REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie appliqué

Par :

LAMRANI Chaima , ALILAT Chaimaa

et

KHELIFATI Dhoha

Thème :

Etude des additifs pour une alimentation sans gluten

Soutenue publiquement le : 04/07/2023., Devant le jury composé de :

SELEM Sabiha	***Grade : MAA***	*UYFM*	*Président*
BOUBAKRI Kamel	***Grade : MAA***	*UYFM*	*Examinateur*
ZERGOUG Amina	***Grade : MCA***	*UYFM*	*Encadreur*
BOUHERAMA Amina	***Grade : MCB***	*USTHB*	*Co-Encadreur*
BELKACEM Riyad	***représentant de l'association de maladie cœliaque***		invité

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions Allah de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier, et de nous avoir donné le courage, la patience et la force pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercie cordialement notre promotrice madame ZERGOUG Amina docteur en micro biologie appliqué

Pour nous avoir fait l'honneur de diriger et d'encadrer cette étude, d'avoir accordé votre temps pour élaborer ce travail. Nos vifs remerciements pour votre compétence, aide précieuse, conseils critique, et votre remarque qui nous permet de mener à bien se travail.

Nous tenons à remercier profondément madame BOUHERAMA Amina docteur en d'avoir aidé et guidée ce projet permis parents vont encouragements et votre disponibilité d'entreprendre ce travail à distance. Ce fut pour nous un plaisir d'échanger avec vous tout au long de la réalisation du ce projet.

De votre confiance et votre critiquer nous a été créé précieux pour améliorer la qualité de travail.

Veuillez trouver ici le témoignage de reconnaissance de toutes nos estimations.

Ne souhaitons témoigner nos remerciements tout aussi sincères aux membres de jury Madame SALEM comme présidente et Monsieur BOUBEKRI examinateur du nous avoir honoré d'accepter juge et d'enrichir le travail par ces propositions.

Finalement, nous adressons nos chaleureux remerciements à nos familles, nos amies, et à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à L'accomplissement de ce travail.

Dédicaces

Maîtrise spéciaux dédicace revenant à mes très chère parents, mon père « LAMRANI Messoud » et ma mère «AMIROUCHE Ghania » , qu'ils ont été toujours à mes côtés merci pour m'avoir toujours soutenu encouragé dans mes choix pour leur générosité leur sacrifices toute au long de mes études sud vous êtes les piliers solides et incontournable pour ma personne est mon parcours, que Dieu te donne la santé et la langue de vie et vous protège merci, je vous aime beaucoup.

À ma sœur« Soumia »et mon frère «Mohamed Sedik » pour leur soutien indéfectible.

À mon cousin Mohamed Amine »et mes amis sans exception.

A tous ce qui n'ont apporté de l'aide de près ou de loin.

Merci à tous.

chaima

Dédicaces

C’est grâce à Dieu « الله », le tout puissant qui m’a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents «ALILAT Rabah » et «MOUSSI Zohra »

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présent. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A ma grand-mère « MOUSSI Hadda »

Merci d'avoir toujours été là pour me soutenir et m'encourager merci pour les valeurs que tu m'as transmises et ton amour merci d'être dans ma vie Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes chères sœurs « Roumaissa , Hadil , Maram »

En témoignage de mon profond respect et amour et de leur soutien moral et encouragements permanents. Avec toute mon affection fraternelle.

A mes chères ami (e)s

Merci pour les bons moments qu’on a passé ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité .

Chaimaa

Dédicaces

À ma maman, qui a supporté tous mes moments de stresse dans longues années études ; Et qui a toujours su trouver les mots pour me réconforter et me remotiver et encourager. Merci maman, je n'y serai jamais arrivé sans toi.

À mon papa, merci pour ta confiance et tes encouragements merci pour l'éducation que tu m'as apporté pour ton soutien.

À mon mari Billel, qui n'a cessé de m'encourager et de me motiver. Et qui a toujours su trouver des solutions à mes problèmes et à me sortir de mes galères. Merci, Tu es ma source de motivation.

A mon petit oiseau SIRADJ. Je t'aime mon fils.

Ma grand-mère et grand-père merci pour vos prières à moi.

A mon cher frère BIDJED et à mes chères sœurs CHIFAA et BOUHAISSA. JE t'aime.

A ma deuxième famille Mama Djamila et papa Mohammed qui a traversé toutes ces études avec moi ; merci.

JE Remercie tous mes famille KHELIFATI ; BOUHAMIDI et BELKACEM.

A mes amis de longue date IMENE et AMINA ; je t'aime.

Sans oublier mon trinôme CHAIMA et CHAIMAA.

Dhoha

Liste des tableaux

N°	***Titre***	***Page***
Tableau 01	Symptômes de la maladie cœliaque	04
Tableau 02	Distribution de la prévalence de la MC dans quelques pays d'Afrique du Nord et du Moyen Orient	*05*
Tableau 03	Prévalence de la maladie cœliaque dans quelques wilayas d' Algérien	06
Tableau 04	Sensibilité des tests sérologiques disponible pour la maladie cœliaque	12
Tableau 05	Fliments autorisé et interdit dans le régime sans gluten	*16*
Tableau 06	Féculent sans gluten en Algérie	20
Tableau 07	Liste des micro-organismes probiotiques	18
Tableau 08	Métabolisme antimicrobiennes de faible masse molaire secrétée par les bactéries lactique autres que les bactériocines	24
Tableau 09	Principaux critères utilisés pour la sélection des souches probiotiques	29
Tableau 10	Implication des différentes souches bactériennes en fonction des pathologies digestives	32
Tableau 11	classification des probiotiques selon mode d'action.	34
Tableau 12	Composition des groupes phylogénétiques du genre Lactobacillus	36
Tableau 13	Différentes espèces bifides d'origine humaine, animale ou environnementale identifiées	37
Tableau 14	Différents compléments alimentaire leur composition et leur domaine d'utilisation.	43
Tableau 15	Souches probiotiques utilisées.	46
Tableau 16	Souches de référence utilisées	46
Tableau 17	Liste des antibiotiques utilisé	60
Tableau 18	Programme de lyophilisateur	65
Tableau 19	Résultats de l'utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose	74
Tableau 20	Mise en évidence les résultats des troubles	75

Tableau 21	Mise en évidence les résultats de la mesure de la DO	75
Tableau 22	Inhibition in vitro des agents pathogènes par les souches lactobacillus	76
Tableau 23	Résultats de l'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène.	78
Tableau 24	Moyenne d'adhésion des souches sur microplaque	79
Tableau 25	Résultats de la production de slime par la méthode RCA.	80
Tableau 26	Adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales de colon d'un bovin	81
Tableau 27	Antibiogramme des trois souches de lactobacillus	83
Tableau 28	Résultats d'optimisation de température	85
Tableau 29	Résultats d'optimisation de Ph	86
Tableau 30	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) souche L1	88
Tableau 31	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) souche L2	89
Tableau 32	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) souche L3	90
Tableau 33	Résultats d'optimisation de matière première MRS	92
Tableau 34	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1).	*93*
Tableau 35	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F2)	*94*
Tableau 36	Résultats d'optimisation de matière première MRS	*95*
Tableau 37	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) M1	*97*
Tableau 38	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) M2	*98*
Tableau 39	Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2) M3	*99*

Liste des figures

N°	*Titre*	*Page*
01	Malabsorption des nutriments chez les maladies cœliaque	02
02	Différents problèmes de santé que peut provoquer la MC	03
03	Prévalence de la maladie cœliaque selon les pays	06
04	Mécanisme physiopathologique de la maladie cœliaque	07
05	Formule moléculaire de gluten	09
06	Comparaison entre une villosités normale et une atrophie villositaire	13
07	composition du gluten	14
08	Mécanisme d'action des bactériocines de bactéries lactiques	22
09	Mécanismes d'action des probiotiques	25
10	Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire	28
11	Lactobacillus reuteri au microscope électronique	36
12	bifidobactéries au microscope électronique	37
13	Saccharomyces au microscope électronique	48
14	organismes néfaste et bénéfique pour la santé	40
15	Parts du marché mondiales des probiotiques en revenu en 2016.	42
16	dilution décimale 10-3.	47
17	Revéfication des souches lactiques	48
18	étapes de repiquages des souches lactiques (méthode des quadrants)	49
19	Conservation a courte terme	49
20	Conservation à long terme	50
21	étapes de coloration de gram	51
22	Méthode de diffusion sur gélose par puits	55
23	Protocole d'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène	58
24	Mode opératoire d'antibiogramme.	61
25	Optimisation des déférents temperature	62
26	Optimisation de défèrent pH.	62

27	Optimisation de diffèrent concentration matière première (F1 / F2).	63
28	Optimisation de matière première (MRS).	63
29	Mélange des souches dans le F1 /F2.	64
30	Mélange des souches dans MRS	64
31	Mélange de matière premier (F1 /F2) et le mélange des souches lactiques.	65
32	Programme de lyophilisateur.	66
33	La congélation et la dessiccation.	66
34	Solution mère et leur dilution	67
35	Présence de trouble dans le bouillon MRS par rapport au témoin(-).	68
36	Aspect macroscopique des colonies cultivées sur milieu MRS solide.	68
37	Observation microscopique des souches lactiques à l'état frais	69
38	Observation microscopique (x100) de notre souche après coloration de Gram	69
39	Observation macroscopiques des colonies lactiques sur milieu MRS	70
40	Mise en évidence de la réaction gazeuse catalysée par l'enzyme Catalase .	70
41	Mise en évidence de l'enzyme cytochrome oxydase.	71
42	Résultats du test urease	71
43	Résultats du test d'indole.	72
44	Résultats du test de production d'acétoïne	72
45	Résultats du l'arginine dihydrolase (ADH)	73
46	Mise en évidence de la mobilité des souches avec fermentation du mannitol	74
47	Résultats de l'utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose .	74
48	Mise en évidence la Croissance du nos douches sur milieu hyper salé	76
49	Mise en évidence de l'activité antibactérienne e par le test diffusion sur gélose.	77
50	Résultats de l'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène	78
51	Capacité d'adhésion des souches Lactobacillus sur la microplaque en polystyrène.	79
52	Résultats de la production de slime par la méthode RCA	80
53	Adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales de colon d'un Bovin.	81

54	Mise en évidence la résultat d'adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales .	82
55	Illustre l'expression phénotypique de l'antibiogramme	83
56	Optimisation de temperature	87
57	Optimisation de Ph	87
58	Optimisation de matière première F1	91
59	Optimisation de matière première F2	91
60	Optimisation de MRS bouillon	92
61	Optimisation de matière première féculents (F1)	96
62	Optimisation de matières premières féculentes (F2)	96
63	Optimisation de matière première MRS	96
64	Optimisation de matière première féculents (M1)	100
65	Optimisation de matière première féculents (M2	100
66	Optimisation de matière première féculents (M3)	101
67	Mise en évidence les résultats de lyophilisation	102

Liste des Abréviations

MC : La maladie cœliaque

ATB : Antibiotique

E. coli : Escherichia-coli

MRS : Milieu De Man, Rogosa et Sharpe

OMS : Organisation mondiale de la santé

TSB : bouillon tryptone soja aussi appelé gélose trypto-caséïne soja

‰ : pour mille

Anti TGt : anticorps anti transglutaminase

DGP : anti-peptide de gliadine désaminé

RSG : régime sans gluten

IgA : Immunoglobuline de type A.

IgG : Immunoglobuline de type G.

DGP : Anticorps anti-peptide désaminé de la gliadine

ESPGAN : la Société Européenne pour la gastroentérologie et la Nutrition Pédiatriques

HLA : Antigène leucocytaire Humain

ARN : Acide ribonucléique

ADN : Acide désoxyribonucléique

FAO : organisation des nation unies pour l'alimentation et l'agriculture

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

WHO : World Heath organization

CAGR : Compound annual growth rate

Résumé

Les proboitiques sont en fait des micro-organismes vivants qui ont le potentiel d'être utilisés comme méthode thérapeutique pour une variété de troubles qui affligent le tractus gastro-intestinal. La maladie cœliaque, un exemple bien connu de maladie auto-immune chronique, fait partie des affections pouvant bénéficier de ce traitement.

Afin de résoudre le problème, trois souches lyophilisées, à savoir L1, L2 et L3, ont été extraites à l'aide de milieu MRS sélectif.

Afin de sélectionner les souches, nous avons effectué une étude de caractéristiques morphologiques, et physiologiques, des tests d'adhésion pour évaluer leur interaction avec les cellules épithéliales, évalué leur activité antibactérienne, testé leur sensibilité aux antibiotiques et optimisé diverses conditions physiques et chimiques, et de matière première. De plus, nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'impact de la combinaison de différentes souches.

Sur la base des résultats de notre étude, on peut conclure que le nombre moyen de cellules qui adhèrent aux cellules épithéliales est de 19 cellules , ce qui indique une forte capacité des cellules souches à adhérer.

Néanmoins, les résultats des tests d'activité antibactérienne suggèrent que ces bactéries présentent un impact inhibiteur robuste sur les microorganismes pathogènes, comme en témoigne une mesure de diamètre de Zi supérieure à 13 mm.

Une sensibilité envers les B-lactamine ,est largement rapportée pour ce groupe bactérien.Ainsi que les 3 souches, résistent au [Céfoxitine/ Gentamicine].

Grâce au processus d'optimisation de diverses variables physiques et chimiques, il a été déterminé que la température idéale pour les trois souches est de 37 ° C, tandis que le niveau de pH optimal est de 5,4. De plus, en ce qui concerne la matière première de soja/millet, la concentration la plus efficace est de 0,4 g/I.

La croissance optimale est déterminée par la DO de 2,405, largement considérée comme la plus favorable.

Mots clés : proboitiques , féculents , cœliaque, Optimisation , épithélium , compliment

Abstract

Probiotics are actually live microorganisms that have the potential to be used as a therapeutic method for a variety of disorders that afflict the gastrointestinal tract. Celiac disease, a well-known example of a chronic autoimmune disease, is among the conditions that may benefit from this treatment.

In order to solve the problem, three freeze-dried strains, namely L1, L2 and L3, were extracted using selective MRS medium.

In order to select the strains, we carried out a study of morphological and physiological characteristics, adhesion tests to evaluate their interaction with epithelial cells, evaluated their antibacterial activity, tested their sensitivity to antibiotics and optimized various physical and chemical conditions, and raw material.

Additionally, we focused on studying the impact of combining different strains. Based on the results of our study, it can be concluded that the average number of cells that adhere to epithelial cells is 19 cells, indicating a strong ability of stem cells to adhere.

Nevertheless, the results of antibacterial activity assays suggest that these bacteria exhibit a robust inhibitory impact on pathogenic microorganisms, as evidenced by a Zi diameter measurement greater than 13 mm.

Sensitivity to B-lactams is widely reported for this bacterial group as well as the 3 strains; they are resistant to [Cefoxitin/ Gentamicin].

Through the process of optimizing various physical and chemical variables, it was determined that the ideal temperature for the three strains is 37°C, while the optimum pH level is 5.4. Moreover, regarding soybean/millet raw material, the most effective concentration is 0.4 g/l.

Optimum growth is determined by the OD of 2.405, widely considered the most favorable.

Key words: probiotics, starches, celiac, optimization , epithelium , supplement .

الملخص

البروبيوتيك proboitique هي في الواقع كائنات دقيقة حية لديها القدرة على استخدامها كطريقة علاجية لمجموعة متنوعة من الاضطرابات التي تصيب الجهاز الهضمي. يعد مرض الاضطرابات الهضمية ، وهو مثال معروف لأمراض المناعة الذاتية المزمنة ، من بين الحالات التي قد تستفيد من هذا العلاج.

من أجل حل المشكلة ، تم استخلاص ثلاث سلالات مجففة بالتجميد ، وهي L1 و L2 وL3 ، باستخدام وسط MRS الانتقائي. من أجل اختيار السلالات ، أجرينا دراسة للخصائص المورفولوجية والفسيولوجية ، واختبارات الالتصاق لتقييم تفاعلها مع الخلايا الظهارية ، وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ، واختبار حساسيتها للمضادات الحيوية وتحسين الظروف الفيزيائية والكيميائية المختلفة ، والمواد الخام. بالإضافة إلى ذلك ، ركزنا على دراسة تأثير الجمع بين السلالات المختلفة.

بناءً على نتائج دراستنا ، يمكن الاستنتاج أن متوسط عدد الخلايا التي تلتصق بالخلايا الظهارية هو 19 خلية ، مما يشير إلى قدرة الخلايا الجذعية القوية على الالتصاق.

ومع ذلك ، تشير نتائج فحوصات النشاط المضاد للبكتيريا إلى أن هذه البكتيريا تظهر تأثيرًا مثبطًا قويًا على الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض ، كما يتضح من قياس قطر Zi أكبر من 13 مم.

تم الإبلاغ عن الحساسية تجاه B-lactam على نطاق واسع لهذه المجموعة البكتيرية ، بالإضافة إلى السلالات الثلاث ، فهي مقاومة لـ[Cefoxitin / Gentamicin]

من خلال عملية تحسين المتغيرات الفيزيائية والكيميائية المختلفة تم تحديد أن درجة الحرارة المثالية للسلالات الثلاثة هي 37 درجة مئوية ، بينما مستوى الأس الهيدروجيني الأمثل هو 5.4. علاوة على ذلك ، فيما يتعلق بالمواد الخام لفول الصويا / الدخن ، فإن التركيز الأكثر فعالية هو 0.4 جم / لتر.

يتم تحديد النمو الأمثل بواسطةDO البالغ 2.405 ، والذي يعتبر على نطاق واسع الأكثر ملاءمة

الكلمات المفتاحية بروبيوتيك ، نشويات ، الاضطرابات الهضمية ، التحسين ، الخلايا الظهارية , مكمل.

Sommaire

Partie : 01 Synthèse bibliographique	
Chapitre I : La maladie cœliaque et régime sans gluten	
I.1. LA MALADIE COELIAQUE	01
I.1.1. Présentation de la maladie	01
I. 1.1.1. Historique	01
I. 1.1.2. Définition	02
I.1.1.3. Symptômes	03
I.1.2. Epidémiologie	04
I.1.2.1. Incidence	04
I.1.2.2 Prévalence	05
I.1.3 présentation Clinique	07
I.1.3.1. Mécanisme physiopathologique	07
I.1.3.2. Les formes de la maladie et les caractérisations.	08
I.1.4 Facteur de l'apparition.	09
I.1.4.1 Facteurs environnementaux	09
I.1.4.2 Facteur génétique	09
I.1.4.3 Autres facteurs	10
I.1.5 Test diagnostic	11
I.1.5 .1 Diagnostic sérologique	11
I.1.5 .2 Diagnostic histologique	12
I.1.6. Traitement de la maladie cœliaque	13
I.2 RÉGIME SANS GLUTEN	14
I.2.1 définition et avantages	14
I.2.1.1. Le gluten	14
I.2.1.2. Le régime sans gluten	14
I.2.1.3. Les avantages d'un régime sans gluten	15
I.2.2 Limite de régime sans gluten	16
I.2.3 les féculents sans gluten	17
I.2.4 les féculents sans gluten en Algérie	17

Chapitre II : Aperçu sur les probiotiques	
II .1. Définition et historique des probiotiques	19
II .2. Mécanisme d'action	20
II .2. 1 La compétition nutritionnelle et pour l'espace (l'exclusion compétitive)	20
II .2. 2 Renforcement de la fonction barrière	21
II .2. 3 La production des enzymes pour l'amélioration de la digestibilité	21
II .2. 4 Simulation de l'activité immunitaire (immunumodilation)	21
II .2. 5 La production des composes antimicrobiens.	21
II .2. 5.1 La production des bactériocines	22
II .2. 5.2. Les acides organiques	22
II .2. 5.3. Le peroxyde d'hydrogène	23
II .2. 5.4. Dioxyde de carbone	23
II .2. 5.5 Les diacetyl	23
II .2. 5.6. Les antibiotiques	24
II .2. 5.7. Phages lactiques	25
II .2. 5.8. Biosurfactants	25
II .3. Propriété de sélection et production des probiotiques	26
II .3. 1. Critères de la sécurité	26
II .3. 1.1. Origine	26
II .3. 1.2 Identification : (phénotypique et génotypique)	26
II .3. 1.3. Innocuité et la résistance aux antibiotiques	26
II .3. 2. Les critères fonctionnels	27
II .3. 2 .1. L'activité antimicrobienne	27
II .3. 2 .2. L'adhésion aux cellules épithéliales.	27
II .3. 2 .3. Tolérance aux activités gastriques	27
II.3.2.3.1. Tolérance au pH gastrique	27
II.3.2.3.2 Tolérance au la bile	27
II .3. 2 .4 Immun modulation	28
II .3. 2. Critères technologique	28
II .4. Effets des probiotiques	29

II .4.1. Effets bénéfiques associés aux probiotique	29
II .4.1.1. Effets nutritionnelles	29
II .4.1.2. Effets sante (Domain thérapeutique)	30
II .4.2. Effets indésirable	32
II .4.2.1. Effets métaboliques	33
II .4.2.2 La translocation bactérienne	33
II .4.2.3 Effets indésirables immunologiques	33
II .4.2.4 Transfert de gènes de résistance	33
II .5. Classification	33
II.5.1. Classification basée sur le mode d'action	34
II.5.2. Classification basée sur le genre et l'espèce et la souche	34
II .5.1. Les bactéries lactiques	35
II .5. 2. 1.1 Les lactobacilles	35
II .5. 2.1.2 . Les bifidobactéries	37
II .5. 2 Les levures type saccharomyce	38
II .5. 3 Autres bactéries :	38
II .6. La présence des bactéries lactiques dans la microflore intestinale et vaginale.	39
II .6.1. Dans l'intestin	39
II .6.2. Dans le vagin	41
II .7. Les produits existants sur le marché a base des probiotiques	41

PARTIE 02 : partie expérimentale	
Chapitre III : MATERIL ET METHODS	
III.1. Lieu et objectif de l'étude	45
III.2. Matériel	45
III. 2.1. Matière vegetal	45
III. 2.2. Matériel non biologique	45
III. 2.3. Matériel biologique.	45
III.2.3.1. La nature et l'origine des souches utilisées	45
III.2.3.1.1 souches bactériennes lactiques	45
III.2.3.1. 2 Souches bactériennes de référence.	46
III.3 Méthodes	46
. III 3.1 Sélection des souches proboitique	46
III.3. 1.1. Préparation de la solution mère:	47
III .3. 1.2. Préparation des dilutions décimales	47
III.3. 1.3. Enrichissement	47
III.3.1. 4. Isolement et la purification des souches lactiques	48
III.3.1. 5. Conservation des souches	49
III.3.1.6. Conservation à courte durée	49
III.3.5.2. Conservation à longue durée	50
III.4. Critères morphologiques	50
III.4.1. Caractérisation macroscopique	50
III.4.2. Caractéristique microscopique	52
III.4.3. Observation microscopique à l'état frais	52
III.4.4. Test physiologique	52
III.4.4.1. Test catalase	52
III.4.4.2.Test oxidase	52
III.4.4.3. La recherche de l'uréase et la mise en évidence de la production d'indole	53
III.4.4.4. Test de production d'acétoïne	53
III.4.4.5. Test de mise en évidence de l'arginine dihydrolase (ADH)	53

III.5. Test de fermentation des sucres.	54
III.5.1. Mannitol mobilité:	54
III.5.2. Utilisation des sucres : glucose, lactose, saccharose	54
III.6.Croissance sur milieu hyper salé	54
III..7. Etude de l'activité antibactérienne	55
III.7.1. Méthode de diffusion sur gélose par puits	55
III.8. Capacité de formation de biofilm	56
III.8.1. Adhésion des souches sur microplaques de polystyrène)	56
III.8.2. Adhésion aux cellules épithéliales	58
III.8.2 La détection par la méthode de Rouge Congo agar (RCA)	59
III.9. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	59
III.10. L'optimisation	62
III.10.1.Optimisation de temperature	62
III.10.2.Optimisation du pH	62
III.10.3.Optimisation de matière première le F1 et F2	63
III.10.4.Optimisation de matière première de milieu MRS	63
III.10.5.Effet de combinaison	64
III.11 La lyophilisation	65
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1. Sélection des souches proboitique	67
IV.1. 1. Préparation de la solution mère et dilution	67
IV.1. 2. Caractérisation phénotypique des isolats	67
IV.1.2.1 Aspect macroscopique	68
IV.1.2.2.Observation microscopique à l'état frais	69
IV.1.2.3 .Observation microscopique coloration de Gram	69
IV.1.2.4. Isolement et la purification des souches lactiques	70
IV.1.3. Caractérisation biochimique des isolats	70
IV.1.3.1 .Test catalase	70

IV.1.3.2. Test oxydase	71
IV.1.3.3.La recherche de l'uréase et la mise en évidence de la production d'indole	71
IV.1.3.4. Test de production d'acétoïne	72
IV.1.3.5. Test de mise en évidence de l'arginine dihydrolase (ADH)	73
IV.2. Test de fermentation des sucres	73
1V.2.1. Mannitol mobilité	73
1V.2.2. Utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose	74
IV.3. Croissance sur milieu hyper salé	75
1V.4. Etude de l'activité antibactérienne	76
1V.4.1. Méthode de diffusion sur gélose par méthodes des puits	76
1V.5.Capacité de formation de biofilm	77
1V.5.1. Adhésion des souches sur microplaques de polystyrène	77
1V.5.2. La méthode de culture sur rouge Congo agar (RCA)	80
IV.5.3. Adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales	81
IV.6. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	82
IV.7.Optimisation	84
IV.7.1. Optimisation de température :	85
IV.7. 2.Optimisation du pH	86
IV.7.3. Optimisation de matière première féculents (F1 / F2)	88
IV.7.4.Optimisation de matière première MRS	92
IV.8. Effet de combinaison	93
1V.9 La lyophilisation	101

Introduction

Les pathologies du système digestif représentent encore à ce jour un réel problème de santé publique, tant par leurs l'impact sur le mode de vie des patients, prévalences et, que par leur prise en charge diagnostique et thérapeutique à l'heure où le système de santé publique est marqué par un lourd déficit. (Elyes K,2015).

Le microbiote intestinal, sa composition, ses différents rôles, mais également son impact sur la santé est de mieux en mieux connus. Le dialogue des bactéries commensales avec son hôte est indispensable et lorsque l'équilibre vacille cela peut déclencher l'apparition de certaines maladies. (Johanna Poli,2020).

Les différentes pathologies digestives sont exprimées par les diarrhées post-infectieuses et post-antibiothérapie, la constipation, maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI), Syndrome de l'Intestin Irritable (SII), Syndrome du grêle courte de maladie cœliaque.

La maladie cœliaque est considérée actuellement comme l'une des maladies gastro-intestinales les plus fréquentes. Avec un prévalence de 20% des cas dans le monde, Elle est très répandue dans les pays européens avec une prévalence entre 0,1 et 3,3% et semble aussi élevée en Afrique du nord avec 1,4% (CLOT et al., 2001 ; DENERY-PAPINI et al., 2001). Les seules données disponibles sont celles de BOUDRAA et al., (1996), pour la ville d'Oran, annonçaient une incidence moyenne sur une période de 20 ans de 20% naissances vivantes et, en fin de l'année 1994, une prévalence de 21,1% chez des enfants de moins de 15 ans (Benatlallah.L,2009).

Il est connu que le traitement de la maladie cœliaque est diététique et repose sur l'exclusion du gluten contenu dans certaines céréales essentiellement le blé, le seigle et l'orge, cependant plusieurs études *in vitro* ont mentionné le lien direct entre la consommation des compléments alimentaire sous la dénomination de« probiotiques», et la réduction de taux de cette intolérance au gluten.

L'administration de Lactobacillus rhamnosus GG et Lactobacillus casei va restaurer l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale grâce aux capacité à hydrolyser la gliadine à l'aide de peptidases mais aussi grâce à son action directe de protection des cellules épithéliales,

l’administration orale de Saccharomyces boulardii KK1 chez des souris va permettre de diminuer la production de cytokines pro-inflammatoires, d’hydrolyser l’alpha-gliadine et ainsi de diminuer les symptômes de la maladie ,Les effets nocifs exercés par la gliadine peuvent être bloqués par la supplémentation en Bifidobacterium lactis puisque ce probiotique va pouvoir protéger la muqueuse et accélérer son rétablissement (D’Arienzo R,2011).

En Algérie, les cœliaques souffrent d’un manque dans la diversité (riz et mais) et de disponibilité d’aliments destinés à la consommation sans gluten. Les aliments diététiques commercialisés sont pour la plupart importés et coûtent que ceux habituellement consommés. De façon globale, les besoins spécifiques des malades cœliaques sont faiblement couverts par les produits qui circulent dans le marché algérien, de plus l’alimentation sans gluten strict présente beaucoup des complication digestifs surtout et des carences associées.

Cela, ce qui a fait un intérêt pour incorporer des souches bactériennes bénéfiques dans les aliments sans gluten et de diversifie la gamme de produit utilisée, en introduire des nouveaux féculents locaux, dans le but d'améliorer l'état de nos cœliaques.

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présence de cette étude On y distingue trois parties :

La première partie s’appuie sur une partie bibliographique concernant des généralités sur la maladie cœliaque, le régime sans gluten, et un aperçu sur les probiotiques.

La deuxième partie fera la lumière sur la stratégie utilisée dans notre étude.

La dernière partie servira à exposer les résultats de notre étude et à la discussion de ces résultats suivie par une conclusion générale et perspectives.

Partie 01 :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : La maladie cœliaque et régime sans gluten

I.1 La maladie cœliaque.

I.1.1 Présentation de la maladie

I. 1.1.1. Historique

Le terme cœliaque vient du grec KOLIAKOS qui signifie littérairement souffrance dans les intestins **(Husby et al, 2012).** ; La première description de la maladie cœliaque date de la deuxième moitié du IIème siècle après Jésus christ, par Aretaeus de Cappadocia, dont les écrits furent traduits du grec et édité par Francis Adams en 1856

En 1888, le médecin britannique Samuel GEE est généralement considéré comme le premier auteur à décrire la maladie coeliaque dans son célèbre article "On the Celiac Affect", publié dans les Reports of St. Bartholomew's Hospital **(Marsh MN., 1992) .**

En 1950, le pédiatre néerlandais Willem Dick a officialisé le lien entre la consommation de produits céréaliers et les manifestations de la maladie. Il a identifié une protéine comme déclencheur : le gluten. Il fut le premier à constater une amélioration de la santé des jeunes enfants malades dont l'alimentation manquait de blé **(Kamer et al., 1953)**

Biopsie intestinale utilisant des capsules Crosby de 1957 pour mettre en évidence les modifications histologiques de la muqueuse intestinale Biopsies intestinales utilisant des capsules Crosby de 1957 pour mettre en évidence l'histologie intestinale Muqueuse intestinale **(Sakula et Shiner, 1957).**

À partir de 1970, la découverte d'anticorps sériques contre le gluten et les enzymes endogènes a permis de déterminer le caractère auto-immun de la MC **(Dieterich et al., 1997).**

Grâce à des tests sérologiques et des études épidémiologiques dans les années 1990, la communauté scientifique a établi que la MC, longtemps considérée comme une maladie rare des nourrissons, est une maladie beaucoup plus fréquente qu'initialement signalée et peut se présenter à tout âge (**Catassi et al., 1994; Rostom et al., 2006)**

.

I. 1.1.2. Définition

La maladie cœliaque (MC) est définie selon ESPGAN (la Société Européenne de pédiatre gastroerologie , hépatologie et nutrition) comme une entéropathie auto-immune secondaire à l'ingestion de gluten chez des patients génétiquement prédisposé (HLA –DO2 ou DQ8) **(Roujon N et al.,2013).**

Cette maladie est caractérise par une inflammation chronique de l'intestin grêle qui conduire une inhibition des villosités et une augmentation des lymphocytes intraépithéliaux entraînant une altération de la fonction digestive et une malabsorption intestinale **(Micic D et al .2019) .**

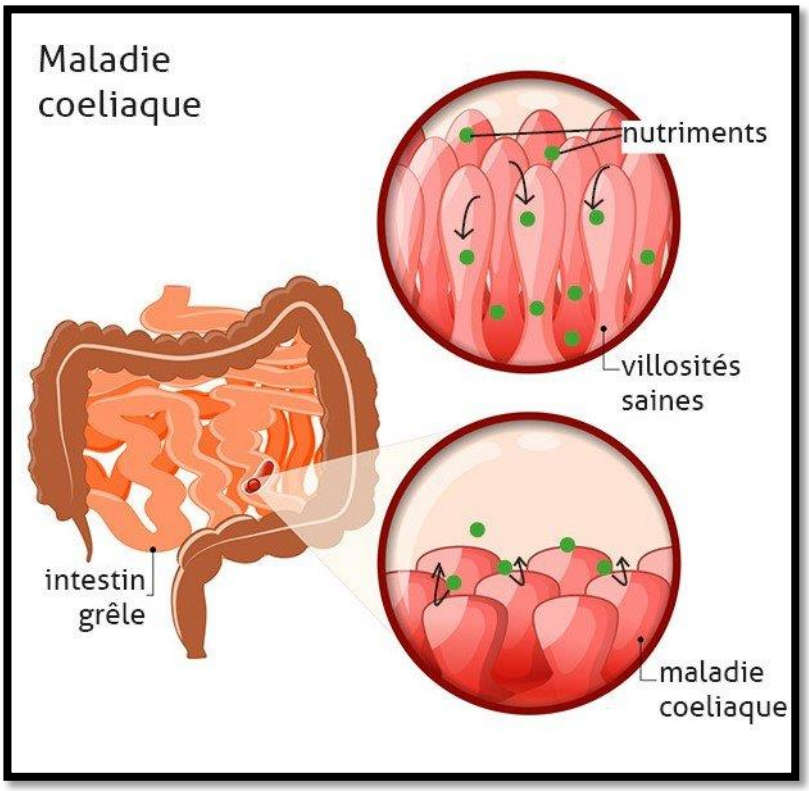


Figure 01 : Malabsorption des nutriments chez les maladies cœliaque **(Zerbib et Belleannée ,2018).**

I.1.1.3. Symptômes

MC est une maladie auto-immune avec un large éventail de manifestations cliniques, allant des manifestations typiques du système digestif telles que la diarrhée et les douleurs abdominales aux manifestations immunitaires et aux modifications de la muqueuse intestinale **(Agar et al.2017)**.

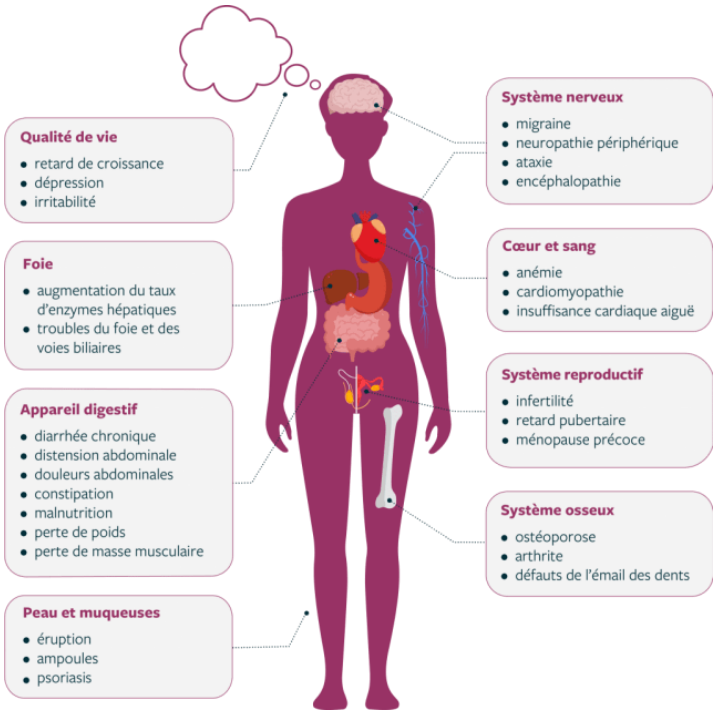


Figure 0 2: Différents problèmes de santé que peut provoquer la MC **(Trivin, Cellier .2001)**

Chez les enfants, les symptômes peuvent s'émarrer au stade de nourrisson ou au cours de la petite enfance, à l'introduction de céréales. Des bénéfices nutritionnels moindres secondaires à la malabsorption de la maladie cœliaque peuvent entraîner d'autres symptômes, qui sont plus prononcés chez les enfants. Certains enfants ne présentent que de légers troubles gastriques, tandis que d'autres développent un ballonnement abdominal douloureux, et ont des selles abondantes de couleur claire, amaigrissement et asthénie, inhabituellement malodorantes **(Atenodoro R ,2021).**

Les adultes peuvent avoir des symptômes digestifs. La plupart des adultes atteints présentent une faiblesse et une perte d'appétit. Certaines personnes sont dénutries, présentent

une perte de poids léger et une anémie, ou des plaies buccales et une inflammation de la langue **(Atenodoro R ,2021).**

Tableau 01 : Symptômes de la maladie cœliaque**. (Feighery. 1999)**

	Symptômes
Petit enfance<2ans	diarrhée ; Distension abdominale ; Retard de croissance ; Anorexie ; vomissements Déficience psychomotrice .
Enfance	Diarrhée ou constipation, Anémie, Perte d'appétit (petite taille, ostéoporose)
L'âge adulte	Diarrhée ou constipation, Anémie, ulcères aphteux, langue et bouche douloureuses (ulcères de la bouche, glossite, stomatite), Dyspepsie, douleurs abdominales, ballonnements (perte de poids), Fatigue, infertilité, symptômes neuropsychiatriques (anxiété, dépression) Douleur osseuse (ostéoporose), Faiblesse (myopathie, neuropathie

I.1.2 Epidémiologie

Un certain nombre d'études récentes ont montré que la maladie coeliaque est l'une des maladies chroniques les plus courantes affectant les humains dans de nombreuses régions du monde.**(Rostami et Villanacci, 2009).**

I.1.2.1. Incidence

Des incidences proches de celle de l'Europe ou des Etats-Unis sont retrouvées en Afrique du Nord, au Moyen-Orient ou en Inde. En revanche la maladie cœliaque est quasiment inconnue en Asie du Sud Est et en Afrique Noire. La maladie cœliaque a deux pics de fréquence, avec une révélation soit dans l'enfance ou à l'âge adulte entre 20 et 40 ans. Par ailleurs la maladie cœliaque est deux à trois fois plus fréquente chez la femme **(Marie-Anne Bigare ,2016)** .

Il y a eu une augmentation marquée du nombre de nouveaux cas de maladie cœliaque, en raison de meilleurs outils de diagnostic et d'un dépistage approfondi chez les individus à haut risque de développer la maladie **(Ditah et al., 2015) .**

I.1.2.2 Prévalence

La prévalence de la MC, le nombre de cas présents dans la population, a considérablement changé. Les estimations sont de 1% en Europe, aux États-Unis, en Australie et en Argentine, contre environ 1 sur 1 000 aux États-Unis il y a 40 ans. La MC n'est plus une maladie rare ou simplement une maladie européenne, mais un problème de santé publique. **(Carlo Catassi et al., 2015).**

En Europe, la prévalence de la MC varie selon les pays. Il atteint un maximum de 2 à 3 % en Finlande et seulement 0,2 % en Allemagne. Au niveau mondial, le pourcentage est plus élevé : Finlande (2-3%), Sahara occidental (5,6%) et Mexique (1,5-3,5%). En Afrique subsaharienne et dans d'autres pays asiatiques, la prévalence de la MC est plus faible que dans les pays occidentaux, même si le gradient nord-sud de déclin de la prévalence mondiale de la MC est de moins en moins prononcé, d'autant plus que son augmentation est observée en Inde (plus supérieur à 1 %) et certains pays d'Amérique latine **(Carlo Catassi et al., 2015).**

D'autres études épidémiologiques dans les pays en développement ont montré des prévalences qui se chevauchent, en particulier en Afrique du Nord et au Moyen-Orient **(Lionetti. 2011).**

Tableau 02 : Distribution de la prévalence de la MC dans quelques pays d'Afrique du Nord et du Moyen Orient. **(Lionetti.2011)**

	Région	**Prévalence**
Afrique du nord	Algérie (sahara)	5.6%
	Libye	0.79%
	Tunisie	0.6%
	Egypte	0.53%
Moyen orient	Iran	0.88%
	Inde	0.6%
	Turquie	0.7%

En Algérie la prévalence reste toujours méconnue, les informations fournies sont celles de Boudraa et al (2008) qui ont parlé de la prévalence dans l'est Algérien (Tableau1).

Dans l'Est algérien, la prévalence de la maladie cœliaque en 2003 était de 1,4‰ Guelma, 1,7‰ à Mila , 0,88‰ à Khenchla **(Benatallah, 2009).**

A Oran, la prévalence de la maladie cœliaque symptomatique, au 31 décembre 2007, pour des enfants de moins de 15 ans était de 1,09‰ **(Boudraa et al., 2008).**

Tableau 03: Prévalence de la maladie cœliaque dans quelques wilayas d' Algérien **(Boudraa et al., 2008 ; Benatallah, 2009).**

Wilaya	Prévalence
Guelma	1,4‰
Mila	1,7‰
Khenchla	0,88‰
Oran	1,09‰

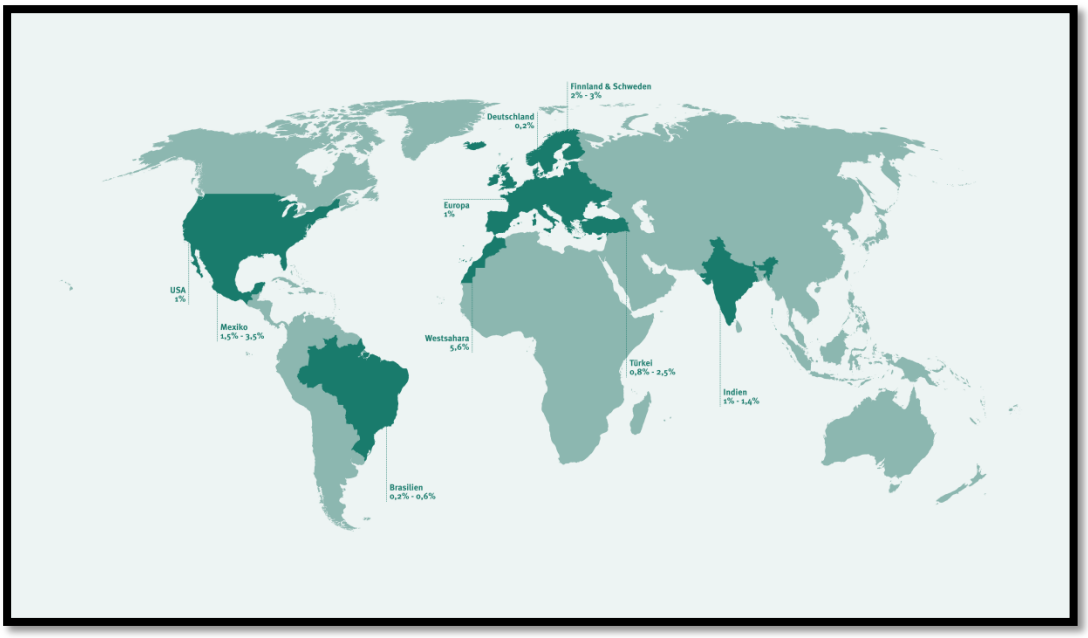


Figure 03 : Prévalence de la maladie cœliaque selon les pays **(Catassi C et al , 2014).**

I.1.3 présentation clinique

I.1.3.1. Mécanisme physiopathologique :

La maladie cœliaque est une maladie auto-immune déclenchée par la consommation de gluten chez des individus génétiquement prédisposés. Elle se caractérise par une réponse immunitaire anormale contre les cellules tapissant l'intestin, entraînant une inflammation et des lésions des villosités intestinales **(Amour et al ,2019).**

Le gluten est une protéine qui est résistante à la digestion et qui est présente dans de nombreux aliments, notamment le blé, l'orge et le seigle.

Chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque, le gluten est reconnu comme une substance étrangère, ce qui déclenche une réponse immunitaire. Cette réponse immunitaire entraîne la production d'anticorps contre le gluten, ainsi que la production de cytokines inflammatoires, qui endommagent les cellules de la muqueuse intestinale**. (Maureen . Brintha ,2017).**

Lorsque la muqueuse intestinale est endommagée, les villosités intestinales responsables de l'absorption des nutriments de l'intestin grêle rétrécissent. Cela peut entraîner une malabsorption des nutriments, notamment des vitamines, des minéraux et des graisses, entraînant des carences en nutriments et des problèmes de santé connexes. **(Rostami et al 2017)**.

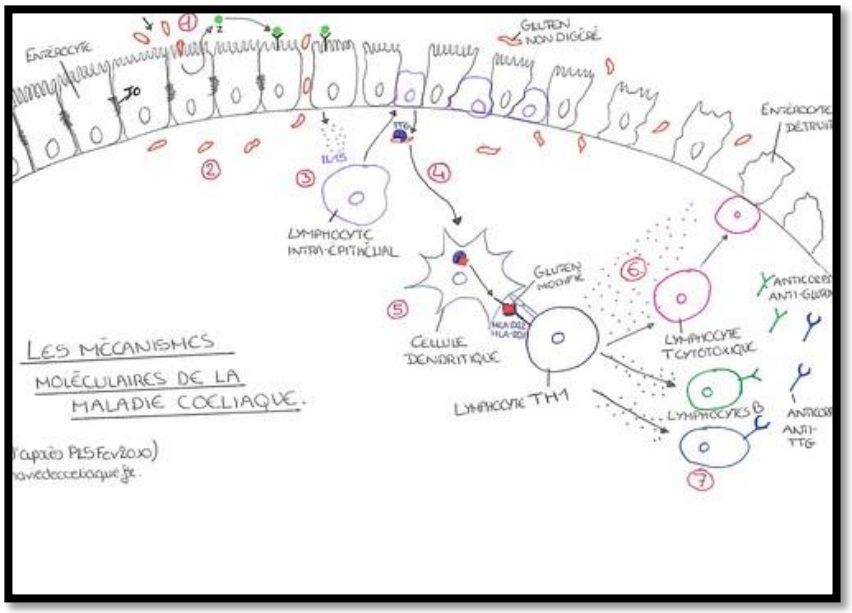


Figure 04 : Mécanisme physiopathologique de la maladie cœliaque **(Audia et al .2018).**

I.1.3.2. Les formes de la maladie et les caractérisations.

Quatre formes de MC ont été identifiées

1/ Forme symptomatique :

Elle comprend deux types de formes :

- **Forme typique :** La maladie se présente comme une entéropathie sévère avec syndrome de malabsorption et symptômes cliniques typiques (diarrhée, ballonnements, etc.) **(Cellier C et al , 2006).**
- **Formes atypiques :** Elles représentent la majorité des patients diagnostiqués chez l'adulte, soit plus de 80% des cas. Des symptômes gastro-intestinaux légers ou des symptômes extradigestifs peuvent conduire à un diagnostic de maladie cœliaque **(CHRONIQUE, 2018).**

2/ Forme asymptomatique (silencieuse) :

Une sérologie positive et une atrophie villositaire plus ou moins sévère sont les caractéristiques déterminantes de cette forme. Cliniquement, elle se présente comme complètement muette. **(SALMA et al 2019)** .

3/ forme latente :

La maladie cœliaque active n'est pas observée chez les personnes atteintes de cette forme, malgré des anticorps sériques positifs pour la maladie et des biopsies intestinales normales. Il est important de noter que les personnes atteintes de cette forme ont un risque accru de développer la maladie coeliaque plus tard. **(Gargouriet al , 2017)**

4/ Forme réfractaire :

Après un an d'adhésion à un régime rigoureux sans gluten, la persistance de l'atrophie villositaire et du syndrome de malabsorption est une caractéristique déterminante. **(Singlaet al ,2016) .**

I.1.4 Facteur de l'apparition.

I.1.4.1 Facteurs environnementaux

Le gluten est une substance composée de deux protéines différentes appelées « gliadine » et « gluténine ». Mélangées avec de l'eau, ces protéines se combinent pour former le gluten **(Watson, 2017)** .

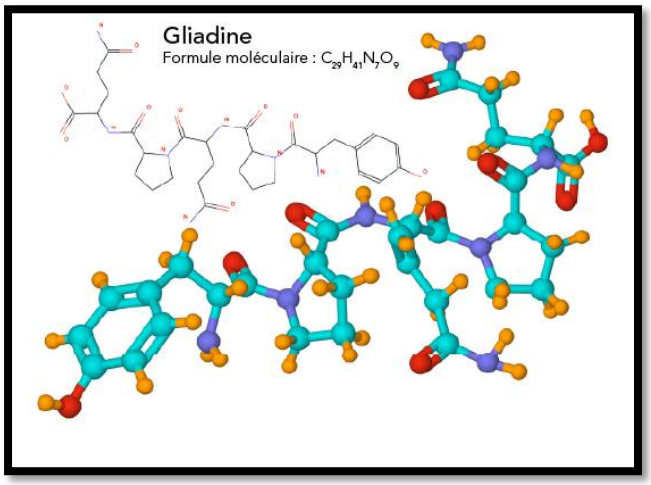


Figure 05 : formule moléculaire de gluten **(Watson, 2017) .**

L'agent exogène est le gluten, composant protéique des farines de blé, de seigle, d'orge et d'avoine. Les produits toxiques au cours de la MC sont les fractions prolamines de gluten : gliadines (blé), sécalines (seigle), hordéines (orge) (avoine) Les fragments immun géniques sont caractérisés par leur richesse en glutamine et en proline .

Ces acides aminés confèrent une résistance à la dégradation enzymatique d'une part (polypeptides riches en proline) et forme un substrat idéal pour la désamination par la transglutaminase tissulaire (polypeptides riche en glutamine) **(BOUKEZOULA S et DJAMAA, 2016)**

I.1.4.2 Facteur génétique

Pour que la maladie cœliaque afflige un individu, il doit d'abord porter la molécule du système HLA de classe II, en particulier DQ2 ou DQ8. Cette molécule peut être trouvée sur les cellules qui présentent des antigènes, notamment les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B. Cependant, les porteurs HLA ne sont pas assurés de développer la maladie cœliaque ; c'est simplement une condition préalable nécessaire. Fait

intéressant, plus de 90 à 95 % des patients atteints de MC sont porteurs de HLA DQ2, les 5 à 10 % restants étant porteurs d'une variante différente. La prédisposition à HLA DQ8 s'applique à environ 30 à 40 % de la population générale, ce qui rend sa valeur prédictive positive faible. Cependant, si on n'a pas HLA DQ2/HLA DQ8, sa valeur prédictive négative est de 100 **%.(Green et al , 2015) (Gargouri et al ,2017) .**

I.1.4.3 Autres facteurs

D'autres facteurs exogènes sont impliquées dans la pathogénie de la MC telle que :

- les médicaments qui peuvent jouer un rôle dans l'augmentation de la sensibilité au gluten **(Faure, 2016).**
- l'absence d'allaitement maternel ; ou bien l'allaitement artificiel qui fragilise la barrière intestinale pendant la petite enfance **(VENESSON, 2013)**
- La composition quantitative et qualitative du microbiote intestinal semble jouer un rôle, car les nourrissons césariens sont plus à risque de MC que les nourrissons nés par voie vaginale (la qualité de la première colonisation bactérienne joue un rôle essentiel dans la formation et le développement du système immunitaire .

  Un enfant né par césarienne aura un microbiote constitué de bactéries présentes sur la peau de la mère et dans le milieu hospitalier, tandis qu'un enfant né naturellement sera colonisé par des bactéries présentes dans les organes génitaux de la mère (Lactobacillus) . **(BEAUDOUIN F et al, 2007)** .
- Les personnes atteintes de maladies auto-immunes telles que le diabète de type 1, la thyroïdite auto-immune et la maladie de Crohn peuvent être plus susceptibles de développer la maladie cœliaque. (**Ludvigsson M;2019).**
- la quantité et l'âge d'introduction du gluten jouent un rôle important . L'introduction de gluten avant 3 mois ou après 7 mois était associée à une prévalence accrue de toutes les formes de MC. La recommandation actuelle est de l'introduire par petites quantités sur une période de 4 à 6 mois tout en continuant à allaiter **(SZAJEWSKA et al., 2012).**
- Les infections intestinales, notamment à adénovirus et à rotavirus qui altèrent la barrière intestinale avec une atrophie partielle de la muqueuse, entraineraient une augmentation de la perméabilité, de l'expression d'HLA DQ et de la concentration de TGt, favorisant ainsi le développement de la maladie **(Szajewska M et al . 2012)**.

I.1.5 Test diagnostic

Le diagnostic de la maladie est basé sur des arguments cliniques, sérologiques et histologiques. Sur le plan clinique. Les signes les plus fréquents sont des douleurs abdominales, une diarrhée chronique, un amaigrissement, des pathologies osseuses, une anémie et une asthénie. Sur le plan sérologique, la recherche des anticorps anti-endomysium et les anticorps anti-transglutaminases permettent lorsqu'ils sont positifs de confirmer la suspicion clinique et de décider d'une biopsie de l'intestin grêle (teste histologique)

Douleurs abdominales, diarrhée chronique, perte de poids, problèmes osseux, anémie et asthénie sont autant de signes fréquents de la maladie. Son diagnostic repose sur des arguments cliniques, complétés par des preuves sérologiques et histologiques. Pour confirmer la suspicion clinique et déterminer si une biopsie de l'intestin grêle est nécessaire (un test histologique), la recherche de certains anticorps tels que les anti-transglutaminase et anti-endomysium est généralement effectuée au niveau sérologique .**(Benatallah L et Benchikh et Feggoun , 2009) .**

I.1.5..1 Diagnostic sérologique :

- La découverte de l'anti-transglutaminase tissulaire (TGt) en 1997 a conduit à la formation d'anticorps anti-endomysium qui ciblent l'antigène. Les laboratoires hospitaliers mesurent fréquemment les anticorps TGt au lieu des anticorps endomysiaux en raison du faible coût du test **(Rashidet Lee., 2016 ; Deprez., 2018).**
- La maladie coeliaque peut être détectée grâce à l'utilisation du test d'anticorps anti-endomysium, qui a une sensibilité et une spécificité élevées. Cependant, cette méthode de test est assez coûteuse car elle nécessite l'utilisation de techniques d'immunofluorescence, ce qui peut être considéré comme un inconvénient **(Rashid et Lee., 2016 ; Gargouri et al., 2017).**
- Le dernier examen sérique, l'anticorps anti-peptide de gliadine désaminé (DGP), offre un avantage limité en tant que test de dépistage préliminaire. Bien qu'il ne surpasse pas le test d'anticorps anti-TGt, le test d'anticorps anti-DGP à immunoglobuline G (IgG) est un peu plus perceptif que le test d'anticorps tTG de type IgG. Par conséquent, les cliniciens devraient le considérer comme le test préféré chez les patients présentant un déficit particulier en IgA **(Ludvigsson et al., 2014 ; Rashid et Lee, 2016) .**

- Dans les années 1980 Développé un test sérologique initial, l'anticorps anti-gliadine ne doit pas être utilisé pour le dépistage de la maladie coeliaque en raison de sa moindre précision. **(Rashid et Lee., 2016).**

Tableau 04: Sensibilité des tests sérologiques disponible pour la maladie cœliaque **(Oxentenko et Rubio-Tapia. 2019).**

Test	Sensibilité %	Spécificité%	Commentaire clinique
Tissus trasglutaminase	89 (82-94)	98 (95-99)	Test de choix
Anti corps endomysial	90 (80-95)	99 (98-100)	Dépendant de l'opérateur nécessitent une immunoflurescence
Peptide de gliadine desamidée	88 (85-90)	94 (92-95)	Comparable à la transglutaminase tissulaire
Anticorps anti-gliadine	80 (57-100)	90 (47-94)	Plus maintenant conseillé

I.1.5 .2 Diagnostic histologique :

Avant la mise en place de tout régime sans gluten, un diagnostic de maladie coeliaque doit être confirmé par une biopsie intestinale. Lors d'une endoscopie, il est recommandé aux professionnels de la santé de prélever 4 à 6 échantillons du bulbe ou du 2e duodénum. La biopsie détectera une atrophie villositaire totale ou subtotale, ainsi qu'une hyperplasie des cryptes et une augmentation des lymphocytes intraépithéliaux. Si un régime sans gluten est mis en place trop rapidement, le diagnostic histologique peut s'obscurcir. Par conséquent, il est important d'exhorter les médecins traitants à référer les enfants suspects de maladie cœliaque à un spécialiste avant de procéder à des changements alimentaires. La valeur prédictive positive en faveur d'une maladie est renforcée par une augmentation des

lymphocytes intraépithéliaux au-delà de 35 %. Il est important de reconnaître que l'atrophie villositaire n'est pas uniquement indicative de la maladie cœliaque et peut se manifester dans d'autres maladies**.(Lamireau et Olives. 2016).**

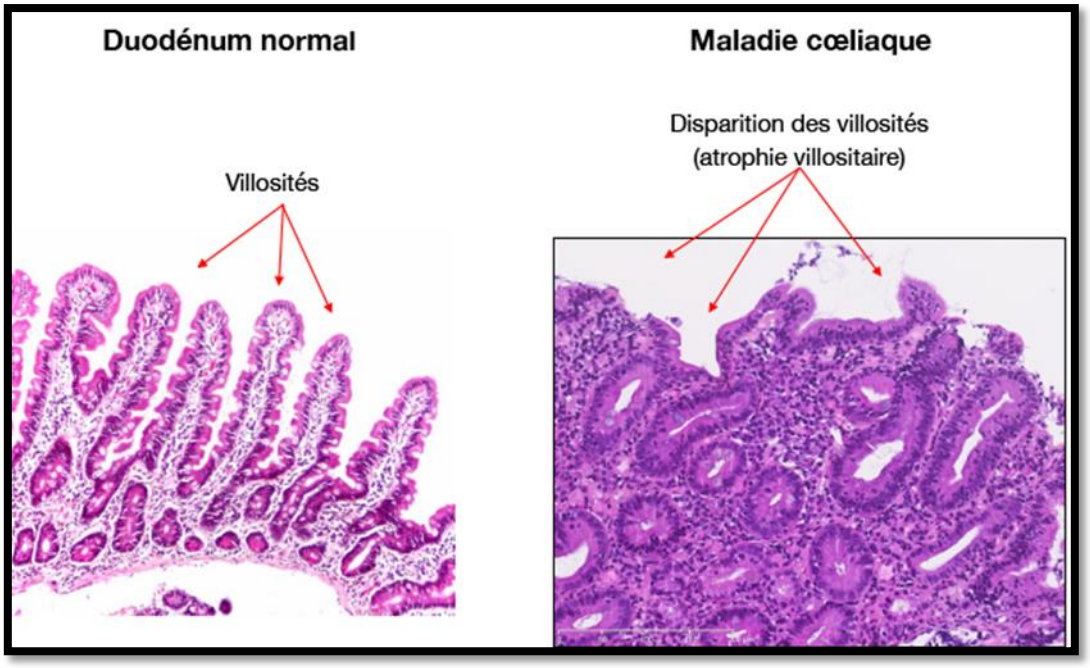


Figure 06 : comparaison entre une villosités normale et une atrophie villositaire **(Zerbib.et Belleannée 2018).**

I.1.6 Traitement de la maladie cœliaque

Le traitement de la maladie cœliaque est essentiellement diététique, il repose sur le régime sans gluten à vie **(Gasbarrini et Mangiola, 2014).**

Il est impératif de suivre un régime strict qui exclut le gluten pour ceux qui cherchent à éliminer complètement les symptômes de la maladie cœliaque, et cela ne devrait être entrepris qu'une fois qu'un diagnostic a été établi. Il convient de noter que bien qu'il puisse y avoir une amélioration rapide des symptômes cliniques, il peut s'écouler jusqu'à deux ans avant que l'atrophie villositaire ne s'atténue après un régime sans gluten. Il est recommandé de maintenir un régime sans gluten tout au long de la vie afin de réduire le risque de développer des complications malignes, en particulier celles associées à des affections squelettiques ou à des maladies auto-immunes. A l'inverse, une diminution des taux sériques d'anticorps cœliaques et leur disparition après un an d'adhésion à un régime sans gluten est révélatrice d'un suivi positif du RSG. **(Deprez, 2018 ; Itzlinger et al., 2018).**

I.2 RÉGIME SANS GLUTEN :

I.2.1 définition et avantages :

I.2.1.1. Le gluten :

L'origine du mot gluten provient du latin signifiant « colle ». **(Dowd et al ; 1974).**

Le gluten est un mélange de protéines combiné avec de l'amidon dans l'endosperme de la plupart des céréales (la table de intolérance ; lé gluten .2016). En particulier le blé ; le seigle ; l'orge et l'avoine. Cette protéine responsable des propriétés élastiques ; visqueuse et extensible nécessaire dans la préparation de pâte alimentaire et très utilisé en boulangerie; ce dernier se répartissent en deux groupe les prolamines sont à la source de la maladie cœliaque et les gluténines non toxique. **(Sciarini et al ; 2009) .**

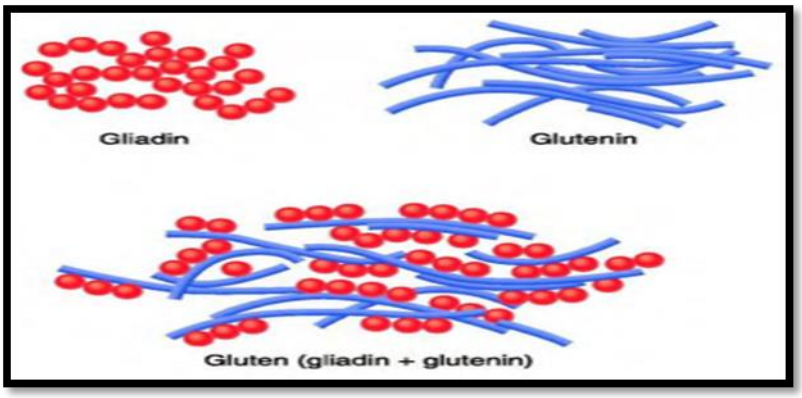


Figure 07 : composition du gluten **(REZKI M ,2021).**

I.2.1.2. Le régime sans gluten :

Le régime sans gluten consiste et nécessite à éliminer et disperser le gluten dans tous les aliments naturel ou industrielles. On le retrouve en grande quantité dans les préparations industrielles à cause de ses propriétés élastiques qui apportent de la texture et de la consistance aux produits (biscuits, pizzas, etc.) **(Maki et Collin ,1997) .**

Le RSG c'est le seul traitement efficace pour la maladie cœliaque et meilleure digestion pour tout le monde.

I.2.1.3. Les avantages d'un régime sans gluten:

Les personnes prennent le régime sans gluten pour retrouver une meilleure santé et une meilleure qualité de vie sans douleurs abdominales, amaigrissement, diarrhée, ballonnements et fatigue.

- diagnostic pour les maladies cœliaques.
- La seule présence de trace de gluten
- améliorer la majorité des complications relatifs comme l'anémie les symptômes de la gastro-intestinaux et le risque de la malignité
- réduit le risque de problème de la santé à lange terme
- améliorer de l'état de la santé (absence des symptômes ; la muqueuse de l'intestin grêle se régénère ; meilleur qualité de vie sans douleur abdominal ; sans gonflement
- la valeur d'anticorps devient normale
- favoriser la perte de poids et le nutriment bien absorbé et utiliser par le corps humain
- pour les enfants c'est une protection de la sensibilité de blé et devient une bonne croissance et un développement sain (Les avantages du régime sans gluten (schaer.com)
- améliorer constatées des performances des sportive en hausse des meilleures digestions
- plus d'énergie et moins fatigue car le RSG une bonne source de nutriment et les produit sain (plain des vitamines ; des AA ; des minéraux
- meilleur système immunitaire correspond agissant la flore intestinale
- alimentation moins sucrée et bonne source de glucide
- le RSG bienfait pour sa condition physique de tous les personne mais aussi plus que les sportif' **(https://www.naturaforce.com/comment-perdre-du-poids/les-differents-regimes-alimentaires/regime-sans-gluten).**

I.2.2 Limite de régime sans gluten :

- tous les aliments qui contient des produit à abréviation BASO (blé ; avoine ; seigle ; l'orge) et tous les plat préparé par la farine de blé sont évité

Par les aliments à prendre dans le régime sans gluten :

- tous les fruits et les légumes
- la viande, le poisson, les fruits de mer et les œufs
- les produits laitiers, tels que les yaourts, le fromage blanc ou les petits suisses.
- Les féculents sans gluten **(www .livi.fr/en-bonne-sante/régime sans gluten aliment)**

Figure 05: aliments autorisé et interdit dans le régime sans gluten **(Rezki M 2020) .**

Type aliment	Autorisés	Interdit
Produit amylacé	Quinoa ; soja ; millet ; riz ; maïs ; sarrasin (naturellement sans gluten) Blé ; orge ; seigle ;	amidon ; crème pâte ; pain ; gâteaux ; pâtisserie ; Biscuit salés ou sucrés ; chapelure ;
Légumes	Tous les légumes frais ; terres, naturel ; fécule de pomme de terre	Gratien de légumes ; pomme de terre avec chapelure
Produit laitiers	Lait (frais ; pasteurisé ; écrémé) Fromages (cuit ; fermentés) Yaourt nature ; fromage blanc	Fromage ; yaourt aux céréales
Viande et volaille	Fraiche ; conserver naturel	Panées ; en croute en gratins
Œufs	Tous	
Fruits	Tous les types de fruits	
Produit de la mer	Poisson	Poisson contentant de la farine ; crêpes
Sucre	Sucre de betterave et canne	Chocolats aux brisures de

		crêpes dentelle ; sucre glace
Dessert	Les crèmes à base des féculents sans gluten	De sauce épaissis à la farine de blé comme la béchamel ; crème pâtissier
La soupe	Soupe de fruit secs ou bien à base de ris ; mais ; millet…	Les soupes conservée et dans les sachée
Médicament		Certaine médicament gélule ou bien comprimé enrobés

I.2.3 les féculent sans gluten

I.2.4 les féculent sans gluten en Algérie :

Actuellement ; pour préposer un aliment sans gluten doit être suivi les règle de l'OMS qui dit une céréale dont la prolamine n'est pas toxique comme les féculent.

Donc Les féculents sont la base de notre alimentation dans le cas d'un régime sans gluten ; Et on peut le replacer les pâtes et le pain par ces féculent naturellement sans gluten tel que le soja le mais le ris le millet le quinoa le sarrasin les lentilles…..etc. ces céréale c'est une source de glucides naturel et la première source d'énergie pour l'organisme et riche des vitamines et des minéraux et fibre. En plus on peut utiliser ces céréales et pseudo-céréale dans la cuisine algérienne pour une alimentation saine ; coaguler les soupes

Certaine féculent sans gluten en Algérie :



Tableau 06 : féculent sans gluten en Algérie **(Jennifer LIMER.2020)(ma -cuisine-bien-etre-vegetarienne-sans-gluten) .**

Féculent	Protéine	Acide aminé	Calorie	Avantage
riz 	14	1.07	Cru : 374 Cuit : 102	• Riche en fibre • Antioxydant • Source de vitamine B
Sarrasin 	9.77	1.14	Cru : 354 Cuit :110	• Riche en protéine végétale • une teneur élevée en fibres • le sarrasin aide à nettoyer les intestins et à régulariser le transit.
millet 	10.60	0.59	Cru : 378 Cuit : 119	• Aliment préventif contre certaine type de l'hépatite • Contient des plusieurs minéraux ; contient du silicium qui améliore l'état de la peau ; des cheveux et des ongles
Maïs 	8.1	3.7	346	• Pouvoir antioxydant ; • bonne source de fibres alimentaire et de glucide • favorise la santé cardiovasculaire
Quinao 	14.8	1.07	Cru : 374 Cuit : 102	• prévention des maladies cardiovasculaires, du diabète et de certains cancers. • Un chouchou pour notre intestin • Un super-aliment pour les intolérants au gluten et les végétariens
soja 	36	2.9	416	• Diminue le risque de certain type de cancer et bonne source de nutriment

Chapitre II : Aperçu sur les probiotiques

II .1. Définition et historique des probiotiques

Le terme probiotique a fait son apparition dans notre langage depuis longtemps, il vient du grec -pro bios- qui signifie « en faveur de la vie ».

La notion des probiotiques a bénéficies de plusieurs définitions qui ont évolué au fil du temps, en se base sur des découvertes, des connaissances scientifiques, et des progrès technologiques.

En 1908 la première définition des probiotiques a été publié grâces aux travaux de Metchnikoff qui reçut le prix Nobel, il a noté que la consommation de plusieurs produits fermente à base des bactéries lactiques accroitre la longévité et la bonne santé intestinal des paysans bulgares, donc il propose que ces bactéries productrices de l'acide lactique peuvent supprimer l'activité des germes pathogènes. **(Metchnikoff,1907).**

En 1965 : Lilly et Stillwell ont proposé que les probiotiques ont des sécrétions promoteurs de croissance stimulent les autres microorganismes. **(Lilly et Stillwell, 1965).**

En suite la première utilisation de cette notion était par Parker en 1974 : Des microorganismes et des substances aident à préserver l'équilibre microbienne dans la tractus gastro-intestinale. (Parker ,1974).

En 1989 Fuller propose une définition plus spécifique : Des additifs alimentaires microbiennes vivantes exercent un effet bénéfique sur la digestion de l'hôte et l'hygiène intestinale des animaux à sang chaud en rétablissant la microflore intestinale naturelle. **(Kitazawa et al.,2013 ; Zendeboodi et al., 2020).**

Enfin, selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par L'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO) et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS), les « Probiotiques » sont des microorganismes vivants qui administrés en quantités adéquates sont bénéfiques pour la santé de l'hôte (FAO/WHO 2002 ;Hill et al.,2014). **» (Lebeer et al., 2018 ; Karolina et al., 2020; Gurram et al.,2021)**

La définition actuelle pourrait encore évoluer, car les champs de recherche pour mieux connaître et comprendre l'action des probiotiques sont encore nombreux **(Yan et Goldman,2020)**

Tableau 07 : Liste des micro-organismes probiotiques **(Markowiak et S´liz˙ewska, 2017).**

Lactobacillus	***Bifidobacterium***	**Autres bactéries lactiques**	**Autres micro organismes**
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Enterococcusfaecium*	*Bacillus clausii*
L. amylovorus	*B. animalis*	*Lactococcus lactis*	*Escherichia coli Nissle*
L. casei	*B. bifidum*	*Streptococcus*	*1917*
L. gasseri	*B. breve*	*thermophiles*	*Saccharomyces*
L. helveticus	*B. infantis*		*cerevisiae*
L. johnsonii	*B. longum*		*(boulardi)*
L. pentosus			
L. plantarum			
L. reuteri			
L. rhamnosus			

II .2. Mécanisme d'action

II .2. 1 La compétition nutritionnelle et pour l'espace (l'exclusion compétitive)

Lorsque différentes souches sont mises en culture dans un même milieu, elles entrent obligatoirement une compétition surtout sur le substrat utilise, cas des bactéries lactiques utilisant le lactose pour envahissement totale de de milieu et pour limiter la multiplication des autres colonisateurs **(Julliard V et al.,1987).**

Les micro-organismes probiotiques présentant une activité antimicrobienne contre certain germe indésirable, en excluant les bactéries pathogènes dans le tractus digestif par l'empêchement de l'adhésion et de la colonisation des parois intestinale. **(Markowiak etslizewskai., 2017).,** en effets ils ont la capacité d'occuper les différents sites d'adhésion de manière prolongé, donc crier une compétition directe entre les souches probiotiques et les souches infectieuses. Ce phénomène appelé la compétition/ exclusion **(Dawood et al, 2018).**

II .2. 2 Renforcement de la fonction barrière

Les souches probiotiques sont capables de bloquer la pénétration des bactéries pathogènes dans les cellules hôte intestinale, en augmentant l'intégrité intracellulaire des jonctions apicales **(Landman C. and Quévrain E. 2016). D**e plus Ils induisent la sécrétion de muqueuse intestinale, augmenter la production des IgA,et de réduire la translocation bactériennes**(Collado M. C.,et al.,2007).**

II .2. 3 La production des enzymes pour l'amélioration de la digestibilité

La présence des souches bénéfiques permet la bonne digestion du nutriment, et de la sécrétion des vitamines**. (Philip A.V, et al.2017).**

La production des enzymes favorise la digestion de ration alimentaire. Cependant, les lactobacillus facilite la digestion de lactose, augmenter la vitesse d'amylolyse et de produire l'acide lactique **(Larpentl J.P et al.,1997).**

II .2. 4 Simulation de l'activité immunitaire (immunumodilation) :

L'administration oral au bien l'intrapéritonéal des probiotiques stimule la réponse immunitaire inné/Adaptative contre les agents pathogènes, cette interaction probiotiques système immunitaire termine activation des macrophages, la sécrétion des monocytes, cytokines anti-inflammatoire**. (Oelschlaeger,2010).**

Ainsi que la production des anticorps IGA sécrétoires dans la lumière intestinale. En se fixant sur les adhésines et en interférant avec les interactions adhésines/récepteurs **cellulaires (LARPENT J.P et GOURGAUD M.L., 1997)** ,d'autre part les probiotiques s'accumule la sécrétion de cytokines les l'interleukine-10 (IL-10) et le facteur de croissance transformant-β (TGF-β) par les cellules T régulatrices **. (Markowiak etslizewskai., 2017 Eamonn et Quigley, 2018 ; Delgado et al., 2017 ;Gurram et al., 2021).**

II .2. 5 La production des composes antimicrobien

Les probiotiques utilise le métabolisme de production décomposer entier micro bien p pour limiter la croissance des pathogènes tels que l'acide lactique les bactériocines le pire aussi d'hydrogène la des conjugaisons sels biliaires **(Umu et Al 2017;Sharma et bajwa 2021).**

II .2. 5.1 La production des bactériocines

Les bactériocines sont des peptides antibactériens ont une activité bactéricides 36 contre les souches bactériennes proche de la cellule productrice **(Dorto C., Thonart.P ,2008).**

Les bactériocines sont synthétisées par voie ribosomique généralement par les bactéries à Gram positif appartenant au groupe des bactéries lactiques. Elles peuvent subir ou non des modifications post-traductionnelles avant d'être excrétées dans le milieu extracellulaire **(Jasniwski, 2008)** .

Ils agissent sur la membrane externe des bactéries cible après la fixation aux certains récepteurs membranaires spécifiques. En effet, un pore se forme dans la membrane de la cellule cible, pour la libération de contenue cytoplasmique et la dissipation de la force proton motrice, Entrainant la mort des cellules affectées. **(Kouakou et Thonart, 2010).**

Les bactériocines perturbent l'organisation de la couche lipidique **(Hanafya et Al;2016).**

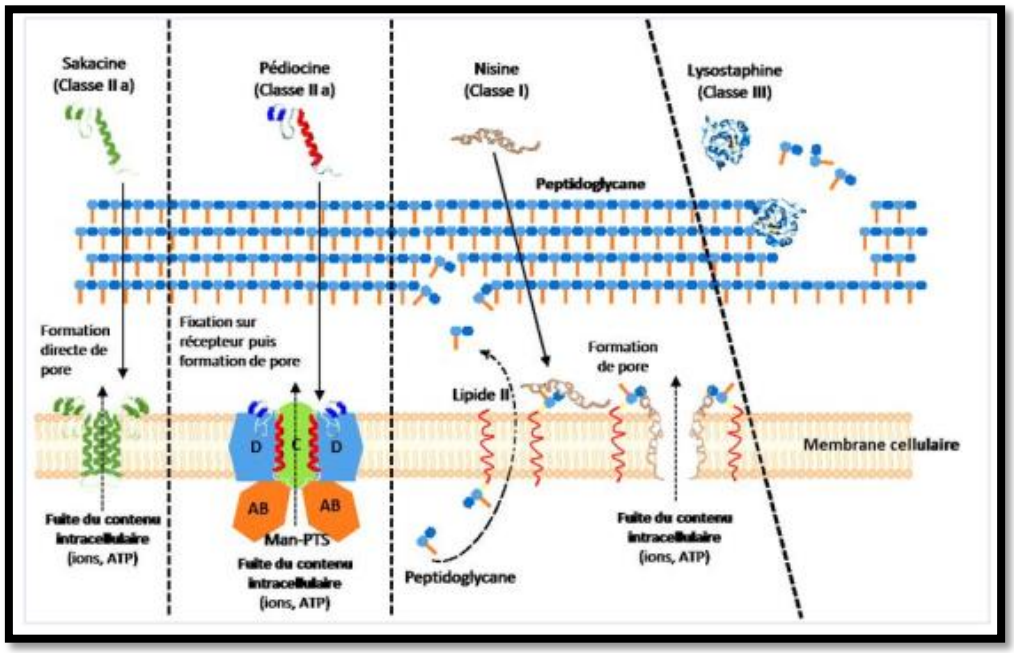


Figure 08:Mécanisme d'action des bactériocines de bactéries lactiques **(Taale et al., 2016).**

II .2. 5.2 Les acides organiques

La découverte des acides organique qui fait 1784 par Scheele(les probiotiques sont capable d'effectuer une grande diversité de réaction traduisent la transformation ou la production des acides s organiques quelques tels que l' acide lactique acide acétique qui sont généralement produisent par les lactobacilles et

les bifidobactéries à travers la fermentation des hexoses. Ces différents acides produit via les glucides intégrés lors de l'alimentation. Ces derniers permettent d'inhiber la croissance des levures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide **(Mami, 2013).**

Ils induisent la réduction de ph intestinale lorsque les acides organiques diffuse la membrane bactérienne et leur dissociation permet d'acidifie le cytoplasme qui pourrait être nocif pour la croissance des agents pathogènes donc inhibition de la fonction cellulaire.

Les niveaux et les types d'acides organiques produits pendant les fermentations dépendent de l'espèce, de la composition du milieu et des conditions de croissance **(Van de Guchte et al, 2002).**

II .2. 5.3 Le peroxyde d'hydrogène

Certaines souches des probiotiques sont capable de produire h2o2. **(Van de Guchte et al, 2002).**

La molécule de h2o2 diffuse librement à travers la membrane cellulaire, cette molécule est très délétère Pour les cellules, en réagissant sur l'ADN, les protéines et les lipides. La production du peroxyde d'hydrogène accompagnée par celle d'acide acétique permet l'inhibition du développement de certaines espèces pathogènes comme certains virus tel que le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons comme Candida albicans, ou encore certaines bactéries comme Escherichia coli, **(Touati ,2000).**

II .2. 5.4 Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est considéré comme métabolite secondaire, il se forme principalement pendant la voie hétéro-fermentaire des probiotiques pour créer d'un environnement d'anaérobiose. Donc, les bactéries à Gram négatif sont les plus sensibles. L'accumulation deCO_2 dans la bicouche lipidique entrainent un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire **(Ammoure et al,2006 phone).** Au même temps, il a la capacité d'inhiber les décarboxylations enzymatiques. **(Šušković et al., 2010)** .

II .2. 5.5 Les diacetyl

Le diacetyl est un composant aromatique, il a été synthétisé par différent germes lactiques [*Lactobacillus sp. et Pediococcus sp, Leuconostoc sp*] due au métabolisme du citrate par l'intermédiaire du pyruvate appartenant au lactococcus **(karni et al,2021).**

Il a une activité antifongique anti levures chez lactobacillus par aalimentarus PB127 **(Gorfal et al,2012)**. Et autre activité contre les germes gram négatifs et gram positif non lactiques**.(El Ziney et al, 1998).**

Métabolites antimicrobiens de faible masse molaire secrétés par les bactérie lactiques autres que les bactériocines **(Leonard, 2013)** .

Tableau 08 : Métabolisme antimicrobienes de faible masse molaire secrétés par les bactéries lactique autres que les bactériocines. **(Leonard, 2013)** .

Composes antimicrobiens	Souches productrices	Spectre antimicrobien
Acide lactique	Toutes bactéries lactiques	Levures Bacteries a gram +/-
Acide acétique	Bactéries lactiques hétèrofermontaires	Levures Bacteries a gram +/-
Diacétyle	Lactococcus,leuconostoc	Levures Bacteries a gram +/-
Peroxyde d'hydrogène	Toutes les bacteries lactiques	Levures Bacteries a gram +/-
Dioxyde de carbone	Bactéries lactiques hétèrofermontaires	La plupart des groupes taxonomiques des microorganismes

II .2. 5.6 Les antibiotiques

Les probiotiques permettent la dégradation de glycérol à travers la synthèse de la reuterine **(Blagojeve et al 2012)**. En 2 étapes :

La déshydratation de glycérol par une « glycérol deshydratase » pour la formation de la reutérine qui sera ensuite réduite en 1,3-propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutérine s'accumule dans le microorganisme producteur. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme Lactobacillus reuteri y sont plus résistantes **(Vollenweider, 2004).**

II .2. 5.7 Phages lactiques

Les bactériophages présentent par les souches lactiques sont un exemple bien connu de parasitisme. En attendant par fermentation, les phages peuvent provoquer brutalement la lyse des souches dominantes. Cela entraîne des modifications du produit de fermentation, mais également des pertes importantes. Il est économique pour les industriels **(Savijokie K.,et al., (2006).**

II .2. 5.8 Biosurfactants

Les biosurfactants sont des composés amphiphiles produits couramment par les microorganismes principalement les bactéries et les levures sur leur surface cellulaire **(Van Hoogmoed et al., 2004 ; Maneerat, 2005 ; Banat et al., 2010).**

Les biosurfactants dérivés des bactéries lactiques ont attiré l'attention en raison de leur fonctions spécialisées biodégradables, hautement sélectives. Le mécanisme d'activité antimicrobienne de ces molécules est basé sur l'inhibition de l'adhésion des pathogènes **(Satpute et al., 2016 ; Sharma et al., 2016).** Les bactéries à Gram négatif sont plus sensibles aux biosurfactants que les bactéries à Gram positif **(Sharma et al., 2016).**

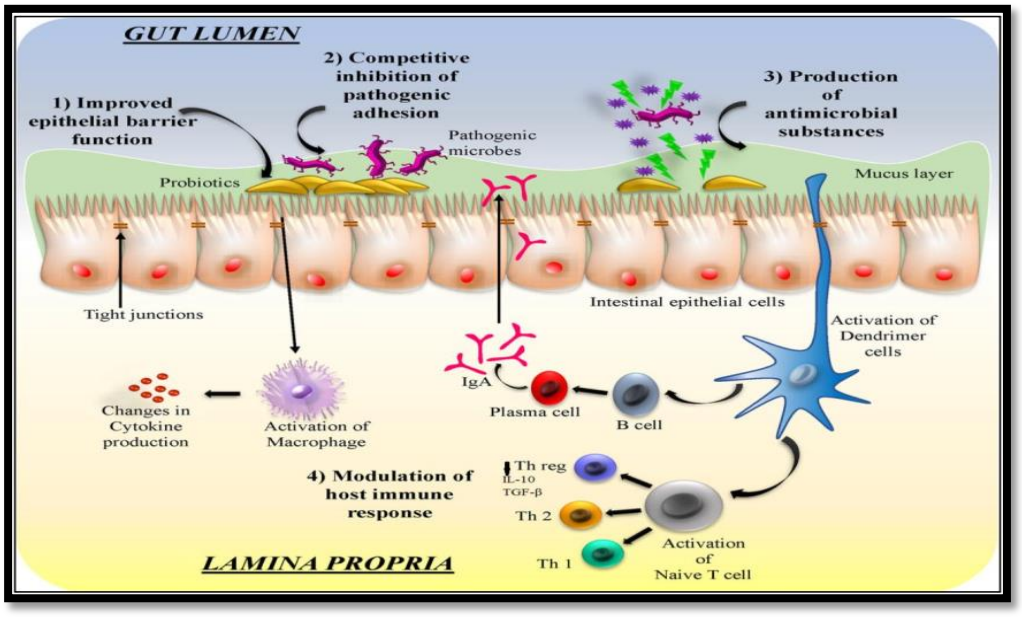


Figure 09 : Mécanismes d'action des probiotiques **(Gurram et al., 2021).**

II .3. Propriété de sélection et production des probiotiques :

Pour que en puisse être commercialisé un produit contient des probiotiques, il faut qu'il satisfaire à des critères scientifique, règlementaire et économique, et selon la suggestion de OMS, FAO et EFSA, la sélection doivent garantir à la fois les critères de sécurité, les critères fonctionnels et il faut répondre critiques technologique. **(Mark kowrak et sliziorka, 2017).**

II .3. 1 Critères de la sécurité :

II .3. 1.1 Origine :

Un micro-organisme probiotique doit être reconnu comme sécuritaire, avoir une histoire de non pathogénicité **(Sonia jradi hosin, 2018).**

Ils sont retrouvés naturellement dans certains aliments (les produits laitier, les boissons fermentées riche en ferment lactique, mais aussi dans des fins humaines au long de tractus digestif, au bien dans le lait maternel, et chez certains animaux. **(Shewale R.N.,et al. 2014).**

II .3. 1.2 Identification : (phénotypique et génotypique) :

L'identification des probiotiques se base sur la détermination de la taxonomie ce qui permettre d'avoir une idée sur l'origine, la physiologie l'habitat d'une souche. Cette identification se fait par des techniques moléculaires fiables, soit par hybridation ADN-ADN, ou par le séquençage de l'ADN codant pour l'ARN 16S ribosomal, **(FAO/OMS, 2002 ; Binda et al., 2020).**

II .3. 1.2 Innocuité et la résistance aux antibiotiques

Innocuité pour l'hôte est considéré comme critère essentiel dans la sélection des souches probiotiques, donc un probiotiques ne doit pas être nocif pour l'organisme et ne doit présenter aucun risque pour la sante(innocuité totale) , La résistance aux antibiotique, grâce à aux leur structure généralement, et leur physiologie, pour un probiotiques la résistance n'est pas transmissible, donc il faut choisir que des souches manquent des gènes de résistance non transférable souvent fait appeler au séquençage génomique complète de bactéries ce qui ce qui permet de connaître en détail tous les risques la résistance aux antibiotique synthèse qui facture de virulence ou encore les métabolites dangereux**.(Samedi et chantes, 2019).**

II .3. 2 Les critères fonctionnels :

II .3. 2 .1 L'activité antimicrobienne

L'activité anti microbienne vis-à-vis des agents pathogènes et l'une des critères fréquemment utilisés pour la sélection des souches probiotiques. Il est nécessaire que les microorganismes à potentiel probiotique soient capables d'inhiber le développement des microorganismes pathogènes **(Shokryazdan et al., 2017)**. Et il doit assurer un bon fonctionnement d'une barrière intestinale. **(Bajag et Al, 2021).**

II .3. 2 .2 L'adhésion aux cellules épithéliales.

La capacité d'adhésion à la muqueuse gastro intestinal est parmi les conditions de sélection des probiotiques. Cette adhésion permet une grande persistance dans le digestif et une accumulation sur les différents sites d'adhésion au niveau des muqueuses. Afin d'assurer la colonisation de façon permanente mais aussi de participer à l'exclusion des agents pathogènes. **(Novik et al., 2014).**

II .3. 2 .3 Tolérance aux activités gastriques :

II.3.2.3.1. Tolérance au pH gastrique

La définition actuelle des probiotiques insiste sur le paramètre de viabilité. Cependant la survie dans le suc gastrique a un pH d'environ 2, est un critère de sélection important des probiotiques. Donc un microorganisme probiotique ingère doit avoir une tolérance élevée à l'acidité du suc gastrique. Cette résistance dépend la capacité à toléré l'attaque gastro acide, le type de souche administre, le régime alimentaire, et le temps de passage. **(Samedi et Charles,2019).**

II.3.2.3.2 Tolérance au la bile:

La tolérance aux sels biliaires et un facteur important de montrer la survie des probiotiques, donc un micro-organisme probiotique doivent faire face à l'action détergent des sels biliaires libres dans le duodénum au cours de passage dans l'intestin grêle, un nombreuses des souches lactobacilles bifidobactéries survivent assez bien pendant le transit intestinal et arriver en grande quantité des fèces. **(Louembe,D et al 2005).**

II .3. 2 .4 Immun modulation

La stimulation de la réponse immunitaire à la fois naturel et acquise des probiotiques considéré comme une propriété de sélection des souches.

Différents étude montent que la consommation de souches lactiques module le système immunitaire en améliorant la réponse contre différent infection naturels et de confèrent la protection contre les enter pathogènes par la section des cytokines, activation de la réaction phagocytaire et d'indurer la différenciation de lymphocytes B mateurs et de produire des anticorps IgA. **(Shewale et al., 2014 ;Ericksen K.L.2020).**

II .3. 2 Critères technologiques :

En plus de 2 critères premier il existe autre critères technologiques pour les probiotique, pour arriver à son site d'activité digestive dans sa forme viable et en nombre suffisant.

Les critères technologiques sont présents par la stabilité lors de stockage et entreposage, la survie au court de procède de fabrication, la conservation des de propriétés sensorielles, la résistance au phages, **(Guarner F. 2008.)** .

Les souches probiotiques les plus stables sont celles qui appartiennent au genre Bacillus, car leurs spores sont résistantes à la chaleur et restent viables pendant le stockage à long terme **(Simon, 2005).**

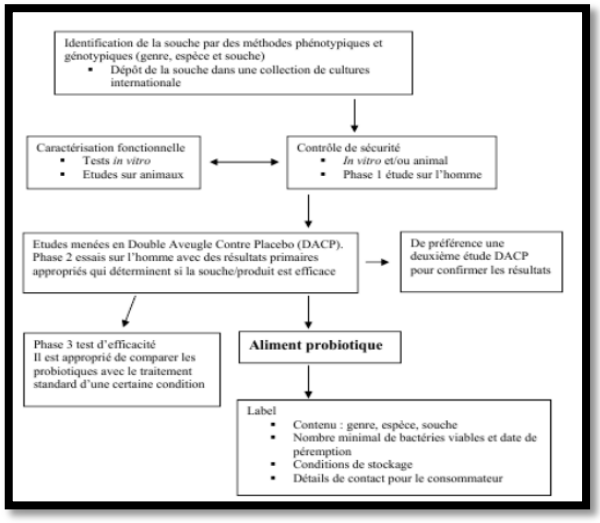


Figure 10 : Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire **(FAO/WHO ,2002)**

Tableau 09 : Principaux critères utilisés pour la sélection des souches probiotiques **(FAO/WHO, 2002).**

Critères de Sécurité	• Historique de non pathogénicité (GRAS) • Souche d'origine humaine ou alimentaire • Souche caractérisée par des méthodes phénotypiques et génotypiques • Souche déposée dans une collection de cultures internationale • Aucune possibilité de transmission de gènes de résistance aux antibiotiques • Pas de déshydroxylation des sels biliaires
Critères Fonctionnels	• Tolérance à l'acidité gastrique • Tolérance à la bile • Antagonisme vis-à-vis des pathogènes et production de substances antimicrobiennes (bactériocines) • Adhésion à diverses lignées de cellules intestinales et/ou au mucus • Stimulation du système immunitaire
Critères Technologiques	• Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini • Conservation des propriétés probiotiques après production.

II .4. Effets des probiotiques :

II .4.1 Effets bénéfiques associés aux probiotique :

II .4.1.1 Effets nutritionnelles

Les probiotiques augmentent l'état nutritionnel de l'individu par un mécanise d'acidification de milieu en production d'acide lactique et par l'activité Ly politique et protéolytique en stimulant la digestion des aliments par la production des enzymes qui aident à la malabsorption du lactose par l'action de la β-galactosidase bactérienne dans l'intestin grêle, Chez les personnes souffrant d'intolérance au lactose. **(Deverse et al, 2010).**

Dans le même registre de la digestion et de la tolérance aux disaccharides, il a été montré que l'ingestion de Saccharomyces cerevisiae aidait à la digestion du saccharose chez des enfants déficients en saccharase. **(Harms et al,1987).**

II .4.1.2 Effets sante (Domain thérapeutique)

Utilisation des probiotiques contribuer au bon fonctionnement de system immunitaire par la modulation de la sécrétion de cytokine, la réduction de la sensibilité aux allergènes, le renforcement de la résistance aux infection (viral et bactériennes), les cas des infections gastro-intestinal, et les cas des infections uro-génitale, Cas de lutte contre H.pylori **(Nista et al.,2004),**

- Effet anti microbienne pour inhiber la croissance des pathogènes ,et de maintenir une balance de la flore buccale, intestinal, et vaginal. **(Uehara** et al**., (2006))** ont démontré la capacité des souches de Lactobacillus crispatus**,** utilisées sous forme de suppositoires à empêcher la colonisation du vagin par les bactéries indésirables et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie, ainsi que des problèmes liés aux infections urinaires**.(Zergoug A., 2017).**
- Effet de détoxification :la capacité de neutraliser de toxine et orienter la micro flore intestinal pour diminuer l'absorbance des substances toxiques et de réduire la biotransformation des sels biliaires et les acides gras en substances toxiques. **(Horáčková,et al,2018).**
- Effet de barrière : les probiotiques empêchent les agents pathogènes de se lier au niveau de cellule épithélial, pour établir une flore digestive équilibrer **(Mouhib mohamed,2023).** Réduire la biotransformation des sels biliaire et acides gras **(khan et Naz, 2013).**
- Effet sur la formation de cholestérol : les probiotiques possèderaient une activité anticholestérolémiante ,en diminuant le taux de cholestérol et d'inhiber la conversion de acétate en cholestérol, cas de Sc. thermophilus serait responsable de cette action **.(Leveau J.Y et Bouix M ; 1993).**
- Effets anti-cancérogènes : Certaines probiotiques présentent des propriétés anti tumeur dans le tractus gastro intestinale grâce a la diminution de activités enzymatiques des bactéries fécales par action de catalisation des précancérigènes en substances cancérogènes **(MARTEAU P et RAMBAUD J.C., 1993).**

Différentes études ont démontré aussi bien le rôle préventif que curatif de ces bactéries sur différents types de diarrhées (les diarrhées aigües, diarrhées post-infectieuses et post-antibiothérapie, diarrhées des voyageur, diarrhées des radiations, et encore soulager la constipation, le ballonnement**. (Yadav et skulka.,2017).**

Traitement des encéphalites hépatique, des maladies inflammatoires chroniques intestinal, pouchite, IMD/MICI maladie de crohn **(Sireswar et al., 2019 ; Guandalini et Sansotta, 2019).**, ulcéreuse colite syndrome d'intestin irritable, colique et maladie cœliaque. **(Johanna P.,2020).**

Effects bénéfiques des probiotiques
• **Augmenter l'état nutritionnel de l'individu.** • **Augmenter la disponibilité des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments pour le corps.** • **Aide à la sécrétion de l'enzyme digestive, p.ex., sécrétion de β-galactosidase.** • **Prévention et traitement de la diarrhée due à l'infection, de la diarrhée du voyageur, des infections virales aiguës, diarrhée chez les enfants, diarrhée associée à une surdose d'antibiotiques.** • **Diminue le cholestérol.** • **Amélioration du système immunitaire.** • **Augmenter la grande motilité intestinale qui aide à soulager la constipation.** • **Maintenir l'intégrité muqueuse.** • **Maintenir les microbes intestinaux par activité antimicrobienne.** • **Diminuer les symptômes de l'intolérance au lactose.** • **Prévenir les allergies alimentaires.** • **Activités anti-carcinogènes.**

Tableau 10 : Implication des différentes souches bactériennes en fonction des pathologies digestives(Johanna P.,2020).

Pathologies digestives	Souches probiotiques	Références
Diarrhées post-infectieuses	*Lactobacillus rhamnosus GG*	Szajewska et al. (2001,2002) Rosenfeldt et al. (2002) Siitonen et al. (1990)
	Saccharomyces boulardii	Dinleyici et al. (2014)
Diarrhées post-antibiothérapies	*Saccharomyces boulardii*	Szajewska et al. (2005,2015) Neut et al. (2017) *in vitro*
Infections à Clostridium difficile	*Lactobacillus acidophilus* associée à *Bifidobacterium bifidum*	Plummer et al. (2004)
Constipation	*Lactobacillus acidophilus* *Bifidobacterium bifidum*	Husebye et al. (2001) étude sur des rats
	Lactobacillus reuteri	Ojetti et al. (2014)
	Lactobacillus plantarum associée à *Bifidobacterium lactis* ou *B. breve*	Del Piano et al. (2010)
	Lactobacillus casei	Mazlyn et al. (2013)
	Lactobacillus paracasei	Riezzo et al. (2012)
Maladie de Crohn	*Saccharomyces boulardii*	Boureille et al. (2007) NS*
	Lactobacillus johnsonii	Marteau et al. (2006) NS*
	Escherichia coli associée à *Saccharomyces boulardii*	Rahimi et al. (2008)
Recto-colite hémorragique	Mélange VSL#3 (*Lactobacillus casei, L. plantarum, L. acidophilus, L. bulgaricus, Bifidobacterium longum, B. breve, B. infantis, Streptococcus thermophilus*)	Sood et al. (2009) Miele et al. (2009) Tursi et al. (2010)
	Escherichia coli	Rembacken et al. (1999) Kruis et al. (2004)
	Lactobacillus GG	Zocco et al. (2006)
Syndrome de l'intestin irritable	*Faecalibacterium prausnitzii*	Miquel et al. (2016)
	Lactobacillus acidophilus *Lactobacillus paracasei*	Newsletter Biocodex
	Mélange incluant *Lactobacillus helveticus, Bifidobacterium longum, Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus*	Drouault-Holowacz et al. (2008) NS
	Bifidobacterium infantis seul ou associé	Yuan et al. (2017) Seul résultats NS
	Lactobacillus plantarum	Johansson et al. (1998)
	Lactobacillus acidophilus	Xiao et al. (2003) Rousseaux et al. (2007)
Syndrome du grêle court	*Saccharomyces boulardii*	Zaouche et al. (2000) *étude sur des rats*
	Lactobacillus rhamnosus	Sentongo et al. (2008) NS*
Maladie cœliaque	*Lactobacillus rhamnosus GG*	Orlando et al. (2014) *in vitro*
	Saccharomyces boulardii	Papista et al. (2012) *in vitro*
	Lactobacillus casei	D'Arienzo et al. (2011) *in vitro*
	Bifidobacterium lactis	Lindfors et al. (2008) *in vitro*
	Bifidobacterium breve	Klemenak et al. (2015)
	Bifidobacterium longum, B. bifidum	Medina et al. (2008)

*NS : Non Significatif

II .4.2 Effets indésirable

Peu d'études sont intéressées aux effets secondaires des probiotiques autant que ils sont considérés n'ayant aucun effet indésirable rapporte. Néanmoins, il existe quelque étude montre des cas ou en enregistre des effets néfastes.

II .4.2.1 Effets métaboliques :

Les diarrhées liées au métabolisme de la bile chez des patients atteints d'iléostomie, l'ingestion de lactobacilles et de bifidobactéries, pouvaient provoquer une transformation excessive des sels biliaires primaires conjugués en sels biliaires secondaires libres **(Marteau et al.,1995),**

Une autre étude a permis de constater, chez des enfants souffrant du syndrome grêle court, une hyperventilation ou une encéphalite sont rapportés, suite à la prise de probiotiques et notamment de lactobacilles**, (Connolly E, Abrahamsson T, et al. 2005).**

II .4.2.2 La translocation bactérienne :

Lorsqu'il y a le passage de microorganismes probiotiques de site intra intestinal au site extraintistinal une infection pouvant de se révéler chez les personnes immunodéprimés (une septicémie et une endocardite). **(Marteau P, Shanahan F.2003).**

II .4.2.3 Effets indésirables immunologiques :

Les polysaccharides de la paroi cellulaire des probiotiques prouvent engendrer des réactions de fièvre une arthrite des maladies auto immune par intermédiaire de cytokine. Aucune étude significative chez l'homme à ce sujet n'a été réalisée à ce jour. **(Johanna.P.,2020).**

II .4.2.4 Transfert de gènes de résistance :

Certains gènes de résistance aux antibiotiques des souches probiotiques soient transférés au microbiote de l'hôte. On parle de « résistome ». Ces gènes se retrouvent soit au niveau des chromosomes, soit ils correspondent à des éléments mobiles (plasmides, transposons). Les recommandations actuelles sont d'éliminer les souches comportant des gènes acquis de résistance aux antibiotiques **(Butel., 2014).**

Malgré la présence des effets indésirables mais ils resteront rares pour les organismes sains.

II .5. Classification :

Ils existent des multiples des bactéries différentes mais peu sont éligible au titre probiotiques, et sont autorisées d'utilisée en alimentation avicole pour le maintienne digestif. Pour classer un probiotique il faut respecter le nomenclateur suivant : genre, espèce, et souche. Ainsi que le mode d'action.

II.5.1. Classification basée sur le mode d'action : Les probiotiques peuvent également être classés en fonction de leur mode d'action ou de leurs effets sur l'organisme.

Tableau 11 : la classification des probiotique selon mode d'action**. (Yadav et Shukle 2017).**

	Classification
Selon le mode d'action	**Probiotiques à effet barrière** : Certains probiotiques aident à renforcer la barrière intestinale en renforçant les jonctions entre les cellules intestinales, ce qui peut prévenir les fuites intestinales et les problèmes inflammatoires.
	Probiotiques producteurs de métabolites : Certains probiotiques produisent des métabolites, tels que des acides organiques ou des enzymes, qui peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte.
	Probiotiques immunomodulateurs : Certains probiotiques peuvent moduler le système immunitaire en stimulant ou en régulant les réponses immunitaires, ce qui peut être bénéfique pour les personnes atteintes de troubles immunitaires.
	Probiotiques digestifs : Certains probiotiques aident à la digestion en produisant des enzymes qui décomposent les aliments, en améliorant la motilité intestinale ou en favorisant l'absorption des nutriments
	Probiotiques antimicrobiens : Certains probiotiques produisent des substances antimicrobiennes, telles que des peptides antimicrobiens, qui peuvent inhiber la croissance de pathogènes et contribuer à maintenir l'équilibre de la flore intestinale.

II.5.2. Classification basée sur le genre et l'espèce et la souche : Les probiotiques sont généralement classés en fonction de leur genre (par exemple, *Lactobacillus, Bifidobacterium*) et de leur espèce (par exemple, *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum*). Cette classification est basée sur la taxonomie microbienne traditionnelle. Les souches spécifiques de probiotiques sont souvent identifiées par un numéro ou une combinaison de lettres et de chiffres. Par exemple, *Lactobacillus rhamnosus GG* est une souche spécifique de *Lactobacillus rhamnosus* largement étudiée**. (DESMAZEAUD M., 1992).**

Actuellement la majorité des probiotiques sont de type bactriennes principalement les bactéries lactiques (*lactobacilles,bifidobactries lactoccoques*) **(Caly, D.2005 L.,Osman et al 2020 ;Ramlucken et al 2021)**.mais certaines faits partie de la famille des leuveures ,algues unicellulaires **(yadav et shukle 2017).**

II .5. 2.1 Les bactéries lactiques

Ils ont connu sous le nom des bactéries acido lactique décrite pour la première fois par Orla-jensen au début de 18eme siècle ils sont des bactéries A gram positif, immobile, non sporulant, hétérotrophe, non pigments et non pathogène. Généralement dépourvues en catalase et en oxydase **(Dorti.C, 2008)** ces bactéries pouvant avoir les formes suivantes sphérique (coque), le genre de *lactococcus, streptococcus* et *entérococcus*. La forme bâtonnet (bacilles) le genre du *lactobacille*, et encore ovoïde *leconosstoc ssp*. Il ont la capacité de fermenter les sucres en acide lactique, et capable d'accroître à des températures de 10 à 45c **(Yal Mirah .A,2014).**

II .5. 2 .1.*1 Les lactobacilles :*

Les lactobacilles sont les microorganismes probiotiques les plus en vue par leur association populaire avec les produits laitiers fermentés. Il s'agit des bacilles sous forme bâtonnet parfois allongé ou incurvé, et parfois coucou Bacille ou coroniforme **(Corrieu G. Luquet FM. 2008).** Ce sont des bactéries anaérobies qui tirent leur énergie du métabolisme fermentatif, mais elles peuvent survivre en présence d'oxygène grâce à leur activité peroxydase capable d'inactiver le peroxyde d'hydrogène, non flagelles et non sporogenes à l'exception de certaines souches avec flagelles pertrich.il présente un métabolisme soit homo fermentaire ,soit hétéro fermenté et une forte exigence en facteur de croissance et une acidification forte ils représentent 200 espèces **(Izquierdo. E., 2009);Parte A.C.2014)**

Leur mode de fermentation donne lieu à une classification répartie en trois groupes distincts :

- **Le groupe I**: regroupe les lactobacilles homofermentaires stricts qui ne fermentent que les hexoses produisant le lactate.
- **Le groupe II**: renferme les lactobacilles homohétérofermentaires facultatifs qui fermentent les hexoses, mais aussi les pentoses en lactate et acétate par la voie d'Embden-Meyerhof.
- **Le groupe III**: regroupe les lactobacilles hétérofermentaires stricts qui fermentent les hexoses en lactate, acétate (ou éthanol) et CO2 **(Kouakou et Thonart, 2011) .**

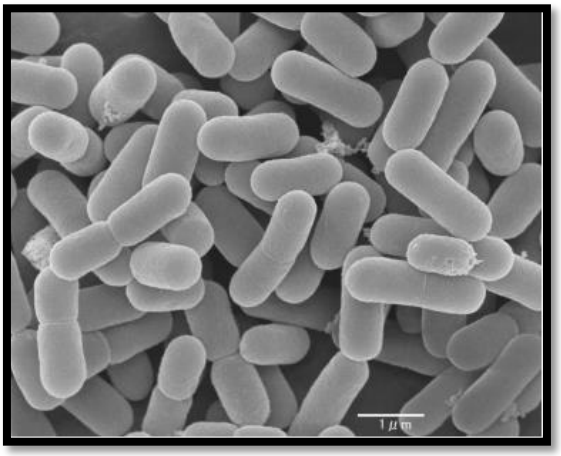


Figure 11 : *Lactobacillus reuteri* au microscope électronique **(code-of-hapiness.org) .**

Tableau 12 : composition des groupes phylogénétiques du genre Lactobacillus **(Salvetti et al., 2012).**

Groupes	Espèces
L. delbrueckii	*L. acetotolerans, L. acidophilus, L. amylolyticus, L. amylophilus, L.amylotrophicus, L. amylovorus,L. crispatus, L. delbrueckii, L. equicursoris, L. fornicalis,L. gallinarum, L. gasseri, L. gigeriorum, L. hamsteri, L. helveticus, L. hominis, L. iners, L. intestinalis, L. jensenii, L. johnsonii, L. kalixensis, L. kefiranofaciens, L. kitasatonis, L. pasteurii, L. psittaci, L. taiwanensis, L. ultunensis*
L. salivarius	*acidipiscis, L. agilis, L. animalis, L. apodemi, L. aquaticus, L. aviarius, L. cacaonum, L. capillatus, L. ceti, L. equi, L. ghanensis, L. hayakitensis, L. hordei, L. mali, L. murinus, L. nagelii, L. oeni, L. pobuzihi, L. ruminis, L. saerimneri, L. salivarius, L. sucicola, L. satsumensis, L. uvarum, L. vini*
L. reuteri	*L. alvi, L. antri, L. coleohominis, L. fermentum, L. frumenti, L. equigenerosi, L. gastricus, L. ingluviei, L. mucosae, L. oris, L. panis, L. pontis, L. reuteri, L. secaliphilus, L. vaginalis*
L. buchneri	*L. buchneri, L. diolivorans, L. farraginis, L. hilgardii, L. kefiri, L. kisonensis, L. otakiensis, L. parabuchneri L. parafarraginis, L. parakefiri, L. rapi, L.sunkii*
L. alimentarius	*L. alimentarius, L. crustorum, L. farciminis, L. futsaii, L. kimchiensis, L.mindensis, L. nantensis, L. nodensis, L. paralimentarius, L. tucceti, L. versmoldensis*
L. brevis	*L. acidifarinae, L. brevis, L. hammesii, L. koreensis, L. namurensis, L. parabrevis, L. paucivorans, L. senmaizukei, L. spicheri, L. zymae*
L. collinoides	*L. collinoides, L. kimchicus,L. odoratitofui, L. paracollinoides, L. similis*
L. fructivorans	*L. florum, L. fructivorans, L. homohiochii, L. lindneri, L. sanfranciscensis*
L. plantarum	*L. fabifermentans, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, L.xiangfangensis*
L. sakei	*L. curvatus, L. fuchuensis, L. graminis, L. sakei*
L. casei	*L. casei, L. paracasei, L. rhamnosus*
L. coryniformis	*L. bifermentans, L. coryniformis, L. rennini*
L.manihotivorans	*L. manihotivorans, L. nasuensis, L. porcinae*
L. perolens	*L. harbinensis, L. perolens, L. shenzhenensis*
L. vaccinostercus	*L. oligofermentans, L. suebicus, L. vaccinostercus*
Pediococcus	*P. acidilactici, P. argentinicus, P. cellicola, P. claussenii, P. damnosus, P. ethanolidurans, P. inopinatus, P. lolii, P. parvulus, P. pentosaceus, P. siamensis, P. stilesii*
Couples	*L. kunkeei-L. ozensis* *L. rossiae-L. siliginis* *L. concavus-L. dextrinicus* *L. pantheris-L. thailandensis*
Espèces individuelles	*L. algidus, L. brantae,* *L. camelliae, L. composti,* *L. floricola, L. malefermentans,* *L. saniviri, L. selangorensis,* *L. senioris, L. sharpeae*

II .5. 2.1.2 Les bifidobactéries

Ils sont des bactéries gram positif anaérobie strict présentant une morphologie particulière comportant des ramifications en y ils sont immobiles possède une voie métabolique dite bifide permis la production de l'acide acétique et de l'acide lactique actuellement 47 espèces sont décrites l'habitat principal et le tube digestif de l'homme et des animaux **(M.J butel et al.,2015)**.

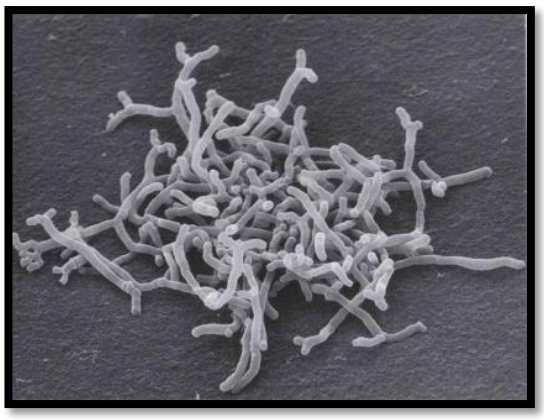


Figure 12 : bifidobactéries au microscope électronique **(biopolis.es)**

Tableau 13 : différentes espèces bifides d'origine humaine, animale ou environnementale identifiées **(Euzeby, 2005).**

Espèces bifides d'origine humaine	**Origine**
B. adolescentis	Fèces d'adultes
B. angulatum	Fèces d'adultes et d'enfants
B. bifidum	Fèces d'adultes, d'enfants et du vagin
B. parvolulorum	Fèces d'enfants et du vagin
B. catenulatum	Fèces d'adultes, d'enfants et du vagin
B. dentium	Carie dentaire et fécés d'adultes
B. Gallicum	Fèces d'adultes
B. Longum biovar infantis	Fèces d'enfants
B. Longum biovar longum	Fèces d'adultes, d'enfants et du vagin
B. pseudocatenulatum	Fèces d'enfants
Espèce bifides d'origine alimentaire et environnementale	**Origine**
B. Animalis subsp. *Lactis* (Bb12)	Laits fermentés principalement
B. minimum	Eaux usées
B. subtile	Eaux usées
B. Thermacidophilum subsp. *thermacidophilum*	Eaux usées

II .5. 2 Les levures type saccharomyce

Ce sont des micro-organismes à la forme ovoïde la souche principale utilisée autant que probiotique et la saccharomyce boulardii levure de bière c'est une levure tropicale découverte par une boularde à partir de lychees et des papaye présente sur la peau des fruits ils ont la capacité d'activer la fermentation naturelles **(johanna poli 2020).**

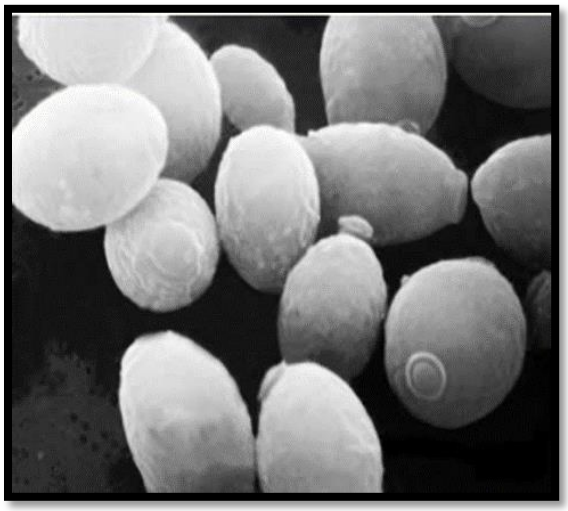


Figure 13 : *Saccharomyces* au microscope électronique **(musee.afrappier.qc.ca).**

II .5. 3 Autres bactéries :

D'autres bactéries sont utilisées comme probiotiques, le genre *pedicoccus*, *lactococcus*, et *enterococcus* et *streptococcus* **(Caly et al 2015).**

- **Enterococcus** : Cellules ovoïdes, isolées en paires ou en courtes chaines, homofermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, un pH 9.6 et un intervalle de température compris entre 10°C et 45°C, avec un optimale de croissance de 35°C à 37°C**.(Zergoug, A.2017) .**
- **Pediococcus** : Immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent en deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaines. Les cellules sont acidophiles à pH : 5, la température optimale de croissance est comprise entre 25°C à 35°C. **.(Zergoug, A.2017) .**
- **Streptococcus** : Immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm en paires ou en chaines longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à un pH 9.6. **.(Zergoug, A.2017) .**

II .6. La présence des bactéries lactiques dans la microflore intestinale et vaginale :

Généralement les bactéries lactiques sont des germes ubiquistes, se trouvant dans différents environnements, aptes à se développer sur différents substrats autres que le lait **(Zergoug.A.,2017).**

Leur présence est révélée dans plusieurs niches écologiques entre autres animales et humaines (tractus digestif, cavités buccales et urogénitales) et végétales (plantes, fruits, légumes, céréales), D'une façon générale, les bactéries lactiques sont présentes partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène **(Marteau, 2007).**

II .6.1 Dans l'intestin :

La microbiote intestinale contient 1014 microorganismes, de 400 à 600 espèce et sous espèce soit 9.3million des gènes. Deux catégories des bactéries ont été identifiée, les bactéries autochtones qui se

trouvant dans des niches particulaires, et des bactéries allochtones rencontre dans autre habitat du tractus digestive **(Backked et al.,2004).** Dans l'environnement gastro intestinale il existe 3 différents régions la première compartiment est l'estomac qui présente une forte acidité et un taux d'oxygène apporte par la déglutition ,donc l'estomac héberge la sélection des microorganismes lactiques Acid tolérants et anaérobies facultatifs (lactobacteries ,les streptococcus et les certain leveur),et par rapport au deuxième compartiment qui est le petit intestin ,il permet le développement des bactéries anaérobies strict tels que les bifidobactéries les clostridies et les bactéroides .mais aussi autre bactéries anaérobie facultatifs (les *Lactobacilles ,les streptocoques, et les entérobactéries*) avec un teneur d'oxygène de 35mmHg.et concernant la troisième compartimente qu'est le colon ,la flore microbienne représentent 3 à 50% du volume du contenu de colon humain avec la condition d'anaérobiose a la lumière contrairement au condition d'anaérobie sur la surface de mumuse (une pression partiel en oxygène entre 29et 39mmHg)**(Cummings et al.1989 ;wilson.,2008).**La majorité de la flore est dominé par les bactéries anaérobies strictes (Bacteroides spp., Clostridium spp, Bifidobacterium spp., Atopobium spp) tandis que les bactériesaé anaérobiesfacultatifs sont moins nombreux (lactobacilles, les entérocoques, les streptocoques et les Enterobacteriaceae).**(Bruno EBEL, 2012)** .

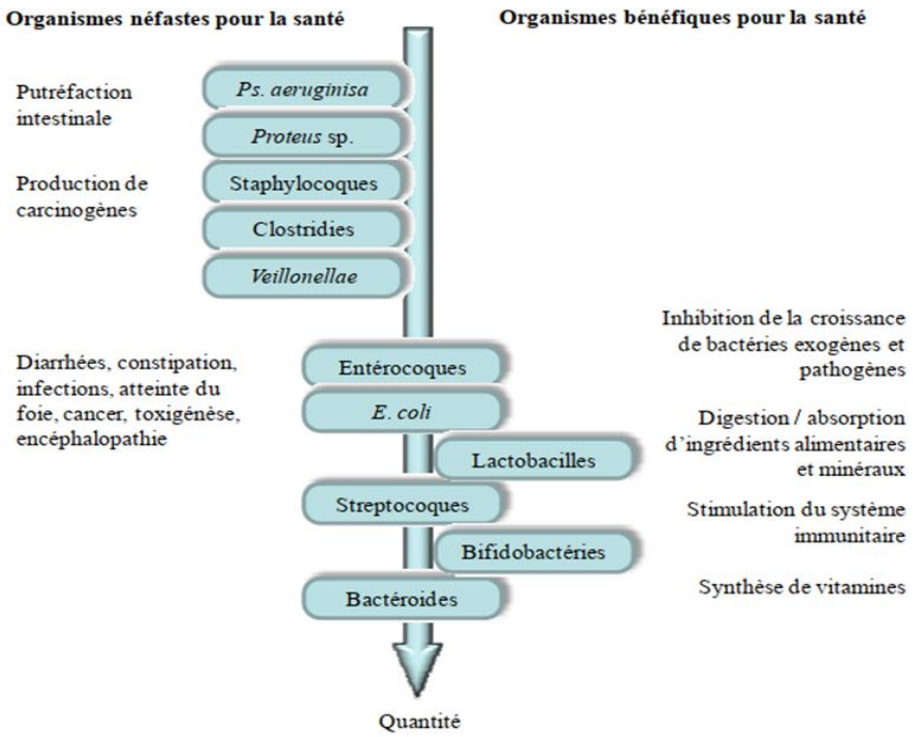


Figure 14 : Organismes néfaste et bénéfique pour la santé

II .6.2 Dans le vagin :

La microbiote vaginale présent 90% des bactéries lactiques bénéfiques et vivent en association mutualiste avec leur hôte, ils sont généralement les lactobacilles, mais Alfred Dodelein a décrit qu'il existe autre agentes pathogènes opportunistes {les bactéries et champignons} peuvent être l'origine de maladies.

Les principales espèces composant le microbiote vaginale sont *: lactobacillus spp., staphylococcus spp.,bifidobacterium spp.,streptococcus spp., cacteroides spp.,clostridium spp.,corynobacterium spp.,mycoplasmaspp.,veillonella spp., fusobacterium spp.,et candida albic*n **.(Dekabouruah et al ,2020**

Le genre le plus dominant du microbiote vaginale est *Lactobacillus spp.,* dans ce genre la en retrouve plusieurs espèces différents : *Lactobacillus jensenii,Lactobacillus cripatus,Lactobacillus iners,Lacctobacillus gasseri,Lactobaccilus fermentum,Lactobaccilus brevis ,Lactobaccilus plantarum, Lactobaccilus vaginalis,Lactobacillus delbrueckii,Lactobacillus rhamnosus,Lactobacillus ruteri***.(Dekabouruah et al ,2020).**

La présence des lactobacilles assure des mécanismes de défense efficace contre les agents pathogènes par des métabolites spécifiques, et par la production des composes antimicrobiens (peroxyde d'hydrogène bactériocines acides organiques). En l'utilisant des sucres stokes dans les cellules vaginales sous l'effet œstrogènes et les transforment le glycogène en acide lactique dans un milieu acide de Ph 3.8 à 4. **https://www.pileje.fr/revue-sante/microbiote-vaginal-agir-equilibre.**

II .7. Les produits existants sur le marché a base des probiotiques :

L'OMS et FAO en septembre 2018 ont établir un rapport sur le marché mondial des ingrédients probiotiques. Ils ont indiqué que <<le marché des probiotiques a été évalué à 1,5 milliards de dollars en 2016, et il devrait atteindre les 2,15 milliards de dollars en 2021(source IPA)>>. Donc le marché mondial des ingrédients probiotiques devrait être multiplié par 1.43 en seulement 5 ans

En 2016, le marché est reparti en quatre parts la première représente des aliments et des boissons fonctionnels 58%, le deuxième part est les compliments alimentaires 29%, la troisième part autre alimentation humaine3%, et pour la dernière part elle représente des alimentations pour les animaux et autres 10%. **(Florian B.2021).**

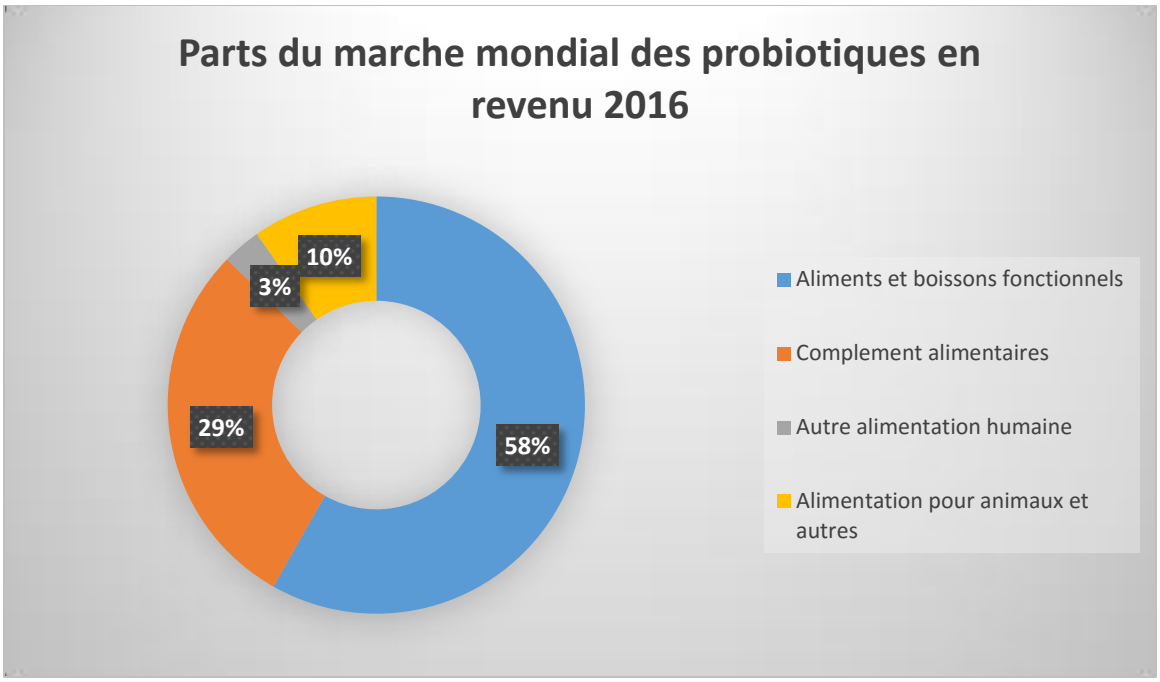


Figure 15 : Parts du marché mondiales des probiotiques en revenu en 2016. **(Florian B.2021).**

Le taux de croissance annuel composé CAGR (compoumd annual Growth Rate) de 7.4% en 2024 ce chiffre la indique donc une belle croissance pour le marché mondiale des probiotiques

Nous pouvons donc voir que le marché auquel nous allons nous intéresser au cours de cette étude : les compliments alimentaires. Dans une article écrit-on juin 2017 peur une consultante marketing spécialisé des marches de la santé de la et de l'alimentation et de sport affirme que <<probiotiques en se situe en aujourd'hui et marché croissant pour les secteurs de la santé et de l'Industrie pharmaceutique>>Millet L. Baltex et Pileje s'associent pour conquérir le marché des probiotiques [Internet]. Culture Nutrition. 2018 [cité 21 mai 2020]. Disponible sur : **https://www.culturenutrition.com/2018/02/15/baltex-pileje-sassocient-conquerir-marche-probiotiques/.**

Tableau 14 : Différents compléments alimentaire leur composition et leur domaine d'utilisation. **(Florian B.2021).**

Le laboratoire	La gamme	Les souches probiotiques	Domain d'utilisation
PiLeJe	LACTIBIANE Référence 	*Lactobacillus helveticus LA101* *Bifidobacterieum longom LA101* *Lactococcus lactis LA103* *Streptococcus thermophilus LA104*	Troubles intestinaux Prévention de certain maladies
PiLeJe	LACTIBIANE Tolerance 	*Bifidobacterium lactis* LA303 *Lactobacillus acidophilus* LA201 *Lactobacillus plantarum* LA301 *Lactobacillus salivariusLA302* *Bifidobacterieum lactis* LA304	Troubles intestinaux
	LACTIPLUS 	*Lactobacillus gasseri LA806*	Troubles intestinaux
Protecter and gamble health France	BION3 SENIOR 	*Lactobacillus gasseri PA16/8* *Bifidobacterieum bifidum MF20/5* *Bifidobacterieum longum SP07/3*	Pour fonctionnement normal de système immunitaire La fatigue.

Nutrgia	 ERGYPHILUS intima	*Lactobacillus acidophilus DSM* *Lactobacillus fermentumCECT5716* *Lactobacillus gasseri LMG266661* *Bifidobacterieum bifidum DSM22892*	Infection urogenitales
Biocodex	 ULTRA-LEVURE	*Sachharomyces boulardii CNCM I-745*	Infection gastro intestinales Troubles digestives.
Biocodex	SYMBIOSYS  SATYLIA	*Hafnia alvei HA4597*	Maintien d'une glycémie normale .

Partie 02 :

Partie expérimentale

Chapitre III : matériel et méthode

III. 1. Lieu et objectif de l'étude

L'intégralité de ce travail a été réalisée au sein d'unité des laboratoires pédagogiques, le laboratoire N03 de microbiologie de la faculté des sciences, de l'université Yahia Fares - Médéa, les expériences ont été menée durant la période de Mars – Juin de l'année 2023.

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Optimisation des conditions physico-chimiques (température-pH), ainsi que le milieu de culture organique sans gluten préparé, pour l'activité de trois bactéries utilisées.

-Etudier la capacité des souches lactiques à adhérer aux cellules épithéliales intestinales.

Etablir une composition de compliment alimentaire sans gluten à base de mélange des souches probiotiques.

III .2 Matériel

III .2 .1 Matière végétal

Les graines de F1 et de F2 ont été utilisées pour ce travail, elles ont été achetées du marché local.

Les graines ont été broyées et conserver dans des emballages en plastique entreposant dans un lieu frais et sec jusqu'à leur utilisation.

III .2. 2 Matériel non biologique

Durant notre stage de fin d'étude nous avons utilisés des appareils (Annexe 1), des produits chimiques (Annexe 2) et des milieux de culture (Annexe 3).

III .2. 3 Matériel biologique.

III .2. 3 .1 La nature et l'origine des souches utilisées

III .2. 3 .1.1 souches bactériennes lactiques

Pour la réalisation de cette étude trois souches à potentiels probiotiques sont sélectionnés comme échantillons.

Tableau 15: souches probiotiques utilisées.

Identité	Origine	Forme
L 1	**Laboratoire français Eric favre**	**Lyophilise**
L2	**Laboratoire français Eric favre**	**Lyophilise**
L3	**Laboratoire français Eric favre**	**Lyophilise**

III .2. 3 .1.2 Souches bactériennes de référence :

03 souches de références ont été utilisées dans cette étude

Tableau 16 : souches de référence utilisées.

Code	Souche pathogènes	Provenance	Milieu d'isolement
ATCC 14028	*Salmonella Typhimuriem*	Groupe Saidal	Milieu SS
ATCC 9739	*Escherichia coli*	Groupe Saidal	VRBL
ATCC 6538	*Staphyloccus aureus*	Groupe Saidal	Chapman

Ces trois souches sont purifiées et conservées sur gélose nutritive inclinée à +4°C et à l'obscurité. Avant leur utilisation dans les tests d'inhibition, elles sont activées par transfert sur un bouillon nutritif et incubées 16 à 18 heures à 37 °C.

III .3. Méthodes

III.3. 1 Sélection des souches proboitique :

III.3. 1 1. Préparation de la solution mère :

Pour la préparation de la solution mère, 1g de chaque d'échantillon est placé dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Le mélange est ensuite agité au vortex **(Begloul.2011).**

III..3. 1.2. Préparation des dilutions décimales :

La dilution est un processus qui consiste à réduire la concentration d'une substance dans une solution. Dans ce but, des dilutions décimales sont ensuite réalisées en cascade jusqu'à la dilution 10-3 **(Begloul, 2011).**

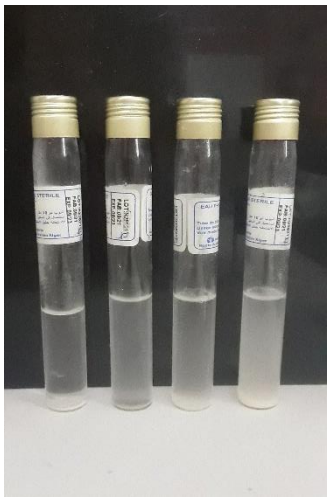


Figure 16 : dilution décimale 10-3.

III.3.1. 3. Enrichissement

La revification des souches lactiques a été effectuée avant de commencer chaque expérience, par une série d'inoculation de 1ml dilution décimal réaliser en avant dans 10ml du bouillon MRS a pH de 6.2, avec incubation à 37°C pendant 18 -24h dans une jarre d'anaérobiose avec système générateur de CO2 (Anaérocult).

Cette opération a été répétée au minimum 2 fois, pour chaque souche, afin d'avoir des cultures fraîches.





A.Témoin négative bouillon MRS. **B.** Souche ensemencer dans le bouillon MRS.

Figure17 : Revéfication des souches lactiques**.**

III.3.1. 4. Isolement et la purification des souches lactiques :

Les souches revivifiées ont été purifiées par ensemencement en stries sur gélose MRS et incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'isolement des souches lactique est pratiqué sur le milieu ; gélose MRS (de Man Rogosa et Sharpe, Merck, India) préalablement coulé en boites de pétri.

Les milieux sont ensemencés, par les souches revivifiées en stries serrées sur la surface, de façon à obtenir des colonies bien isolées après une incubation à 37 °C pendant 48 heures.

Pour avoir une culture fraiche, quatre (04) colonies isolées de tailles identiques sont transférées à nouveau dans 9 ml de bouillon MRS et incubées à 37°C/18 h. Afin de travailler avec le même inoculum tout au long de cette étude **(Guiraud, 2003).**

La purification est réalisée par des repiquages en successif par la méthode des quadrants sur géloses MRS jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme du point de vu morphologique des colonies présentant les mêmes caractéristiques macroscopiques de même aspect [la taille, la forme et la couleur]. (Souches pures). Afin de confirmer la pureté des souches pour entreprend

Les isolats suspectés ont été soumis au test de la catalase, oxydase, suivi d'une observation microscopique à l'état frais et une coloration différentielle de Gram.

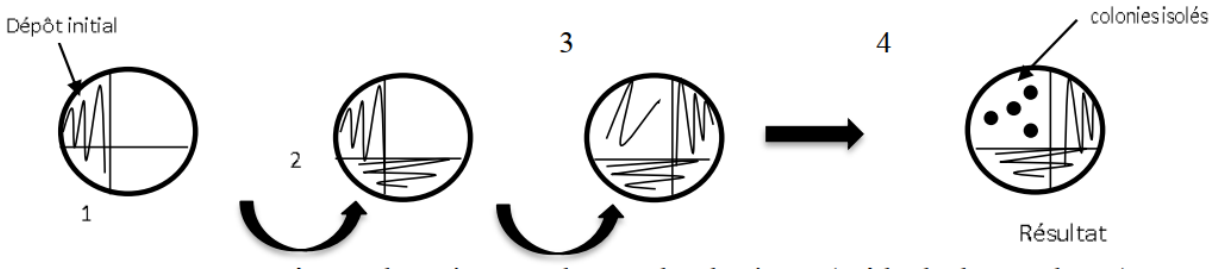


Figure 28 : étapes de repiquages des souches lactiques (méthode des quadrants).

III.3.1. 5. Conservation des souches :

III.3.5.1. Conservation à courte durée

Les isolas purifiés ont été ensemencement sur gélose incliné MRS puis incubé pendant 18 h à 37°C et conservé à 4° C. le renouvèlement des cultures se fait toutes les quatre semaines (**Zergoug.A.2017).**





Figure 19 : Conservation a courte terme.

III .3.5.2. Conservation à longue durée.

Elle se fait par ensemencement des souches dans des eppendorfs de1.5ml, les cultures lactiques jeunes à raison de 70% additionné de 30% de glycérol et on les place dans le congélateur à -20°C **(Badis et al, 2005).**

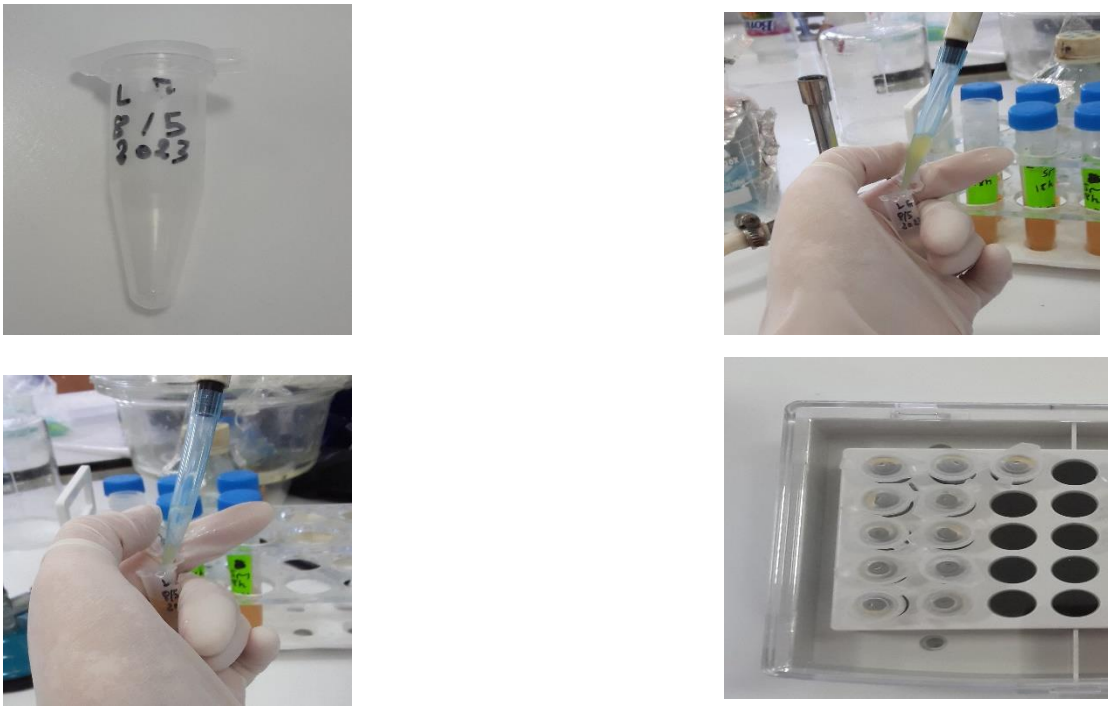


Figure 20 : conservation à long terme

III .4 Critères morphologiques :

III .4 .1. Caractérisation macroscopique :

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et de la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées[pures]. Donc il permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux gélosés (MRS) en tenant compte des critères suivants : la taille, la forme, consistance, le contour, la viscosité et la pigmentation des colonies **(Guiraud, 2003)**.

III .4 .2. Caractéristique microscopique :

Les colonies obtenues sur milieux gélosés MRS sont soumises à une coloration de Gram (annexe 4) à partir d'une culture pure et jeune de 18h, après réalisation des frottis colorés. Afin de déterminer la forme des cellules (coques et bacilles), leur mode d'arrangement.



Figure 21 : Etapes de coloration de Gram**.**

III .4 .3. Observation microscopique à l'état frais

C'est l'examen microscopique des micro-organismes vivants. Ce type d'observation permet d'examiner la mobilité des bactéries et leur morphologie.

Déposer une gouttelette de l'eau stérile sur la lame, relever une fraction de colonie sur le milieu de culture gélosé à l'anse de platine, émulsionner très délicatement (afin de ne pas casser les flagelles) de façon à obtenir une suspension homogène, recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air, et passer à l'observation au microscope.

III .4 .4. Test physiologiques :

III .4 .4.1 Test catalase :

La catalase est une enzyme antioxydant présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs. Elle empêche l'accumulation de l'eau oxygénée (H2O2) dans la cellule bactérienne dont l'action serait létale.

Le test consiste à déposer sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée, dans laquelle un petit prélèvement d'une colonie bactérienne jeune a été dissocié à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. Un résultat positif se traduit par un dégagement immédiat des bulles de gaz (O2) **(Meyer et al., 2004)**.

III .4 .4.2. Test oxydase :

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme (phényléne diamine oxydase) présente dans certaines chaines respiratoires cytochromiques bactériennes. Le test consiste à mettre sur une boite de Pétri, un disque pré-imprégné d'un réactif incolore (la NNdiméthyl-paraphénylène diamine) et l'imbiber avec de l'eau physiologique stérile, ensuite une colonie jeune a été prélevée avec une pipette Pasteur bouclée, et déposée sur le disque.

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette après quelques secondes **(Joffin et Leyral, 2006).**

III .4 .4.3. La recherche de l'uréase et la mise en évidence de la production d'indole

Certain germe élabore une urease active, et donc utilisent l'urée comme source d'azote en produisant du CO2 et NH3-

A partir de chaque milieu gélosé contenant de culture pur des bactéries lactiques on ensemence le milieu urée-indole par la culture bactérienne et on incube à 37°C pendent 18h.

Un virage de pH au rouge et alcalinisation du milieu témoigne de la présence d'une uréase positif, ensuite on ajoute 3 gouttes de réactif d'Erliche-kovacs le long des parois du tube on homogénéise et on laisse repose 3 min.

Un indole positif est considéré par la formation d'anneau rouge à la surface.

III .4.4.4. Test de production d'acétoïne.

Pour la réalisation de test VP [Voges-Proskauer] en utilise un milieu de Clark et lubs il permet de mettre en évidence la production d'acétoine à partir de glucose.

A partir d'une culture pure et fraîche (18/24 heures) de la culture tester, transférer un inoculum d'une colonie bien isolée et le remettre en suspension dans le bouillon Clark et lubs et incuber le test à 37 ° C pendant 24heures.

Ajouter 12 goutes de réactifs de Barrrit A, et 4 goute de réactifs de Barrit B, agiter le tube pendant 1min et laisser reposer pondant 30 min.

III .4 .4.5. Test de mise en évidence de l'arginine dihydrolase (ADH) .

L'arginine dihydrolase est une enzyme clé pour la caractérisation des bactéries lactiques **(Guillaume; 2004).**

Le bouillon Moeller à l'arginine est ensemencé par les colonies à tester et couvert par une couche d'huile de vaseline pour favoriser les conditions d'anaérobiose. L'incubation est réalisée à la température optimale de la croissance du germe recherché pendant 24 heures.

III . 5 Test de fermentation des sucres.

III .5.1. Mannitol mobilité

Le milieu de culture Mannitol-Mobilité a été utilisé pour l'identification présomptive des souches bactérienne est mise en œuvre pour l'étude de la fermentation du mannitol, la mobilité et la réduction du nitrate (enzyme respiratoire). Le test a été procédé par l'ensemencement de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur par piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 H.

La fermentation du mannitol se traduit par un virage de la couleur du milieu de culture au jaune et les bactéries mobiles envahissent le milieu de culture à partir du point d'ensemencement **(Merlet N et al 2009).**

III .5.2 Utilisation des sucres : glucose, lactose, saccharose :

Le milieu TSI [triple sugar iron] est un milieu qui permet de voir la capacité d'une bactérie de réduire le sulfate et de fermenter le lactose le saccharose et du d-glucose et la dégradation des acides aminés.

Les souches sont ensemencées par piqure centrale dans le culot, et suivie par des stries superficielles sur la pente .la lecteur des résultats est faite après incubation de 24h/37° C :

Le culot vire au jaune : glucose fermente.

La pente vire au jaune : lactose fermente.

La pente et le culot sont noir : production de sulfate d'hydrogène H2S.

Les bulles de gaz dans la masse et contre la paroi : production de gaz.

III . 6 Croissance sur milieu hyper salé

La croissance à différent concentration de chlorure de sodium (NaCl) joue un rôle important dans l'identification des bactéries **(Badis al ., 2005).**

Les souches sélectionnées ont été ensemences dans des bouillons MRS additionnés de 4.5%,6.5% et 02% d'NaCl. Une série de cultures témoins a été préparée en parallèle contenant le bouillon MRS sans sel inoculée de chaque souche test. L'incubation a été faite à 37 °C pendant 24h en anaérobiose **(Badis et al.,2005**). L'aptitude à croitre dans ces

différentes concentrations de sel a été évaluée par mesure de présence ou absence de trouble et de la DO.

III .7 Etude de l'activité antibactérienne

III .7.1 Méthode de diffusion sur gélose par puits

La méthode utilisée est celle de diffusion en puits sur gélose telle que décrite par Berghe et **Vlietinck (1991)**.

Technique : Le milieu Gélose Mueller Hinton est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 8 mm, après inoculation par écouvillonnage d'une dilution du microorganisme à tester réalisée suivant une échelle de Mac Ferland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis, mètre 0.1ml de chaque concentration dans chaque puits au centre. Après une pré-diffusion de 4 heures à 4 ° C, les souches sont incubées à 37°C, pendant 24 heures au terme desquelles les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à couliss

L'inhibition est considérée comme positive si le diamètre de la zone d'inhibition (Zi) est supérieur à 13 mm : Zi (mm) = diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm) - diamètre du disque **(Guetarni et al., 2012; Guetarni et Bensoltane, 2014 ;Guetarni, 2017)**



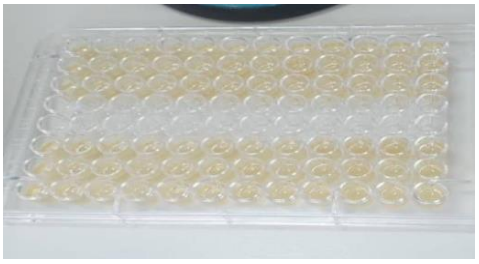
.

Figure 22 : Méthode de diffusion sur gélose

III .8 Capacité de formation de biofilm

III .8.1 Adhésion des souches sur microplaques de polystyrène

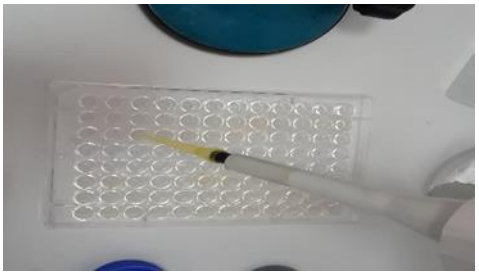
Pour évaluer la capacité des souches à adhérer à la muqueuse intestinale et la formation d'un biofilm, un test d'adhésion sur microplaque de polystyrène de 96 puits est réalisé **(O'Toole & Kolter, 1998)**. Des cultures de 18 h sont ensemencées (100 µl) dans les puits de microplaques préalablement remplis de 100 µl de bouillon TSB (Trypticase Soja Broth, Liofilchem, Italie) stérile, puis incubées à 37°C/2 h. Ensuite, les puits sont vidés et un volume de 200 µl de TSB stérile est ajouté dans les puits et la microplaque est ré-incubée à 37°C/48 h. Le milieu est par la suite retiré et les puits rincés trois fois avec de l'eau physiologique stérile. Les puits sont remplis avec de l'éthanol absolu (99,8%, Sigma) pendant 10 min puis ce dernier est retiré. La biomasse adhérée est colorée avec un volume de 200 µl de solution du cristal violet (0.1%; m/v, Sigma) par puits pendant 20 min. La microplaque est par la suite vidée, rincée avec de l'eau physiologique. De l'éthanol à 96% (200 µl) est ajouté dans chaque puits et bien mélangé. la lecture est réalisée sur un lecture de microplaque

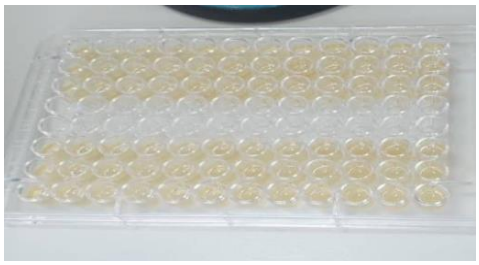




1-Des cultures de 18 h sont ensemencées (100 µl) dans les puits de microplaque préalablement remplis de 100 µl de bouillon TSB.

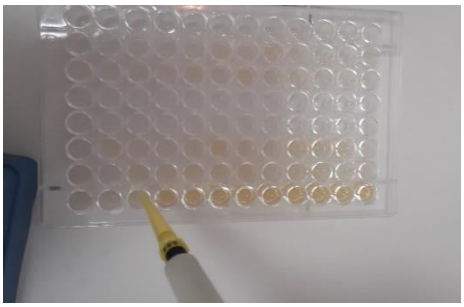
2- Incubation à 37°C/2 h

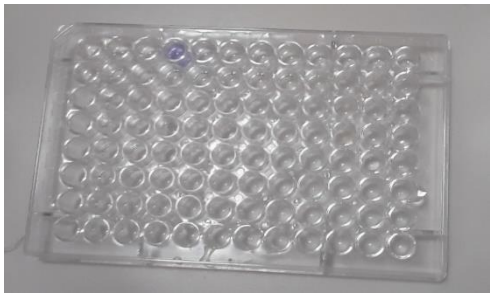




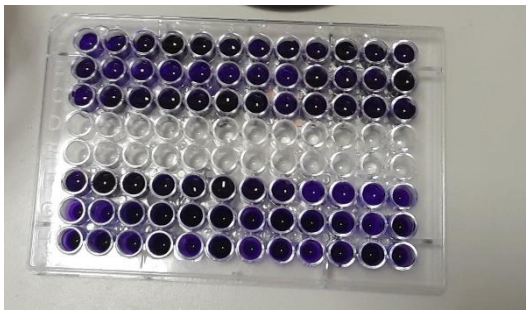
3-vider la microplaque

4- remplir avec 200ul de TSB et rein cuber a 37 pendant 24h

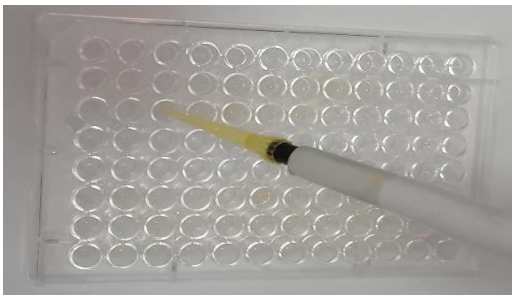




5-Le milieu est par la suite retiré et les puits rincés trois fois avec de l'eau physiologique stérile. Les puits sont remplis avec de l'éthanol absolu (99,8%, Sigma) pendant 10 min puis ce dernier est retiré.



6- (200) µl de solution du cristal violet (0.1% ; m/v, Sigma) est ajouter au puits pendant 20 min.la microplaque est par la suite vidée, rincée avec de l'eau physiologique.



7- 200 µl de l'éthanol (96%) est ajouté et bien mélangé.

8-La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 600 nm par une lecture de microplaques.



Figure 23 : Protocole d'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène

III .8.2 Adhésion aux cellules épithéliales

Le test consiste à étudier la capacité des souches de bactéries lactiques à adhérer aux cellules épithéliales. La méthode utilisée est celle décrite par Lin et al (2007). Avant de mettre en Pour le test d'adhérence, une section de côlon bovin a été découpée et utilisée une solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS pH 7,2), puis maintenue dans ce tampon à 4°C 30min, puis lavé 10 fois avec du PBS stérile, puis laissé à 4°C pendant 3h.

Les cellules intestinales ont été grattées avec une lame de verre stérile, et Dilution décimale à 10-4 sont réalisé, vérification sous microscope pour vous assurer l'absence de contamination bactérienne. La suspension bactérienne de 18 heures a été centrifugée à froid (4°C) à 6000 rpm/10 minutes, Le culot de chaque souche a ensuite été récupéré dans 2 ml de PSB.

Le test d'adhésion est réalisé, en mélangeant 1ml de la suspension bactérienne avec 1ml de la dilution 10-4 de la suspension des cellules épithéliales, qui était déjà préparée, ces dernières sont incubées à 37°C pendant 40min. Après incubation, un frotti est préparé et une coloration au cristal violet 0.5% est réalisé pendant 5min. puis, les lames sont observées au microscope optique au Grossissement x40.

le test est considéré positif si le nombre de bactéries adhérées est supérieur à 15 (Lin et al.,

2007).

III .8.3 La détection par la méthode de Rouge Congo agar (RCA)

Le Rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnant des colonies noires sur milieu RCA contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge **(Rewatkar et Wadher, 2013 ; Kara Terki, 2014**).

Ce milieu est préalablement préparé en additionnant 0,8 g de Rouge Congo et 37 g de saccharose à 1 L de BCC et 10 g d'agar. Le milieu est ensuite ensemencé par des striés serrées à l'aide une anse de platine, à partir des cultures de 24 heures sur gélose MRS, puis incubé à 37° pendant 24 heures à 48 heures. Les souches donnent des colonies noires (résultat positif), contrairement aux souches non productrices qui donnent des colonies rouges (résultat négatif).

III .9 Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

La sensibilité de toutes les souches, vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques, est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose MRS. Selon les recommandations du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'OMS (La standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, avec collaboration de l'OMS 6 éme édition, 2011).

Tableau 17 : liste des antibiotiques utilisés.

N° Charge (µg) Famille	Antibiotique	Abréviation	Famille	Charge du disque (µg)
01	Amoxicilline	AML	Aminopenicillin	10
02	Céfoxitine	FOX	2nd generation cephalosporin	10
03	Gentamicine	GT	Aminoglycosides	10
05	Imipenème	IPM	Carbapenem	10
06	Ciprofloxacine	CIP	Fluoroquinolone	5
07	Cefotaxime	CTX	3rd generation cephalosporin	30
08	Azithromycin	AZM	Macrolides	30
09	Cefalexin	CN	1st generation cephalosporin	30

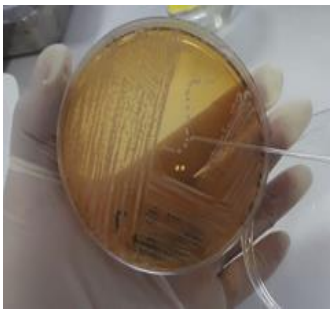
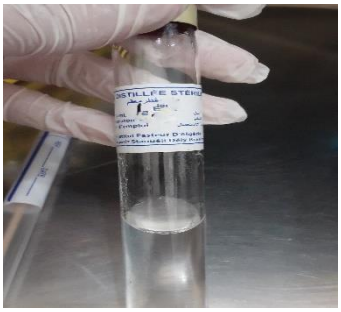
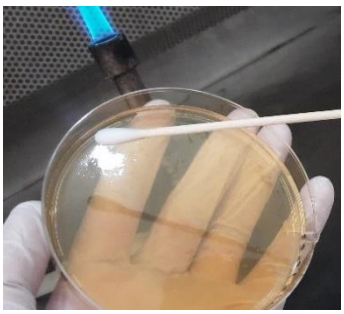
Mode opératoire :

A partir d'une culture de 18 heures, trois colonies identiques des bactéries à étudier sont prélevées puis inoculées dans l'eau physiologique Puis ajusté à 0,5 Mac Farland. L'écouvillon stérile est plongé dans la suspension bactérienne. Le sortir du tube en l'essorant doucement sur les parois internes de tubes afin de les décharger au maximum.

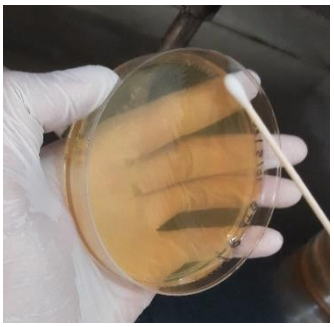
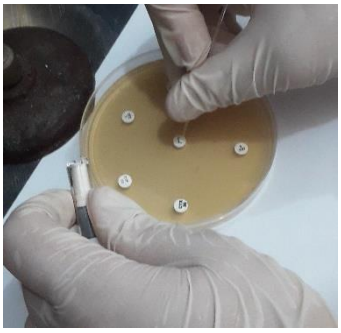
À l'aide d'un écouvillon, la boite est ensemencée sur toute la surface de la gélose par des stries serrées, en tournant la boite trois fois de 60 C°.

À l'aide d'une pince préalablement flambée, les disques d'antibiotiques sont appliqués sur la surface de la gélose. Les boites sont ensuite incubées pendant 24 heures à 37 °C.

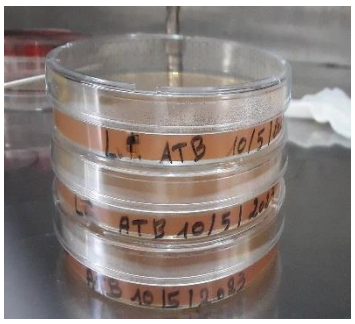
Les différents diamètres des zones d'inhibition, obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés. L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par les recommandations de CLSI.

1- Trois colonies identiques 2-L'écouvillon stérile est plongé 3- la boite sont prélevée dans la suspension bactérienne ensemencée par striés.


4-Tourner la boite 3 fois à 60 °. 5-Appliquer les disques sur la surface de la gélose.




6-Les boites sont ensuite incubées en anaérobiose pendant 24 heures à 37 °C**.**

Figure24: Mode opératoire d'antibiogramme.

III .10 L'optimisation :

III .10.1 Optimisation de température :

L'optimisation de la température est réalisée à partir des cultures fraiches de 18 h collecté dans un bouillon MRS, avec une densité optique initial de 0.2.

Les trois souches lactiques sont ensemencées dans des tubes stériles avec 4 répétions, et incuber a des différentes températures de (28, 30, 37, ,45) °C. Après 24 h la mesure de densité optique DO à (600nm), et de pH est réalisé. La température qui donne la meilleure croissance des souches est utilisée dans l'optimisation de matière première et de pH.

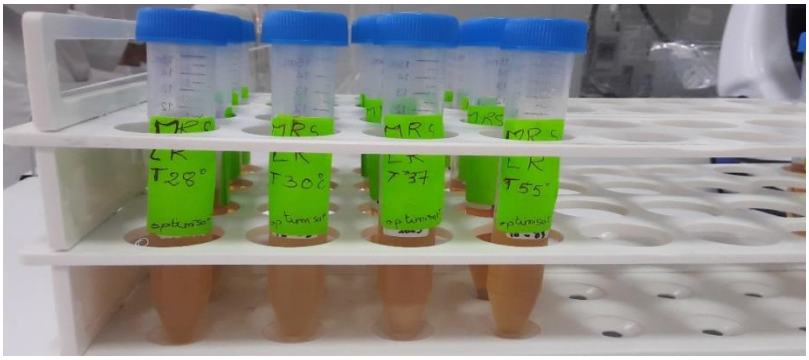


Figure 25 : Optimisation des déférentes températures.

III.10.2 Optimisation du pH :

Pour l'optimisation de paramètre pH, nous avons préparé des milieux MRS stérile à différent pH (2.4, 3.4, 4.4 ; 5.4, 6.5). Chaque milieu est ensemencé par 3 cultures lactiques fraiches de18heures déjà incubées à la température optimale trouvé, (L1, L2, L3) dans des tubes stériles avec des 4 répétitions. Ensuite une incubation de 24h à 37 °C. Après 24 heures les résultats sont enregistrés par la mesure de la DO à (600nm), et par le changement de pH.

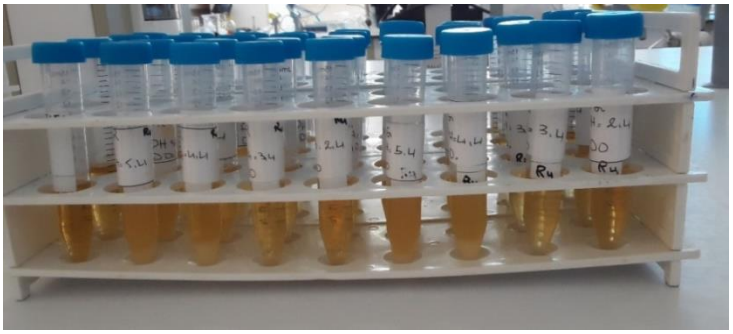


Figure 26 : Optimisation de défèrent pH.

III .10.3 Optimisation de matière première le F1 et F2 :

Différentes concentrations des matières premières sont préparées et stérilisées, respectivement (0.1-0.2-0.3-0.4-0.5) g/l.

Ils sont testés par les 3 souches lactiques étudiées séparément (L1, L2, L3). En ensemençant chaque souche dans des tubes stériles (4 répétitions) et en les incubes sous agitation à une température de 37 °C pendant 24 heures.

Les résultats sont montrés par la mesure de la DO à (600nm) et de pH.

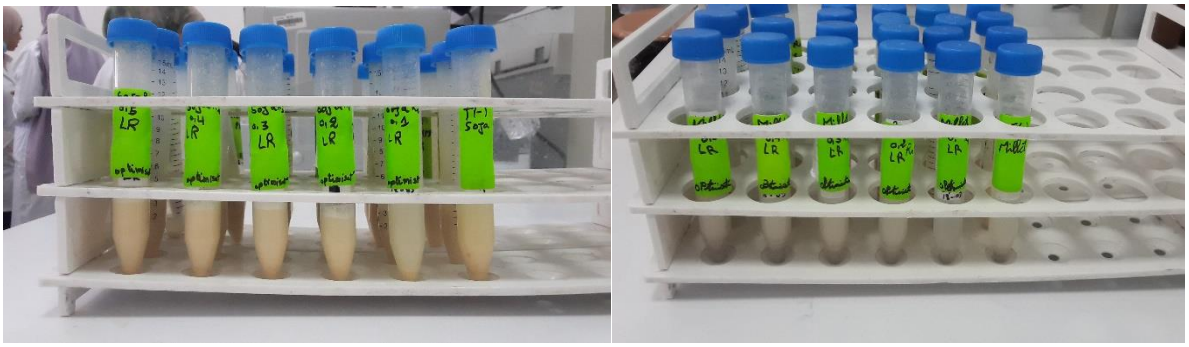


Figure 27 : Optimisation de diffèrent concentration matière première (F1 / F2).

III .10.4 Optimisation de matière première de milieu MRS :

A partir des souches fraiche 18h on fait des ensemencent des 3 souches dans un bouillon MRS stérile. Ensuite, des incubations dans la température optimale des souches. Apres 24 h on mesure la DO et le pH. (Chaque tube est répété 4 fois).

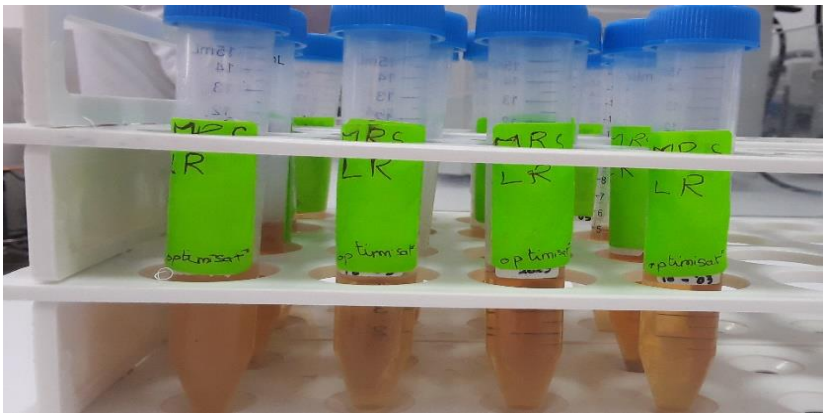


Figure 28 : Optimisation de matière première (MRS).

III .10.5 Effet de combinaison :

Cas 01 :

La meilleure concentration obtenu en avant (0.4g/l) pour chaque matière première séparément (F1 /F2) est utilisée pour l'ensemencement de mélange de 3 souches lactiques (L1+L2. L1+L3, L2+L3, L1+ L2+L3).

Le mélange par la suite est incube à 37 °C pendant 24 heure sous agitation.

La mesure de DO à 600nm et de variation de pH montre la meilleure matière première à utiliséé pour le mélange des souches.

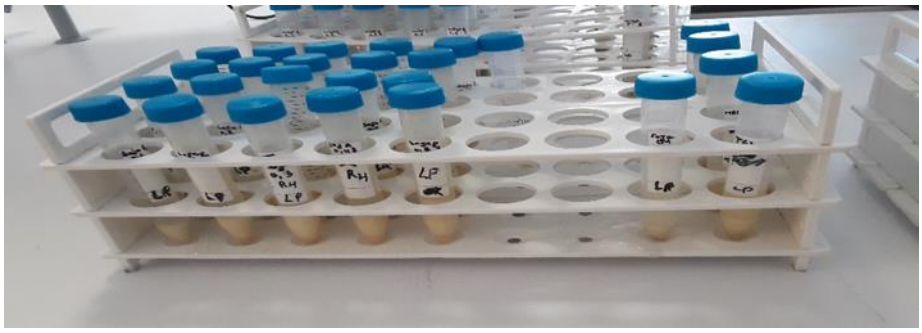


Figure 29 : mélange des souches dans le F1 /F2.

Cas 02 :

Dans un bouillon MRS stérile, l'ensemencement de mélange fraiche des souches lactiques (L1+L2. L1+L3, L2+L3, L1+ L2+L3) est réalisé.

Dans l'étuve incuber le mélange à 37 °C sous agitation et après 24h, en mesure la DO a 600nm et le pH.

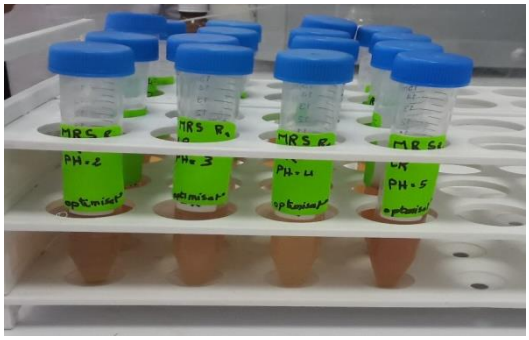


Figure 30 : mélange des souches dans MRS

Cas 0 3: Mélange de matière premier F1 et F2 et le mélange des souches :

La préparation de mélange des 2 féculents sans gluten (F1/F2) avec stérilisation et la préparation de mélange des 3 souches lactiques.

La meilleure concentration obtenu en avant (0.4g/l) de mélange des matières premières (F1 + F2) est utilisée pour l'ensemencement de mélange de 3 souches lactiques (L1+L2. L1+L3, L2+L3, L1+ L2+L3).

Le mélange par la suite est incube à 37 °C pendant 24 heures sous agitation.

La mesure de DO à 600nm et de variation de pH montre la meilleure composition de mélange utilisé pour la croissance de chaque mélange des souches.

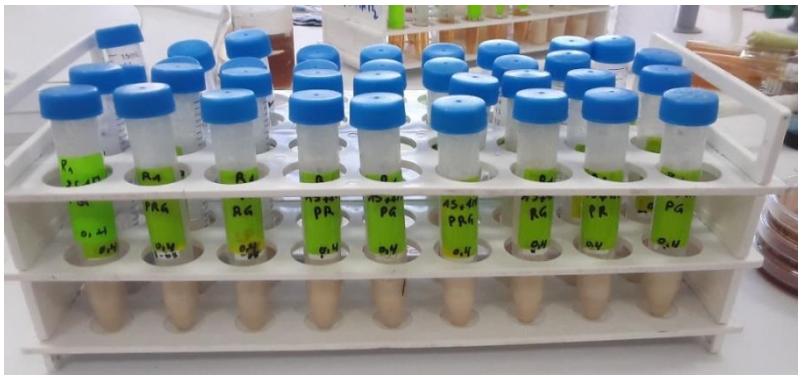


Figure 31 : mélange de matière premier (F1 /F2) et le mélange des souches lactiques.

III .11 La lyophilisation :

Certaines bactéries supportent parfaitement la déshydratation en atmosphère naturelle sèche, celle-ci peut être facilite par utilisation d'un vide partiel ou d'agents dessiccateurs.

Les souches à conserver sont congelées, puis déshydratées par sublimation de glace. Puis le lyophilisat est scellé et stocke à l'obscurité en atmosphère fraiche 0-4 ° C.

Tableau 18 : programme de lyophilisateur.

LE PROGRAMME DE LYOPHILISATEUR									
	Chargem	Congéla	Dessiccation primaire				Dessiccation secondaire		
	Sec : 01	Sec : 02	Sec : 03	Sec : 04	Sec :05	Sec :x	Sec : 08	Sec : 09	Sec : Y
Heure H : m			20				4		
Plateaux C°		-86							
Pression mbar	1.06								



Figure 32 : Programme de lyophilisateur.



Figure 33: La congélation et la dessiccation.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Dans un premier temps, le travail a porté sur les caractérisations morphologiques et phénotypiques de trois souches probiotiques d'intérêt technologique pour la production des compléments alimentaires. En introduisant dans le régime sans gluten

Cette étude est de mettre en place l'optimisation des conditions de tractus gastro intestinale {pH température}, de différents concentration des matières premières, et la capacité d'adhésion au cellule épithéliales de l'étude de l'activité antimicrobienne et la résistance aux antibiotiques. Afin de réalise un complément alimentaire de la fourme lyophilise.

IV.1 Sélection des souches proboitique:

IV.1. 1. Préparation de la solution mère et dilution :

On dispose d'une solution mère, de concentration connue, à partir de laquelle on prépare une solution fille, moins concentrée.

Diluer une solution aqueuse consiste, en lui ajoutant de l'eau distillée, à obtenir une solution moins concentrée.

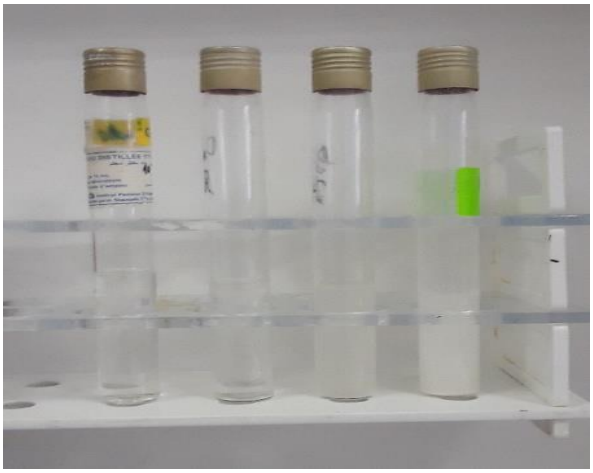


Figure 34 : solution mère et leur dilution

IV.1. 2. Caractérisation phénotypique des isolats

La classification phénotypique utilise un certain nombre de caractères comme étant importants entre autre la morphologie, la mise en évidence d'un caractère biochimique… Elle ne reflète qu'un nombre restreint d'informations. Dans le but de caractérisation des 3 souches lactiques, nous avons procédé à la vérification des différents aspects :

IV.1. 2. 1 Aspect macroscopique :

L'observation macroscopique en milieu liquide indique la présence d'un trouble homogène assez dense comparativement au témoin, ce qui indique une croissance bactérienne au fond du tube après 24 h d'incubation.

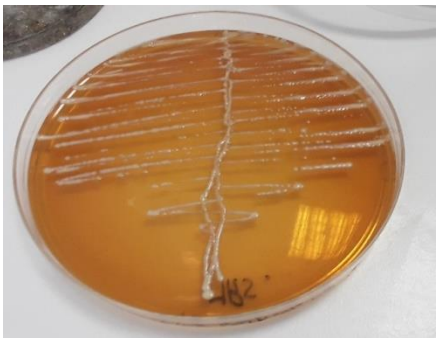


Témoins négatif

Figure 35: présence de trouble dans le bouillon MRS par rapport au témoin(-).

Concernant l'isolement sur milieux MRS solides, l'observation a permis de déterminer l'aspect morphologique des colonies de lactobacilles : Colonies circulaires petites d'environ 1 à 2 mm de diamètre , bombées, lisses, de couleur blanchâtre ayant un contour régulier.

Ces résultats sont en accords avec celle trouvées par ZERGOUG .A , 2017



La figure 36 : Aspect macroscopique des colonies cultivées sur milieu MRS solide.

IV.1. 2. 2 Observation microscopique à l'état frais :

Au cours de la réalisation du test, la technique d'observation microscopique à l'état frais avait montré son importance comme étant une technique rapide dans la détermination de la forme morphologique de nos isolats lactiques.

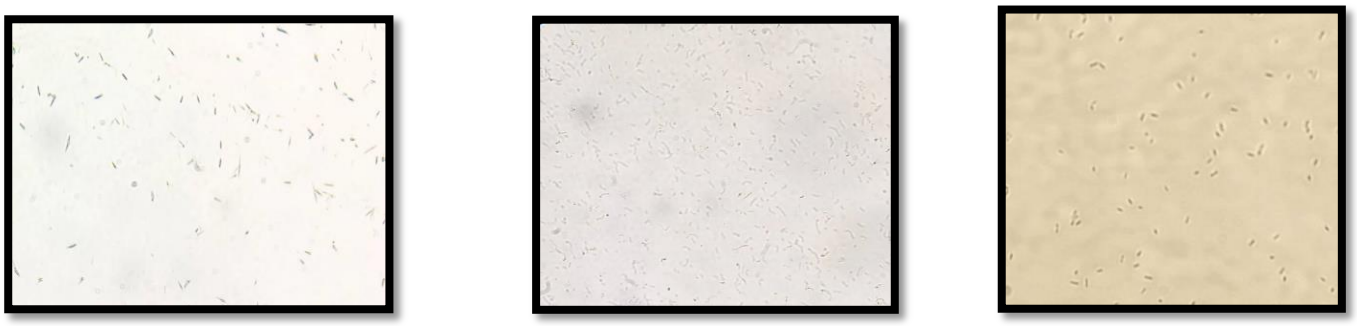


Figure 37 : Observation microscopique des souches lactiques à l'état frais

IV.1. 2. 3 Observation microscopique coloration de Gram

L'observation microscopique des caractères culturaux montre la morphologie des colonies leur mode d'association, Ainsi que le gram. (Joffin et Leyral,1996) .

Les colonies des lactobacilles sont distinguées par leurs formes bacilles, L'observation microscopique après coloration de Gram des souches est représentée par la (figure 38). Toutes les souches étaient Gram positif en bâtonnets. Le mode d'association varie d'un isolat à l'autre.

L'observation microscopique des frottis après coloration de Gram a révélé un forme de cellule c'est la forme bacille en bâtonnets de différentes tailles. Ces résultats sont confirmé par Zergoug A , 2017 ; Drouault et Corthier ,2001.

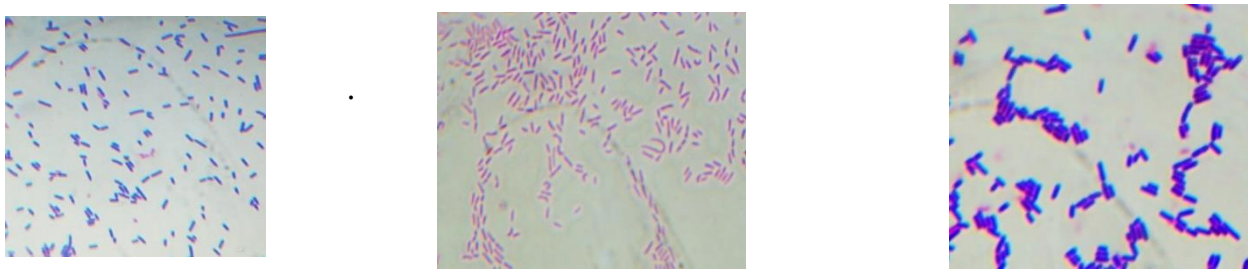


Figure 38 : Observation microscopique (x100) de notre souche après coloration de Gram

IV.1. 2.4. Isolement et la purification des souches lactiques :

La confirmation d'identité des 3 souches étudiées suite une procédure phénotypiques basées sur observation macroscopiques et par des tests d'orientation biochimiques (Zergoug A .2017)



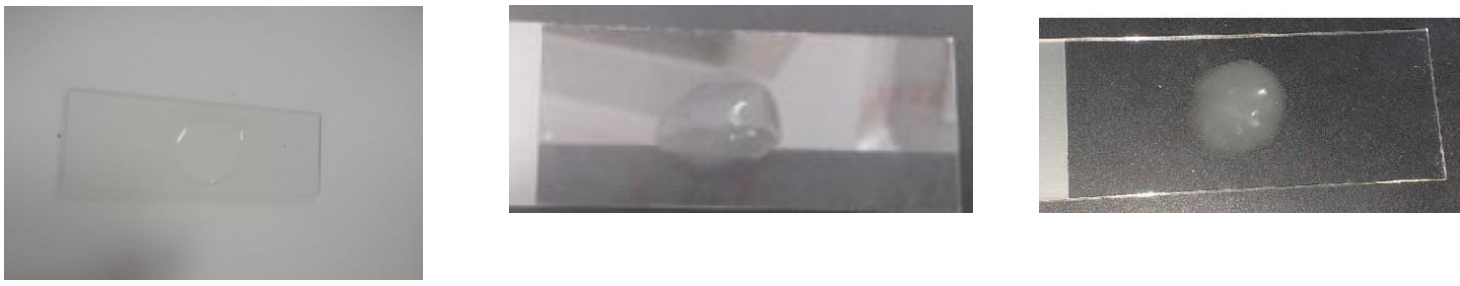
Figure 39 : Observation macroscopiques des colonies lactiques sur milieu MRS .

IV.1.3. Caractérisation physiologique des isolats :

IV.1.3.1 Test catalase :

Pour le test catalase, les trois souches ont montré une réaction négative, traduite par l'absence de la formation de bulles d'air après l'ajout de la suspension bactérienne à l'H2O2.

Ces résultats concordes avec celles retrouvées par Lairini et al., 2014.



A. Témoin négative **B.** Résultat négative

Figure 40 : Mise en évidence de la réaction gazeuse catalysée par l'enzyme Catalase .

IV.1.3.2 Test oxydase :

Nos résultats ont montré que 03 souches sont des oxydases négatives. La réponse négative est traduite par l'apparition d'une couleur jaune sur le disque d'oxydase



A . Disque oxydase d'un témoin négative **B**. Disque oxydase avec une réaction négative

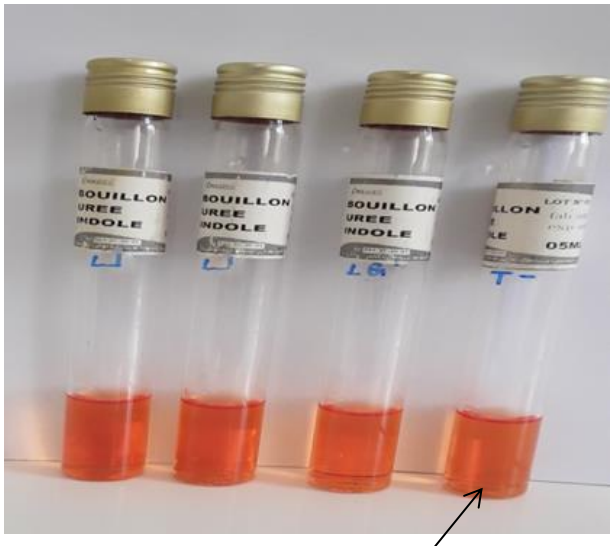
Figure 41 : Mise en évidence de l'enzyme cytochrome oxydase.

IV.1.3.3 La recherche de l'uréase et la mise en évidence de la production d'indole :

- **La recherche de l'uréase :**

Un résultat positif est indiqué par la présence d'une couleur rose vif (fuchsia) dans la gélose inclinée. Un résultat négatif n'est pas de changement de couleur dans la gélose inclinée

Nos résultats ont montré que les 03 souches sont des uréase négatives.



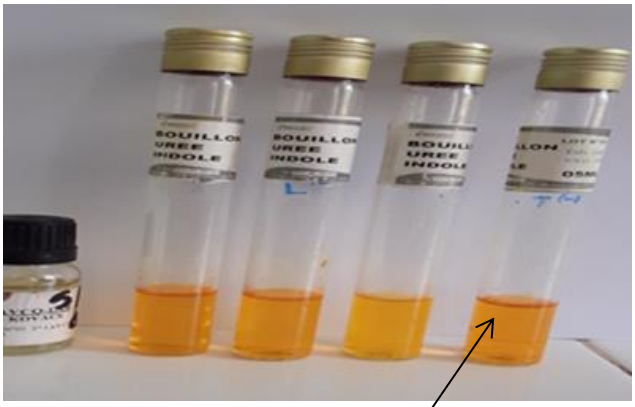
Témoin négative

Figure 42 : Résultats du test uréase.

•Production d'indole :

La présence d'indole se traduit par la formation d'un anneau rouge, après addition du réactif Kovacs .

les trois souche ne dégrader pas le tryptophane en indole, elles sont donc indole négative .



Témoin négative

Figure 43 : Résultats du test d'indole.

IV.1.3.4 Test de production d'acétoïne :

Les résultats obtenus montrent que les 02 souches (L2 L3) sont VP négative . et l'autre souche (L1) est VP positive . La réponse négative est traduite par l'apparition d'une couleur jaune –brun . Tandis que une couleur rouge cerise indique un résultat positif.







Figure 44 : Résultats du test de production d'acétoïne .

IV.1.3.5 Test de mise en évidence de l'arginine dihydrolase (ADH) :

Un changement de la couleur du milieu, du violet vers le jaune, révèle l'absence de l'enzyme (ADH) Le milieu présentant une couleur violette indique la présence de l'arginine dihydrolase (ADH+)

Nos résultats indique que toutes les souches sont ADH positive donc capables d'utiliser l'arginine .



Figure 45 : Résultats du l'arginine dihydrolase (ADH) .

IV.2. Test de fermentation des sucres. :

IV.2.1. Mannitol mobilité :

La détermination de la mobilité de nos isolats à l'état frais a été confirmée par un ensemencement sur le milieu de culture mannitol-mobilité par piqure centrale.

Les résultats obtenus montrent que les 03 souches sont immobiles (développement unique le long de la strie d'ensemencement). Concernant le mannitol le résultat est positif par un virage du milieu vers le jaune





A. résultat négatif **B.** résultat positif

Figure 46: Mise en évidence de la mobilité des souches avec fermentation du mannitol .

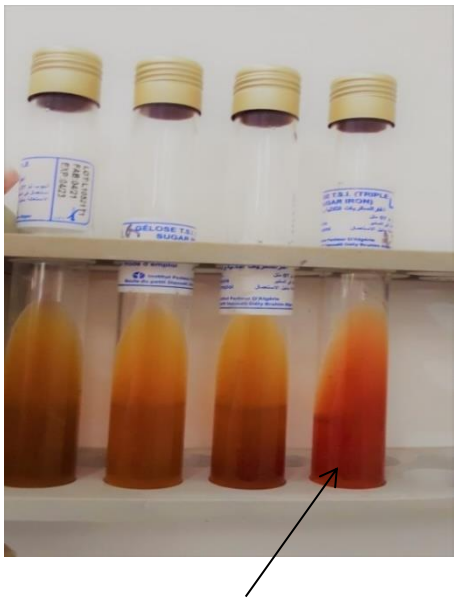
IV.2. 2 Utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose :

Un changement de couleur vers le jaune au niveau de la pente et le culot traduit la fermentation des 03 sucres, le noircissement indique la production d'H2S . Des fissures dans la gélose ainsi qu'un décollement du culot indiquent la production du gaz CO2 .

Nos résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 19 : Résultats de l'utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose .

test souche	L1	L2	L3
glucose	+	+	+
lactose	+	+	+
Saccharose	+	+	+
La production du gaz CO2	-	-	-
la production d'H2S	-	-	-



Témoin négative

Figure 47 : Résultats de l'utilisation des sucres : glucose , lactose , saccharose .

IV.3. Croissance sur milieu hyper salé :

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux pour l'identification. Les cultures à testeront été ensemencées sur des bouillons hyper salés à 4% et à 6.5% et 2 % de NaCl.la croissance aux différentes concentrations se traduit par un trouble et par la mesure de la DO les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 20 : Mise en évidence les résultats des troubles

test **souche**	**L1**	**L2**	**L3**
	Trouble		
Tolerance a l'NaCl 02 %	+	+	+
Tolerance à l'NaCl 4 .5 %	+	+	+
Tolerance à l'NaCl 6.5 %	-	-	-

Tableau 21 : Mise en évidence les résultats de la mesure de la DO

	Répétition	**L1**	**L2**	**L3**
Tolérance a l'NaCl 02 %	R1	2.101	2.212	2.241
	R2	2.212	2.221	2.311
	R3	2.073	2.193	2.432
	R4	2.092	2.201	2.303
Tolérance à l'NaCl 4 .5 %	R1	1.763	1.632	1.812
	R2	1.752	1.655	1.851
	R3	1.790	1.600	1.803
	R4	1.801	1.694	1.830
Tolérance àl'NaCl 6.5 %	R1	0.635	0.652	0.518
	R2	0.620	0.682	0.600
	R3	0.622	0.620	0.588
	R4	0.632	0.612	0.542

Les 3 souches présentent une forte tolérance au NaCl 02% et 4.5%, tandis que pour NaCl 6.5% les 3 souches montrent une tolérance modère ce qui est confirmer par les résultats de Devriese (Devriese et al., 1993 ; Devriese et Pot, 1995).

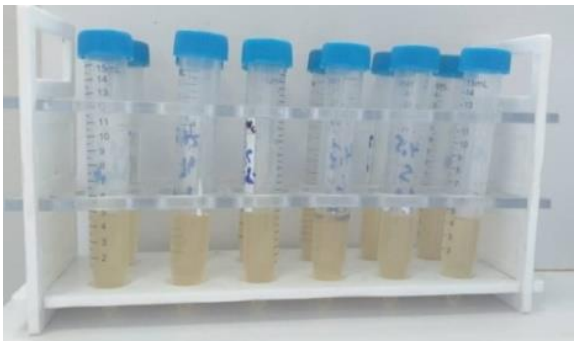
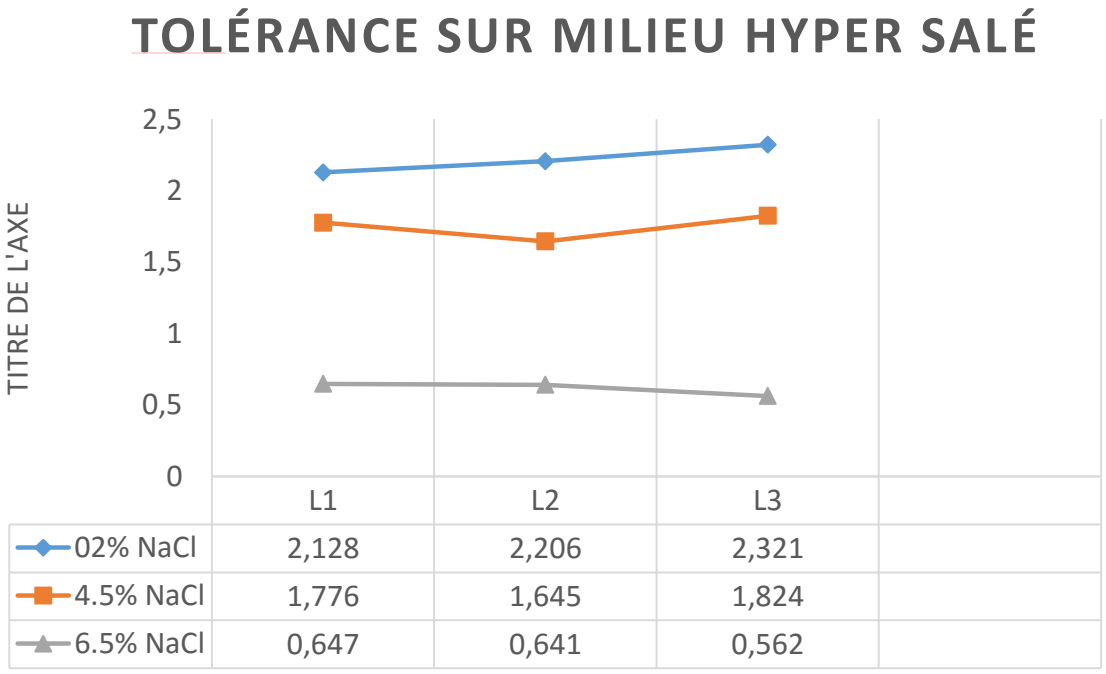


Figure 48 : Mise en évidence la Croissance du nos douches sur milieu hyper salé



IV.4. Etude de l'activité antibactérienne :

IV.4..1. Méthode de diffusion sur gélose par puits :

La production de composés antimicrobiens contre des agents pathogènes par des Souches lactobacillus a été déterminée par l'essai de diffusion en gélose. Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis les agents pathogènes indicateurs sont indiqués dans le tableau **(Zuo, et al., 2015) .**

Tableau 22 : Inhibition in vitro des agents pathogènes par les souches lactobacillus **(Zuo, et al., 2015)**

Souches	Diameter (mm) of inhibition zones		
	Salmonella Typhimuriem ATCC 14028	Staphyloccus aureus ATCC 6538	Escherichia coli ATCC 9739
L2	17	23	17
L3	15	19	16
L1	14	18	16
Mélange	18	21	18

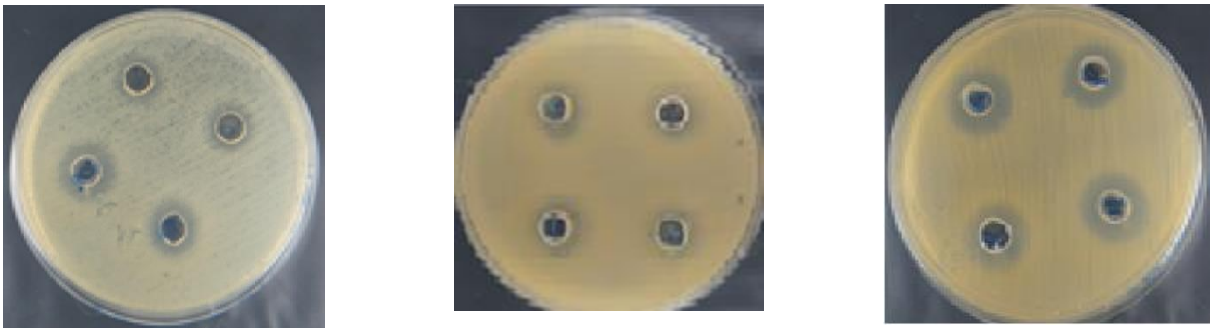


Figure 49 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par le test diffusion sur gélose.

L'effet inhibiteur pour chaque bactérie lactique a été significativement différent d'une souche à l'autre. En effet, pour S.aureus les diamètres de zone d'inhibition sont entre 18 à 23 mm alors que E.coli, les diamètres sont de 16 à 18 mm et on a des diamètres entre 14 à 18 mm pour Salmonella Typhimuriem.

Le plus fort résultat enregistré par le mélange de 3 souches contre les 3 soues de références.

L'activité antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes a été confirmée par plusieurs travaux.

Les études de Makras et al., (2006) ont montré une activité inhibitrice de Staphylococcus aureus et Escherichia coli par des bactéries lactiques genre lactobacillus (Nigatu et al., (2015).

Ces résultats sont les même de ceux obtenus par Allouche et al, 2010 qui constate que les lactobacilles sont plus actifs contre les souches Gram positives notamment S. aureus et S. Typhimuriem avec des zones de 12 et 22mm contre 0 et 19mm pour les souches Gram négatives représentées par E. coli 54127 et E. coli 105331.

Cependant, nos résultats sont conformes aux résultats de Mameche (2008) qui a constaté que les lactobacilles ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif nettement supérieure à celle observée contre les pathogènes à Gram positif. (Zi)

IV.5. Capacité de formation de biofilm :

IV.5.1. Adhésion des souches sur microplaques de polystyrène :

L'évaluation précise de l'adhésion est nécessaire pour la sélection des nouvelles souches probiotiques (Kizerwetter-Świda & Binek, 2006). L'adhésion et la colonisation de la muqueuse intestinale par les bactéries probiotiques sont basées sur les propriétés de surface de la souche, et repose initialement sur des interactions physiques non spécifiques entre les deux surfaces (Hermansson, 1999 ; Bhagat et al., 2020). Ce phénomène favorise le temps de séjour des souches dans l'intestin, l'exclusion des agents pathogènes, et l'interaction avec les cellules épithéliales et immunitaires de l'hôte (Balgir et al., 2013).

L'adhésion des souches lactiques choisir au polystyrène a été examinée, les valeurs d'absorbance à 600 nm après l'incubation sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 23 : Résultats de l'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	L2 1 2.916	L21 3.137	L21 2.894	L21 3.619	L21 3.667	L21 3.739	L21 3.301	L21 3.679	L21 3.645	L21 3.472	L21 2.931	L21 2.761
B	L11 3.590	L11 3.494	L11 2.862	L11 2.482	L11 3.455	L11 2.704	L11 1.928	L11 3.602	L11 3.212	L11 3.533	L11 3.571	L11 3.322
C	L31 1.125	L31 3.244	L31 3.538	L31 3.291	L31 2.198	L31 3.136	L31 3.250	L31 2.753	L31 3.421	L31 3.363	L31 3.488	L31 3.561
D	T- 0.125	T- 0.146	T- 0.209	T- 0.586	T- 0.115	T- 0.592	T- 0.093	T- 0.248	T- 0.074	T- 0.175	T- 0.196	T- 0.290
E	T- 0.333	T- 0.264	T- 0.418	T- 0.400	T- 0.109	T- 0.324	T- 0.184	T- 0.379	T- 0.451	T- 0.599	T- 0.144	T- 0.276
F	L22 3.370	L22 2.706	L22 3.526	L22 3.557	L22 3.145	L22 3.373	L22 3.173	L22 3.209	L22 3.106	L22 2.834	L22 2.758	L22 2.999
G	L12 3.380	L12 3.635	L12 3.456	L12 3.360	L12 3.712	L12 3.413	L12 3.423	L12 3.211	L12 3.738	L12 3.689	L12 3.687	L12 3.456
H	L32 2.649	L32 2.678	L32 3.061	L32 3.718	L32 2.613	L32 3.737	L32 3.470	L32 3.577	L32 3.682	L32 3.512	L32 3.148	L32 2.699

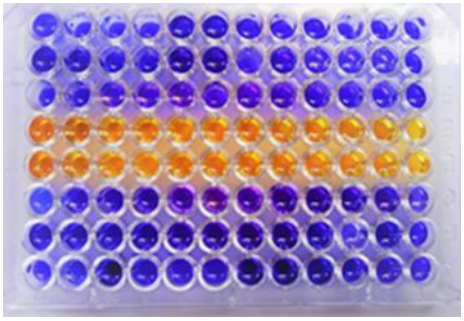


Figure 50 : Résultats de l'adhésion des souches sur microplaques de polystyrène.

Selon Mathur et al. (2006) l'adhésion des bactéries à la valeur de l'A630 sont classées par lordre suivant : non-adhérentes (A≤ 0,07 comme négatif), faiblement adhérentes (0,14 ≥ *A* > 0,07), moyennement adhérentes (0,28 ≥ *A* > 0,14), fortement adhérentes (A> 0,28).

Les résultats montrent que les 3 souches (L1) (A=3.019), (L2) (A=3.10), (L3) (A=3.018), présente une forte capacité d'adhésion à la microplaque polystyrène en comparaissait avec le témoin de 0.1 à 0.2.

Les résultats montrent que les souches ont une capacité d'adhésion, avec des valeurs variantes entre 3.01 à 3.13 une densité optique de 620nm tableau

Tableau 24 : moyenne d'adhésion des souches sur microplaque

Les souches	A620	Observation
L1	3.019	Fortement adhéré
L2	3.130	Fortement adhéré
L3	3.018	Fortement adhéré
T(-)	0.201	Pas adhésion



Figure 51 : Capacité d'adhésion des souches Lactobacillus sur la microplaque en polystyrène.

Notre résultat est d'accord avec les résultats obtenus par Kubota et al. (2008), qui rapporte la capacité des bactéries lactiques, appartenant à L1, L2, L3. D'adhérés sur microplaque en polystyrène.

Bharathi et al. (2011), ont démontré que la plupart des bactéries lactiques de genre Lactobacillus surtout la souche L1 présente une forte capacité d'adhéré sur la surface plastique en polystyrène.

Cependant, la capacité d'adhésion des bactéries sur la surface de plastique en polystyrène est déterminée par un ensemble de propriétés physico-chimiques, tel que l'hydrophobicité et la charge externe, ainsi que les SLP fortement associées à la surface d'une bactérie Gram positif comme Lactobacillus, pourrait conférer une grand hydrophobicité (Van der Mei et al., 2003).

La composition de la surface bactérienne joue un rôle important d'adhérence. Une étude de Harty et Knox (1991), sur la capacité d'adhésion de quarante souches, de 20 espèces différentes de Lactobacillus, a révélé par une corrélation entre l'hydrophobicité de la surface cellulaire de ces souches et leur affinité pour le polystyrène.

Certains auteurs rapportent que les souches de Lactobacillus ne pouvait pas être expliquée en fonction de l'hydrophobicité de la surface cellulaire, puisque les bactéries Sont adhéré en plus grand nombre à des hydrophobes au polystyrène que le verre Hydrophile (virginia et al., 2005).

Anwar et al., (2013), ont rapporté que six souches appartenant au genre Lactobacillus possédaient un caractère hydrophobe (Makhloufi, 2011).

IV.5.2. La méthode de culture sur rouge Congo agar (RCA)

La gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu, les souches exprimant le PIA (polysaccharide intercellular adhesin) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatif **(Chaieb et al.,2005).**

Les 03 souches de lactobacillus isolées ont été testées pour mettre en évidence leur capacité à produire de slime sur milieu rouge Congo, Les souches productrices de slime avaient un phénotype variable ou positif Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 25 : Résultats de la production de slime par la méthode RCA.

Souches	Couleur de colonies	Phénotype (slime)
L1	Noire	Positive (+)
L2	Noire	Positive (+)
L3	Noire	Positive (+)



Figure 52 : Résultats de la production de slime par la méthode RCA

IV.5.3 Adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales :

L'adhésion est un processus complexe, qui peut comprendre des mécanismes ligand récepteur non- spécifiques et spécifiques (Cayuela et al., 2014). Des facteurs tels que les protéines, les glycoprotéines, sur la surface de la paroi cellulaire des bactéries ont été impliquées dans la capacité d'adhérence, d'auto- agrégation et d'hydrophobicité.

Dans ce pratique nous avons utilisé des cellules épithéliales d'une bovin (partie de colon). La capacité d'adhésion des 3 souches a été déterminée par un nombre des bactéries adhérée

supérieurs à 15 **(Lin et *al*., 2007).**

Tableau 26 : Adhésion des souches *Lactobacillus* aux cellules épithéliales de colon d'un bovin

Les souches	Nombre des bactéries adhérées	Test	Lecture
L1	16	+	Adhésion
L2	17	+	Adhésion
L3	18	+	Adhésion
Melange (L1,L2,L3)	19	++	Adhésion
Temoins (-)	00	-	Absence d'adhésion

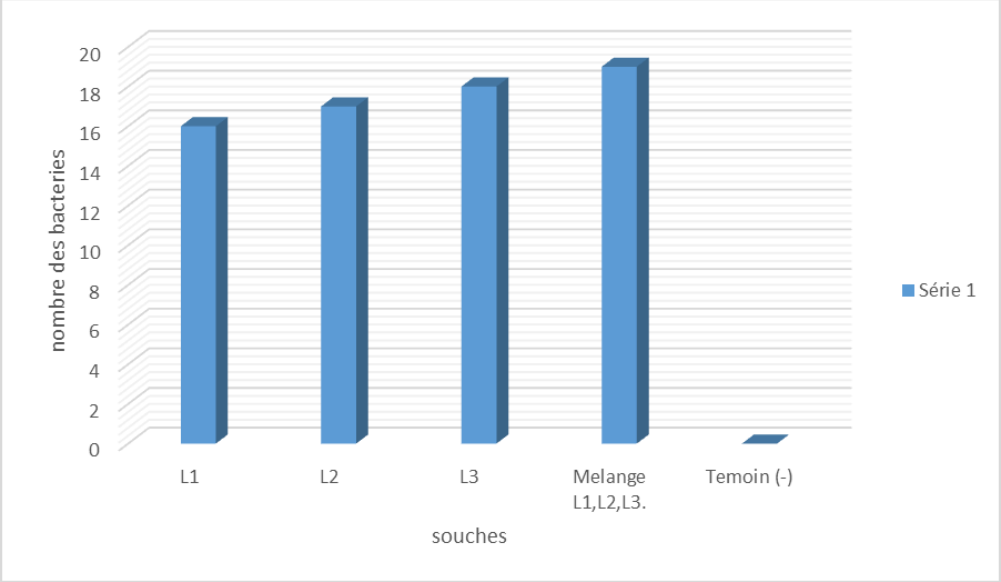


Figure 53 : Adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales de colon d'un Bovin.

Il apparait que les trois souches (L1, L2, L3), présentent une (test +) donc une capacité élevée d'adhésion à les cellules épithéliales bovin. Le mélange (L1, L2, L3) a montré un nombre maximal de cellules bactériennes par cellule épithéliale (Wang et al.2010). Avec aussi un test positive ++.

Pinto et al. (2006) Découverte d'une souche de Lactobacillus aux propriétés probiotiques ont des mécanismes qui leur permettent d'adhère et de coloniser les cellules épithéliales intestinales.

Saito en 2004 prouve l'interaction entre des protéines de surface présentes chez les Lactobacillus (Lectin-likeproteins) et les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale.

L3 présente une forte capacité d'adhésion par rapport aux autres. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Kučan et al. (2012), qui ont montré que la souche L3 est capable d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales de souris *in vitro*.

Il a été montré qu'il existe une relation entre la capacité d'adhérence et la colonisation provisoire de l'intestin humain.

D'après certains auteurs, l'origine des probiotiques joue un rôle dans les capacités d'adhérences, il a été trouvé que les bactéries d'origine humaine peuvent adhérer mieux aux muqueuses intestinales de l'homme (Gu et al., 2008).



Figure 54 : Mise en évidence le résultat d'adhésion des souches Lactobacillus aux cellules épithéliales.

IV.6. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

L'antibiogramme a été effectué sur les 3 souches appartenant à l'espèce des lactobacilles, on a testé leur résistance vis-à-vis à 11 antibiotiques après une culture de 24 h au MRS en anaérobiose. On a mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne, les résultats sont présentés dans le tableau 27 et la figure 57 :

Tableau 27: Antibiogramme des trois souches de lactobacillus

Antibiotiques		L1	L2	L3
Amoxicilline	**AML**	**17**	**6**	**7**
Céfoxitine	**FOX**	**7**	**7**	**6**
Gentamicine	**GT**	**12**	**11**	**12**
Imipenème	**IPM**	**41**	**39**	**37**
Ciprofloxacine	**CIP**	**6**	**10**	**7**
Cefotaxime	**CTX**	**29**	**29**	**25**
Cefalexin	**CN**	**13**	**14**	**15**
Azithromycin	**AZM**	**12**	**30**	**30**
Vancomycine	**VA**	**6**	**19**	**8**

AMPICILLIN	**AM**	**24**	**37**	**36**



La figure 55 : Illustre l'expression phénotypique de l'antibiogramme .

Nos isolats lactiques, ont exprimé différentes résistances vis-à-vis des antibiotiques utilisés, ils ont été pour certains sensibles (>25mm), certains sont résistante (<15mm), et pour d'autres intermédiaires. (>15mm).

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques en raison de leur structure et de leur physiologie (Samedi et Charles, 2019).

Selon Klein et al., 1998 La majorité des bactéries lactiques ont une résistance contre les antibiotiques.

Cette résistance est intrinsèque et non transmissible, certaines souches lactiques présentent des différences quant à leur sensibilité à différents antibiotiques, ce qui justifie la modification de la composition de leurs membranes cellulaires Naghmouchi., (2007)

Les 3 souches présentent une grande sensibilité vis-à-vis aux antibiotiques [Cefotaxime, et AMPICILLIN], tandis que les 2 souches [L1, L2] présentent une sensibilité aussi pour[Imipenème]. Pour les souches [L3, L2] ils ont montré une sensibilité respectivement au [Vancomycine/ AMPICILLIN].

Une sensibilité envers les B-lactamine ,est largement rapportée pour ce groupe bactérien(karasu et al.,2010) .Ainsi que les 3 souches, résistent au [Céfoxitine/ Gentamicine].

Les souches présentent une résistance intermédiaire pour Cefalexin.

Les profils généraux de résistances aux antibiotiques des bactéries lactiques de notre étude concordent avec ceux rapportés dans la literature, ce qui a été souvent rapportée par plusieurs auteurs (Charteris et al., 1998; Delgado et al., 2005; Florez et al., 2005; Swenson et al., 1990 ou comme celle à des aminoglycosides (kanamycine, gentamycine, tobramycine, amikacine),

elle aussi déjà signalée par (Charteris et al., 1998b; Coppola et al., 2005; Zhou et al., 2005 ;Zergoug A. 2017).

IV.7 Optimisation :

Afin de déterminer les conditions physiques/chimiques optimum des trois souches lactiques utilise, nous avons étudié leurs croissances au différant pH avec valeur varier entre [2.4 à 6.4] et leur stabilité dermique a différent température [28 à 45°C], ainsi que l'optimisation d'un milieu de culture MRS et d'un milieu organique [matières premières F1 et F2] 100% sans gluten.

La lecture des résultats consiste comme toujours en une mesure de DO et de pH qui est

Mentionné dans les tableaux et les graphs suivants :

IV.7 .1 Optimisation de température :

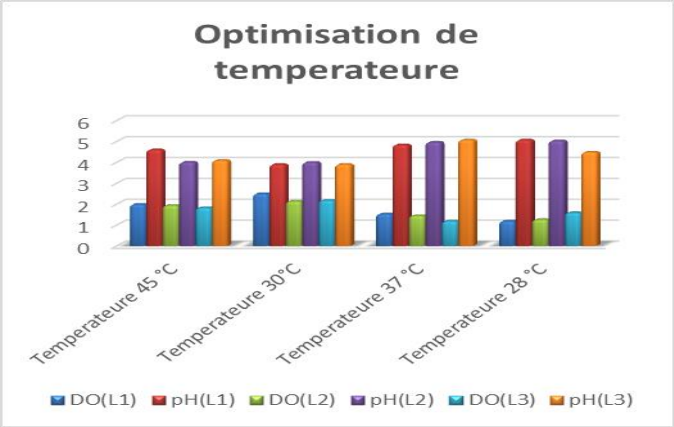
Tableau 28 : Résultats d'optimisation de température

		L2		L1		L3	
TEMPERATEUR		**DO**	**pH**	**DO**	**pH**	**DO**	**pH**
45°C	**R1**	1.94	4.13	1.95	4.05	2.06	4.04
	R2	1.89	4.04	2.01	4.04	1.38	4.91
	R3	1.99	4.04	2.02	4.02	1.50	4.61
	R4	1.97	4.03	2.01	4.04	1.44	4.20
	M	1.94	4.06	1.99	4.03	1.83	4.09
37°C	**R1**	2.07	4.01	2.06	4.06	2.06	3.99
	R2	2.22	4.04	2.18	3.93	2.06	3.98
	R3	2.15	4.01	2.15	3.98	2.04	3.89
	R4	2.19	3.95	2.17	3.97	2.01	3.90
	M	2.15	4.00	2.14	3.98	2.18	3.65
30°C	**R1**	1.18	5.8	1.52	4.86	2.20	3.41
	R2	1.51	4.67	1.62	4.73	2.18	3.43
	R3	1.56	4.68	1.45	4.80	2.22	3.32
	R4	1.58	4.71	1.56	5.00	2.12	3.45
	M	1.45	4.96	1.53	4.84	2.04	3.94
28°C	**R1**	1.20	5.01	1.02	5.20	1.70	3.99
	R2	1.38	4.98	1.227	5.05	1.99	4.04
	R3	1.29	5.03	1.341	4.96	1.86	4.23
	R4	1.19	5.13	1.18	5.08	1.78	4.12
	M	1.26	5.03	1.19	5.07	1.59	4.44

IV.7 .2 Optimisation du pH :

Tableau 29 : Résultats d'optimisation de pH

		L2	L1	L3
pH	**REPETITION**	**DO**	**DO**	**DO**
2.4	**R1**	0.053	0.022	0.13
	R2	0.066	0.023	0.12
	R3	0.064	0.030	0.14
	R4	0.060	0.022	0.13
	M	0.060	0.024	0.52
3.4	**R1**	0.174	0.041	0.45
	R2	0.180	0.052	0.45
	R3	0.179	0.042	0.53
	R4	0.190	0.053	0.47
	M	0.180	0.047	0.47
4.4	**R1**	1.988	1.825	1.92
	R2	1.997	1.794	1.90
	R3	1.993	1.835	1.90
	R4	2.001	1.834	1.89
	M	1.994	1.822	1.90
5.4	**R1**	2.215	2.514	2.05
	R2	2.239	2.210	2.07
	R3	2.320	2.186	2.08
	R4	2.216	2.192	2.09
	M	2.247	2.275	2.07



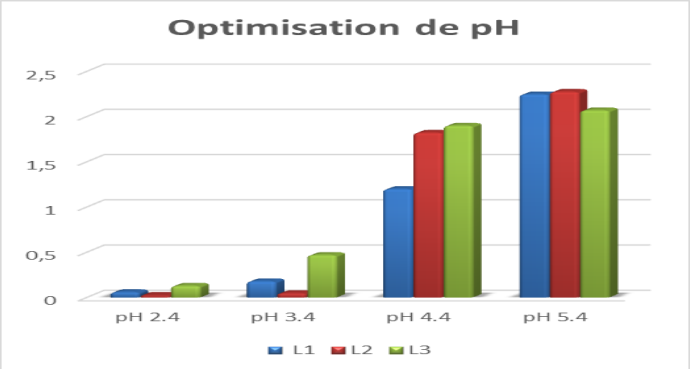


Figure 56 : Optimisation de température

Figure 57 : Optimisation de pH

D'après le tableau (28) et la figure (56) on constate que la croissance est meilleur à 37 °C elle attende des valeurs moyenne de DO [2.14,2.15,2.18] pour les trois souches respectivement [L1, L2, L3] et un pH [4,3.98.3.90].

Par rapport aux autres températures 30°C, 28°C, et pour 45°C une bonne croissance été enregistrée mais ce n'est pas la meilleure.

Notre résultat obtenu est les mêmes avec les résultats de (Roso et al.,1990) ils ont mentionné que quand la température du milieu se situe en haut ou en bas de température requise pour la croissance optimale, l'activité microbienne est réduite et le microorganisme peut éventuellement se détruire.

En a constaté aussi que le pH diminué au plus de 0.5 unités. (Chamba .1990) ont montré qu'une souche lactique n'est acidifiante que si la diminution de pH égale au moins 0.5 unité. Pour cela on peut considère cette température 37°C comme optimale pour les 3 souches .D'après le tableau (29) et la figure (57) on constate que la croissance est meilleur au pH de 5.4 pH proche au pH de milieu de culture MRS, pour les trois souches avec un DO de (2.247,2.275,2.07), respectivement pour (L1, L2, L3).

Il est connu qu'à des pH bas, l'acide lactique provoque une pression dans les cellules microbiennes [24] puis les bactéries perdent leurs activités physiologiques entraînant ainsi une inhibition de β galactosidase et d'autres enzymes de glycolyse.

Aux pH [2.4,3.4] les trois souches (L1, L2, L3) montrent une baisse DO [0.060, 0.024,0.47] [0.047,0.18, ,0.470] une inhibition de croissance et le pH de 4.4 montre un DO [1.822,1.994,1.90] en peut les constatées comme bonne croissance.

Les lactobacillus nécessitent l'ATP beaucoup plus dans la maintenance que dans la croissance et la production, ce qui explique l'inhibition à des pH bas ou élevés. On peut conclure que ce pH est pris comme optimum pour notre souches lactobacillus afin qu'elle puisse donner une bonne croissance et production d'acide lactique. (Vali M.2006).

IV.7 .3 Optimisation de matière première féculents (F1 / F2) :

Souche L1 Tableau 30 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2)

Concentration	Repetition	F1		F2	
		DO	**pH**	**DO**	**pH**
0.1	R1	0.58	5.04	0.83	4.30
	R2	0.78	5.21	0.80	4.22
	R3	0.79	5.10	0.88	4.11
	R4	0.78	5.09	0.84	4.10
	M	0.73	5.11	0.83	4.18
0.2	R1	0.97	6.56	1.22	4.27
	R2	0.88	4.99	1.32	4.15
	R3	0.89	5.16	1.36	4.22
	R4	0.91	5.11	1.91	4.11
	M	0.91	5.45	1.45	4.18
0.3	R1	1.05	5.18	2.39	3.99
	R2	1.10	5.82	2.22	4.20
	R3	1.10	5.60	1.99	4.30
	R4	1.09	5.80	2.17	4.28
	M	1.08	5.45	1.45	4.18
0.4	R1	1.24	5.23	1.30	4.25
	R2	1.26	5.33	1.41	4.57
	R3	1.24	5.26	1.30	4.42
	R4	1.22	5.52	1.34	4.40
	M	1.24	5.33	1.33	4.41
0.5	R1	1.22	5.05	1.36	4.15
	R2	1.37	5.08	1.50	4.19
	R3	1.28	5.06	1.40	4.35
	R4	1.33	5.04	1.34	4.08
	M	1.30	5.30	1.40	4.19

Souche L2

Tableau 31 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1/ F2)

	Répétition	**F1**		**F2**	
0.1		Do	pH	Do	pH
	R1	0.67	5.30	0.72	4.70
	R2	0.62	6.84	0.56	4.82
	R3	0.60	6.23	0.68	4.54
	R4	0.56	5.91	0.61	4.46
	M	0.61	6.07	0.64	4.63
0.2	R1	0.71	5.20	1.90	4.98
	R2	0.79	5.73	1.30	5.20
	R3	0.78	5.69	1.30	4.84
	R4	0.76	5.60	1.02	4.56
	M	0.76	5.55	1.38	4.89
0.3	R1	0.87	5.23	2.70	3.85
	R2	0.94	5.17	1.10	4.44
	R3	0.97	5.35	1.15	4.35
	R4	0.87	5.33	1.26	4.08
	M	0.91	5.27	1.55	4.18
0.4	R1	0.92	5.00	1.60	3.99
	R2	1.09	5.15	1.15	4.67
	R3	1.08	5.16	1.13	4.66
	R4	0.90	5.01	1.41	4.36
	M	0.99	5.08	1.32	4.42
0.5	R1	1.00	5.00	1.90	3.69
	R2	1.09	4.85	1.19	4.45
	R3	2.12	4.97	1.48	4.58
	R4	2.13	4.96	1.77	4.22
	M	1.58	4.94	1.58	4.23

Souche L3

Tableau 32 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2)

Concentration	Répétition	F1		F2	
		DO	pH	DO	pH
0.1	R1	0.14	4.59	0.33	4.80
	R2	0.16	4.60	0.41	4.70
	R3	0.18	4.60	0.47	4.60
	R4	0.19	4.48	0.57	4.56
	M	0.16	4.56	0.44	4.66
0.2	R1	0.44	4.53	0.73	4.60
	R2	0.45	4.47	0.84	4.52
	R3	0.43	4.48	0.91	4.45
	R4	0.41	4.52	0.88	4.50
	M	0.43	4.5	0.84	4.51
0.3	R1	0.66	4.43	1.14	4.38
	R2	0.67	4.40	1.16	4.29
	R3	0.64	4.42	0.99	4.40
	R4	0.65	4.45	0.71	4.55
	M	0.65	4.42	1.00	4.40
0.4	R1	0.88	4.36	1.33	4.30
	R2	0.82	4.44	1.52	4.15
	R3	0.90	4.33	1.26	4.24
	R4	0.89	4.43	1.38	4.41
	M	0.87	4.39	1.37	4.27
0.5	R1	1.90	4.20	1.36	4.32
	R2	1.50	4.31	1.48	4.15
	R3	1.24	4.43	1.43	4.36
	R4	1.10	4.45	1.39	4.20
	M	1.43	4.34	1.41	4.25

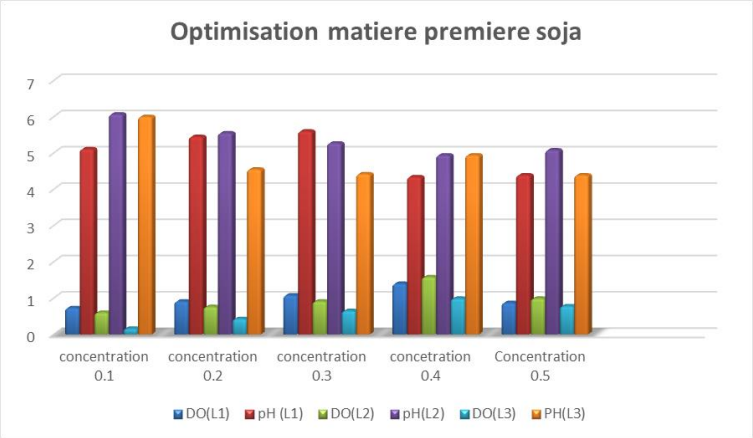


Figure 58: Optimisation de matière première F1

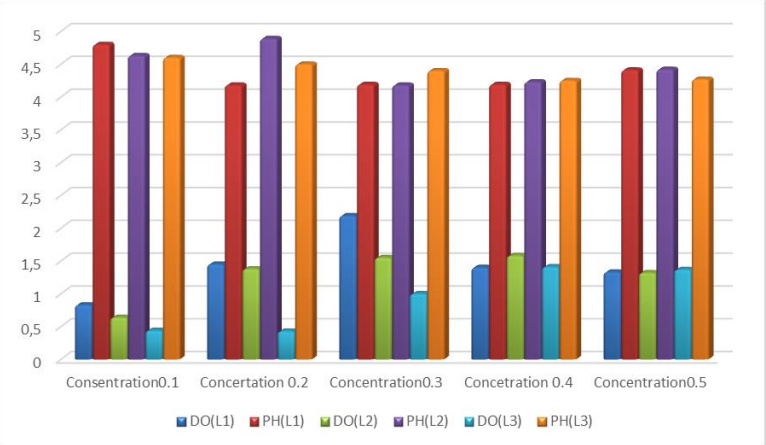


Figure 59 : Optimisation de matière première F2

D'après les 3 tableaux (30 .31 .32) et les 2 figures 58 et 59 en a constaté que la meilleure concentration de matière première F1 et F2 est 0.4g/l, pour les souches avec une acidification de milieu élevée de moyenne de 4.19 à 5.33 unités.

Les résultats sont confirmés par rapport au notre référence milieux MRS. Donc, en peut considérer la concentration 0.4g/l comme étant optimum pour la croissance des 3 souches lactiques utilise dans les différent matières F1 /F2 on a conclu que ce milieu de culture présente une qualité adéquate vu sa richesse en matières nutritifs.

IV.7 .4 Optimisation de matière première MRS (Milieu de référence).

Tableau 33 : Résultats d'optimisation de matière première MRS.

	L1		L2		L3	
Répétition	**DO**	**pH**	**DO**	**pH**	**DO**	**pH**
R1	1.980	4.45	1.89	4.43	2.03	3.99
R2	2.060	4.18	2.026	4.22	2.41	3.98
R3	2.091	4.10	2.005	4.14	2.55	3.89
R4	2.020	4.15	2.032	4.13	2.74	3.90
M	2.037	4.22	1.988	4.23	2.43	3.94

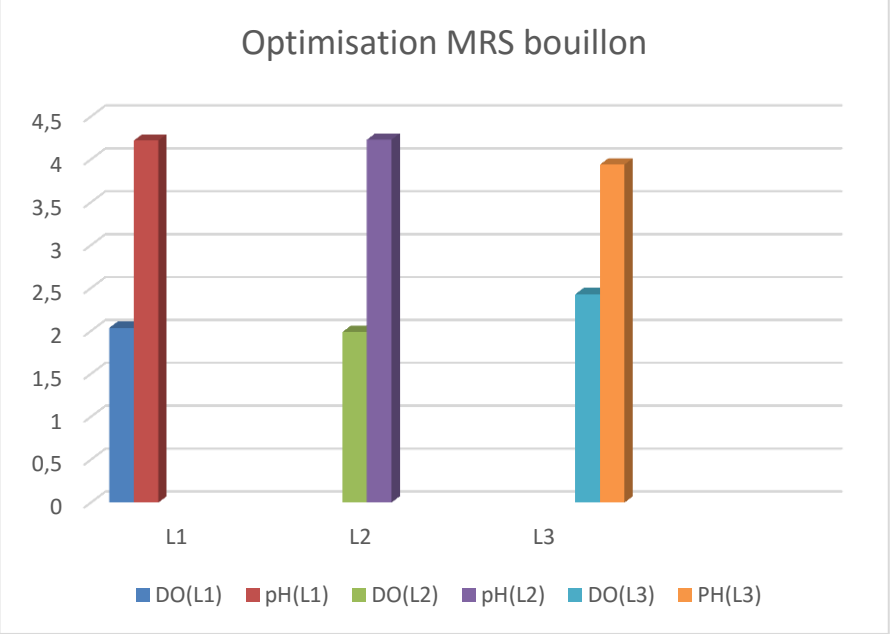


Figure 60 : Optimisation de MRS bouillon

IV.7 .5 Effet de combinaison :

- **Cas 01 :**
  - Sur milieu à base de F1

Tableau 34 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1).

		DO	pH
L2+L3	R1	1.582	4.25
	R2	1.161	4.27
	R3	1.402	4.23
	R4	1.083	4.28
	M	1.307	4.25
L3+L1	R1	1.254	4.24
	R2	1.321	4.23
	R3	1.293	4.25
	R4	1.293	4.25
	M	1.290	4.24
L1+L2	R1	2.405	3.89
	R2	1.890	4.22
	R3	1.923	4.19
	R4	2.288	3.95
	M	2.126	4.06
L1+L2+L3	R1	1.896	4.22
	R2	1.806	4.25
	R3	1.890	4.22
	R4	1.920	4.20
	M	1.878	4.22

- Sur milieu à base de F2.

Tableau 35: Résultats d'optimisation de matière première féculents (F2) .

		DO	pH
L2+L3	R1	1.301	4.23
	R2	1.202	4.24
	R3	1.218	4.24
	R4	1.283	4.26
	M	1.251	4.24
L3+L1	R1	1.208	4.24
	R2	1.206	4.24
	R3	1.203	4.25
	R4	1.204	4.24
	M	1.205	4.24
L1+L2	R1	1.145	4.27
	R2	1.133	4.25
	R3	1.152	4.25
	R4	1.138	4.25
	M	1.142	4.25
L1+L2+L3	R1	1.080	4.30
	R2	1.123	4.25
	R3	1.138	4.25
	R4	1.099	4.30
	M	1.11	4.27

Cas 02 : Sur milieu MRS.

Tableau 36 : Résultats d'optimisation de matière première MRS .

		DO	pH
L3+L2	R1	2.335	3.87
	R2	2.345	3.94
	R3	2.224	3.94
	R4	2.337	3.93
	M	2.310	3.92
L1+L3	R1	2.245	3.96
	R2	2.248	3.97
	R3	2.331	3.94
	R4	2.292	3.96
	M	2.279	3.95
L1+L2	R1	2.283	3.92
	R2	2.211	3.97
	R3	2.133	3.99
	R4	2.118	3.99
	M	2.186	3.96
L1+L2+L3	R1	2.227	3.89
	R2	2.166	3.90
	R3	2.313	3.85
	R4	2.169	3.90
	M	2.218	3.88

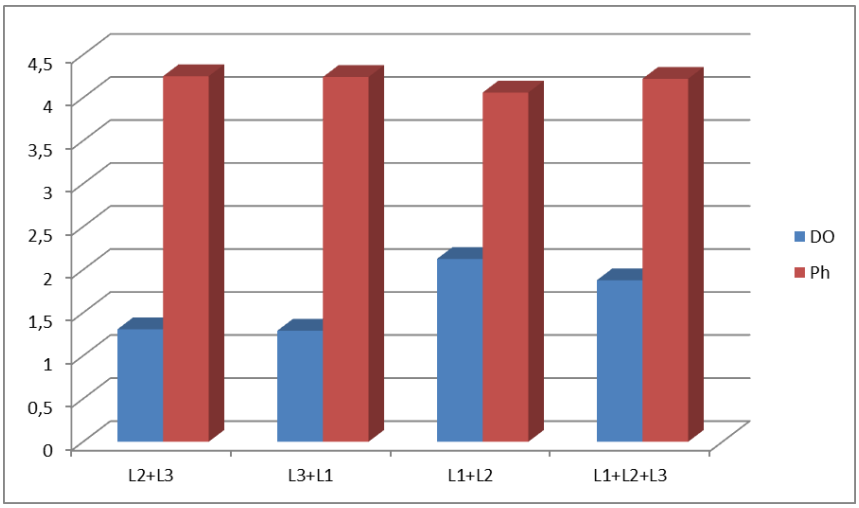


Figure 61 : Optimisation de matière première féculents (F1)

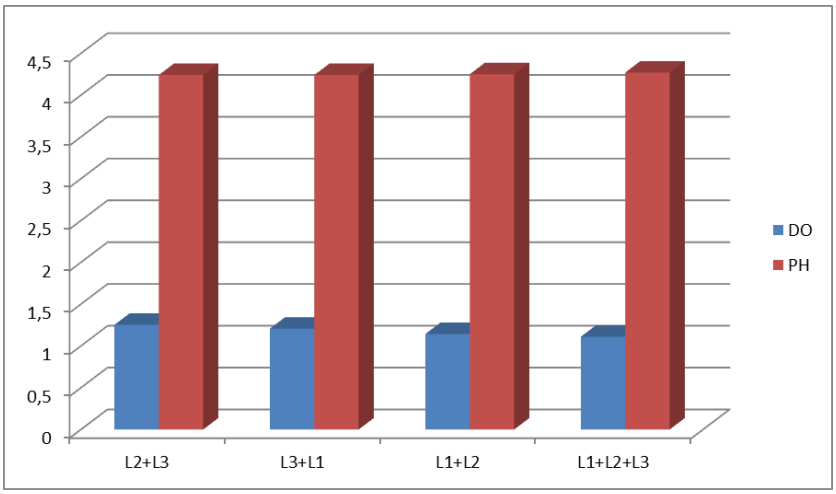


Figure 62 : Optimisation de matière première féculents (F2)

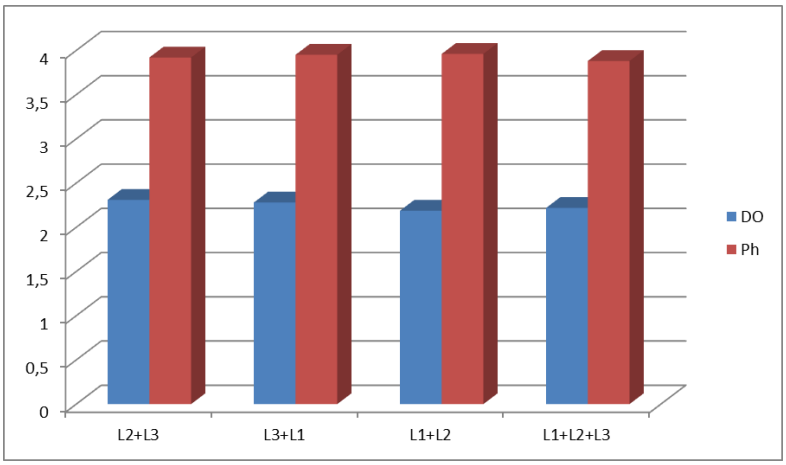


Figure 63 : Optimisation de matière première MRS

- **Cas 03 :**
  - Sur la combinaison F1 et F2.

Mélange 01 :

Tableau 37 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2)

		DO	pH
L2+L3	**R1**	0.701	4.01
	R2	0.684	4.02
	R3	0.661	4.03
	R4	0.678	4.03
	M	0.681	4.02
L1+L3	**R1**	0.786	3.87
	R2	0.774	3.92
	R3	0.699	3.93
	R4	0.758	3.89
	M	0.754	3.90
L1+L2	**R1**	0.635	4.04
	R2	0.681	4.03
	R3	0.641	4.05
	R4	0.612	4.10
	M	0.642	4.05
L1+L2+L3	**R1**	0.623	3.77
	R2	0.592	3.78
	R3	0.613	3.76
	R4	0.656	3.79
	M	0.621	3.77

Mélange02 :

Tableau 38 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2)

		DO	pH
L2+L3	**R1**	0.650	3.64
	R2	0.621	3.72
	R3	0.695	3.76
	R4	0.684	3.70
	M	0.662	3.70
L1+L3	**R1**	0.632	3.60
	R2	0.621	3.58
	R3	0.645	3.57
	R4	0.601	3.59
	M	0.624	3.585
L1+L2	**R1**	0.614	3.91
	R2	0.623	3.83
	R3	0.641	3.81
	R4	0.608	3.80
	M	0.621	3.83
L1+L2+L3	**R1**	0.435	3.57
	R2	0.421	3.57
	R3	0.453	3.56
	R4	0.444	3.54
	M	0.438	3.56

Mélange03 :

Tableau 39 : Résultats d'optimisation de matière première féculents (F1 / F2)

		DO	pH
L2+L3	R1	0.443	4.04
	R2	0.421	4.30
	R3	0.402	4.20
	R4	0.484	4.31
	M	0.437	4.22
L1+L3	R1	0.345	4.10
	R2	0.402	4.02
	R3	0.326	4.10
	R4	0.387	4.08
	M	0.365	4.07
L1+L2	R1	0.764	4.25
	R2	0.801	4.20
	R3	0.798	4.25
	R4	0.656	4.27
	M	0.754	4.24
L1+L2+L3	R1	0.551	4.04
	R2	0.501	4.05
	R3	0.496	4.05
	R4	0.562	4.04
	M	0.527	4.04

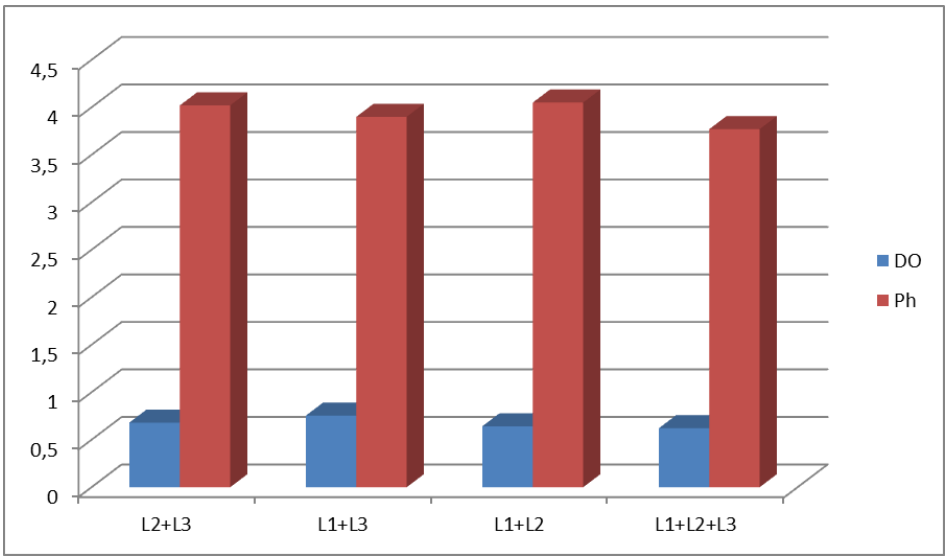


Figure 64: Optimisation de matière première féculents (M1)

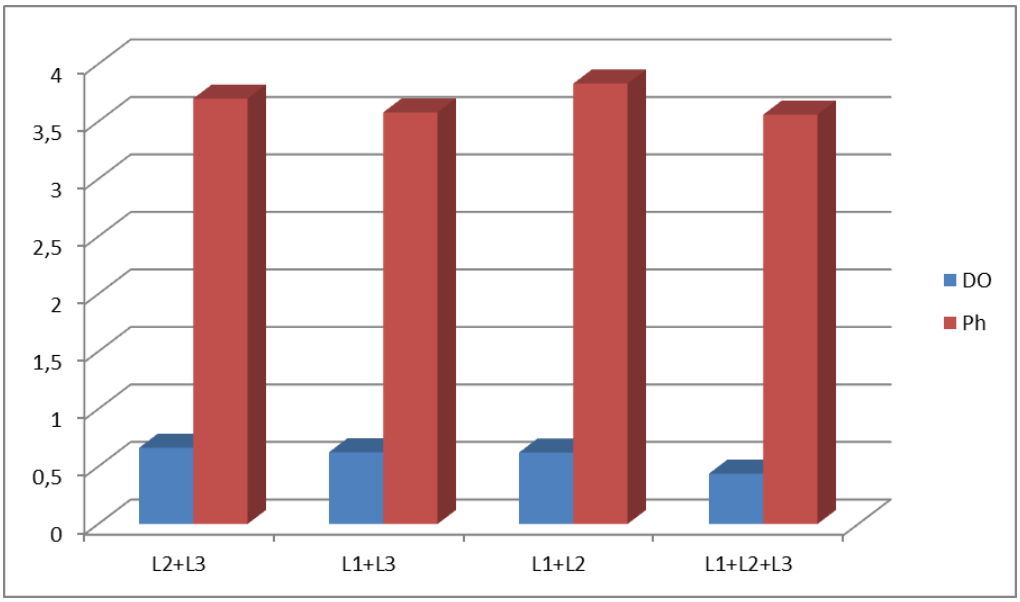


Figure 65: Optimisation de matière première féculents (M2)

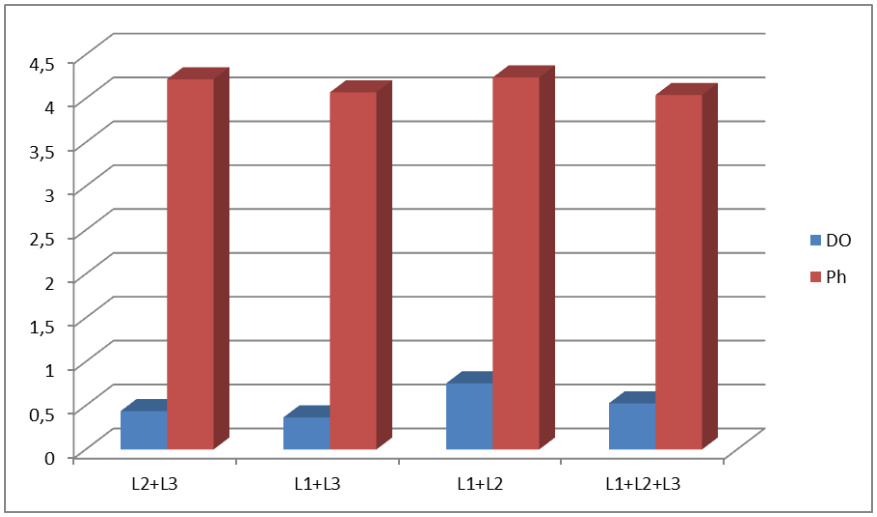


Figure 66 : Optimisation de matière première féculents (M3)

Afin de déterminer la meilleure composition de notre produit .Nous avons testé les combinaisons de nos souches avec les deux féculents sans gluten.

Les résultats obtenus montrent que tous les concentration préparer sont proches mais les résultats enregistrées par rapport au mélange des 3 souches lactique (L1.,L2,L3) avec les matières premières séparé , donne les meilleur valeurs moyenne de DO (2.405) et une acidification(3.89) assez forte

Cette combinaisons est considéré comme meilleur par rapport au combinaisons des souches dans le milieu MRS (référence).

IV.8 La lyophilisation :

Procédé de conservation d'une substance et notamment des produits alimentaires et pharmaceutiques, consistant en une congélation rapide et une déshydratation presque totale du produit concerné, qui est ensuite conservé sous vide à la température ambiante et retrouve ses qualités et propriétés premières par simple addition d'eau.

Le résultat du séchage de notre produit était le suivant :

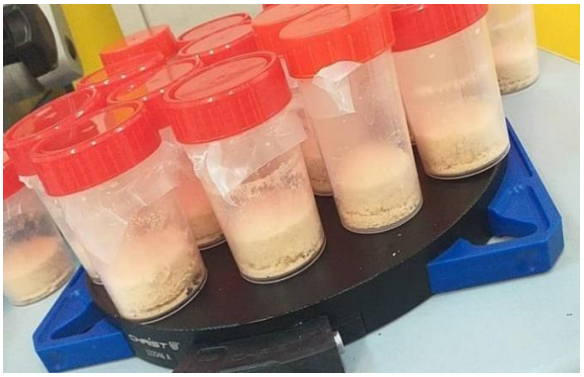


Figure 67 *:* Mise en évidence la résultats de lyophilisation .

Conclusion

Conclusion

Les probiotique sont des micro-organismes vivants qui ingérés des effets positifs sur la santé humaine et animale ce qui permet une énorme évolution au sein de marché international les probiotiques montrent dans chaque étude des particularités différents l'un à l'autre à l'issue de ce qui a été réalisé des souches probiotiques utilisées ont été identifiés par la détermination les caractéristiques morphologiques physiologiques et biochimiques et pour la sélection nous avons étudié les principaux critères permis laquelle la tolérance au NaCl l'activité antibactérienne et l'activité d'inhibition des principaux pathogènes l'adhésion au microplaque en polystyrène ,au niveau des cellules épithéliales intestinal bovine. et la sensibilité antibiotique.

Nous avons également proposer l'optimisation des différents conditions physiques- chimiques [température et pH] et l'optimisation du milieu de culture organique sans gluten et l'études de l'effet de combinaison des souches. Afin de permettre étudier la bonne. Croissance

Cependant les résultats que nous avons obtenus dans l'activité antimicrobienne indique que les trois souches ont toutes un grand effet inhibiteur contre les germes pathogènes testées Staphylococcus Aureus Salmonella typhimirum et Escherichia coli avec un diamètre Zi >13mm

En effet les résultats de la capacité d'adhérer en surface de microplaque en polystère montré que les trois souches présentent et moyenne supérieur 0.25 'et au niveau des cellules épithéliales de l'intestin bovine ont indique que le mélange de 3 souches présente un nombre de 19 cellules adhérer donc une forte pouvoir adhésif remarquable il s'agit de mécanisme de blocage de l'adhésion des pathogènes.

D'après les résultats de l'optimisation des paramètres physico-chimiques [pH et température] en conclu que la température optimale pour les trois souches et 37°C et un pH de 5,4 pH proche du milieu MRS .Par rapport à la matière première [F1/F2] la concentration 0,4 stimule la croissance et le pouvoir d'acidification des souches cultivées,

Pour l'étude de l'effet de combinaison des souches il a été enregistré que la meilleure croissance est de [2.405] lors de l'utilisation de chaque matière première séparée.

En conclu que les résultats d'optimisation de différent paramètres physico-chimique et de milieu de culture permis de nos établir une compliment alimentaire sans gluten à base de combinaisons des trois souches pour la satisfaction de toutes besoins de maladie de cœliaque .

Références Bibliographiques

Agar. K, Hamzaoui. M-L, Medhioub. M, Khsiba. A, & Azzouz.MM. (2017). Profile épidémiologique et évolutif des manifestations auto immune associées à la maladie cœliaque. Revue de médecine Interne, 38(2) : A152.

AMOUR, L., BEGGAR, Z., HIDOUCHE, A., SADOUKI, A., & SIAD, M. (2019). APHTOSE BUCCALE: Démarche diagnostique et solutions thérapeutique.

Anwar A. Thikra A. Saeed A. M. (2013). Adhesion, auto-aggregation and hydrophobicity of six lactobacillus strains. British microbiology research journal. 4, 381-391.

Bajaj B.K., Claes I.J and Lebee S. 2021. Functional mechanisms of probiotics. Journal oficrobiology, biotechnology and food sciences.1: 321-327.

Beaudouin, C., Suc, J. P., Escarguel, G., Arnaud, M., & Charmasson, S. (2007). The significance of pollen signal in present-day marine terrigenous sediments: the example of the Gulf of Lions (western Mediterranean Sea). Geobios, 40(2), 159-172.

Benatallah, L (2009). Couscous et pain sans gluten pour malades cœliaques: aptitude technologique de formules à base de riz et de légumes secs. Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine, Algérie 423.

Bharathi P. Bhowmick P.P. Shekar M. et Karunasagar I. (2011). biofilm formation by pure and mixed culture of Lactobacillus isolates on polystyrene surface in varying nutrientconditions. Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering.1, 93-98.

Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as "Probiotic" in Food and Dietary Supplements. Frontiers in Microbiology, 11, 1662.

Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals. Springer, New York,

Borners .F.(2020).Évaluation des probiotiques sur le marché offcinal et élaboration d'un guide pratique d'aide au conseil sur les probiotiques pour le pharmacien d'offcinal. thèse de doctorat.61.180-220.

Boudraa, G, Bessahraoui M, Bouziane K, Niar S, Naceur M, Bouchetara A, Benmansour A et Touhami M(2008). SFP-P013–Epidémiologie–Evolution de l'incidence de la maladie coeliaque chez l'enfant de l'ouest algérien (1975-2007). Archives de Pédiatrie 15: 949.

Boukezoula - Djamaa , F. (2016). Thèse Maladie cœliaque dans la commune de Tébessa : Aspect épidémiologique , situation nutritionnelle , sanitaire et diététique associée Thèse Maladie cœliaque dans la commune de Tébessa : Aspect épidémiologique , situation nutritionnelle .

Brink ; M. Belay ;GM.(2006) . LIVRE CEREAL ET LEGUMES SEC .P86 ;137-141.

Butel.2014. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. J Anti-Infect.

Caly, D. L., Inca, R. D., Auclair, E., & Drider, D. (2015). Alternatives to Antibiotics to prevent Necrotic Enteritis in Broiler Chickens: A Microbiologist' s Perspective.Frontiers in Microbiology, 6, 1336.

Cameotra, S. S. (2016). Biosurfactants from Lactobacilli species: properties, challenges and potential biomedical applications. Journal of basic microbiology, 56(11), 1140-1158.

Candelli, M. Novi, D. Rigante, I. A. Cazzato, V. Ojetti, A. Armuzzi, G. Gasbarrini,aA. Gasbarrini. 2006. Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. Alimentary Pharmacology and Therapeutics 23:1567-1574.

Catassi C, Gatti S, Lionetti E.(**2015**) World perspective and celiac disease epidemiology. Dig Dis Basel Switz.33(2):141-6

Catassi C., Gatti S., Fasano A.(2014) The New Epidemiology of Celiac Disease Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition, Volume 59.

Catassi, C, Rätsch I, Fabiani E, Rossini M, Coppa G, Giorgi P, Bordicchia F et Candela F 1994. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. The Lancet 343: 200-203.

Cellier. C, Nadine. CB, Olivier. H, & Nicol. B. (2006).Maladie Cœliaque, Sprue réfractaire et lymphome. Hépato gastro et encologie digestive, 9 (3) : 175-181.

Chamba J.F .(1990) Pas de piston pour les bactéries lactiques thermophiles .Revue laitière française, Nº492. pp.47-50.

Chronique IM. (2018). Président de thèse: Monsieur le Professeur VOGEL Thomas Directeur de thèse: Monsieur le Docteur GRECIANO Stéphane (Doctoral dissertation, UNIVERSITE DE STRASBOURG).

Connolly E, Abrahamsson T, Björksten B. 2005., Safety of D(-)-lactic acid producing bacteria in the human infant. J Pediatr Gastroenterol Nutr.19(5).102.

Corrieu G. Luquet FM. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In: « Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments ». TEC&DOC/ Lavoisier éd. Paris. France. 19-106.

Corrieu, G et Luquet, F. M. (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Tec & Doc, p 849.

D'Arienzo R, Stefanile R, Maurano F, Mazzarella G, Ricca E, Troncone R, et al.(2011) Immunomodulatory Effects of Lactobacillus casei Administration in a Mouse Model of Gliadin-Sensitive Enteropathy: L. casei Modulates Gliadin-Sensitive Enteropathy.Scandinavian Journal of Immunology.74(4):335-41.

Dawood M.A., Koshio S., Abdel-Daim M.M. and Van Doan H. 2019.Probiotic application for sustainable aquaculture. Reviews in Aquaculture. 11(3): 907-924.

Dekaboruah E,Surtavanshi MV, Chettri D,Verma AK.(2020). Human microbiome :an academic update on human body site specific surveillance and its possible role .Arch microbial.;202(8)2147-67.

Deprez P.H. (2018). Maladie cœliaque, le vrai et le faux. Gastroentérologie. Louvain Med 137 (5):304-307.

DERRADJ ; Meriem. (2016). caractérisation physicochimique et biochimique des huiles de soja raffinée et d'olive extra vierge «Rougette » consommées en Algérie ; Effets sur certains paramètre biologiques chez des rats wistar .pp 14-17.

DESMAZEAUD M., (1992) : Les bactéries lactiques.I.N.R.A, diarrhées post antibiotiques. Re. Fran. Lab. 73-76.

Dieterich, W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken E et Schuppan D (1997). Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature medicine 3: 797-801.

Dortu, C. (2008). Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires (Thèse de Doctorat. Université de Gembloux).

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnologie, Agronomie, Société etEnvironnement, 13(1), 349-356.

Dowd;Wlker Smith GEE.(1974). Aretaeus, and the coeliac affection. Br Med J. 1974; 7-45 .

Dspace.ensa.dz : école nationale supérieure agronomique d'Algérie.

El-Ziney, M.G., Uyttendaele, M., Debevere, J., Jakobsen, M. 1998. Characterization of the locus responsible for the bactérioicin production in lactobacillus plantarum C11.Journal of bacteriology.178(15).4472-83.

European populations: asystematicreview." Gastroenterology 128(4 Suppl 1): S57- 67.

F. Trivin, C. Cellier.(2001) Diagnosis of symptom-free celiac disease in a patient with persistent hypertransaminasemia of obscur origin. Gastroenterol Clin Biol, pp. 553-554 **Atenodoro R. Ruiz, Jr**.(2021) , MD, The Medical City, Pasig City, Philippines.

FAO/OMS. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Working group report. Lomdon. Ontario, 1–11.

FAO/WHO (2001). "Health and nutritional properties of probiotics in food including powder

Faure, C. (2016). Désordres fonctionnels gastro-intestinaux. Gastroentérologie pédiatrique, 179.

-**Feighery. C. (1999).** Celiac disease. BMJ, 319(7204): 236-250.

Fuller R.(1989). Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol ;66 :365-78. Lebeer S., Bron P. A., Marco M.L., Van Pijkeren J.P., Motherway M.O.C., Hill C. and Klaenhammer T.

2018. Identification of probiotic effector molecules: present state andfuture perspectives. Current opinion in biotechnology. 49 :217-223.

Gargouri. L, Kolsi. N, Maajej. B, Weli. M, & Mahfoudh. A. (2017). Maladie Cœliaque chez l'enfant. Journal de l'information Médicale de Sfax, 25 : 20-28.

Gasbarrini, G et Mangiola F (2014). Wheat-related disorders: A broad spectrum of 'evolving'diseases. United European gastroenterology journal 2: 254-262.

Guarner F., Khan Aamir G., Garisch J., Eliakim R., Gangl A., Thomson A and Le Mair T. 2008. Recommandation pratique: Probiotiques et Prébiotiques. Organisation mondiale de gastroentérologie. 1:3-17.

Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & Kim, N. (2012). World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics october 2011. Journal of clinical gastroenterology, 46(6), 468-481.

Gueimonde Miguel, Lotta Jalonen, Fang He, Masaru Hiramatsu, Seppo Salminen,(2006). Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enter pathogens by selected lactobacilli. Food Research International. Volume 39, Issue 4, 467–471.

Harms, H. K., R. M. Bertele-Harms, and D. Bruer-Kleis. (1987) . Enzymesubstitution therapy with the yeast Saccharomyces cerevisiae in congenital sucraseisomaltase deficiency. New England Journal of Medicine 316:1306-1309.

Harty D. W. S. ET K. W. Knox. (1991). An In Vitro Study of Adhesion of Various Lactobacillus Species. microbial ecology in health and disease. 4, 19-28.

Heinemann.

Horáčková, Š., Plocková, M., & Demnerová, K. (2018). Importance of microbial defense systems to bile salts and mechanisms of serum cholesterol reduction. Biotechnology Advances, 36(3), 682–690.

https://www.canesten.ch/fr/sante-intime/informations-utiles/probiotiques

https://www.pileje.fr/revue-sante/microbiote-vaginal-agir-equilibre

Human Health. Nutrients. 9(9):1-30.

Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I.R., Mearin, M.L., Phillips, A., Shamir, R., Troncone, R., Giersiepen, K., Branski, D., Catassi, C. and Lelgeman, M., 2012. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 54(1), pp.136-160.

Itzlinger A., Branchi F., Elli L., Schumann. M.(2018). Gluten-Free Diet in Celiac Disease—Forever and for All?. Nutrients 10: 1796.

Izquierdo Alegre E., (2009). Les proteines bacteriennes en tant que biomarqueurs de l'activite probiotique. Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien Département des Sciences Analytiques. UMR 7178. P 1-230.

Jasniewski J. (2008). Etude des mécanismes d'action de bactériocines de la sous-classe Iia, Thèse : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Institut National Polytechnique de Lorraine, France,p 155.

Jennifer L.(2020). Ma –cuisine-bien-être -végétarienne-sans –gluten.

Johanna Poli.,(2020) Les probiotiques : leurs mécanismes d'action et leur place dans l'arsenal thérapeutique du conseil officinal associés dans les troubles digestifs. Université d'Aix-Marseille.34-49.

Kamer, J, Weijers H et Dicke W (1953). Coeliac disease: an investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action on patients with coeliac disease. Acta paediatrica 42: 223-231.

KHALID N.M. et MARTH F.H.,(1990). Lactobacilles, leurs enzymes et leur rôle dans: Maturation et altération du fromage. Tour. Laiterie Sci. 73: 158-167.

Kitazawa H., Villena Jet Alvarez S. (2013). Probiotics: immunobiotics and i Zendeboodi F., Khorshidian **N., Mortazavian A.M. and Cruz A.G.(2020**). Probiotic: conceptualization from a new approach. Current Opinion in Food Science. 32: 103-123.mmunogenics.1ére edition. CRC Press. Boca Raton, London, New York.1

Kouakou P., Thonart Ph. (2011). Action des cultures protectrices : cas des germes lactiques

Kubota H. Shouko S. Nomura N. Tokuda H.et Hiroo U. (2008). biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. Journal of Bioscience and Bioengineering. 106 (4), 381-386.

Kučan Martina, Ivana Gobin, Ksenjia Markov, Diana jurčićmomčilović, Jadranka France. (2012). Testing the adhesion and colonization ability of Lactobacillus plantarumstrain S1 to the mice intestinal epithelium. International Journal of Sanitary Engineering Research. 6, 23-28.

La table de intolérance ; c'est quoi le gluten ; 6mars 2016.

Lamireau, T., & Olives, J. P. (2016). Maladie cœliaque. Gastroentérologie pédiatrique, 118.

Landman C. and Quévrain E.(2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. La Revue de médecine interne. 37(6): 418-423.

Laprpent J.P et Gourgaud M.L., (1997). Mémento technique de microbiologie.3éme édition. Lavoisier, P.256-258, P.555

Leila Beattallh et Benchikh.(2009). Couscous et pain sans gluten pour malades cœliaques : aptitude technologique de formules à base de riz et de légumes secs.these de doctorat ,publier.

Leveau J.Y et Buix M.(1993). Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Paris. Cedex, P.172-175, P.181

Lilly, D. M. and R. H. Stillwell (1965). "Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms." Science 147 : 747-8.

Lin T. Y. et Chien M. F. C.(2007). Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. Food .Chem. 100, 1419-1423.

Lindfors K, Blomqvist T, Juuti-Uusitalo K, Stenman S, Venäläinen J, Mäki M, et al.(2008) Live probiotic Bifidobacterium lactis bacteria inhibit the toxic effects induced by wheat gliadin in epithelial cell culture. Clinical & Experimental Immunology.152(3):552-8.

Liong M-T.2008 Safety of probiotics: translocation and infection: Nutrition Reviews©, Vol.

Loumbe ,D., keleke,S., kobawila,S.C.(2005). Lactic acid bacteria tolerant to acidity and biliary salts of yonga ,a traditional fermented beverage in Congo.sciences des aliments.25(3).249-253.

Loumer ;M.(2004). Etude de la variabilité des population de mil (pennisetum glaucum (L) R.B cultivées dans les région arides tunisiennes et sélection de variétés plus performances ph D ;université de Gent ; faculté d'agronomie de gent .

Ludvigsson JF, Murray JA. Epidemiology of celiac disease. Gastroenterol Clin North Am. 2019;48(1):1-18.

M. S., Lalloo, R., Africa, S., & Africa, S. (2020). Isolation, selection and evaluation of Bacllus spp. as potential multi-mode probiotics for poultry. The Journal of General and Applied Microbiology, 2019-11.

M.J. Butel., A.J. Waligora-Dupriet , J. Aires,.(2020). Écosystème intestinal, probiotiques, antibiotiques, Université Paris.122-154.

Mami A. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algerie, Thèse : Microbiologie appliquée, université d'Oran, Algérie, p25.

Marie-Anne B ,(2016) . La maladie cœliaque de l'adulte : pourquoi et quand la dépister ? Une revue de la littérature .Thèse de doctorat, UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES ,France130 .

Markowiak P and Śliżewska K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. Nutrients. 9(9):1-30.

Marsh MN., (1992) Gluten, major histo compatibility complex, and the small intestine.

Martrau P et Rambaud J.C.,(1993). Potentiel ofusing lactic acid bacteria for the therapy and immunomodulation in man F.E.M.S. Microbiol rev,12, P.207-220.

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):725-40.

Marteau P. et Seksik P., 2005. Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des

Mathur T. Singhal S. Khan S. Upadhyay D. J. Fatma T. Rattan A. (2006). Detection ofbiofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: an evaluation of threedifferent screening methods . Indian journal of medical microbiology. 24, 25-9

Maureen M Leonard , Brintha Vasagar (2017). US perspective on gluten-related diseases. Clinical and Experimental Gastroenterology, 10, 237-251. 3.

MEIER ; U. (2018).stades phénologiques des mono-et dicotylédones cultivées. BBCH MONOGRAPHI. 2eme Edition. Centre Fédéral de Recherches biologique pour l'agriculture et les forets p58-61.

MetaHIT Consortium, Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, et al. (2010).A human gutmicrobial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature ;464(7285) :59-65.

Metchnikoff E. (1907). The prolongation of life. Dans : Optimistic studies. Butterworth-Heinemann, London.

Metchnikoff, E. (1907). "The prolongation of life. Optimistic Studies. London:William

Micic D, Rao VL, Semrad CE.(2020) Celiac Disease and Its Role in the Development of Metabolic Bone Disease. J Clin Densitom.Apr-Jun;23(2):190-199.

Mouhib, Mohamed.2023 Connaissances des patients à propos des probiotiques comparées aux données actuelles de la science thèse de doctorat en médecines .11. Marteau P, Gerhardt **MF, Myara A, Bouvier E, Trivin F, Rambaud JC.(1995).** Metabolism of Bile Salts by Alimentary Bacteria During Transit in the Human Small Intestine. Microbial Ecology in Health and Disease.8(4):151-7.

Mouhouche ; B. (2007). Manuelle sur la conduite de la culture de soja.G.max.L.Merr.réalise pour la société AGRO INDUSTRIE ALGERIE

Moussa Hamadou, Soumana Idrissa, Chaïbou Mahamadou, Souleymane Oumarou , Kindomihou Valentin.(2017). Potentialités fourragères du mil (Pennisetum glaucum (L.) R. Br) : Revue de littérature. P5427-5435

Nicolas Marc Élie Horion.,2020. Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des pathologies parodontales et carieuse : revue systématique depuis 2015. Sciences du Vivant [q-bio]38-32.

Novik G., Sidarenka A., Kiseleva E., Kolomiets E and Dey E.S.(2014). Probiotics. In:

Nutriandco.com. L'histoire du millet et son utilisation NY .187-235.

Osman, N., Ahmed, S. A. M., Shibat El-hamd, D. M. W., & Ahmed, A. I. (2020). Characterization and assessment of naturally mutant non-pathogenic O27 strain Escherichia coli and their potential use as poultry probiotics. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 7(3), 374–383

Oxentenko. A-S, Rubio-Tapia. A. (2019). Celiac Disease. Mayo Clinic Proceedings, 94(12):2556–2571

Parker, R. (1974). "Probiotic: the other half of the antibiotic story." Anim Nutr Health 29: 4-8.

Parte AC.(2014)., list of prokaryotic names with standing in nomenclature. Nucleic Acids Res. 1 ;42D613-6.

Philip A.V,UMAR T.H. Timothy B.(2020), isolation and identification of lactic acid bacteria with probitic potential from fermented cow milk in Unnguwar Rimi Kaduna State Nigeria.American journal of Molecular Biology.,32(7) 23.

Pinto M. G. Franz C. M. Schillinger U. et Holzapfel W. H. (2006). Lactobacillus spp.in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. Int. J. Food Microbiol. 109, 205-214.

Ramlucken, U., Roets, Y., Ramchuran, S. O., Moonsamy, G., Rensburg, J. Van, Thantsha, REZKI ; M. (2021) ; impact du régime sans gluten sur la santé ; p23 ;85 ;86

Rostami, K et Villanacci V (2009). Microscopic enteritis: novel prospect in coeliac disease clinical and immuno-histogenesis. Evolution in diagnostic and treatment strategies. Digestive and Liver Disease 41: 245-252.

Rostami-Nejad, M., Romanos, J., Rostami, K., Ganji, A. (2017). Coeliac disease and gluten-free diet: A review and controversies. Current Opinion in Gastroenterology, 33(2), 80-85.

Roujon, Taupin, J-L., (2013). Immunogénétique de la maladie cœliaque Pathologie Biologie, Volume 61, PP. 1016-1022

Sakula, J et Shiner M (1957). Coeliac disease with atrophy of the small-intestine mucosa. Lancet 273: 876-877.

Salma,C. "LA MALADIE CŒLIAQUE ET SYSTEME HLA CHEZ L'ENFANT (A propos de 06 cas)." (2019).

Samedi,L. Charles A.L. 2019. Evaluation of Technological and Probiotic Abilities of Local Lactic Acid Bacteria. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 7(1): 9-19.

Satpute, S. K., Kulkarni, G. R., Banpurkar, A. G., Banat, I. M., Mone, N. S., Patil, R. H., & Savijokie, K., INGMER, H., ET VARMANEN, P., (2006). Proteolytic systems of strategies for food bioservation. In!. .1. Food Microbiol. 120 (1-2):5 1-70.

SCIARINI. S.L, RIBOTTA. P.D, GABRIELA. A.E.L, PEREZ. T, 2009), Influence of gluten free flours and thier mixtures on batter properties and bread quality3(1).577-585

Sharma, D., Saharan, B. S., & Kapil, S.(2016). Biosurfactants of Probiotic Lactic Acid Bacteria. In Biosurfactants of lactic acid bacteria. Basel, Switzerland, 17-23.

Shewale R.N., Sawale P.D., Khedkar C.D and Singh A. (2014). Selection criteria for probiotics. International Journal of Probiotics and Prebiotics.9 (1): 17-22.

Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., & Ho, Y. W. (2017). Probiotics: From Isolation to Application. Journal of the American College of Nutrition, 36(8), 666–668.

shttps://www.naturaforce.com/comment-perdre-du-poids/les-differents-regimes-alimentaires/regime-sans-gluten.

Singla. S, Kumar. P, Singh. P, Kuar. G, Rohtagi. A & Choudhury. M. (2016). HLA Profile of Celiac disease among First Degree Relative form a tertiary care center in North India. Indian Journal pediatre, 83(11): 1248-52.

Stewart JA.(2005) Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. Journal of Medical Microbiology. 54(12):1239-42. sur la flore alimentaire Indésirable, Biotechnol. Agron. Soc. 15(2), 339-348.

Šušković J Kos eganović J Leboš Pavunc A Habjanič K Matošić S .(1999). Antimicrobial activity–the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. Food Technology and Biotechnology, 48(3), 296-307.

Touati, D. (2000). Iron and oxidative stress in bacteria. Archives of Biochemistry and Torulaspora delbrueckii-Saccharomyces cerevisiae culture on high-sugar fermentation. Int. Jof Food Microbiol. 122: 312-320.

Vali M., Sauer M., Branduarddi P., Borth N., Porro D Mattanovich D.(**2006),**Improvement of lactic acid production in Saccharomyces cervisia by cell sorting for height intracellular pH. Appl . Environ . Microbiol , Vol 72. Nº 8.,5492-5499.

Van de Guchte, M., Ehrlich, S. D., et Maguin, E., (2001). Production of growth inhibiting vegetable sauces with enterocin AS-48 alone a combinaison with Phenolic. Food Microbiol. 120 (1-2):5 15-19.

Van der Mei H.C. Van de Belt-Gritter B. Pouwels P. H. Martinez B. Et Busscher H. J.(2003). Celle surface hydropjobicity is conveyed by s-layer proteins /a study in recombinant lactobacilli. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 28, 127-134.

Van Hoogmoed, C. G., van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2004). The influence of biosurfactants released by S. mitis BMS on the adhesion of pioneer strains and cariogenic bacteria. Biofouling, 20(6), 261-267.

Venesson, J. (2013). Gluten-Comment le blé moderne nous intoxique. Thierry Souccar.

Virginia Vadillo Rodríguez, Henk J. Busscher, Willem Norde, Joop de Vrieset HennyC. Van der Mei. (2005). Role of lactobacillus cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength. Colloids and Surfaces B: Bio interfaces. 41, 33-41.

Watson, J. (2017). Celiac disease's millennia-long rise to prominence. Celiac Disease Foundation

www babzman .com dans la nouvelle république. (2016). el-bechna ; le petite graminé aux multiples vertus.

www.livi.fr/en-bonne-sante/régime sans gluten aliment.

www.maviesansgluten.bio/les-indispensable-des-placards-pour-une-cuisine

www.passeportsante.net/fr/Nutrition vérifié le 26-09-2022.

www.schaer.com/fr-fr/a/avantages-du-regime-sans-gluten .

Yadav R. , Shukla P. (2017). Chapter 6: Probiotics for human health: current progress and applications. Recent advances in applied microbiology. 133-147.

Yan T. and Goldman R. D. (2020). Les probiotiques pour la diarrhée liée aux antibiotiques chez l'enfant. Canadian Family Physician. 66(1) : 9-11.

Yelnetty, A., Purnomo, H., & Mirah, A. (2014). Biochemical characteristics of lactic acid bacteria with proteolytic activity and capability as starter culture isolated from spontaneous fermented local goat milk. Journal of Natural Sciences Research, 4(10), 137-146 .

Younis ; Maamar .(2018). Effet d'un traitement thermique sur les polyphenols du millet et leur pouvoir antioxydant .P29

Zergoug.A.(2017). Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires. Thèse de doctorat.60-100.

Zeriouh IF .(2011). Effet de la consommation du lait de soja sur l'appareil reproducteur male chez la souris swiss ;p3-4..

Annexes

Annexe 1 : Matériel non biologique (l'appareillage)

Appareillage	**Verreries**	**Autre matériel**
Spectrophotomètre	Becher	Anse de platine
Vortex	Boite de pétrie	Papier aluminium
agitateur magnétique	Flacons	Papier film
Bain marie	Lames et lamelles	Spatule
Etuve bactériologique	Tubes à essai	Micropipettes
Microscope optique	verre de montre	Portoir pour tubes
Réfrigérateur	Pipettes Pasteur	Barreau
Congélateur	dessiccateur en verre	Gants jettable
PH-mètre		Marqueurs
Balance électrique		Tubes Corning
Autoclave		Bougie
Broyeur		

Annexe 2 : Liste des produits chimiques

produits chimiques	
Glycérol	NAOH
l'eau physiologique	HCL
Eau distillée	Lugol (Pasteur)
éthanol à 99.8%	VP1 (Pasteur)
éthanol à 96%	VP2 (Pasteur)
Huile d'immersion	Kovacs (AVCO-LAB)
Cristal violet	

Annexe 3 : Milieux de culture utilisé

Milieu de culture utilisé	**Composition des milieux de culture**
Milieu de culture MRS	(en grammes par litre d'eau distillée) Peptone…….10g Acétate de sodium……5g Extrait de levure…… 5g Sulfate de magnésium…… 0.1g Extrait de viande……10g Sulfate de manganèse……..0.05g ph final ……6.4± 0,2
Milieu de culture liquide TSB	(en grammes par litre d'eau distillée) Tryptone ……..…….. 15 g. Peptone papaïnique de soja ……..5g. Chlorure de sodium ……..5 g. Agar …….. 15 g. pH final ……..…….7,3 ± 0,2.
Mannitol et mobilité	(en grammes par litre d'eau distillée) Mannitol …… 2g Pepton…….……..……20g Nitrate K……..……. 1g Rouge de phenol 4%…….……. 4 ml Agar ……..4 g
Milieu de culture TSI	(en grammes par litre d'eau distillée) Peptones de caséine……. 15g Peptones de viande…….5g Extraits de viande……. 3g Peptones de levure……. 3g NaCl……. 5g Lactose…….. 10g Saccharose…….. 10g Glucose……..1g Citrate ammoniacal de Fer (III)……..0,5g Thiosulfate de sodium…….0,5g Rouge de phénol……. 0,024g Agar……12g
Milieu de culture Rouge Congo agar RCA	(en grammes par litre d'eau distillée) Cœur cerveau …….37g Agar…….15g Saccharose ……36g Rouge Congo …….0.8g
Milieu de culture	(en grammes par litre d'eau distillée)

Urée Indole	L-Tryptophane ..... 3 g KH2PO4 ..... 1 g K2HPO4 ..... 1 g Chlorure de sodium ..... 5 g Urée .... 20 g Alcool à 95° ..... 10 ml Rouge de phénol ..... 0,05 ml pH final : 6,8 ±0,2
Milieu de culture Clark & Lubs	Peptone ……7,00 g Glucose ……..5,00 g Phosphate dipotassique…….. 5,00 g pH final à 25°C : 7,0 □ 0,2
Bouillon hypersalé (Leveau et al ; 1991) .	Glucose .....5 g Extrait de viande.....5 g Peptone .....15 g NaCl ..... 40 / 65 g Eau distillée .....1000ml Autoclavage à 120°C pendant 20 mn
- Milieu de Moëller à l'arginine	Peptone .....5 g Extrait de viande..... .....5 g Glucose .....0.5 g Pyridoxal .....5 mg Pourpre de bromocresol .....0.1 g Rouge de crésol .....5 mg Arginine .....10 g Eau distillée .....1000 ml pH 6.8 Autoclavage à 120°C pendant 15 à 20 mn

Annexe 4 : Coloration de Gram

La coloration de gram	La technique
La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :	**A**. Sur une lame, fixer une infime quantité d'une colonie sur une goutte d'eau distillée par la chaleur ; **B.** Recouvrir la lame avec la solution cristal violet pendant une minute ; **C.** jouter du Lugol pendant une minute **D.** Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ; **E .** Faire une contre coloration en utilisant la Fuschine et laisser agir une minute ; **F .** Laver à l'eau ; **G** .Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100). Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

,