. M., & Moran, N. A. (2020). Oral or Topical Exposure to Glyphosate in Herbicide Formulation Impacts the Gut Microbiota and Survival Rates of Honey Bees. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(18), e01150-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01150-20>
- Nicolas, S. (2016). *Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle* [Phdthesis, Université Paul Sabatier - Toulouse III]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01589668>
- Pu, Y., Yang, J., Chang, L., Qu, Y., Wang, S., Zhang, K., Xiong, Z., Zhang, J., Tan, Y., Wang, X., Fujita, Y., Ishima, T., Wan, D., Hwang, S. H., Hammock, B. D., & Hashimoto, K. (2020). Maternal glyphosate exposure causes autism-like behaviors in offspring through increased expression of soluble epoxide hydrolase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(21), 11753-11759. <https://doi.org/10.1073/pnas.1922287117>
- Ruiz, P. A., Morón, B., Becker, H. M., Lang, S., Atrott, K., Spalinger, M. R., Scharl, M., Wojtal, K. A., Fischbeck-Terhalle, A., Frey-Wagner, I., Hausmann, M., Kraemer, T., & Rogler, G. (2017). Titanium dioxide nanoparticles exacerbate DSS-induced colitis: Role of the NLRP3 inflammasome. *Gut*, 66(7), 1216-1224. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310297>
- Scanlan, F. P. (2007). Potential contaminants in the food chain: Identification, prevention and issue management. *Nestle Nutrition Workshop Series. Paediatric Programme*, 60, 65-78. <https://doi.org/10.1159/000106361>
- Selman-Waksman, A. (2010). La chimiothérapie antimicrobienne dans la microbiologie. *Ed*, 3, P838-839.
- Shahare, B., Yashpal, M., & Gajendra. (2013). Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(3), 161-167. <https://doi.org/10.3109/15376516.2013.764950>
- Simone, C. (2021). *Les politiques stagnent, mais les bactéries n'attendent pas*. Revue étudiante géographique. <https://geoweb.lemig.umontreal.ca/geolibre/index.php/2021/02/18>
- SISQA. (2003). *Alimentation et santé*. Salon International de la Qualité Alimentaire.
- Stojanov, S., Berlec, A., & Štrukelj, B. (2020). The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
- Talbert, M., Willoquet, G., & Gervais, R. (2009). *Le guide pharmaco clinique*. Wolters Kluwer France.

- Tron, I., Piquet, O., & Cohuet, S. (2001). Effets chroniques des pesticides sur la santé : État actuel des connaissances. Rennes, *Observatoire Régional de la Santé Bretagne*. 88p.
- Vollaard, E. J., & Clasener, H. A. (1994). Colonization resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38(3), 409-414.
- 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, J., Wang, D., Meng, Z., Yan, S., Teng, M., Jia, M., Li, R., Tian, S., Weiss, C., Zhou, Z., & Zhu, W. (2021). Effects of incremental endosulfan sulfate exposure and high fat diet on lipid metabolism, glucose homeostasis and gut microbiota in mice. *Environmental Pollution*, 268, 115697. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115697>
- Yang, G., Yuan, X., Jin, C., Wang, D., Wang, Y., Miao, W., & Jin, Y. (2020). Imidacloprid disturbed the gut barrier function and interfered with bile acids metabolism in mice. *Environmental Pollution*, 266, 115290. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115290>

Annexes

Annexe a : Autorisation de stage

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 جامعة أكلي محمد أولحاج
 - البويرة -

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

الرقم: /.../ب.ك.ع.ط.ح.ا/ 2023

اتفاقية تربص

بين

كلية علوم الطبيعة و الحياة وعلوم الأرض، جامعة أكلي محمد أولحاج - البويرة

ممثلة من طرف السيد: عميد كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض

ومؤسسة الإدارة المستقبلية: المؤسسة العمومية للتربية الجزائرية بالبويرة

ممثلة من طرف السيد:

يتم الاتفاق على مايلي

المادة الأولى: تخضع هذه الاتفاقية لأحكام المادة 06 من المرسوم التنفيذي رقم 306-13 المؤرخ في 24 شوال الموافق ل 31 غشت 2013 والمتضمن تنظيم التربصات الميدانية في الوسط المهني لفائدة الطلبة.

وأحكام القرار رقم 19 المؤرخ في 21 جانفي 2015 والمتعلق بطبيعة التربصات الميدانية في الوسط المهني لفائدة الطلبة وتقييمها ومراقبتها.

المادة 02: موضوع الاتفاقية

تهدف هذه الاتفاقية إلى تحديد إطار تنظيم وسير التربصات الميدانية في الوسط المهني لفائدة طلبة

قسم
 كلية علوم الطبيعة والحياة و علوم الأرض الآتية أسماؤهم:

1. **بن حسي نور الدين**
 2. **أ. بنت قاسم**
 3.
 4.

يخص التربص الطلبة المسجلين لنيل شهادة الماستر في

المادة 03: أهداف التربص

يهدف التربص التكويني إلى السماح للطلالب بتطبيق معارفه النظرية والمنهجية التي تحصل عليها خلال تربصه وانجاز مشروع نهاية الدراسة بتحضير مذكرة.

Annexe b : Questionnaire destiné aux agriculteurs sur l'utilisation des pesticides

Questionnaire destiné aux agriculteurs sur l'utilisation des pesticides

Date de l'enquête : 04 2023 Code :

Sortie N°..... Lieu de l'enquête :

Identification de l'enquêté

1. Sexe : Homme ⁽¹⁾ Femme ⁽²⁾
2. Quel est votre âge ? ans
3. Situation matrimoniale : Marié(e) ⁽¹⁾ Célibataire ⁽²⁾ Veuf (ve) ⁽³⁾ Divorcé(e) ⁽⁴⁾
4. Niveau d'instruction : Aucun ⁽¹⁾ Primaire ⁽²⁾ Moyen ⁽³⁾ Secondaire ⁽⁴⁾ Plus ⁽⁵⁾
5. Depuis quand exercez-vous le métier d'agriculture ? ans
6. Votre poids corporel :Kg Votre taille : 1,.... cm
7. Souffrez-vous d'une maladie chronique ? Oui ⁽¹⁾ Non ⁽²⁾ Si oui, quelle est cette maladie ?

Acquisition et conditions d'utilisation du pesticide

8. Quels types de cultures pratiquez-vous ? Culture Maraîchère⁽¹⁾ Arboriculture⁽²⁾ Agrume⁽³⁾ Vigne⁽⁴⁾
 Céréales⁽⁴⁾
9. Citez la liste de vos variétés de cultures
10. Mode de conduite : Plein champ⁽¹⁾ Sous-serre⁽²⁾ Plein champ/sous-serre⁽³⁾
11. Depuis quand utilisez-vous les pesticides ?/...../.....
12. Superficie réelle traitée par pesticides :
13. Lisez-vous les étiquettes avant d'utiliser le pesticide ? Oui ⁽¹⁾ Non ⁽²⁾
14. Avez-vous reçu une formation sur la bonne utilisation des pesticides ? Oui ⁽¹⁾ Non ⁽²⁾
15. Qui choisit les produits ? Moi-même⁽¹⁾ Prestataire⁽²⁾ membre du ménage⁽³⁾ Un ami ⁽⁴⁾ Autre⁽⁵⁾.....
16. Quelle est la nature des pesticides les plus utilisés ? Insecticides⁽¹⁾ Fongicides⁽²⁾ Herbicides⁽³⁾
 Acaricides⁽⁴⁾ Autres⁽⁵⁾
17. Quels types de formulations de pesticides sont les plus utilisées ? Solide⁽¹⁾ Liquide⁽²⁾ Gazeux ⁽³⁾
18. Si vous vous souvenez des noms des substances actives ou des produits commerciaux, merci de les renseigner (remplir le tableau) :

Nom du produit	Nature	Culture traitée	Superficies traitées	Doses (Kg ou L /Ha)
.....
.....
.....
.....

19. Qui fait le mélange des produits ? Moi-même⁽¹⁾ Prestataire⁽²⁾ Membre du ménage⁽³⁾ Un ami⁽⁴⁾
 Service technique⁽⁵⁾ Autre⁽⁶⁾
20. Comment faites-vous le mélange (la bouillie) ? Contact direct ⁽¹⁾ Utilisation d'appareils⁽²⁾

21. Qui fait le traitement ? Moi-même⁽¹⁾ Prestataire⁽²⁾ Membre du ménage⁽³⁾ Un ami⁽⁴⁾ Service technique⁽⁵⁾ Autre⁽⁶⁾
22. Quel est le type de pulvérisateur utilisé ? Manuel⁽¹⁾ Automatique⁽²⁾ Manuel/Automatique⁽³⁾
23. Période du traitement : Saison sèche⁽¹⁾ Saison pluvieuse⁽²⁾
24. Combien de traitement faites-vous par saison agricole ? Une fois⁽¹⁾ Deux fois⁽²⁾ Trois fois⁽³⁾ Plus⁽⁴⁾
25. Date du dernier traitement :/...../2023 Date de récolte :/...../2023
26. Respectez-vous les délais d'attente avant récolte ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾ Si non pourquoi ?

Réaction du producteur en contact avec le pesticide
--

27. Selon vous, les pesticides peuvent-ils avoir des effets sur la santé ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
28. Combien d'heures de la journée peut durer un traitement phytosanitaire ?h
29. Délai de retour au champ après un traitement ?jours oumois
30. Avez-vous des équipements de protection ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
31. Si oui, lesquels ? combinaison⁽¹⁾ gants⁽²⁾ bottes⁽³⁾ lunettes masques⁽⁴⁾ cache nez⁽⁵⁾
autre⁽⁶⁾
32. Si non, pourquoi ?
33. Destination de la bouillie de pesticides restante ?
Conserver⁽¹⁾ Déverser⁽²⁾ Enfouir⁽³⁾ Autre⁽⁴⁾
34. Que faites-vous des vêtements contaminés ? Brûler⁽¹⁾ Débarrasser⁽¹⁾ Nettoyer⁽¹⁾ Autre⁽¹⁾.....
35. Rincez-vous les appareils après traitements ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
36. Où rincez-vous les appareils ? A la maison⁽¹⁾ A côté d'un cours d'eau⁽²⁾ Dans la parcelle⁽³⁾ Près d'un canal⁽⁴⁾ Autre⁽⁵⁾.....
37. Pensez-vous une douche juste après traitements ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
38. Que ressentez-vous juste après traitements ? Maux de tête⁽¹⁾ Vertige⁽²⁾ Rhume⁽³⁾ Nausées⁽⁴⁾
Malaise⁽⁵⁾ Réactions cutanées⁽⁶⁾ Picotement des yeux⁽⁷⁾ Autres⁽⁸⁾.....
39. Selon vous, encourez-vous des risques en étant en contact avec les pesticides ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
40. Si oui, lesquels ?
41. Avez-vous déjà eu un contact direct avec les produits ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾ Si oui, que faites-vous d'habitudes ?
(Remplir le tableau)

Nom du produit	Signes ressentis	Votre réaction habituelle incriminé
.....
.....
.....

42. Avez-vous déjà eu un accident lié à l'utilisation des pesticides ? Oui⁽¹⁾ Non⁽²⁾
43. Si oui, donnez la nature de l'accident : Projection oculaire⁽¹⁾ Ingestion⁽²⁾ Inhalation⁽³⁾ Contact cutané⁽⁴⁾ Autre⁽²⁾

44. Etes-vous déjà été soigné pour un problème de santé dû à l'utilisation des pesticides ? Oui ⁽¹⁾ Non ⁽²⁾ Si oui lequel?.....

Gestion des emballages vides et des stocks

45. Que faites-vous des emballages vides ? Brûler⁽¹⁾ Enfouir dans le sol⁽²⁾ Stocker⁽³⁾ Jeter⁽⁴⁾
 Utilisation domestique⁽⁵⁾ Rendus⁽⁶⁾ Autres⁽⁷⁾

46. Où stockez-vous vos produits ? Magasin ⁽¹⁾ Maison⁽²⁾ champ⁽³⁾ Autre⁽⁵⁾

Déséquilibre de la flore intestinale

Les bactéries intestinales sont impliquées dans la maturation du système immunitaire et dans de nombreuses voies métaboliques de base telles que la fermentation des sucres et des protéines ainsi que le métabolisme des acides biliaires et des corps étrangers. Un déséquilibre des bactéries intestinales a des conséquences fonctionnelles importantes et provoque de nombreuses maladies du système digestif et d'autres maladies, notamment des maladies cardio-métaboliques.

Partie a

Cochez si vous êtes concerné(e) par les affirmations suivantes

- Je m'infecte facilement (sinusites, rhinopharyngites...)
- J'ai des difficultés à perdre du poids
- J'ai souvent des mycoses vaginales et/ou des infections urinaires
- J'ai des douleurs articulaires et/ou musculaires
- Je suis régulièrement sujet à des allergies (eczéma, rhume des foins, asthme...)
- J'ai des soucis cutanés (acné, psoriasis...)
- J'ai des migraines
- Je ressens des troubles de l'anxiété, déprime, sommeil...
- Je suis sujet à des gingivites, parodontites, j'ai mauvaise haleine...
- Je ne souffre d'aucun des problèmes de santé mentionnés ci-dessus.

















Partie b

Si vous avez coché au moins 1 des affirmations précédentes, faites cette partie

- Je présente des douleurs abdominales et j'ai souvent des gaz
- J'ai un transit irrégulier : constipations, diarrhées, ou alternance des deux
- J'ai souvent le ventre tout plat le matin et très gonflé le soir.
- Je présente une maladie digestive : maladie de Crohn, syndrome de l'intestin irritable...
- J'ai du mal à tolérer certains aliments (laitages, blé...)
- Je fais souvent des gastro-entérites
- Je ne souffre d'aucun des problèmes de santé mentionnés ci-dessus.

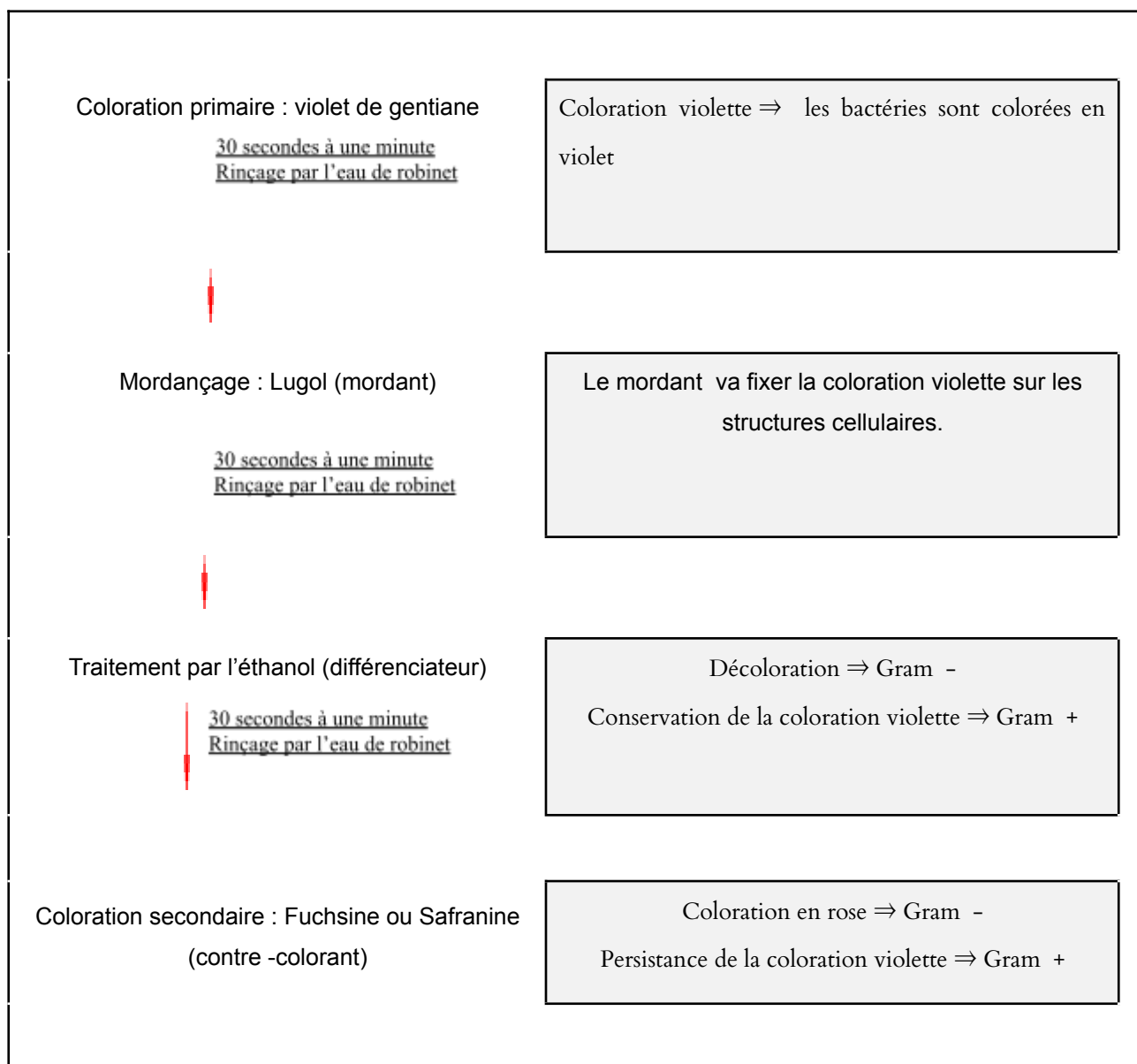
Merci pour votre participation

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 bille) : jaune ou blanche
Résidus alimentaire	(+) Fibres musculaires mal digérées graisses neutres cellulose digestible amidon 		
	Présence		Absence
Macroparasites			
Eléments 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
			Extraits de viande	10 g
			Extrait de levure	5 g
			Glucose	20 g
			Tween 80 (sorbitanne monoléate)	01 g
			Hydrogène-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 biliaries	1,5 g
			Glucose	10 g
			Rouge neutre	30 mg
			Cristal violet	2 mg
			Agar	12 g
			pH	7,4 ± 0,2
			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
TSI (<i>Triple Sugar Iron</i>)	24 h ± 2 h à 37°C		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

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 :
- Exemple :

Facteur de dilution	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	Calcul
Nombre des colonies UFC. mL ⁻¹	400	333	33	4	
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 :
- **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	
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

Annexe h : Fiche technique d'insecticide.

AKOFOS 48 EC

أكوفوس 48 س.م

AKOFOS 48 EC

Généralités :
AKOFOS 48 EC est un insecticide organophosphoré non systémique à large spectre d'action. Il agit par contact, ingestion et inhalation.
AKOFOS 48 EC est efficace contre de nombreux insectes ravageurs notamment ceux appartenant aux groupes des Lépidoptères et des Homoptères (cicadelles, cochenilles).

Mode d'action :
AKOFOS 48 EC est un inhibiteur d'acétylcholinestérase (AChE). L'inhibition de cette enzyme entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, conduisant généralement à la tétanie musculaire et à la mort. AKOFOS 48 EC appartient au groupe IRAC 1B.

Culture	Cible	Dose	DAR (jours)	Observations
Agrumes	Cochenilles	150 ml/ha	21	Toxique pour organismes aquatiques, les abeilles et moyennement toxique pour la faune aviaire

أكوفوس 48 س.م

معلومات عامة :
أكوفوس 48 س.م مبيد حشري فوسفوري عضوي غير جهازي ذو طيف واسع، وهو يلائم عن طريق التنفس، الإمتصاص و الإستنشاق.
أكوفوس 48 س.م يتأثر بتعددية شدة الحشرات من الحشرات بما في ذلك تلك التي تنتمي إلى مجموعتي قشريات الجناح و متشابهة الأجمة (قارص الأوراق، البق الخشبي).

طريقة التكاثر :
أكوفوس 48 س.م مبيد للأستوبيلكوأليستراز (AChE).
تتوسط هذا الأثر يلازم إلى تراكم الأوسيط الكومبني في نقطة التشابك العصبي، و يبقى بالتالي نلق مستمر للتبعضات العصبية، مما يؤدي عموماً إلى تكاثر العصبونات والموت.
أكوفوس 48 س.م ينتمي إلى مجموعة IRAC 1B.

الزراعة	الحشرة	الجرعة	الفترة قبل الجني	لتر على الماصق
الحوامض	البق الخشبي	150 مل ١ هـ	21	سام للكائنات المائية والحل وسمية المعتدلة لحيوانات الطيور

Insecticide organophosphoré à large spectre (480 g/l chlorpyrifos ; EC) مبيد حشري من فئة البيروثرينويد واسع مجال الفعالية (480 غ/لتر، كلوروبيريفوس، س.م)








Résumé

Les contaminants chimiques sont des substances étrangères à l'organisme qui peuvent entrer dans le corps par l'intermédiaire de l'alimentation, de l'eau, de l'air, ou d'autres voies. Certains contaminants peuvent perturber l'équilibre de la flore intestinale, provoquant des changements dans sa composition et son fonctionnement. Cela peut avoir des dangers sur la santé humaine. L'objectif de notre étude était d'analyser l'impact des contaminants chimiques présents dans les produits agroalimentaires sur le microbiote intestinal humain. Pour ce faire, nous avons utilisées une méthodologie comprenant la collecte d'échantillons de matière fécale humaine est faire une étude microbiologique classique sur les six échantillons de personnes exposées aux pesticides et d'autres non exposées, l'analyse des contaminants chimiques dans les aliments consommés en analysant les résidus de pesticides dans des échantillons de fruits et légumes et la détection des résidus d'antibiotiques dans quatre échantillons de foie de poulet. Nous avons aussi réalisé le test d'activité antimicrobienne de l'insecticide chlorpyrifos et de quelques additifs alimentaires. Nos résultats a signalé que l'exposition aux pesticides a entraîné des troubles intestinaux tels que des gonflements (44%) et des douleurs abdominales (38%) ; l'exposition aux pesticides augmente le risque d'obésité (44%) et de dysbiose ; la diminution de la densité de la population bactérienne, l'absence de bactéries lactiques et une augmentation des bactéries à Gram négatif sont des bio-indicateurs de dysbiose intestinale ; les pesticides, l'eau très chlorée et les additifs alimentaires inhibent largement les bactéries lactiques qui sont bactéries bénéfiques de la flore intestinale. En conclusion, la diminution d'exposition aux contaminants chimiques peut préserver l'équilibre de la flore intestinale et par conséquent notre bien-être général.

Mots clés : Intestin, contaminant chimique alimentaire, dysbiose.