

# 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

- HATREICHE Khaled
- BOUNEDJAR Wahiba
- BENNOUR Soumia

## Etude de l'effet prébiotique des fibres alimentaires vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus*

Soutenu au juillet 2017

**Devant le jury:**

**-Présidente: M. ABBAS A M**

**-Promotrice: M<sup>me</sup> BOUDALI S**

**-Co-promotrice: M<sup>lle</sup> BOUBAKEUR B**

**-Examineurs: M<sup>me</sup> KHADEM H**

**Grade**

**MAA**

**MAA**

**MCD**

**MAA**

**Année universitaire: 2016–2017**

# *Remerciements*

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre promotrice M<sup>me</sup> BOUDALI S et Co-promotrice M<sup>lle</sup> BOUBAKEUR B qui ont proposées le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement : Mr ABBAS A M pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à M<sup>me</sup> KHADEM H pour avoir faire de lecteur notre mémoire, aller l'examiner et elle peut évaluer cette mémoire.

Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation. Et un grand remerciement à Madame KHEIRA technicienne de laboratoire de microbiologie de notre faculté SNV

# **SOMMAIRE**

<b>Liste des figures</b> .....	<b>I</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>II</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>III</b>
<b>Introduction</b>	

## **Chapitre I : Matériel & Méthodes**

I.1.Objectif .....	01
I.2 Lieu et durée de travail.....	01
I.3 Matériel et méthodes .....	01
I.3.1 Substrat végétal.....	01
I.3.2 Souches bactériennes.....	01
I.4 Méthodes .....	02
I.4.1 protocole expérimental.....	02
I.4.2 Préparation des cultures.....	04
I.4.3 Préparation de poudre de son de blé .....	04
I.4.4 Préparation de l'inoculum.....	04
I.4.5 Etude de l'effet prébiotique de son de blé vis-à-vis de <i>S.thermophilus</i> et <i>E.coli</i> ..	04

## **Chapitre II: Résultats & Discussion**

II.1 Résultat de confirmation des deux souches <i>S.thermophilus</i> et <i>E.coli</i> .....	05
II.2 Effet prébiotique du son de blé sur la croissance de <i>S.thermophilus</i> et <i>E.coli</i> ....	06
II.2.1 Effet sur la croissance de <i>S.thermophilus</i> .....	06
II.2.2 Effet sur la croissance d' <i>E.coli</i> .....	09

## **Conclusion et Perspectives**

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Résumé**

## La liste des figures

**Figure 01 :** Photo représentative la poudre de son de blé après la préparation.

**Figure 02 :** Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

**Figure 3 :** Photo représentative le caractère macro et microscopique de *E.coli* (Objectif 6 X100).

**Figure 04 :** Photo représentative le caractère macro et microscopique de *S.thermophilus* (Objectif 6X100).

**Figure 05 :** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu (M17) en absence le son de blé.

**Figure 06 :** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 0.5% de son de blé.

**Figure 07:** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 0.5% de son de blé.

**Figure 08:** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 1.5% de son de blé.

**Figure 09:** Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu (MH) en absence le son de blé.

**Figure10 :** Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 0.5% de son de blé.

**Figure 11 :**Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 1% de son de blé.

**Figure12 :** Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 1.5 de son de blé.

**Figure 13:** la microflore de l'appareil digestive de l'homme.

## La liste de tableaux

**Tableau 01** : Matériel de laboratoire utilisés.

**Tableau 02** : Les caractères macro et microscopique d'*E.coli*.

**Tableau 03** : Les caractères macro et microscopique de *S.thermophilus*.

# Abréviation

**BN:** Bouillon Nutritive

**Cfu/g :** colony-forming unit By one gram

**DO:** Densité optique

**O<sub>2</sub> :** dioxygène

**E.coli:** Escherichia coli

**FAO:** food and Agriculture Organization

**germe/l:** germe par un litre

**GM17:** Gélose M17

**Gram<sup>+</sup>:** Gram positive

**Gram<sup>-</sup>:** Gram negative

**HCl :** chlorure d'hydrogène

**MH:** Muller Hinton

**pH :** potentiel Hydrogène

***S.thermophilus*:** Streptococcus thermophilus

**WHO:** World Health Organization

**µl:** micro litre

**µm:** micro mètre

# Introduction



## INTRODUCTION :

Le microbiote ou aussi appelé microflore intestinal est un écosystème complexe d'un grand nombre de micro-organismes. On estime 400 espèces bactériennes différentes avec  $10^{12}$  à  $10^{14}$  micro-organismes c'est-à-dire 2 à 10 fois plus que le nombre de cellules qui constituent notre corps et pour un poids de 2 kilos présentes tous le long du tractus digestif, Chaque individu a une flore spécifique et stable mais il n'est pas le même aux âges extrêmes de la vie (**Abdessamad et al., 2014**).

L'environnement gastro-intestinal comprend trois régions principales qui offrent des conditions très différentes pour la survie des différents microorganismes. Dans le premier compartiment, l'estomac, la prolifération microbienne est fortement réduite à cause de la présence de l'oxygène apportée par une forte acidité ; donc l'estomac héberge sélectivement les microorganismes acidotolérants et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles et streptocoques. Dans le deuxième compartiment, l'intestin grêle, il y a une variation quantitative et qualitative des microorganismes et une diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies strictes tels que les bifidobactéries. Dans le dernier compartiment qui est le côlon, il y a une augmentation importante de la population microbienne essentiellement anaérobie (**Rastall.,2004 ,BULMS et al.,1999 Gournier et al., 1999**).

Ce microbiote est en équilibre qui s'autorégule en permanence. Cet équilibre est sous la menace d'agressions pouvant conduire à sa rupture donc ces agressions tels que un changement brutal d'environnement ou d'alimentation, un déficit immunitaire et Certains médicaments en premier lieu les antibiotiques et les infections virales, parasitaires ou bactériennes comme les infections causées par la bactérie *E.coli* (5). Selon la **FAO** et le **WHO 2001**, *E.coli* est une bactérie que l'on trouve dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud. La plupart des souches d'*E.coli* sont inoffensives mais certaines sont pathogènes peuvent provoquer des maladies graves d'origine alimentaire et la transmission de cette bactérie à l'homme passe par l'ingestion des aliments contaminés comme les viandes hachées cru ou mal cuit, du lait cru...etc. Donc tous ces agressions provoquent La dysbiose qui est associé à des conséquences néfastes pour l'hôte tels que l'obésité, diabète, et les cancers digestifs (**Philippe Marteau et Joël Doré.,2017**).

La dysbiose pourrait être soignée par une alimentation contenant des fibres alimentaires d'origine végétale comme les cannelles, les amandes et son du blé riche en prébiotiques. Les prébiotiques sont des composants alimentaires naturels indigestibles, généralement sont des oligosaccharides comme la cellulose, le lactose, des galacto-oligosaccharides, et surtout l'inuline. Qui contribue à la prolifération et au maintien des probiotiques (**Gibson et Roberfroid.,1995**), comme les bactéries lactiques ; ces derniers sont un groupe de bactéries hétérogène produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différents qui sont *Lactobacillus*,

*Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*, elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme la viande, les végétaux et les céréales et en premier lieu les produits laitiers (Stiles et Holzapfel.,1997). En effet un rapport de la FAO et le WHO 2001 décrit que ces probiotiques y compris les bactéries lactiques ; lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante exerceraient un effet bénéfique sur la santé et donc conduisant à une plus grande longévité dans le but de guérison de dysbiose via la consommation des produits alimentaires contiennent des bactéries lactique tel que le laits fermentés. Ainsi le but de notre travail consiste à d'évaluer l'activité prébiotique de son de blé à travers l'évaluation de son effet stimulateur sur *S.thermophilus* et inhibiteur sur *E.coli*.

**CHAPITRE I :**

**Matériel et méthodes**

## I.1 Objectif

L'objectif de ce travail c'est l'évaluation de l'action sélective d'une fibre alimentaire (son du blé) sur le développement de deux bactéries ; probiotique (*S.thermophilus*) et pathogène (*E.coli*).

## I.2 Lieu et durée de travail

Notre étude a été effectuée au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie « Université Ibn Khaldoun TIARET ». Dans une période allant de 07 février à 23 Mai 2017.

## I.3 Matériel et méthodes

### I.3.1 matière première et souches microbiennes

### I.3.2 Substrat végétal : Son de blé acheté du marché.



**Figure 01** : Photo représentative la poudre de son de blé après la préparation.

### I.3.2 Souches bactériennes

*Streptococcus thermophilus*

*Escherichia coli*

Le tableau suivant représente les différents matériel et produits de laboratoire utilisé.

# Chapitre I : Matériel et Méthodes

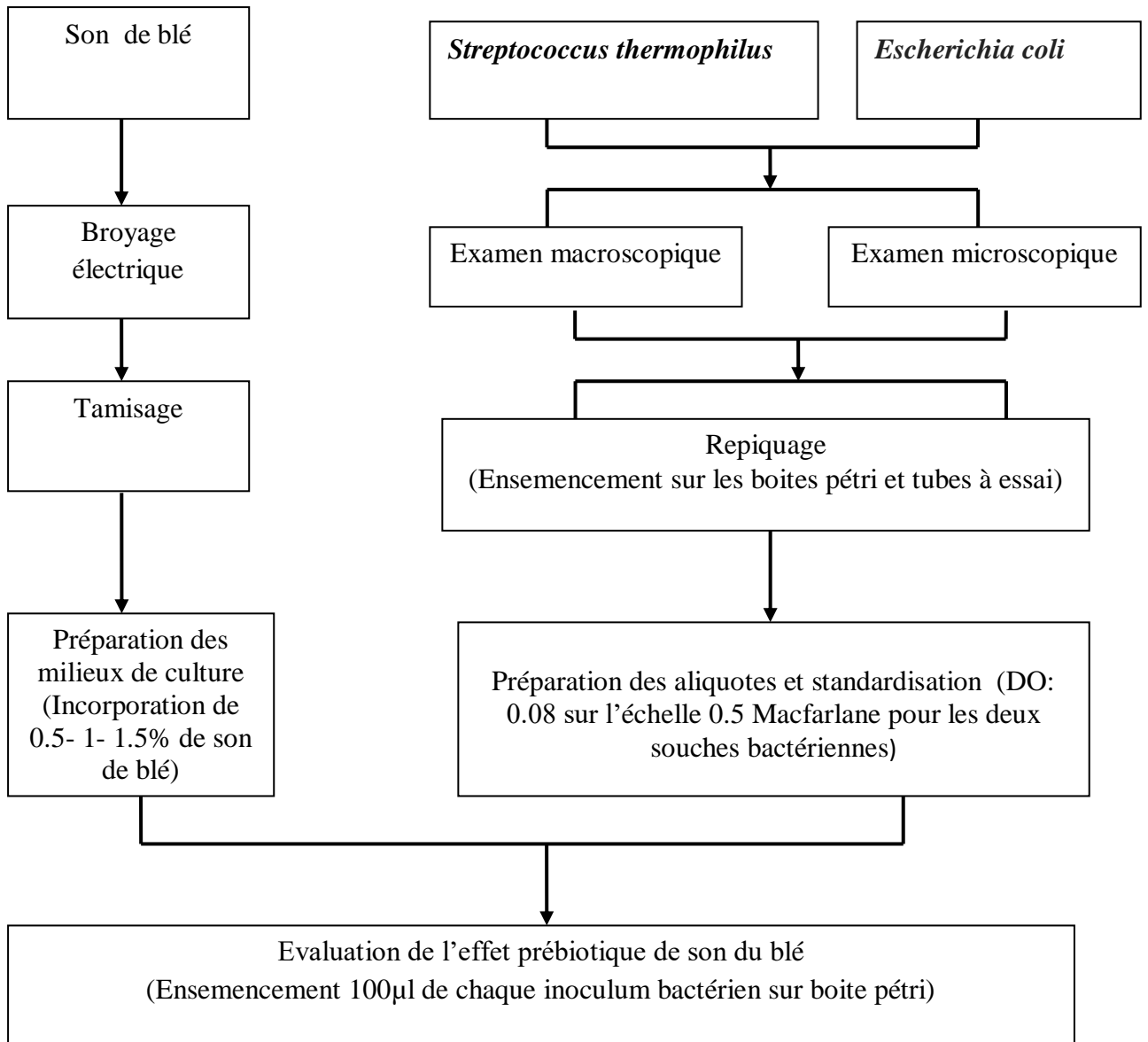
**Tableau 01** : Matériel de laboratoire utilisés

Matériel de routine	Milieus 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) -Gélose MH -Bouillon Nutritif	-Violet de gentiane -Fuschine -Lugol -Alcool -L'eau distillée	-Autoclave -Agitateur magnétique à plaque chauffante -Spectrophotomètre -Balance -pH mètre -Microscope optique -Etuve -Broyeur électrique -Tamiseur -Bec benzène -Thermomètre

## I.4 Méthodes

### I.4.1 protocole expérimental

Les différentes étapes de l'expérimentation sont résumées dans l'organigramme suivant :



**Figure 02** : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

## I.4.2 Préparation des cultures

Les souches (*S.thermophilus* et *E.coli*) ont étéensemencées dans des bouillons et géloses (M17 et MH) et incubées à (44°C et 37°C) pendant 24 et 48 heures d'incubation et puis les conserver à 4°C.

Un examen macro et microscopique ont été réalisés afin de confirmer la pureté des deux souches.

## I.4.3 Préparation de poudre de son de blé

Le son du blé a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique ; le substrat obtenu après le broyage subit un tamisage par un tamis de 250µm du diamètre.

## I.4.4 Préparation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum a été faite en adoptant le protocole de **Das et al.,2010**.

Une suspension bactérienne est ajustée à  $10^7$  sur l'échelle 0.5 Macfarland selon les étapes suivantes :

- Préparation des suspensions bactériennes sur bouillon approprié à partir d'une culture jeune de 24h et 48h d'incubation.
- Dilution de chaque suspension dans même bouillon.
- Lecture de DO à une longueur d'onde de 574 nm
- Dilution ou concentration de la suspension jusqu'à arriver à une DO de 0.08 soit  $10^7$  germes/ml.

## I.4.5 Etude de l'effet prébiotique de son de blé vis-à-vis de *S.thermophilus* et *E.coli*

L'étude de l'effet prébiotique de son de blé a été faite selon le protocole de **Ben salah et al.,2021**.Un enrichissement des milieux de culture (M17 pour *S.thermophilus* et Muller Hinton pour *E.coli*). A été réalisé avec différentes concentrations de son de blé (0.5g/l, 1g/l, 1.5g/l). Les milieux sont ensuite inoculés par 10µl d'un inoculum de  $10^7$  pour les deux souches. Après décantation, les cultures sont incubées à 44°C et 37°C respectivement pour *S.thermophilus* et *E.coli* pendant 24h et 48h d'incubation.

# **CHAPITRE II :**

## **Résultats et discussion**



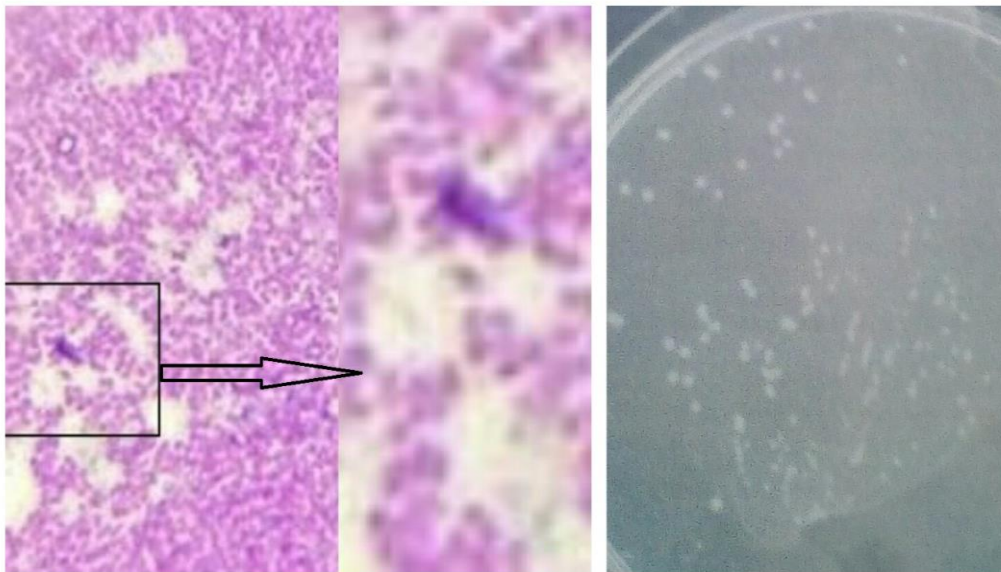
## Chapitre II : Résultats et discussion

### II.1 Résultats de confirmation des deux souches

Les caractéristiques macro et microscopiques sont illustrés dans les figures N°2 et N°3 et les tableaux N°3 et N°4.

**Tableau 02 :** Les caractères macro et microscopique d'*E.coli*.

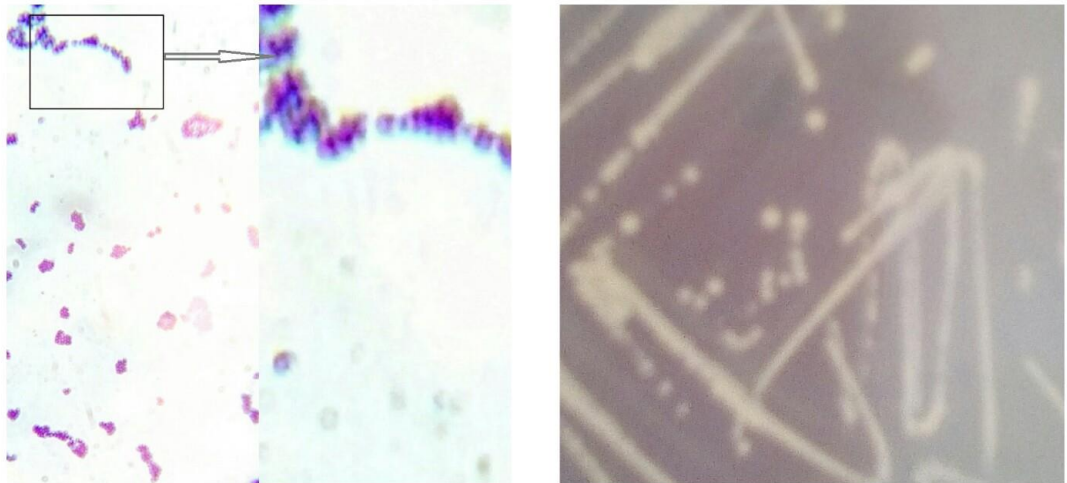
Caractères	<i>E.coli</i>
caractères macroscopiques	Des colonies de couleur blanche de taille variable, de surface lisse plus au moins plat.
caractères microscopiques	Des bacilles en forme des bâtonnets de G <sup>-</sup>



**Figure 3 :** Photo représentative le caractère macro et microscopique d'*E.coli*  
(Objectif 6X100).

**Tableau 03 :** Les caractères macro et microscopique de *S.thermophilus*

Caractères	<i>S.thermophilus</i>
caractères macroscopiques	Des colonies de couleur blanche de taille variable, de surface lisse plus au moins bombée et de contour régulière.
caractères microscopiques	Des coques arrondies, formant des chaînes, G <sup>+</sup>

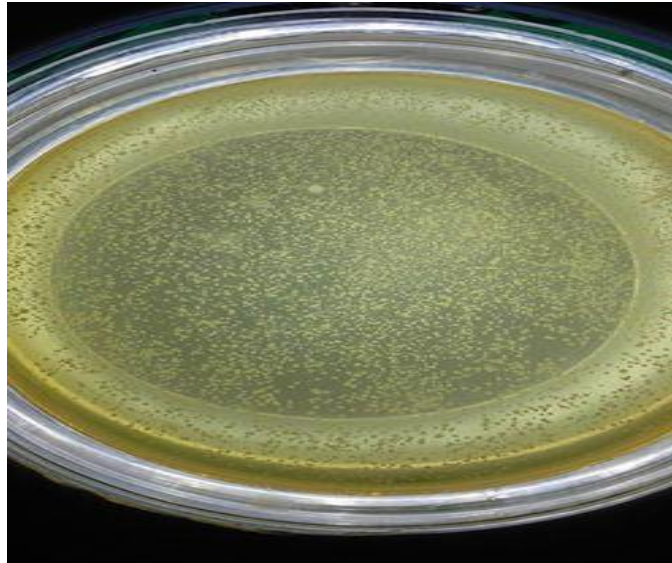


**Figure 04 :** Photo représentative le caractère macro et microscopique de *S.thermophilus* (Objectif 6X100).

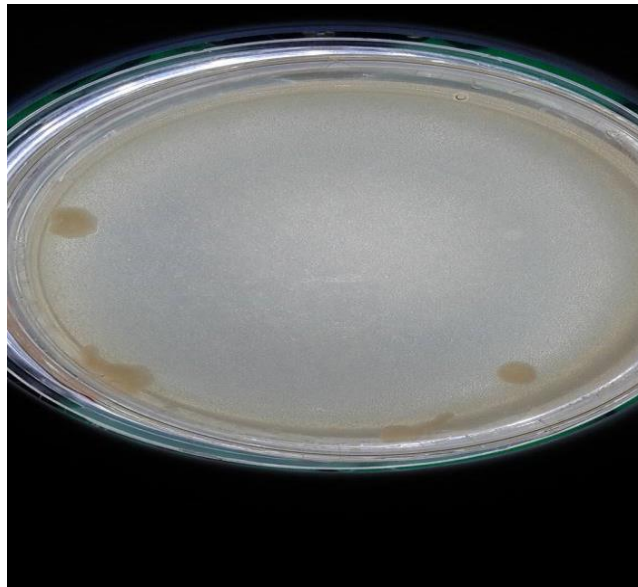
## II.2 Effet prébiotique du son de blé sur la croissance de *S.thermophilus* et *E.coli*

### II.2.1 Effet sur la croissance de *S.thermophilus*

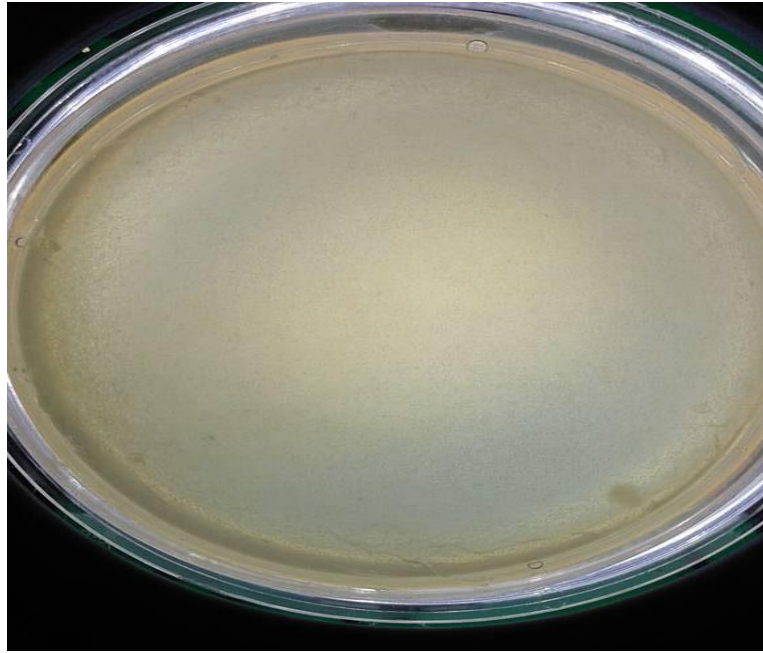
Nos résultats indiquent une croissance de *S.thermophilus* en présence de 0.5%, 1% et 1.5% de son du blé plus remarquable par rapport au témoin (figure : N° 4, 5, 6,7).



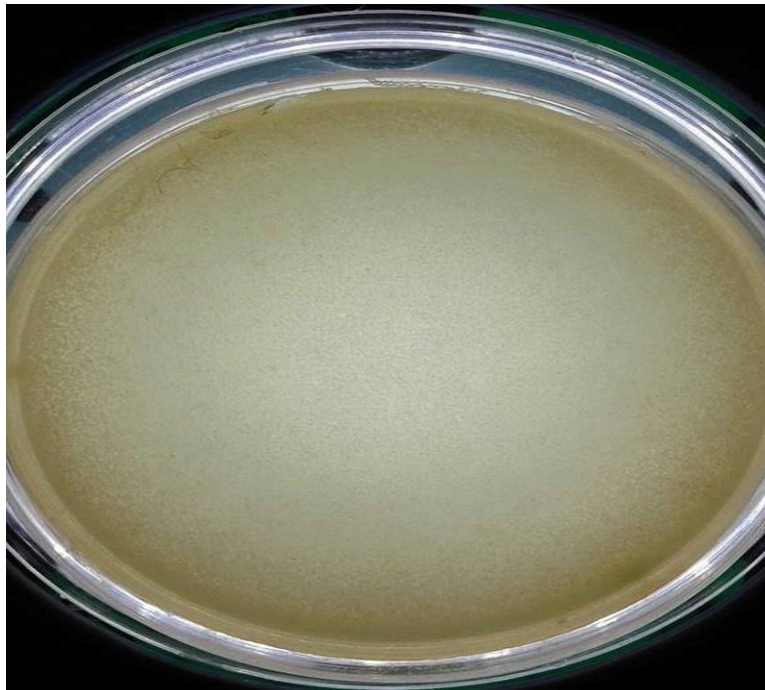
**Figure 05 :** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu (M17) en absence le son de blé.



**Figure 06 :** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 0.5% de son de blé.



**Figure 07:** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 1% de son de blé.



**Figure 08:** Photo représentative le développement de *S.thermophilus* dans un milieu modifiée (M17) par 1.5% de son de blé.

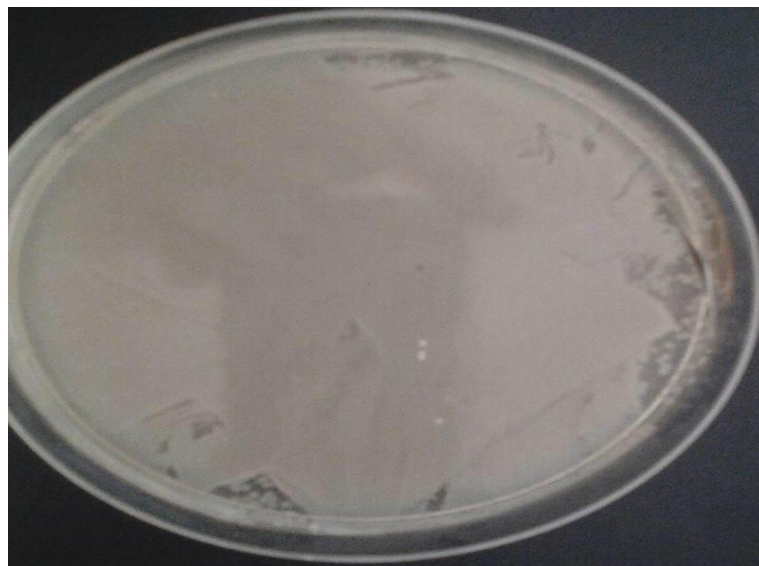
Le développement de *S.thermophilus* en présence de son de blé est extrusive à différents concentrations (0.5%, 1%, 1.5%) et plus notable que le témoin, ceci peut indiquer l'effet stimulateur de son de blé vis-à-vis *S.thermophilus*.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Abdessamad et al.,2014** et **Soumia et al.,2016** ; qui ont montré que les fibres alimentaire pourraient stimuler notablement le développement des probiotiques y compris *S.thermophilus*.

L'effet stimulateur de son de blé est attribué à sa teneur en fibres alimentaires par 42.72g pour 100g de son de blé.

### II.2.2 Effet sur la croissance d'*E.coli*

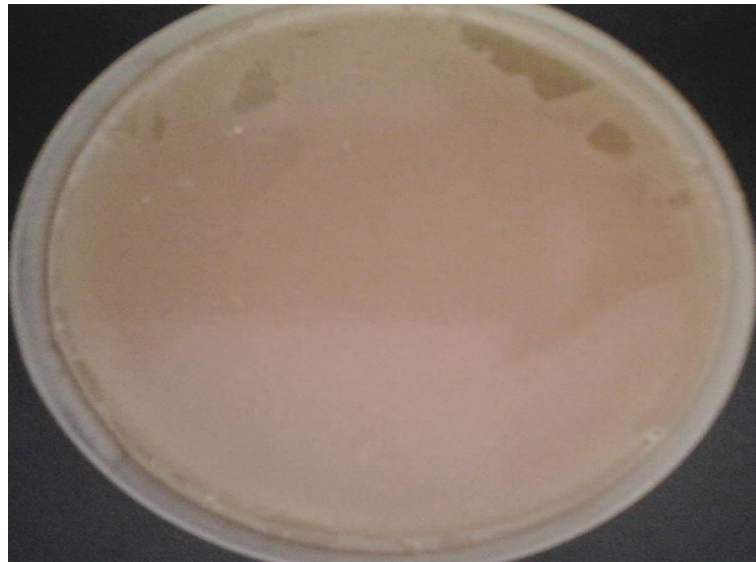
Nos résultats ont révélé qu'il ya une prolifération d'*E.coli* en présence des différentes concentrations de son du blé (0.5%, 1%, 1.5%) par rapport au témoin (figure : N° 8, 9, 10,11). Ce qui indique que le son de blé n'a aucun effet sur le développement d'*E.coli* .



**Figure 09** : Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu (MH) en absence le son de blé.



**Figure 10** : Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 0.5% de son de blé.



**Figure 11** : Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 1% de son de blé.



**Figure12** : Photo représentative le développement d'*E.coli* dans un milieu modifiée (MH) par 1.5 de son de blé.

**Abdessamad et al., 2014** ; ont trouvé que les polysaccharides de son de blé ont inhibe notablement la croissance des germes pathogène, cette contradiction peut être attribué à la concentration de son de blé testé dans notre étude et la taille de l'inoculum.

# Conclusion et Perspectives

A ce jour, l'idée d'améliorer la santé par la manipulation de la microflore intestinale est largement admise par la communauté scientifique

A partir de cette idée il y a plusieurs notions sur l'équilibre de microflore intestinal ont été proposées

La première notion est basée sur les microorganismes vivants bénéfiques (probiotiques). Qui grâce à leur résistance à la digestion, ils peuvent activer le métabolisme.

La deuxième consiste à administrer des substrats non digestibles (prébiotique) et atteint le gros intestin afin d'influencer la croissance des bactéries bénéfiques et favoriser leur métabolisme.

La troisième est apparue récemment, c'est l'incorporation des probiotiques en combinaison avec des prébiotiques. pour avoir un effet symbiotique.

Notre étude concernait l'évaluation de l'activité des prébiotiques sur deux souches bactériennes *S.thermophilus* et *E.coli* en présence de différentes concentrations de son de blé.

L'étude a montré que le son du blé a un effet stimulateur sur la croissance de *S.thermophilus* donc on peut supposer que le son du blé peut être requis pour améliorer l'activité des germes probiotiques Par contre aucun effet a été noté vis-à-vis d'*E.coli*

Le travail que nous avons effectué est une étude préliminaire, il doit être validé et approfondie en envisagement :

- L'effet de son de blé à des concentrations plus élevées.
- Variation de la taille de l'inoculum afin d'étudier son impact sur l'effet stimulateur et antimicrobien de son de blé.
- Optimisation de la technique d'évaluation de l'effet prébiotique de son de blé.
- Etudier le profil prébiotique des différents polysaccharides et constituants.



# Références

# Bibliographies

# Références

## A.

**Abdessamad EL kaoutari ,Fabrice Armougom.,Didier Raoult et Bernard Henrissat.2014.**Gut microbiota and digestion of polysaccharides.30 :259-265.

## B.

**Ben salah,I. Trobelsi,R. Ben Mansour,S. Lassoued,H. Chouayekh,S. 2012.** invitro prébiotique evaluation of polysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria.Bejar,Anaerobe.18: 436-444.

**BLUM.S.,DELNESTE.Y.,ALVAREZ.S.,HALLER.D.,PEREZP.F.,BODE.C.H.,HAMME S.W.P.,PFEIR.A.M.A et SCHIFFRIN.E.J.1999.**interaction between commensal bacteria and mucosal immunocompetent cells. international dairy journal,9:63-68.

## D.

**Das.K., Tiwari,R.K.k.2010.** Technique for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends research.4(2):104-111.

**David H. Bergey, John G. Holt, Noel R. Krieg et Peter H.A. Sneath, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Lippincott Williams et Wilkins, 1994 (ISBN 0-683-00603-7).**

**Desmond C., Corcoran B.M., Coakley M., Fitzgerald G.F., Ross R.P. et Stanton C.,(2005).**Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics.Australian Journal of Dairy Technology, 60: 121–126.

## F.

**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 .

## G.

**Gibson GR, Roberfroid MB. 1995 Jun.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr. :125(6):1401-1412.

**Gournier Château N., Larpent J.P., Castillanos M.I et Larpent J.L.1999.** Les probiotiques en alimentation animale et humaine *Ed*: technique et documentations Lavoisier ,Paris .France. pp 1-192.

# Références

## N.

**Nandini, C.D et Salimath, P.V. (2001).**Carbohydrate composition of wheat, wheat bran,sorghum and bajra with good chapati/roti (Indian flat bread) making quality. *Food Chemistry*, 73, 197-203.

## O.

**OUWEHAND A.C. et VESTERLUND S. (2003).**Health aspects of probiotics.*Drugs*,6:573-580.

## P.

**Philippe Marteaux ., Joel Doré.2017.** Microbiote intestinal un organe a part entière .352 :97-165.

## R.

**Rastall R.A .(2004).** Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance journal of nutrition. 134 (8):2022-2026.

## S.

**Soumia Keddari., Narimen Benaoum., Yasmina Boufadi., Mansouria Belhocine., Ali Riazi. 2016.** Antioxidant Activity and in vitro Fermentation of Dietary Fiber Extracts from Durum Wheat Bran., *Journal of Food and Nutrition Research.*, . 4(8) : 508-514.

**Stiles M.E., Holzapfel W.H .1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *international journal of food microbiologie*, 36:1-29.

# Annexes

## ANNEXE 1 : Définitions

### 1.1 Schéma simplifié représente les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores

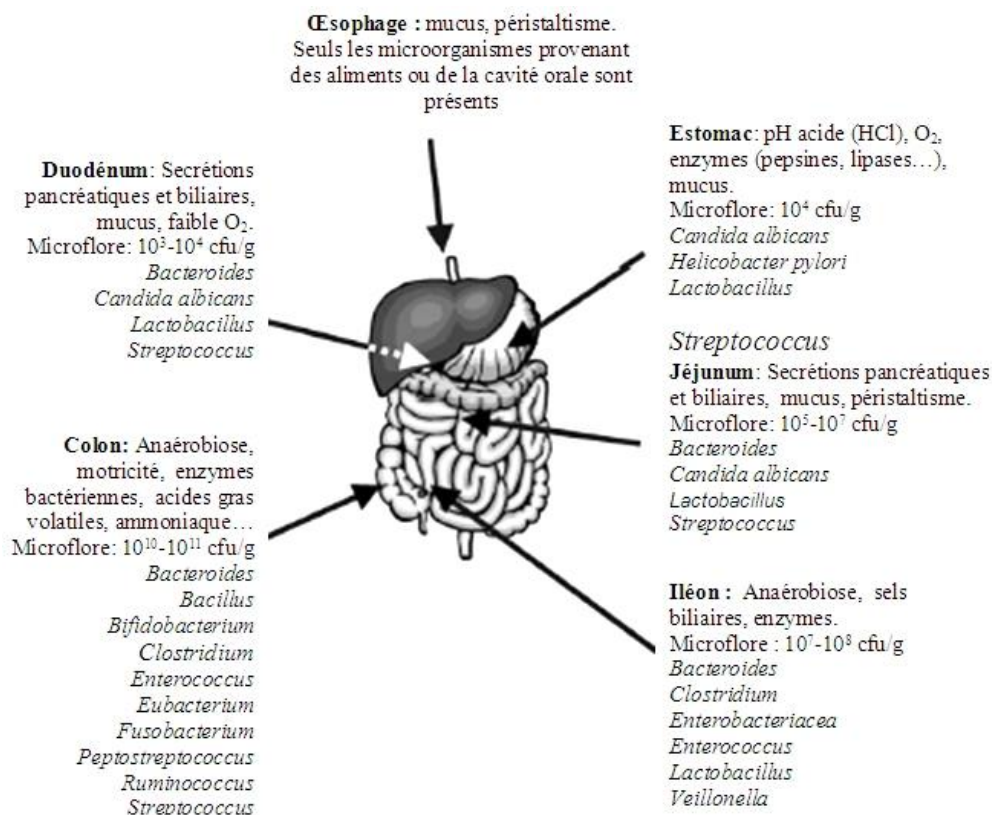


Figure 13 : la microflore de l'appareil digestive de l'homme (Ouwehand et al., 2003)

### 1.2 Probiotiques

Ce sont des bactéries lactiques (**bifidobactéries, lactobacilles, lactocoques**) ou levures (**saccharomycètes**), non pathogènes, et non toxiques qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale. (Desmond et al 2005, Stiles et Holzapfel (1997)

### 1.3 Prébiotiques

Ce sont des substances alimentaires résistantes à la digestion et favorisent la croissance des bactéries intestinales qui induisent un effet bénéfique sur le microbiote intestinal et l'hôte. Exemples de prébiotiques, des oligosaccharides, des oligofructoses, des fructo-oligosaccharides et l'inuline. (Desmond et al., 2005) .

### 1.4 Son de blé :

Le son de blé est un sous produit du blé constitué essentiellement par les fibres par 42.72g et riche en Protéines 15.55 g Lipides 4.25 g Glucides 64.51 g c'est pour 100g du son de blé.

(LaNutrition.fr)

Le son de blé est un sous-produit des meuneries et est considéré comme une source riche de fibres alimentaires. L'arabinoxylane est le polysaccharide majeur suivi de l'amidon et de la cellulose.( Nandini, C.D et Salimath)

## ANNEXE 2 : Préparation des milieux de culture

---

### 2.1 Préparation le bouillon du M17

(M17= 37g/l)

Pour la préparation du 300ml du bouillon

37g  $\longrightarrow$  1000ml

Xg  $\longrightarrow$  300ml

$$X = \frac{37 \times 300}{1000}$$

X=11.1g

- on a pesé 11.1 g de poudre du M17 puis mélangé au volume d'eau du 300ml.
- on a homogénéisé le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant pendant 3min.
- le milieu est distribué dans des flacons en vue d'être stérilisé.
- La stérilisation du milieu se fait par autoclavage de 15-20min à 120C°.

### 2.2 Préparation la gélose du M17

(M17=55g)

Pour la préparation du 300ml du gélose

55g  $\longrightarrow$  1000ml

X g  $\longrightarrow$  300ml

X= 16.5g

- on a pesé 16.5 g de poudre du M17 puis mélangé au volume d'eau du 300ml.
- on a homogénéisée le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant (150C°) pendant 7min.
- le milieu est distribué dans des flacons en vue d'être stérilisé.

La stérilisation du milieu se fait par autoclavage de 15-20min à 121C°

### ANNEXE 3 : Principe de Coloration de Gram

---

Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, La coloration de Gram est une méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuschine (Gram -). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide, Cette coloration de Gram se réalise en 7 étapes:

On agite la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. Avec l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé (en le passant sous le bec benzène), on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de l'anse dans le tube à essai.

On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.

On procède à la fixation du frottis soit avec de l'éthanol à 90° (5 minutes) puis on enflamme la lame ou on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec benzène.

La lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.

Étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.

Verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée.

Sécher la lame sur flamme du bec benzène. Les bactéries Gram- sont colorées en rose ( **David H et al.,1994**).

## Résumé

Le terme de prébiotiques désigne des additifs ou des ingrédients alimentaires non digestibles qui affectent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et /ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries du côlon et stimule la prolifération des bactéries lactiques dans l'intestin pour améliorer la santé de leur hôte c'est-à-dire les prébiotiques qui nourrissent et stimulent la croissance des probiotiques.

Pour l'étude de l'effet prébiotiques des fibres alimentaires sur la multiplication des bactéries probiotiques (**Streptococcus thermophilus**) et les bactéries pathogènes (**Escherichia coli**). Nous avons évalué la croissance des deux bactéries dans des milieux qui contiennent des différentes concentrations de son de blé (5g/l, 10g/l, 15g/l).

En conclure que le son de blé est stimulée la multiplication bactérienne de **S.thermophilus** et **E.coli** c'est-à-dire il ya une relation positive entre la concentration du son de blé et la prolifération bactérienne.

**Les mots clé** : prébiotiques, probiotiques, Streptococcus thermophilus, Escherichia coli, son de blé.

## ملخص

الألياف الغذائية (**les fibres alimentaires**) هي إحدى مكونات الأغذية النباتية وطبيعتها غير قابلة للهضم عند الإنسان كما أن لها دور هام في عملية الهضم وذلك من خلال تغييرها لطبيعة الامتصاص للمواد المغذية الأخرى مما يسهل عملية دفع الطعام داخل الجهاز الهضمي خاصة في الأمعاء الغليظة وتساهم أيضا في تحفيز تكاثر البكتيريا النافعة بروبيوتيك (**les probiotiques**) داخل الجهاز الهضمي.

من اجل دراسة تأثير الألياف الغذائية على نمو البكتيريا قمنا بإجراء تجارب على بكتيريا نافعة (**Streptococcus thermophilus**) والأخرى ضارة (**Escherichia coli**) وذلك من خلال معاينة تكاثرهما بأوساط تحتوي على تراكيز مختلفة من النخالة (**son de blé**) (5غ/ل, 10غ/ل, 15غ/ل) وكننتيجة توصلنا إلى أن النخالة تحفز على تكاثر البكتيريا النافعة (**Streptococcus thermophilus**) وكذلك الضارة (**S.thermophilus, E. coli**).

**الكلمات المفتاحية**: الألياف الغذائية، النخالة، بروبيوتيك، بكتيريا نافعة (**Streptococcus thermophilus**)، بكتيريا ضارة (**Escherichia coli**).