

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Toxicologie et Sécurité sanitaire des aliments "

Présenté et soutenu publiquement par

- MESSABIH Wafaa
- MANSOURI Denia

Etude de l'effet prébiotique des fibres
alimentaires vis-à-vis de

Lactococcus lactis

Soutenu en juillet 2017

Devant le jury:

- Présidente: Mme KHADEM H
- Promotrice: M^{me} BOUDALI S
- Co-promotrice: M^{lle} BOUBAKEUR B
- Examineur: M^{lle} MILIANI A

Année universitaire: 2016–2017

Remerciements

Au terme de ce travail nous remercions :

Mlle **BOUBKER BADRA**, Responsable de la Master Toxicologie et Sécurité Sanitaire des Aliments pour sa disponibilité, ses conseils et sa patience, ses remarques précieuses, qu'elle trouve ici l'expression de nos profond respect.

Madame **BOUDALI SOUAD**, Maitre assistante à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie de Tiaret pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils. Quoique nous disons, les mots ne sauraient exprimer nos profonde gratitude.

Madame **KHAIRA**, Ingénieure du Laboratoire de Microbiologie, pour ses encouragements.

Madame **KHADEM H**, Maitre assistante à l'Université de Tiaret qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury, nous l'en remercions profondément.

Mlle **MELIANI A**, Maitre assistante à l'Université de Tiaret pour sa disponibilité et sa gentillesse et pour avoir accepté de juger et examiner ce travail.

Remerciement

Liste des abréviations

La liste des tableaux

La liste de photos et figures

La liste d'annexes

Résumé

Introduction 2

Chapitre I : Matériels et méthode

1-Objectif	3
2-Lieu et durée de travail.....	3
3-Matériels et Méthodes.....	3
3-1-Matériels utilisés	3
3-1-1- Souches étudiées	3
3-1-2- Substrat végétale	3
3-1-3- Matériels de laboratoire	3
3-2-Méthodes.....	4
3-2-1- Protocole expérimental.....	4
3-2-2- Testes réalisés	5
3-2-2-1- Préparation des milieux de cultures	5
3-2-2-2-Préparation de poudre de son de blé	5
3-2-2-3- Repiquage des souches.....	5
3-2-2-4-Préparation du l'inoculum	5
3-2-2-5-Test de l'effet prébiotique de son de blé	6

Chapitre II : Résultat et discussion

• Purification des souches.....	7
1-1- Purification de <i>Lactococcus lactis</i>	7
1-1-1 Critères morphologiques	7
1-1-2 Examen microscopique.....	7
1-2- Purification <i>Staphylococcus aureus</i>	8
1-2-1 Examen macroscopique.....	8
1-2-2 Examen microscopique.....	9
2-Résultat de l'effet prébiotique de son de blé sur la souche <i>L.lactis</i>	9
2-1 Développement sur milieu M ₁₇ sans son de blé	9
2-2 Développement de <i>L.lactis</i> sur un milieu reconstitué son de blé.....	10
2-3 Discussion de résultat de <i>L.lactis</i>	11
3-Résultat de l'effet prébiotique des fibres sur <i>S.aureus</i>	12
3-1 Développement Sur milieu MH sans son de blé.....	12
3-2 Développement sur milieu MH enrichie par son de blé	12
3-3 Discussion	14
Conclusion.....	15
Annexe	16
Référence bibliographie.....	22

Tableau 01: Matériels et produits.....	3
Tableau 02 : Sources de fibres (solubles et in soluble) dans les légumes et autres aliments.....	17
Tableau 03: Composition du milieu M17 agar.....	19
Tableau 04 : Composition de Muller Hinton.....	20

Photos

Photo 01 : Caractéristique de *L.lactis*7

Photo 02 : Observation microscopique après coloration de Gram de *L.lactis*.....8

Photo 03 : Caractéristique de *S.aureus*.....8

Photo 04 : Observation microscopique après Coloration de Gram de *S.aureus*.....9

Photo 05 : Développement de *L.lactis* sur une gélose témoin.....9

Photo 06 : Développement de *L.lactis* sur un milieu gélosé à 0.5% de son de blé.....10

Photo 07: Développement de *L.lactis* sur milieu gélosé à 1% de son de blé.....10

Photo 08 : Développement de *L.lactis* sur milieu gélosé à 1.5% son de blé.....11

Photo 09 : Développement de *S.aureus* sur milieu ordinaire.....12

Photo 10 : Développement de *S.aureus* sur le milieu gélosé à 0.5 % de son de blé..... 13

Photo 11 : Développement de *S.aureus* sur le milieu gélosé à 1% de son de blé..... 13

Photo 12 : Développement de *S.aureus* sur le milieu gélosé à 1.5% de son de blé..... 14

Figures

Figure 01 : Organigramme expliquant les étapes du protocole expérimental.....4

Figure 02: Répartition de microbiote dans le tractus gastro-intestinal.....18

ANNEXE 01 : Glossaire

- Probiotique 16
- Prébiotique 16
- Sources de fibres (solubles et in soluble) dans les légumes et autres aliments (Tableau 02) 17
- Microbiote intestinal 18
- Répartition de microbiote dans le tractus gastro-intestinal (figure 02) 18

ANNEXE 02 : Préparation des milieux de cultures.

- Préparation des milieux de cultures.....19
- Composition du milieu M17 agar (Tableau03).....19

ANNEXE 03 : Technique d'identifications

- 1- Coloration de Gram21

Les fibres alimentaires sont des substances riches en inuline, pectine et oligosaccharide, sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire. Cette richesse des fibres pourrait être exploitée en biotechnologie comme un candidat potentiel comme prébiotique. L'objectif de ce travail était l'évaluation de l'effet des fibres alimentaires (son de blé) sur le développement de *L.lactis* et *S.aureus*. Cette évaluation faite à différentes concentrations du son de blé dans des milieux de culture spécifiques pour *L.lactis* M₁₇; un milieu ordinaire en avec lactose utilisé comme témoin et un milieu modifié sans lactose reconstitué avec 3 concentrations de son de blé (0.5% -1%-1.5%); pour *s.aureus* un milieu MH avec son de blé à concentrations différents (0.5%-1%-1.5%).

Les résultats montrent que le développement de *L.lactis*; *S.aureus*, appréciée après 24 h puis 48h d'incubation (44°C pour *L.lactis*, 37°C pour *S.aureus*) en absence et en présence de son de blé.

L'étude indique que le son de blé affecte la prolifération de *L. lactis* et *S.aureus*.

Mots-Clés : Fibres alimentaires. Prébiotique. Son de blé. Développement.

تعتبر الألياف الغذائية مواد غنية بالانيلين, بيكتين و قليل السكريد , و تستخدم غالبا في مصانع الأغذية الزراعية. التكوين الغني للألياف يسمح بإستغلالها في مجال التكنولوجيا الحيه كمرشح طاقي يتمثل في بريبيوتيك.

الغرض من هذا العمل هو تقييم تأثير الألياف الغذائية (نخالة القمح) على نمو البكتيريا *S.aureus* و *L.lactis*. لهذا التقييم يتم استعمال تركيزات مختلفة من نخالة القمح في اوساط خاصة M_{17} لأجل *L.lactis*; ووسط عادي يحتوي على اللاكتوز و يستعمل كشاهد و وسط تم تعديله بالاستغناء عن اللاكتوز و استبداله بنخالة القمح بثلاثة تراكيز مختلفة (0.5% - 1% - 1.5%) ; و من اجل *S.aureus* وسط MH باستخدام 3 تراكيز مختلفة من نخالة القمح.

النتائج تظهر نمو لكل من *L.lactis* و *S.aureus* تم تقديره بعد 24 ساعة ثم 48 ساعة في الحاضنة

($37^{\circ}C$ ل *S.aureus*) في وجود و غياب نخالة القمح.

الدراسة تبين ان نخالة القمح لها القدرة على تحفيز تكاثر كل من *S.aureus* و *L.lactis*.

الكلمات المفتاحية: ألياف غذائية. بريبيوتيك. نخالة القمح. نمو.

Introduction

Le tractus gastro-intestinal humain est hébergé par 100 000 milliards de bactéries qui constituent le microbiote intestinal. Bien que la quantité de bactéries dans l'intestin humain soit dix fois supérieure au nombre de cellules du corps, des mécanismes finement régulés permettent à ces microorganismes de coloniser les surfaces et de survivre en symbiose avec leur hôte. Ce phénomène de tolérance est facilité par la séparation physique entre bactéries et cellules hôtes, notamment par l'intermédiaire de la couche de mucus(1).

Le microbiote intestinal humain peut être considéré comme un organe à part entière ayant coévolué avec les humains pour parvenir à une relation symbiotique menant à l'homéostasie physiologique. L'hôte fournit un environnement riche en nutriments tandis que les bactéries occupent des fonctions indispensables que les humains ne peuvent exercer eux-mêmes, telles que la production de certaines vitamines, la digestion de polysaccharides complexes et la mise en place d'un système immunitaire efficace. Grâce à la production d'acides gras à chaîne courte, majoritairement acétate, propionate et butyrate, les bactéries influencent positivement la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales intestinales, et affectent ainsi la production de divers médiateurs métaboliques (2).

Des modifications de la composition bactérienne du microbiote intestinal (dysbiose) ont été associées à des dysfonctionnements de l'appareil digestif à cause de changement brutale de l'environnement, l'antibiothérapie, le stres...(3).

La notion d'une vie symbiotique entre prébiotique et probiotique est développée pour agir au profit du microbiote intestinal, dont le but est de prévenir les dysbioses et rétablir ainsi l'équilibre intestinal et la santé de l'organisme(4).

Elie Metchnikoff a affirmé que les bactéries lactiques offraient des bénéfices pour la santé conduisant à une plus grande longévité, c'est le précurseur de l'utilisation de bactérie lactique dans le but de restaurer la microflore intestinale via la consommation de laits fermentés(5). Ces bactéries bénéfiques sont appelés aujourd'hui, "les probiotiques". Selon le rapport de la FAO et l'OMS en 2001 ces microorganismes, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exerceraient un effet bénéfique sur la santé de l'hôte(6). À l'heure actuelle les affirmations sur le bénéfice apporté par les probiotiques sont variées ; ces microorganismes sont capables de contribuer positivement à l'activité de la microflore intestinale et par conséquent,

à la santé du consommateur. En réalité, les probiotiques doivent être capables de survivre dans le tractus digestif. La maintenance de cette viabilité au niveau intestinal fait appel à des substances de nature polysaccharidiques qui sont considérées eux même comme additifs alimentaires et qui sont agréées sous le nom prébiotiques (7). Ces derniers qui sont surtout des fibres alimentaires ; des polysaccharides tels que l'amidon, l'inuline, les pectines, les gommes, et des oligosaccharides non digestibles, sont essentiellement utilisés dans les industries alimentaires (8). Ils contribuent à la digestion et stimulent le système immunitaire par la croissance des bactéries bénéfiques tel que *Lactococcus lactis* ce micro-organisme se regroupent habituellement en paires ou en courtes chaînes et sont communément isolées dans les produits végétaux, céréales.....etc. ; le lait cru de ruminant sont des milieux naturellement riches en lactocoques(9).

Dans ce contexte cette présente étude a pour but ou objectif d'évaluer l'effet prébiotique de fibre alimentaire sur le développement de *Lactococcus lactis* et *Staphylococcus aureus*.

CHAPITRE I :

Matériels et méthodes

1-Objectif

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'effet prébiotique des fibres alimentaires vis-à-vis de *Lactococcus lactis* et *Staphylococcus aureus*.

2-Lieu et durée de travail

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie « Université Ibn Khaldoun » Tiaret.

La durée de travail est prolongée de 07 février au 28 Mai 2017.

3-Matériel et Méthodes

3-1-Matériel utilisés

3-1-1- Souches étudiées

Bactérie bénéfique : *Lactococcus lactis*

Bactérie pathogène : *Staphylococcus aureus*

3-1-2-Substrat végétale : le son de blé.

3-1-3- Matériel de laboratoire

L'ensemble de matériel et produits utilisé au cours de notre travail est organisés sur le tableau suivant :

Matériel de routine	Milieux de culture	Réactifs et autre	Appareillage
Béchers Eprouvettes Pipettes pasteur Micropipette Flacons Boîtes de pétri Cuves Tubes à essai Pissette Lame et Lamelles	Bouillon et gélose M17 (avec et sans lactose) Bouillon nutritif Gélose Muller Hinton (avec et sans son de blé)	Violet de gentiane Fuschine Lugol Alcool L'eau distillée	Autoclave Agitateur magnétique chauffant Spectrophotomètre Balance pH mètre Microscope optique Etuve Broyeur électrique Tamiseur Thermomètre Bec bunsen

Tableau 01 : Matériels et produits.

3-2-Méthodes

3-2-1- protocole expérimental : les étapes de notre travail sont résumées dans l'organigramme suivant :

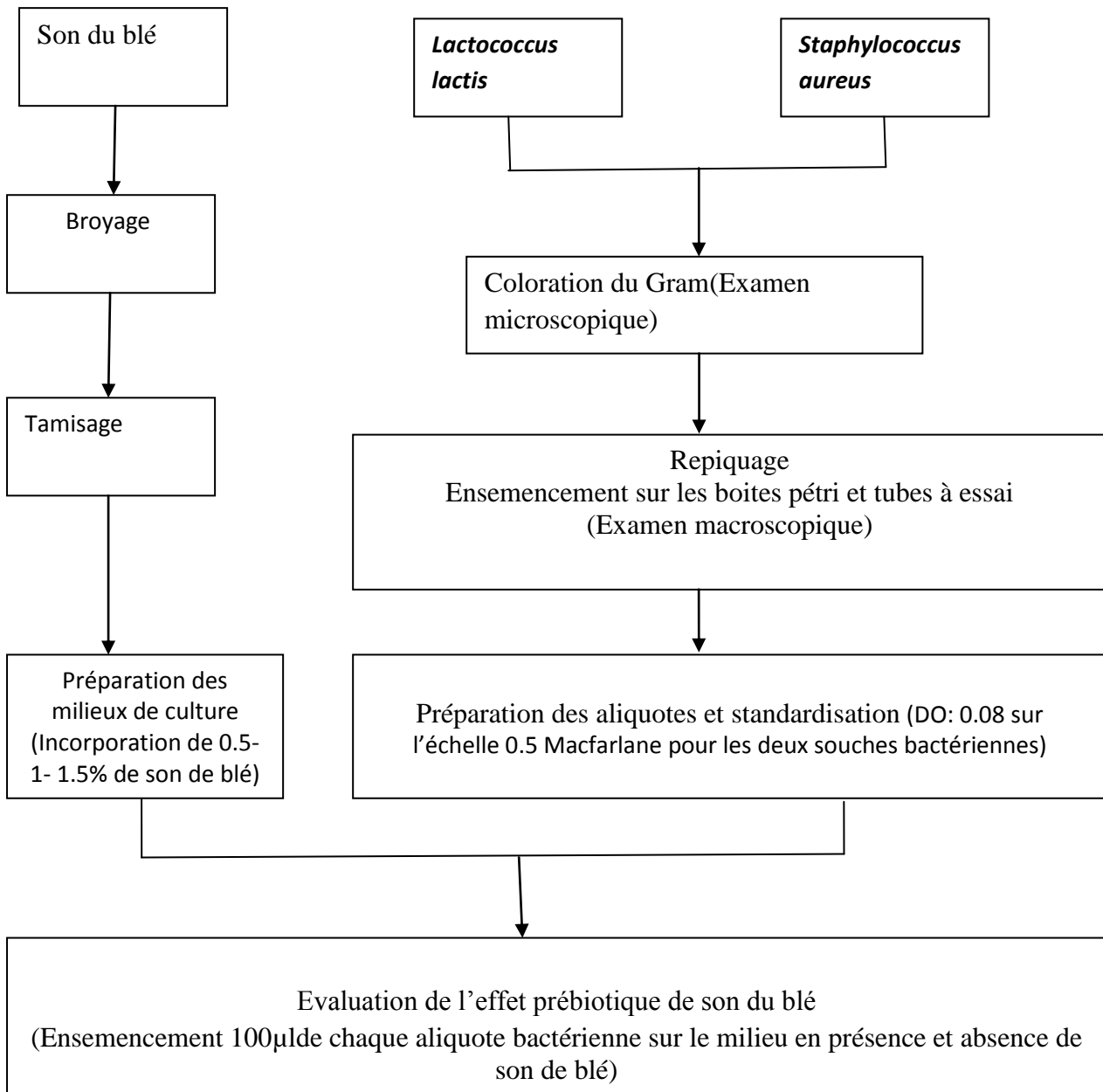


Figure 01 : Etapes du protocole expérimental.

3-2-2- Testes réalisés :

3-2-2-1- Préparation des milieux de cultures :

Pour suivre la croissance de les deux souches : *Lactococcus lactis* et *Staphylococcus aureus* en milieux de culture sélectifs, nous avons préparé des différents types des milieux :

1 - Milieux sélectifs de *Lactococcus lactis*

- Le bouillon M17
- la préparation de la gélose M17 ordinaire avec lactose, et un milieu modifier sans lactose avec concentration différent de son de blé (0.5g, 1g, 15g).

2- Milieux sélectifs de *Staphylococcus aureus*

- Préparation du bouillon nutritive.
- la préparation gélose Mueller Hinton ordinaire avec lactose, et un milieu modifier sans lactose avec concentration différent de son de blé (0.5g, 1g, 15g) (4).

3-2-2-2- Préparation de poudre de son de blé

- broyage

Le son du blé a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique.

- tamisage

Par un tamis de 250µm du diamètre pour obtenir la poudre de son de blé.

3-2-2-3- Repiquage des souches

Le repiquage se fait pour déterminer les caractéristiques morphologique (examen macroscopique) (8).

3-2-2-4- Préparation du l'inoculum

La standardisation a été faite selon le protocole de (8)

- Dans un tube à essai contenant de bouillon de croissance (M17 pour *L.lactis* .bouillon nutritif *S.aueus*), ajouter avec une pipette Pasteur stérile une colonie de souche spécifique.
- Agiter le bouillon pour rendre parfaitement homogène la culture ;
- Régler le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 574 nm ;
- Tarer l'appareil avec le bouillon pure ;
- Concentrer le liquide avec l'ajout des colonies et diluer avec l'ajout du bouillon pure jusqu'à obtenir une densité optique entre 0.08 à 0.1, pour avoir un inoculum de 10^7 g/ml.

3-2-2-5-Test de l'effet prébiotique de son de blé

- Les boîtes pétri sont colées par le gélose additionner de son de blé a différent concentration (BN pour *S.aureus* ; et M₁₇pour *L.lactis*).
- 100µL suspension bactérienne (*L.lactis* ,*S.aureus*)sont étaler sur la surface de la gelose.
- étalé inoculum à la surface de gélose, par unepipette pasteur râteaux en respectant les conditions d'asepsie.
- Incubation et faite a 44 °C pour *L.lactis* et 37°C pour *s.aureus* durant 24h et 48h.
- Un témoin négatif est réalisé en enseménçant les germes appropries dans des gelose sans son de blé (8).

CHAPITRE II :

Résultat et discussion

1. Purification des souches

1-1- Purification de *Lactococcus lactis*

1-1-1 Critères morphologiques

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué pour identifier une bactérie. Elle comprend une caractérisation macroscopique et microscopique.

La caractérisation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu solide et de déterminer les critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité).

Les colonies de *Lactococcus lactis* après une purification apparaissent sur milieu GM₁₇ solide à 44°C sous forme des colonies de couleur blanchâtre, forme allongée, contour régulier.

Ces caractéristiques, qui confirment l'espèce, sont présentes dans la photo (01).

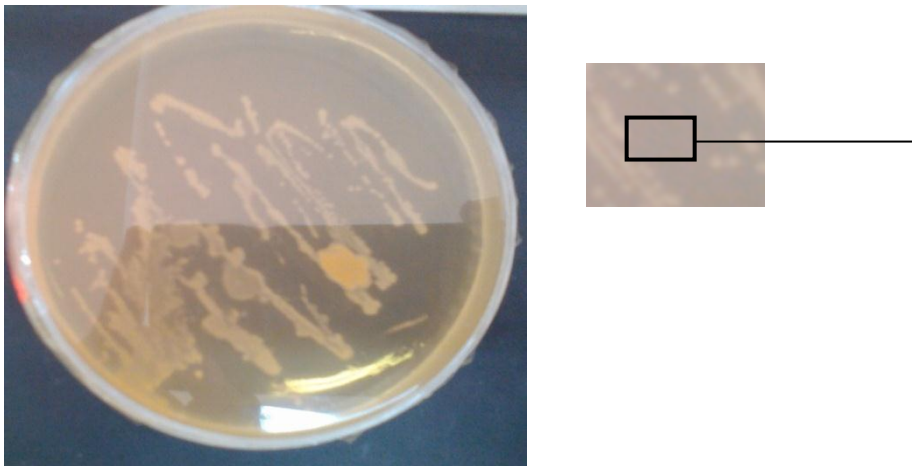


Photo (01) : Caractéristiques de *L.lactis*.

Ces critères morphologique de *Lactococcus lactis* qui sont conformes selon Amrouche, (2003) et Aida (2005).

1-1-2 Examen microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne.

Après l'observation microscopique, la souche de *Lactococcus lactis* est Gram⁺ disposée en coques ou en chaînettes plus ou moins longues (photo 02).

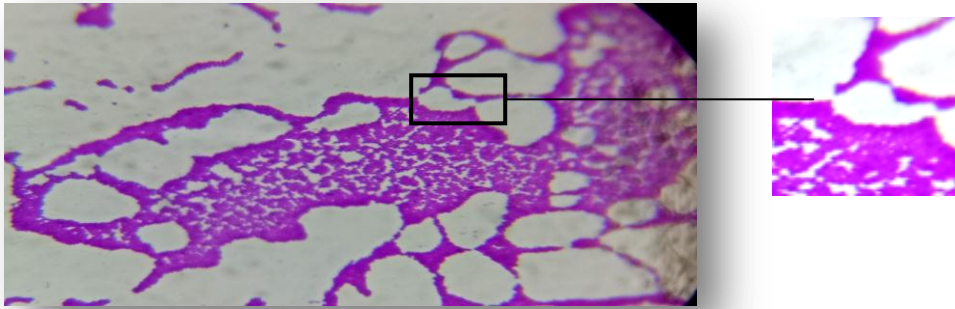


Photo 02 : Observation microscopique apres coloration de Gram *L.lactis*

1-2- Purification de *Staphylococcus aureus*

1-2-1 Examen macroscopique

L'observation sur milieu MH montrent que *Staphylococcus aureus* se développent à 37°C, les pigments à couleur jaune-orangé, bien visible, elle se présente sous forme de colonie arrondie à contour régulier (photo 03)

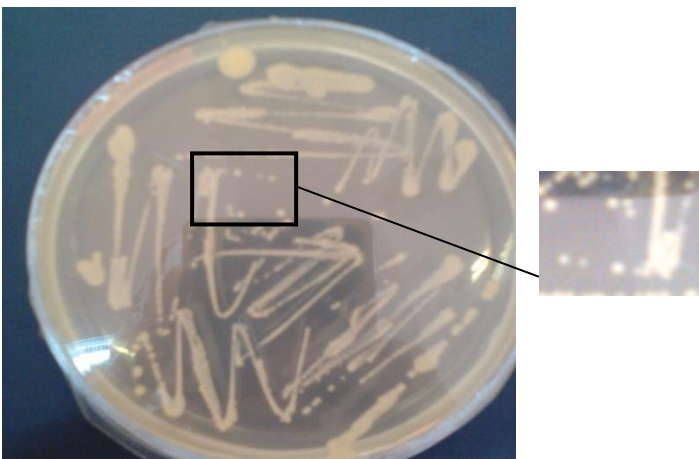


Photo 03 : Caractéristiques de *staphylococcus aureus*.

1-2-2 Examen microscopique

Après coloration de Gram, *S. aureus* apparaissent comme des cocci à Gram positif. Ils peuvent être isolés, en diplocoques ou en amas. (Photo 04)

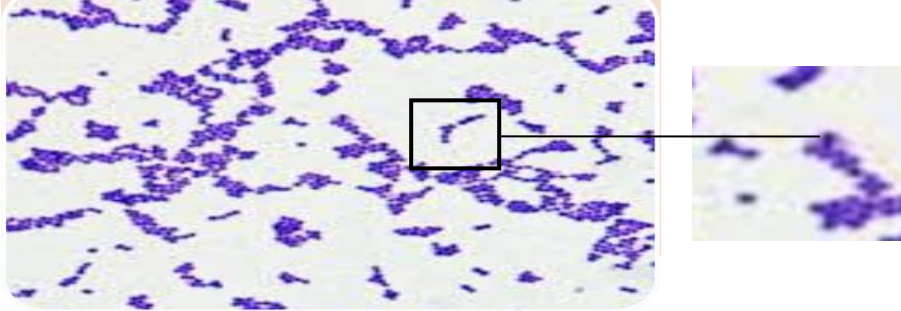


Photo 04 : Observation microscopique après coloration de Gram de *S.aureus*

D'après Bankolé et al, (2014), ces critères morphologiques de *S.aureus* sont conformes.

2-Résultat de l'effet prébiotique de son de blé sur la souche *L.lactis*

2-Développementsur milieu M_{17} sans son de blé

Le développement de la bactérie *L.lactis* sur une gélose M_{17} , est utilisé comme témoin (M_{17} pure) après incubation à 44°C la diffusion de la bactérie sous forme d'une nappe (Photo 05).

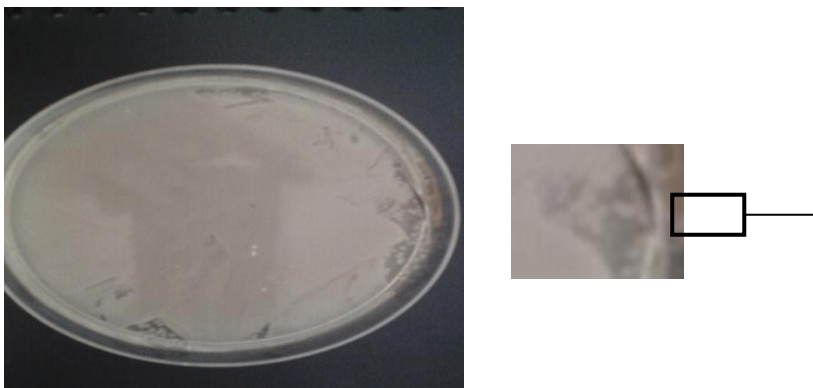


Photo 05 : Développement de *L.lactis* sur une gélose témoin

2-2 Développement de *L.lactis* sur un milieu reconstitué son de blé

Ce milieu modifié sans lactose et reconstitué avec différentes concentrations de son de blé

Le développement de *L.lactis* sur une gélose M₁₇ reconstituée par 0.5% de son de blé après incubation à 44°C, permet d'observer que la croissance de *L.lactis* forme une nappe et occupe une surface importante de la gélose (photo 06).

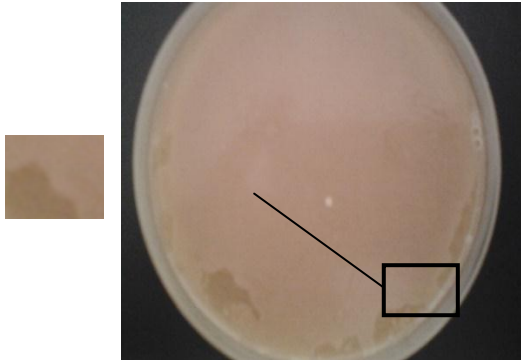
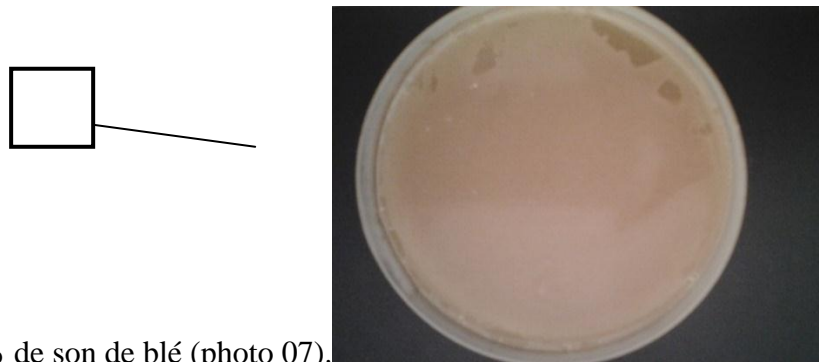


Photo 06 : Développement de *L.lactis* sur une gélose à 0.5% de son de blé.

Le développement de *L.lactis* sur un gélose M₁₇ reconstitué par 1% de son de blé après incubation à 44°C, la diffusion de *L.lactis* sous forme d'une nappe occupe plus de la surface



du milieu gélosé à 1% de son de blé (photo 07).



Photo 07: Développement de *L.lactis* sur milieu gélosé à 1% de son de blé.

Développement de *L.lactis* sur une gélose M₁₇ reconstitué par 1.5% de son de blé après incubation à 44°C, la diffusion de *L.lactis* sous forme d'une nappe occupe plus de surface presque tout le milieu gélosé (photo 08).

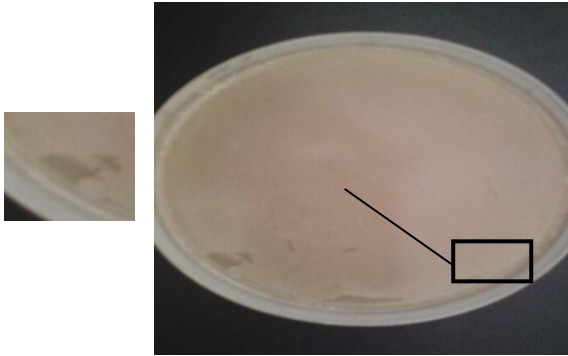


Photo 08 : Développement de *L.lactis* sur milieu gélosé à 1.5% son de blé.

La concentration de son de blé ajouté présente un effet positif sur la croissance de la souche *L.lactis* sur le nombre des colonies et sur leur volume, Nos résultats concordent avec les données d'une étude décrivant l'importance de fibre alimentaire sur le développement des probiotique (Abdessamad et al,2014).

3-Résultat de l'effet prébiotique des fibres sur *S.aureus*

3-1 Développement Sur milieu MH sans son de blé

Développement de *S.aureus* sur une gélose sans son de blé utilisé comme témoin(MH pure) permet d'avoir un nombre élevé de colonies (plus de 300)(photo 09).

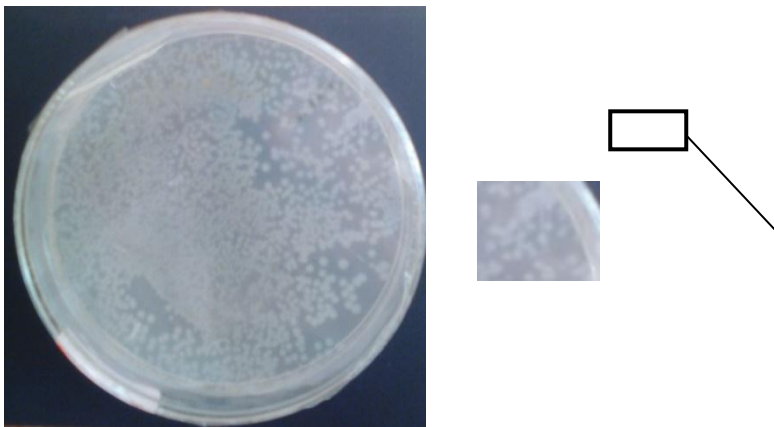


Photo 09 : Développement de *S.aureus* sur MH sans son de blé.

3-2 Développement sur milieu MH enrichie par son de blé

Le milieu MH reconstitué différentes concentrations de son de blé(0.5%-1%-1.5%)

Le développement de *S.aureus* sur une gélose MH reconstitué par 0.5% de son de blé après incubation à 37°C ; la diffusion des colonies de la souche *S.aureus* sur le milieu gélosé à 0.5% supérieure de 300 et du nombre de témoin.se qui montre que cette espèce a une tolérance forte (une nappe a été observée)(Photo 10).

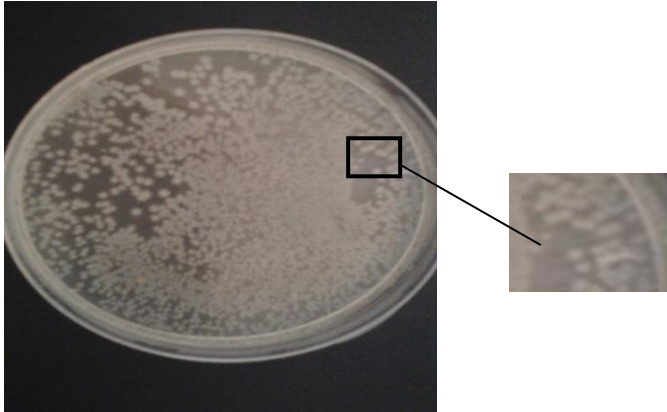


Photo 10: Développement de *S.aureus* sur le milieu gélosé 0.5% de son de blé.

Développement de *S.aureus* sur une gélose MH reconstitué par 0.5% de son de blé après incubation à 37°C ; la diffusion de colonies sur le milieu gélosé à 1% de son de blé plus que le développement sur le milieu de 0.5% (photo 11).

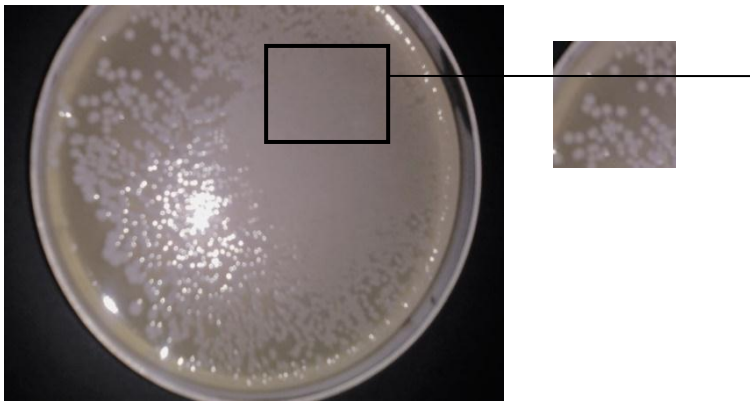


Photo 11: Développement de *S.aureus* sur le milieu gélosé à 1%.

Le développement de *S.aureus* sur une gélose MH reconstitué par 1.5% de son de blé après incubation à 37°C plus que le développement sur le milieu de 1% (photo 12).

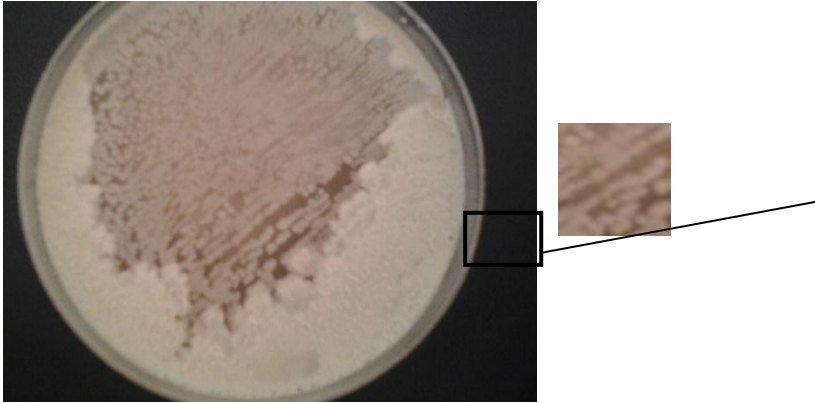


Photo 12: Développement *S.aureus* sur le milieu gélosé à 1.5% de son de blé.

La concentration de son de blé ajoutée n'a aucun effet inhibiteur sur le développement de *S.aureus* par rapport au témoin.

L'effet des fibres alimentaires sur les bactéries pathogènes est un effet indirecte, puis que les fibres alimentaires stimule le développement des probiotiques, selon notre résultat. En revanche ces bactéries produisent des bactériocides qui inhibent la fonction des bactéries pathogènes, cette discussion concordent avec les données de l'étude de l'effet inhibiteur des fibres alimentaires sur les bactéries pathogènes (Tuohy K. M. et al, 2001).

Conclusion

De nombreuses études scientifiques ont démontré que le son de blé constitue la norme absolue pour évaluer l'efficacité à faciliter la régularité. En fait, il s'agit du point de référence à partir duquel sont comparées toutes les autres fibres, dans le but de mesurer leur effet sur la régularité.

D'après les résultats de ce travail, les fibres alimentaires ayant un effet stimulateur et un autre inhibiteur.

D'une part effectuent la prolifération des bactéries bénéfiques en agissant principalement en stimulant les intestins et le système immunitaire.

D'autre part les microorganismes probiotiques supportent le pH acide du milieu gastrique. Ils résistent particulièrement bien aux ferments digestifs et aux sels biliaires. Il semblerait d'autre part que ceux qui survivent au passage de l'estomac restent collés à la paroi du côlon et influencent ainsi positivement la composition du film bactérien qui tapisse la muqueuse intestinale, d'où une amélioration de sa fonction de barrage contre les germes pathogènes et une moindre prolifération des bactéries et des champignons néfastes.

Annexe

Annexe I :Glossaire

Probiotique

Selon l'Organisation mondiale de la santé, les probiotiques sont des bactéries vivantes qui lorsque consommées régulièrement et en quantité suffisante, exercent un effet potentiellement bénéfique sur la santé. En ce sens, les probiotiques modifient la flore de l'intestin de sorte à favoriser la présence des bonnes bactéries, et ce, au détriment des mauvaises. Cela améliore l'équilibre à long terme de la flore et la rend plus résistante vis-à-vis des agressions. En plus, les probiotiques facilitent le rétablissement de la flore microbienne de l'intestin s'il y a eu un débalancement et contribuent à renforcer le système immunitaire, tout en aidant le système digestif(18).

Prébiotique

Les prébiotiques sont des nutriments (polymère de glucide) réservés aux probiotiques. Il est impossible pour nous de digérer les prébiotiques et ils arrivent donc intacts dans notre intestin. De là, ils favorisent le développement et le maintien des populations probiotiques, car ces derniers sont les seuls à pouvoir les utiliser pour se nourrir. Bien qu'ils ne soient pas absolument nécessaires, les prébiotiques permettent néanmoins aux probiotiques de fonctionner de façon optimale et d'avoir une croissance adéquate.

Différents prébiotiques sont disponibles sur le marché. Généralement, ils sont incorporés à des aliments contenant déjà des probiotiques. L'inuline, un extrait de la racine de chicorée, est le plus fréquent. Les prébiotiques se retrouvent aussi naturellement dans certains aliments tels que l'ail, les oignons, les asperges, les artichauts, les bananes, le blé et le seigle. Il y a aussi des aliments auxquels uniquement des prébiotiques ont été ajoutés. C'est le cas par exemple du pain « Bon Matin Prébiotique ». Fait à noter, un mélange de probiotique et de prébiotique s'appelle un symbiotique(19).

Tableau 02 : Sources de fibres (solubles et in soluble) dans les légumes et autres aliments(20).

Aliment plus riche de fibres	g/100g
Son de blé	40-45
Son d'avoine	17_25
Pruneau sec, amande	15-16
Abricot sec dénoyauté	13,7
Flocon d'avoine, chips	10
Figues sèches	10
Artichaut cuit	9,4
Haricot rouge cuit, Pois chiche cuit, cacahuète, groseille, Haricot blanc cuit, Salsifis appertisé	8-9
lentilles cuites, datte sèche, noisette, cassis, pain complet	7-8
Framboise, raisin sec, fève cuite, Châtaigne, Persil, Petit pois cuits, mûre, noix	6-7
Topinambour, Céleri Rave cru, Flageolet appertisé.	5
Pétales de maïs, pois cassé cuit, chou de Bruxelles, biscotte, olive verte, semoule	4-5
Igname cuite, Panais cuit, Pissenlit cru, Fenouil cru, Epinard cuit, Haricot vert cuit, baguette, pain de campagne, petit pois	3-4
Patate douce cru, Chou vert cuit, Cornichon, Brocoli cuit, Poireau cuit, Carotte crue, Chou-fleur cuit, Cresson cru, Champignon de Paris cru, Endive crue, Potimarron cru, Maïs doux appertisé Soja (germe) appertisé, Navet cuit, Aubergine cuite, Cardon, Céleri Branche cru, Poivron rouge cru, Poivron vert cru, Potiron cuit	2-3
Riz complet	1.8

Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal, autrefois appelé “flore intestinale” est un monde vivant de 100 000 milliards de bactéries, soit dix fois plus de micro-organismes que le corps entier ne compte de cellules. Le microbiote est implanté tout au long du tube digestif selon un gradient oro-anal, mais il prédomine au niveau du côlon en particulier du côlon droit. Un gramme de selles humaines contient environ 1 000 milliards de bactéries. Sémantiquement, le terme microbiote évoque davantage des micro-organismes vivants (bios) qu’un monde végétal que suggère le mot « flore intestinale »(21).

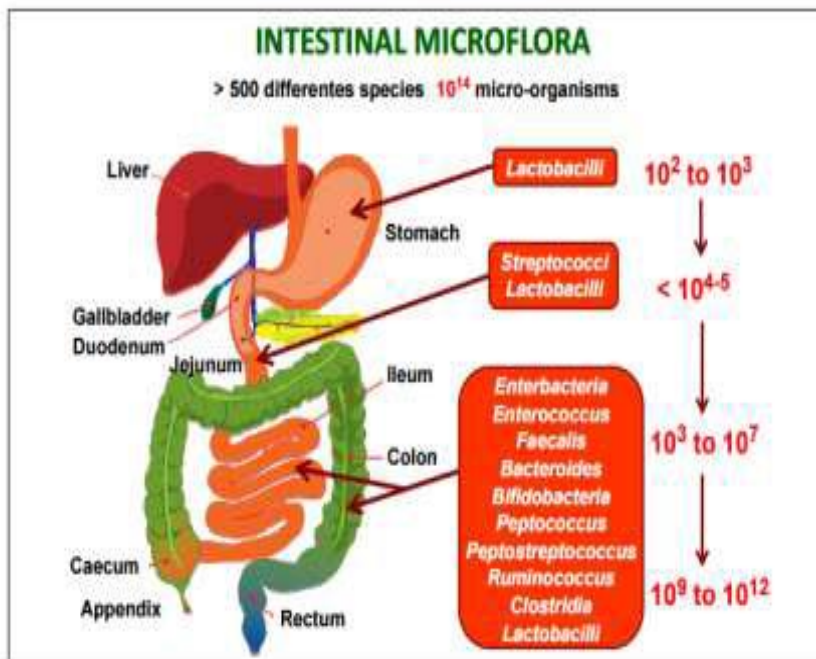


Figure 02: Répartition de microbiote dans le tractus gastro-intestinal(22).

ANNEXE 02 : Préparation des milieux de cultures.**Tableau 03:** Composition du milieu M17 agar.

Composition	g/l
Tryptone	2.50
Peptone pepsique de viande	2.50
Peptone papaïnique de soja	5.00
B-Glycérophosphate de sodium	19.00
Lactose	5.00
Extrait de levure	2.50
Extrait de viande	5.00
Sulfate de magnésium	0.25
Acide Ascorbique	0.50
Agar-agar	14

Pour la préparation.

- Peser les ingrédients
- Dissoudre les ingrédients dans 1000 ml de l'eau distillée
- Ajuster le pH à 7,1 - 7,2
- Stériliser à 120°C pendant 20 minutes

Le milieu M17 bouillon est de même composition et même préparation que M17-agar mais Sans addition d'agar.

Préparation dumilieu M₁₇-agar modifié sans lactose reconstitué avec 3 concentrations de son de blé (5-10-15 g/l) pour évaluer l'effet de fibre alimentaire sur *L.lactis* ;*S.aureus*.

- Ajuster le pH à 6.5
- Autoclaver à 115°C pendant 20 minute a T 25°C.

-Composition de bouillon nutritif

-la poudre de bouillon nutritive 8g/l

-Stériliser à 121°C pendant 15 minutes

Tableau 03 :Composition de Muller Hinton

Gélose de Muller Hinton : 38 g/l

.Avec l'addition des différentes concentrations de son de blé (5 -10-15 g/l)

Pour la préparation

- Dissoudre les ingrédients dans 1000 ml de l'eau distillée

- Stériliser à 121°C pendant 20 minutes.

ANNEXE 03 : Technique d'identifications

Coloration de Gram

Mode opératoire

- Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de gentiane ;
- Rincer rapidement à l'eau courante ;
- Traité pendant une minute par la solution de lugol ;
- Le frottis est de nouveau, rincé rapidement.
- Après le traitement avec l'éthanol (95 °), la lame est maintenue inclinée : On fait couler le solvant sur le frottis pendant une à trois secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis ;
- Rincer à l'eau courante ;
- Faites une contre coloration de 30 secondes à la Fuschine basique diluée ;
- Rincer brièvement et sécher le frottis au buvard ;
- Examiner à l'objectif à immersion (grossissement X 1000) ;
 - Les cellules à Gram positif sont en violet.
 - Les cellules à Gram négatif sont roses.



Figure 5 : Repiquage de *L.lactis* **Figure 6** : Repiquage de *S.aureus*

Référence
Bibliographie

- (1) Gérard P. 2012 Microbiote intestinal et lipides: impact sur la santé humaine. *19* :223-227.
- (2) Lepage.P. 2015. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *323* : 41- 43.
- (3) Desreumaux.P.,S.Pavan et A.Mercenier.2002 probiotique,prébiotique et symbiotique. *6* :335-344.
- (4) Miami .2016 .un déséquilibre du microbiote intestinal est dangereux pour le foie. *3* : 15-20.
- (5) Bull.Acad.2014. microbiote intestinale . *9* :125-85.
- (6) FAO/WHO,. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria., report of joint FAO /WHO expert consultation . <http://www.who.int/foodsafety/publications/en>
- (7) François.L –mari et Georges.C. 2005. les bactéries lactiques et probiotiques . *306* : 195-282.
- (8) Hadjsaid.O et Bechouni.O .2013.Activité prébiotique des hydrolysats des polysaccharides extraits de quelques plantes spontanées à caractère médicinal. 25-28.
- (9) EL-hadedyet Eman.D.w.2014.cloning of nis gene and nisin purification from *Lactococcus lactis*. *6* :4171-4172.
- (10) Bankolé H.s., dougnon T.V., Fiogbé E.p., Amoussou A.N et Baba moussa.2014.L. Identification de *Staphylococcus aureus* :est-il possible de réduire le volume de plasma de lapin sans influencer la recherche de staphylocoagulase libre ?. *73*:6027-6028.
- (11) Ben salah,I.,Trobelsi.,R.BenMansour,S., Lassoued,H., Chouayekh,S.2012 in vitro prébiotique evaluation of polysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Bejar, Anaerobe*. *18*: 436-444.
- (12) Das,k.Tiwari,R.K.S et Shrivastava., D.K. 2010 . Technique for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants Research*. *4* (2): 104-111.

- (13) Sarra .M.2007. Effet antagoniste de lactococcuslactis, souchesextremophiles locales sur des espèce de la flore intestinale résidente .56-58.
- (14) Amroucheloubna. 2003 .purification et caractérisation d'une bactériocine produite par des lactoques .25-59.
- (15) Alidjinou .2008. Caractérisation des souches de staphylococcus isolée dans les infections cutanées de l'enfant Abidjan.9 :52-53.
- (16) Abdessamad K, Fabrice A, Didier R, Bernard H ., 2014., Medecine science30(3):259-65 .
- (17) Tuohy1K.M., S. Kolida1, A. M. Lustenberger2 and G. R. Gibson1., 2001, The prebioticeffects of biscuits containingpartiallyhydrolysedguargum and fructo-oligosaccharides – a humanvolunteerstudy, British Journal of Nutrition, 86, 341–348.
- (18) Jean –Paul. Prébiotique et probiotique et effets sur la santé.2008.126 2-4.
- (19) Christian .B.2004.prébiotique.6 3-5.
- (20) Martine champ.2014.les fibres alimentaire.8-10.
- (21) goulet.O.lemicrobiote intestinal.2015.193 15-16.
- (22) Orblie Julie .2015.l'importance d'une flore intestinale. 17.