

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر

Université Moulay Tarar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'Obtention du Diplôme de Master II

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Thème :

---

## Étude comparative de l'efficacité des produits probiotiques commercialisés sur le territoire algérien

---

Présenter par :

- Mme MOKHTARI Nadia
- Mme CHIKH Mokhtaria

Soutenu le : 22 /06/2022

Devant la commission du jury, composée par :

**Président :** Dr HALLA N MCA à l'université de Saida.

**Examineur :** Dr HASSANI M MCA à l'université de Saida.

**Encadrant :** Dr AMARA S MCB à l'université de Saida.

Année universitaire : 2021-2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## ***Remerciements***

*Nous remercions Allah le tout puissant d'avoir nous donner le courage ,la patience et la volonté pour terminer ce travail.*

*On a l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et notre sincères remerciements à notre encadrant **Dr AMARA Sabrina**, pour sa précieuse aide, ses orientations et le temps qu'elle nous a accordé pour notre encadrement.*

*On remercie énormément **Dr HASSANI Maya** d'avoir acceptée de présider le jury et **Dr HALLA Nour-Eddine** avoir accepté d'examiner et d'évaluer et de juger ce travail.*

*Enfin, on remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Avant tout je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le privilège et la chance d'étudier et suivre le chemin de science et de la connaissance aussi la volonté pour mener ce travail*

*Je souhaite dédier le fruit de ce travail à ma famille ; Mon époux, Mes chers parents tout particulièrement ma mère, Mes enfants Rouba et Zakaria, Mes frères, sœurs et nièces*

*Un grand merci au responsable du laboratoire d'université Moulay Tahar et les éléments du laboratoire de la répression des fraudes de Saida, et surtout mes collègues du travail « EPSP Saida ».*

*MOKHTARI Nadia*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents, Mon époux,*

*Ma fille,*

*Mon frère, sœurs, belle- sœur, nièces et neveux.*

*Qu'ALLAH le tout puissant les préserve.*

*CHIKH Mokhtaria*

## Résumé :

Les probiotiques sont des bactéries ou des levures qui modulent la prolifération bactérienne de l'intestin. Les plus répandus sont les *Lactobacillus* et les *Saccharomyces*. Ils sont largement utilisés comme compléments alimentaires dans la prévention de plusieurs maladies, dont leur efficacité thérapeutique a été démontrée par plusieurs études.

En Algérie, les probiotiques de bonne qualité sont disponibles sur le marché mais leurs prescriptions par les médecins sont limitées ce qui peut rendre leurs effets bénéfiques inconnus par le grand public.

Afin d'évaluer l'efficacité des probiotiques commercialisés sur le territoire national, nos tests étaient réalisés sur 4 produits : Ultrabiotique flore intestinale adulte (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*), Ultrabiotique infantile (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*), Smebiocta (*Lactobacillus plantarum*) et Ultra levure (*Saccharomyces boulardii*).

Les résultats obtenus révèlent que les souches Ultrabiotique de la flore intestinale adulte et Ultrabiotique infantile testées aux conditions hostiles sont affectés aux (pH:1, pH:2 et pH:3) et aussi aux concentrations 5 % à 10%. Pour Smebiocta et Ultra levure, les résultats montrent une bonne croissance aux différents pH et aux différentes concentrations des sels biliaires avec une charge bactérienne ne correspondant pas aux chiffres déclarés par la firme.

L'Antibiogramme a montré que les bactéries Ultra biotique de la flore intestinale Adulte, Ultrabiotique infantile et Smebiocta étaient sensibles aux 03. L'activité anti microbienne contre 12 bactéries pathogènes montre que les souches Ultra biotique de flore intestinale Adulte et Ultrabiotique infantile ont inhibé l'ensemble de souches indicatrices testées et avec un effet moins inhibiteur pour Smebiocta, Ultra levure et les bactéries lactiques autochtones isolées de lait de chamelle et de jument *Lactobacillus plantarum* NSC5C et JUM III 4 respectivement.

Les résultats globaux obtenus indiquent une bonne résistance de l'ensemble des produits probiotiques et une inhibition contre les bactéries pathogènes testées.

**Mots clés :** probiotiques, compléments alimentaires, *Lactobacillus*, *Bifidobactérium*, résistance, inhibition des pathogènes.

## **Abstract :**

Probiotics are bacteria or yeasts that modulate the bacterial proliferation of the intestine. The most common are *Lactobacillus* and *Saccharomyces*. They are widely used as food supplements in the prevention of several diseases, whose therapeutic effectiveness has been demonstrated in several studies.

In Algeria, good quality probiotics are available on the market but their prescriptions by doctors are limited, which can make their beneficial effects unknown to the general public.

In order to assess the effectiveness of probiotics marketed on national territory, our tests were carried out on 04 products: Ultrabiotic adult intestinal flora (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* , *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium breve*), Infantil ultrabiotic (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* ), Smebiocta (*Lactobacillus plantarum*) and Ultra yeast.

The results obtained show that the strains Ultrabiotic adult intestinal flora , Ultra biotic infant strains tested under hostile conditions are affected at (pH:1, pH:2 and pH:3) and also at concentrations 5% to 10%. For Smebiocta and Ultra yeast, the results show good growth at different pH and at different concentrations of bile salts with a bacterial load does not correspond to the figures declared by the firm.

The AntibioGram shows that the Ultrabiotic A, Ultra biotic infant, Smebiocta bacteria were sensitive to 03. The antimicrobial activity against 12 pathogenic bacteria shows that the Ultra A and Ultra infant flora strains inhibited all of the indicator strains tested and with less inhibitory effect for Smebiocta, Ultra yeast and autochthonous lactic acid bacteria isolated from camel and mare milk *Lactobacillus plantarum* NSC5C and JUM III 4 respectively.

The overall results obtained indicate good resistance of all the probiotic products and inhibition against the pathogenic bacteria tested.

**Keywords:** probiotics, food supplements, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, resistance, inhibition of pathogens.

## الملخص

البروبيوتيك هي بكتيريا أو خمائر تعدل من تكاثر البكتيريا في الأمعاء، الأكثر شيوعا هي اللاكتوباسيليس و سكروميساس تستخدم على نطاق واسع كمكملات غذائية في الوقاية من العديد من الأمراض و التي تم إثبات فعاليتها العلاجية في العديد من الدراسات. البروبيوتيك ذو جودة موجود في السوق الجزائري ولكن وصفات الأطباء محدودة مما قد يجعل أثارها المفيدة غير معروفة لعامة الناس،

من أجل تقييم فعالية البروبيوتيك التي يتم تسويقها على أرض الوطن ، تم اجراء اختباراتنا على 4 منتجات: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*، إولترابيوتيك المعوية البالغة ( *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* )، إولترابيوتيك الأطفال ( *Lactobacillus plantarum* ) سميوكتا، ( *Saccharomyces boulardii* ) لوفير - إولترا-.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن السلالات إواترابيوتيك المعوية البالغة و إولترابيوتيك الأطفال و التي تم إختبارهم في ظروف معادية لم تنمو في هذه الأوساط عند (pH:1, pH:2 et pH:3) و تراكيز ملح الصفراء 5% و 10% . أما بالنسبة لسميوكتا و إولترا-لوفير أظهرت النتائج نموا جيدا عند مختلف تراكيز Hp و تراكيز ملح الصفراء مع حمل بكتيري لا يوافق مع الأرقام المعلنة من قبل الشركة .

تحليل حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية يوضح حساسية إولترابيوتيك المعوية البالغة و إولترابيوتيك الأطفال و سميوكتا ل 03 . أما نشاط مضاد الحيوي ضد 12 بكتيريا مضره يوضح أن إولترابيوتيك المعوية البالغة و إولترابيوتيك الأطفال قد أعاقت جميع السلالات التي تم إختبارها مع تأثير أقل تثبيط سميوكتا، إولترا- لوفير و بكتيريا حمض الحليب الأصلية المعزولة من حليب النوق و الفرس NSC5C و JUM III 4

النتائج الإجمالية التي تم الحصول تشير إلى مقاومة جيدة لجميع منتجات البروبيوتيك و تثبيط البكتيريا المسببة للأمراض التي تم إختبارها.

### الكلمات مفتاحيه :

البروبيوتيك، مكمل غذائي، لاكتوباسيليس، بيفيدوبكتيريوم، مقاومة، إعاقة للبكتيريا الضارة.

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>الملخص</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Glossaire</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	

## **Tables des matières**

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique Chapitre I : Microflore intestinale</b>	
<b>I.1.Écosystème intestinale</b>	<b>3</b>
<b>I .2.Microbiote intestinale</b>	<b>4</b>
<b>I .2.1.Composition de la flore intestinale</b>	<b>5</b>
• <b>L'intestin grêle</b>	<b>5</b>
• <b>Colon</b>	<b>5</b>
<b>I.2.2.Comparaison du microbiote chez des enfants nourris au lait maternel par rapport à des enfants nourris avec des préparations industrielles</b>	<b>9</b>
<b>I .3.Rôles physiologiques et fonctions de la flore intestinale</b>	<b>10</b>
<b>I .3.1.Fonctions métaboliques</b>	<b>10</b>
<b>I.3.2.Fonction de Maintien de l'intégrité membranaire</b>	<b>10</b>
<b>I .3.3. Fonction de barrière contre l'implantation de bactéries pathogènes</b>	<b>10</b>
<b>I .3.4 Fonction immunitaire</b>	<b>10</b>
<b>I .3.5.Fonction neurologique</b>	<b>11</b>
<b>I .4 . Notion de dysbiose</b>	<b>11</b>
<b>I.4.1.Microbiote endogène résident</b>	<b>12</b>
• <b>La flore dominante</b>	<b>12</b>
• <b>La flore sous dominante</b>	<b>12</b>

<b>I.4.2. Microbiote exogène transit</b>	<b>12</b>
--	-----------

## **Tables des matières**

### **Chapitre II : Les probiotiques**

<b>II.1. Historique des probiotiques</b>	<b>14</b>
<b>II.2. Définition générale des probiotiques</b>	<b>14</b>
<b>II.2. 1.Les bactéries lactiques</b>	<b>15</b>
<b>II.2.1.1. Genre de <i>Lactobacillus</i></b>	<b>15</b>
• <b>Les Lactobacilles homofermentaire strict</b>	<b>15</b>
• <b>Les Lactobacilles Hétérofermentaire facultatifs</b>	<b>16</b>
• <b>Les lactobacilles hétérofermentaires stricts</b>	<b>16</b>
<b>II. 2.2.Genre <i>des Bifidobacterium</i></b>	<b>16</b>
<b>II. 2.3. Les levures</b>	<b>17</b>
<b>II. 3. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé</b>	<b>19</b>
<b>II.3. 1.Inhibition des bactéries pathogènes</b>	<b>19</b>
<b>II.3. 2.Les traitements gastriques</b>	<b>20</b>
<b>II.3. 3.L'amélioration de la digestion du lactose</b>	<b>20</b>
<b>II.3. 4.Réduction du taux de cholestérol sanguin</b>	<b>20</b>
<b>II.3. 5Diminution des allergies alimentaires</b>	<b>21</b>
<b>II.3. 6.Réduction du risque de diarrhée</b>	<b>21</b>
<b>II.3.7.La prévention du cancer du côlon et autres cancers</b>	<b>22</b>
<b>II.3.8.Production de bactériocines</b>	<b>22</b>
<b>II.4. les propriétés et Critères de sélection des probiotiques</b>	<b>23</b>
<b>II.4.1. Propriétés fonctionnelles</b>	<b>24</b>
<b>II.4.1.A. Résistance à l'acidité</b>	<b>24</b>
<b>II.4.1.B La résistance aux sels biliaires ou activité d'hydrolase des sels biliaires</b>	<b>24</b>
<b>II .4.1.C. Résistance aux antibiotiques</b>	<b>25</b>

<b>II.4.1.D.Production de substances antimicrobiennes</b>	<b>25</b>
---	-----------

## **Tables des matières**

<b>II.4.2. Propriétés technologiques</b>	<b>25</b>
<b>II.5.Commercialisations des probiotiques</b>	<b>25</b>
<b>II.5.1. Définition réglementaire du complément alimentaire</b>	<b>25</b>
<b>II.5.2. Commercialisations des probiotiques au territoire national</b>	<b>26</b>
<b>II.5.3. La surveillance des compléments alimentaires</b>	<b>26</b>
<b>II.6. les probiotiques pharmaceutiques utilise dans notre travail</b>	<b>27</b>
<b>Chapitre III : Matériel et méthodes</b>	
<b>III .1. Matériels</b>	<b>29</b>
<b>III 1.1. Lieu de l'étude</b>	<b>29</b>
<b>III 1.2.Le choix des souches</b>	<b>29</b>
• <b>Souches probiotiques</b>	<b>29</b>
<b>III.1. 3. Les produits chimiques et les milieux de cultures employés</b>	<b>30</b>
• <b>Milieux de culture</b>	<b>30</b>
• <b>Colorants</b>	<b>30</b>
• <b>Sels et tampons</b>	<b>30</b>
<b>III. 2. Méthodes</b>	<b>30</b>
<b>III .2.1 Revivification des probiotiques</b>	<b>30</b>
• <b>Étude Macroscopique</b>	<b>30</b>
• <b>Étude Microscopique</b>	<b>30</b>
<b>III.2.2. Dénombrement des probiotiques</b>	<b>30</b>
<b>III .2.3. Conservation des souches probiotiques</b>	<b>31</b>
<b>III.2.4. Croissance des bactéries lactiques et les levures en milieu acide</b>	<b>31</b>
<b>III .2.5. Test Résistance des probiotiques aux sels biliaries</b>	<b>31</b>
<b>III .2. 6. Résistance des probiotiques aux antibiotiques</b>	<b>32</b>
<b>III .2. 7. Test antagonisme entre les probiotiques et les bactéries pathogènes</b>	<b>33</b>
• <b>Méthodes des disques imprégnés</b>	<b>34</b>

- **Méthode des puits** **35**

## **Tables des matières**

### **Chapitre IV. Résultats et discussion**

<b>III. 1. Revivification des probiotiques</b>	<b>36</b>
<b>IV. 1.1 Caractères culturaux</b>	<b>36</b>
• <b>l'observation macroscopique</b>	<b>36</b>
• <b>L'observation microscopique</b>	<b>36</b>
<b>III .2. Dénombrement des probiotiques commercialisés</b>	<b>38</b>
<b>IV .3. Croissance des probiotiques commercialisés aux milieux acide</b>	<b>39</b>
<b>IV. 4. Croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaires</b>	<b>40</b>
<b>IV.5. les antibiogrammes</b>	<b>41</b>
<b>IV. 6. Antagonisme des probiotiques commercialisés et des bactéries lactiques contre les bactéries d'altération</b>	<b>43</b>
<b>Conclusion générale</b>	<b>48</b>
<b>Annexes</b>	<b>50</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>56</b>

## Listes des figures :

<b>Figure 1</b>	Microbiote intestinal au fil du tractus digestif.	<b>5</b>
<b>Figure 2</b>	Facteurs exogènes de la dysbiose.	<b>13</b>
<b>Figure 3</b>	<i>Lactobacillus casei</i>	<b>16</b>
<b>Figure 4</b>	<i>Bifidobacterium spp</i>	<b>16</b>
<b>Figure 5</b>	<i>Saccharomyces boulardii</i>	<b>17</b>
<b>Figure 6</b>	Les différentes dilutions pour dénombrement	<b>31</b>
<b>Figure 7</b>	Filtration des sels biliaires stérilement	<b>32</b>
<b>Figure 8</b>	Activité antagoniste des probiotiques et des bactéries lactiques vis-vis des bactéries pathogènes avec les deux méthodes	<b>35</b>
<b>Figure 9</b>	Dénombrement des probiotiques étudiée.	<b>38</b>
<b>Figure 10</b>	Croissance des probiotiques commercialisés dans les différents pH.	<b>39</b>
<b>Figure 11</b>	Croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaires	<b>41</b>
<b>Figure 12</b>	Aspect des antibiogrammes des probiotiques commercialisés sur milieu MRS	<b>43</b>
<b>Figure 13</b>	Activité antagoniste de certains probiotiques commercialisés et bactéries lactiques contre des bactéries indicatrices pathogènes.	<b>47</b>

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1</b>	Classification des bactéries de la flore intestinale par ordre d'importance en fonction de leur localisation	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b>	différence entre la composition de la flore bactérienne chez l'enfant nourri au lait maternel et au lait commercialisé	<b>8</b>
<b>Tableau 3</b>	Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques chez l'Homme	<b>18</b>
<b>Tableau 4</b>	Proposition de critère de sélection des probiotiques à application intestinale	<b>23</b>
<b>Tableau 5</b>	Les probiotiques pharmaceutiques utilisés dans notre travail	<b>28</b>
<b>Tableau 6</b>	Les produits pharmaceutiques utilisés et taxon de chaque souche	<b>29</b>
<b>Tableau 7</b>	les antibiotiques, leur concentration et leur famille.	<b>32</b>
<b>Tableau 8</b>	taxons des souches autochtones utilisées et leur source d'isolement	<b>33</b>
<b>Tableau 9</b>	Souches des bactéries pathogènes utilisées et leurs origines.	<b>34</b>
<b>Tableau 10</b>	Observation macroscopique et microscopique des probiotiques	<b>37</b>
<b>Tableau 11</b>	Antibiogramme des probiotiques commercialisés	<b>42</b>
<b>Tableau 12</b>	Activité antibactérienne des souches probiotiques vis-à-vis des bactéries d'altération.	<b>44</b>
<b>Tableau 13</b>	Le dénombrement des bactéries lactiques et des levures	<b>54</b>
<b>Tableau 14</b>	croissance des probiotiques commercialisés dans des milieux à différents pH	<b>54</b>
<b>Tableau 15</b>	croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaires	<b>55</b>

## Glossaire :

- **Abiotique** : il peut désigner un processus qui n'implique aucune réaction biologique. Il est également utilisé pour définir un lieu impropre à abriter ou à voir la vie se développer contrairement à la biotique, synonyme de vivant.
- **Anaérobie** : qualifie un organisme qui vit ou fonctionne en absence d'air ou un milieu dépourvu d'air.
- **Antibiotique** : sont les médicaments les plus connus du public. Ce sont des substances qui ont la propriété de détruire les bactéries. Les antibiotiques sont inactifs contre les virus et ne s'attaquent qu'aux bactéries. Ce sont plus que des « bactériostatiques » qui sont des substances qui empêchent la multiplication des bactéries sans pour autant les détruire, et que les « antiseptiques » qui évitent seulement le développement de germes en général.
- **Bactériocine** : est un peptide antimicrobien produit par des bactéries et qui tue d'autres bactéries ; la bactériocine est finalement une toxine spécifique produite par les bactéries.
- **Bifidobactéries** : ce genre de bactéries se trouve dans l'intestin humain. Les espèces sont nombreuses : *bifidobacterium*... Etc. Certaines bifidobactéries qui ont des effets positifs démontrés scientifiquement sur le transit intestinal pouvant être qualifiées de probiotiques.
- **Bifidogène** : se dit un produit entraînant une augmentation significative des populations et/ou des fonctions bifidobactériennes, on reste habituellement en pratique à une augmentation de niveau de population bactérienne.
- **Cytokine** : du grec kutos, cellule, et kuno, stimuler ce mot désigne des peptides ou des protéines non anticorps sécrétés par les cellules du système immunitaire essentiellement mais aussi par d'autres cellules (épithéliales) qui agissent comme des messagers ou médiateurs intercellulaires et ont une activité modulatrice sur le système immunitaire.
- **Dominante (flore dominante)** : se dit des bactéries les plus représentées dans la flore d'un écosystème. Dans le colon on retient par définition des concentrations supérieures ou égales à  $10^8$ .g<sup>-1</sup> de selles ou supérieures à 1° /° de la flore totale.
- **Dysbiose** : est un déséquilibre du microbiote, le microbiote intestinal est un écosystème actif, capable de s'auto-entretenir dont l'équilibre reste malheureusement fragile face aux multiples agressions, correspond à une modification de la composition des populations bactériennes intestinales accompagnée d'une altération qualitative.
- **Écosystème intestinal** : est composé de trois éléments indissociables : la flore, la muqueuse et le système immunitaire. De son équilibre dépend un bon état de santé. De nombreux facteurs peuvent perturber cet écosystème (stress, intolérance, prise de médicament...).

- **Entérobactéries** : ensemble d'espèces bactériennes ayant toutes une forme de bâtonnets (bacilles) et de couleur rose à la coloration dite de gram (bacilles gram négatif), se retrouvent toutes dans les matières fécales des animaux et des humains.
- **Lactobacilles** : sont des bactéries immobiles, non flagellés, non sporogones. Forment un genre de bactéries à Gram positif de la famille des *lactobacillaceae*, sont homofermentaire produisant à partir du glucose plus de 85 % d'acide lactique et ayant des besoins nutritionnels.
- **Microaérophiles** : est un organisme qui a besoin d'oxygène pour survivre à des concentrations inférieures à celle présente dans l'atmosphère (c'est-à-dire inférieure à 21%, généralement 2 à 10%)
- **Microbiote** : c'est l'autre nom de la flore intestinale, il s'agit donc de l'ensemble des microorganismes, qui se trouvent dans le tube digestif humain, essentiellement au niveau du colon, ou gros intestin. La colonisation du tube digestif commence dès la naissance. Le microbiote contribue notamment aux défenses immunitaires et au transit intestinal.
- **Mucus** : est une substance fluide ou légèrement solide, de consistance visqueuse. D'aspect translucide, sécrétée par les glandes muqueuses et par les cellules caliciformes ou cellule glandulaire.
- **Muqueuse intestinale** : elle couvre toute la paroi du tube digestif et présente des capacités remarquables de filtre sur une immense surface d'échange entre l'extérieur et l'intérieur de l'organisme.
- **Probiotique** : la Food and Agriculture Organisation des Nations Unies l'organisation Mondiale de la Santé (OMS) ont établi des lignes directrices pour l'utilisation des termes « probiotiques » dans les aliments et formulé la définition : « micro-organisme vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquates, produisant un bénéfice pour la santé de l'hôte ».
- **Résistant** : est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques, c'est une des formes de pharmacorésistances.
- **Sensible** : sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit.
- **Souche** : les bactéries sont classées en grandes familles appelées genre, comme les bifidobactéries et les lactobacilles, chaque genre comprend plusieurs espèces, pour chaque espèce il existe différentes souches caractérisées par un nom de code ou une marque.

## Liste des abréviations :

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AGCC** : acides gras à courtes chaînes.

**AFSSA** : agence française de sécurité sanitaire des aliments.

**AMM** : autorisation de la mise sur le marché.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**BSH** : enzyme Hydrolase sels biliaires.

**DO** : Densité Optique

**C°** : Degré Celsius.

**CA** : complément alimentaire.

**cm, mm** : Centimètre, millimètre.

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone.

**CNPM** : centre national pharmacovigilance et matériovigilance

**G+C** : Guanine +Cytosine.

**g, mg** : Gramme, milligramme.

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'amélioration et l'agriculture.

**ONU** : l'Organisation des Nations Unies.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**LAB** : des bactéries produisent D'Acide lactique.

**LBLM** : laboratoire biologie des microorganismes et biotechnologie de l'université d'Oran.

**L, ml, µl** : Litre, millilitre, microlitre.

**pH** : Potentiel d'Hydrogène.

**%** : Pourcentage.

**SP** : Espèce non précisée.

**SSP** : Sous espèce.

**VNR** : Valeurs nutritionnelles de référence.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

# *Introduction*

### **Introduction :**

A l'aube du XXème siècle, les bactéries pourraient aider le corps humain, en le protégeant de certains virus ou d'autres bactéries. En effet, certaines populations caucasiennes auraient une durée de vie exceptionnelle grâce à la consommation quotidienne de produits fermentés (**Victor, 2021**).

Les études conduites sur plusieurs produits laitiers provenant du commerce montrent une perte de viabilité des probiotiques au moment de leur consommation. Pour mettre au point des probiotiques aux effets démontrés chez l'homme garantissant aux consommateurs une satisfaction totale en termes de bénéfices santé (**Bruno, 2012**).

Les probiotiques sont des microorganismes non pathogènes, sans gènes de résistance aux antibiotiques, résistants aux sels biliaires et au pH acides, en mesure d'adhérer et de coloniser la muqueuse intestinale, présentent des caractéristiques de croissance avantageuses et viables dans des conditions normales de stockage, produisent des substances antimicrobiennes, ayant la capacité d'inhiber les bactéries pathogènes dans l'intestin, et sont dotés d'une capacité de moduler la réponse immunitaire même de façon transitoire (**Da Cruz et al., 2007**).

En effet, des probiotiques spécifiques, comme les lactobacilles et les bifidobactéries (ou bifidus), commercialisés sous forme de complément à base de mélange de probiotiques ou d'aliment fonctionnel sont appréciés pour leurs effets thérapeutiques. Leur fonction est très proche de celles des bactéries bénéfiques de la flore intestinale impliquées dans l'homéostasie (maintien de l'équilibre) intestinale et favorables au développement et au fonctionnement du système immunitaire, Il a été rapporté que les probiotiques préviennent et atténuent les troubles digestifs comme la diarrhée aiguë associée aux antibiotiques, le syndrome de l'inflammation de l'intestin et les allergies.

Dans d'autres pays, les effets bénéfiques sur la santé des compléments alimentaires contenant des microorganismes vivants sont de plus en plus vantés par les professionnels de la santé, et prennent une place majeure dans les prescriptions des médecins ainsi que dans les pharmacies.

Les probiotiques ont commencé à apparaître sur le marché officinal à partir des années 2010, on les retrouve principalement sous forme de compléments alimentaires dans les rayons.

Le marché mondial des ingrédients probiotiques a été évalué à 1,5 milliard de dollars en 2016 et devrait atteindre les 2,15 milliards de dollars d'ici 2021 (**Codex Alimentaire, 2018**).

## *Introduction générale*

En Algérie, Le marché des produits à base de probiotiques reste très nouveau, les Algériens ont récemment connu ces produits en complément ou en alternative d'un traitement médical, mais pour la plupart d'entre eux leur composition reste inconnue. Pour cette raison, notre mémoire est dirigé pour étudier l'efficacité de quelques produits pharmaceutiques sur le marché national et qui a les objectifs suivants :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur le Microbiote intestinale et les probiotiques commercialisés sur le territoire algérien les raisons de leurs utilisations,
- La seconde partie contient une description des techniques que nous avons utilisé au cours de cette étude pour déterminer *in vitro* la résistance des quatre souches aux conditions intestinales hostiles telles que la résistance à l'acidité et aux sels biliaires l'antibiogramme pour tester la sensibilité des 04 antibiotiques et en fin l'activité antimicrobienne contre 12 souches de bactéries pathogènes,
- La troisième partie est consacrée aux résultats expérimentaux trouvés et à la discussion.

Enfin, le manuscrit est ponctué d'une conclusion générale.

# *Synthèse bibliographique*

### **Chapitre I : Microflore intestinale**

#### **I.1.Écosystème intestinale :**

Le corps humain est colonisé par des micro-organismes dans toute sa surface. Le microbiote ou flore commensale correspond donc à l'ensemble des micro-organismes qui vivent au contact du revêtement cutanéomuqueux d'un hôte sans entraîner de désordre.

La flore commensale se développe au contact de toutes les muqueuses de notre organisme, chez tout individu, mais chaque muqueuse est colonisée par des bactéries de qualité et quantité différentes. On distingue quatre flores principales : cutanée, respiratoire haute, génitale, et digestive (**Chaplin et al., 2017**).

Les souches probiotiques d'origine humaine sont considérées comme les plus compatibles avec le tractus intestinal humain. Les probiotiques modulent la composition et l'activité de la flore intestinale.

La flore intestinale appelée aussi microflore intestinale ou microbiote intestinal, est un ensemble de micro-organismes qui loge au niveau des intestins. Non pathogènes, ces microorganismes jouent un rôle essentiel dans la digestion et la défense de l'organisme (**Cammarota et al., 2017**).

Ils ont une action protectrice en limitant la colonisation, la reproduction et l'adhérence de bactéries pathogènes. Le microbiote intestinal, appelé anciennement flore intestinale, se définit comme l'ensemble des microorganismes présents dans l'écosystème digestif et assurant des relations symbiotiques avec l'hôte.

#### **I.2. Microbiote intestinale :**

Le microbiote intestinal réside tout le long du tractus gastro-intestinal. Composé de  $10^{12}$  à  $10^{14}$  bactéries, soit 10 à 20 fois le nombre de cellules de l'organisme, il est appelé également flore commensale. Dominé par la présence de bactéries anaérobies strictes dont la quantité est de 100 à 1000 fois plus importante que celle des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives (**Corthier, 2007**).

Ces bactéries représentent un écosystème très complexe, constitué de 500 à 1000 espèces différentes contribuent à une relation symbiotique menant à l'homéostasie, L'hôte fournit un environnement riche en nutriments tandis que les bactéries commensales occupent des fonctions indispensables que les humains ne peuvent exercer eux-mêmes, telles que la Production de certaines vitamines, la digestion de polysaccharides complexes et la mise en place d'un système immunitaire efficace (**Cibik et al., 2004**).

La microflore intestinale est donc une flore au sein de laquelle les microorganismes capables d'exercer des activités bénéfiques sont plus nombreux et plus actifs que les microorganismes capables d'exercer des effets délétères pour la santé (**Colarelli, 2010**).

### I.2.1. Composition de la flore intestinale :

La flore intestinale varie longitudinalement tout au long de l'intestin, mais aussi transversalement entre lumière et muqueuse intestinale. En fonction des niveaux de l'intestin, une flore différente est trouvée, correspondant à des habitats différents ou niches écologiques spécifiques. La méthode classique de culture a montré que la flore bactérienne se densifie de l'intestin grêle à motricité importante au colon à motricité réduite. L'estomac héberge très peu de bactéries ( $10^1$  à  $10^3$  UFC par millilitre de liquide gastrique), principalement en raison de l'acidité du milieu telle que *Helicobacter pylori*.

#### ▪ L'intestin grêle :

Après le passage de l'estomac à pH acide, le pH redevient neutre, l'oxygène se raréfie et la flore bactérienne qui survécu au passage gastrique va augmenter progressivement du duodénum à l'iléon. La flore du duodénum-jéjunum n'excède pas  $10^4$  à  $10^6$  UFC /g de contenu intestinal et est composée d'espèce aérobie-anaérobie facultatives (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*) appartenant à la flore de passage. La flore iléale est plus importante, atteignant  $10^5$  à  $10^7$  UFC / g de contenu intestinal avec une flore anaérobie stricte prédominante appartenant au genre *Bacteroides* associée à une flore anaérobie facultative. Cette flore bactérienne ne dépassant pas  $10^7$  UFC/g. n'assure pas de fonctions majeures en dehors de situations pathologique (**Rambaud et al., 2004**).

#### ▪ Colon:

Le colon est le segment le plus riche en bactéries. Les taux atteignent  $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g de contenu. Dans le colon, le transit, très fortement ralenti été associé à un très bas potentiel d'oxydoréduction, est à l'origine de l'augmentation importante de la population bactérienne anaérobie. Le colon, ou la compétition pour l'espace et les nutriments contribue à maintenir l'intégralité de la microflore, est la seule zone colonisée de façon permanente par une flore résidente. La flore microbienne essentiellement anaérobie, assure de multiples fonctions bénéfiques pour l'hôte :

- Fonction métaboliques telles que la fermentation des résidus alimentaires non digestibles, des constituants endogènes de l'hôte avec production d'acides gras à chaînes courtes source d'énergie, de vitamines ;
- Fonction trophique sur la muqueuse intestinale, développement de l'angiogenèse intestinale, développement du système immunitaire local ;
- Fonction de barrière contre l'implantation de bactéries pathogènes (**Rambaud et al., 2004**).

## Synthèse bibliographique

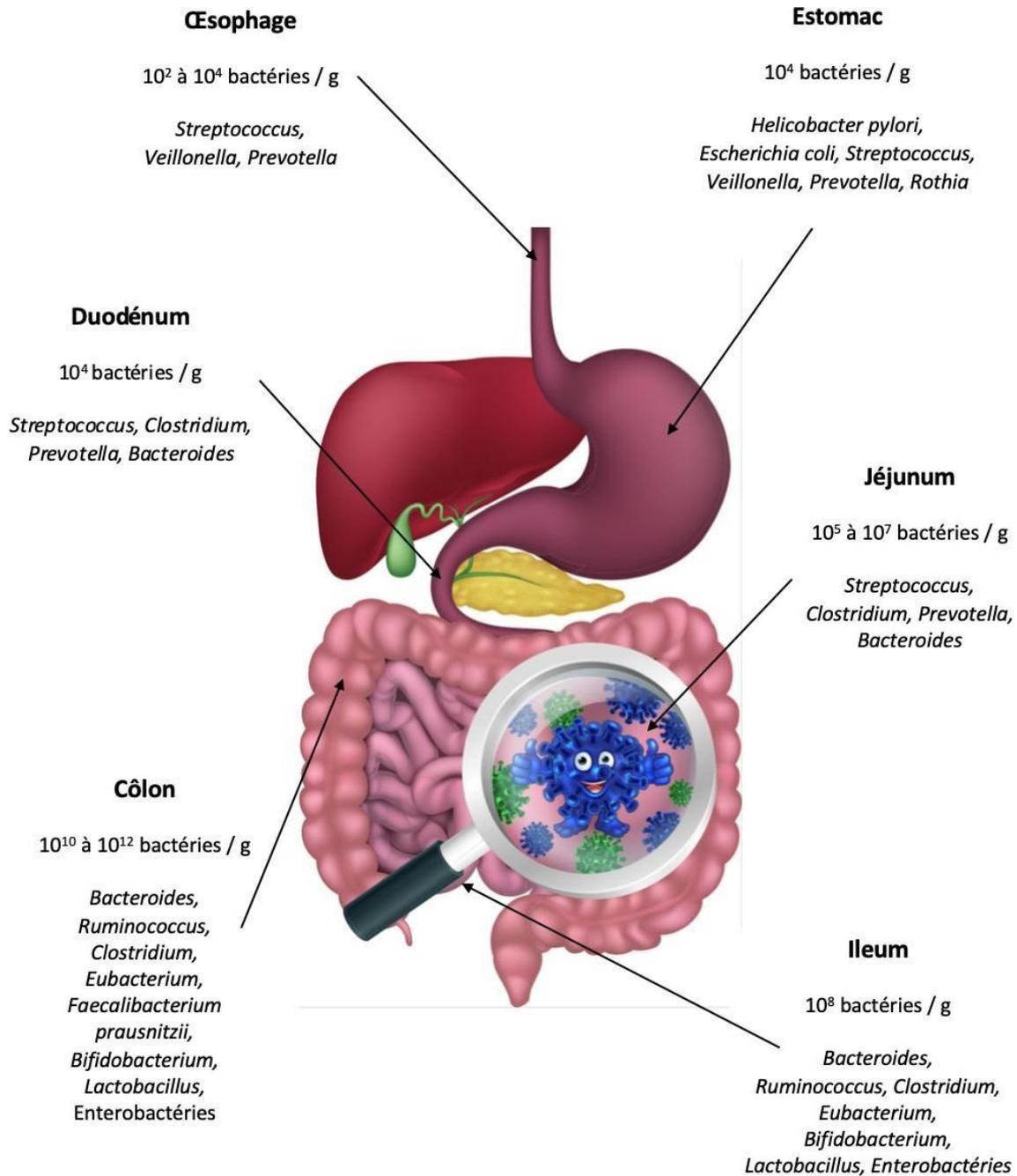


Figure 1 : Microbiote intestinal au fil du tractus digestif. (Schwartz, 2016).

## *Synthèse bibliographique*

Il exerce de nombreuses fonctions dans l'organisme et pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de l'obésité, des maladies inflammatoires chroniques et dans la lutte contre les infections. Ces bactéries qui appartiennent à trois groupes dont l'équilibre est important :

- Les bacteroidetes, qui rassemblent principalement les bactéries du genre bacteroides.
- Les firmicutes, qui incluent des *clostridium* non pathogène pour la majorité.
- Les actinobacteria, qui comprennent le genre des *bifidobacterium* ou bifides

**(Rowland, 2009).**

La concentration de la flore évolue dans l'ordre croissant dans le sens oral -anal : ainsi la concentration dans l'intestin grêle est d'environ  $10^5$  UFC (unité formant colonie), tandis que la plus importante population microbienne du corps se trouve au niveau du gros intestin (ou côlon) où la concentration en micro-organismes atteint  $10^{11}$  UFC. De plus, dans le côlon, le transit est fortement ralenti et le pouvoir oxydoréducteur est réduit, d'où la présence d'une flore microbienne essentiellement anaérobie. Le côlon est un véritable organe microbien qui assure de multiples fonctions.

## *Synthèse bibliographique*

**Tableau 1** : Classification des bactéries de la flore intestinale par ordre d'importance en fonction de leur localisation (**Fanny, 2016**)

Partie du tube digestif	Bactéries
Estomac	<i>Streptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> 10 <sup>1</sup> -10 <sup>3</sup> UFC /g <i>Lactobacillus Peptostreptococcus</i>
Intestin grêle	<i>Lactobacillus</i> <i>Bacteroides</i> <i>Clostridium</i> 10 <sup>3</sup> -10 <sup>8</sup> UFC/g <i>Mycobacterium Enterococcus</i> <i>Enterobacteriaceae</i>
Gros intestin	<i>Bacteroides Fusobacterium</i> <i>Clostridium Peptostreptococcus</i> <i>Escherichia coli Klebsiella</i> <i>Proteus</i>  <i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> 10 <sup>9</sup> -10 <sup>12</sup> UFC/ <i>Streptococcus Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Staphylocoque à coagulase négative</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Actinomyces</i>

## Synthèse bibliographique

### I.2.2. Comparaison du microbiote chez des enfants nourris au lait maternel par rapport à des enfants nourris avec des préparations industrielles :

Le mode d'alimentation du bébé joue aussi un rôle important dans l'établissement de la flore digestive. Le lait maternel contient des oligosaccharides bifidogènes qui vont permettre le développement des bifidobactéries. Un enfant allaité plus de 4 mois présente moins de risque d'infections (diarrhées aiguës 70%, otites 30%, infections respiratoires sévères 12%). Les laits industriels vont favoriser l'implantation d'une plus grande diversité de bactéries mais moins protectrices. L'analyse comparative de composition de la flore fécale des nouveau-nés allaités au sein ou avec une préparation pour nourrisson révèle des taux variables des bifidobactéries, *Escherichia coli* et *Bactéroïdes* jusqu'à trois jours après la naissance. Au septième jour, chez les bébés recevant le lait maternel, les bactéries type *Bactéroïdes*, *Lactobacilles* et bifidobactéries représentent un grand pourcentage de la flore totale. Chez les bébés nourris avec une préparation pour nourrisson, ce sont plutôt les genres *Bactéroïdes*, *Clostridies* et *Entérobactéries* qui deviennent dominants. Ces derniers sont des marqueurs prédictifs de l'absence de lait maternel dans l'alimentation du nouveau-né. Apparemment le lait maternel semble retarder l'apparition en dominance d'une flore diversifiée et composée des genres *Clostridies* et apparentés (**Cibik et al., 2004**).

**Tableau 2 :** différence entre la composition de la flore bactérienne chez l'enfant nourri au lait maternel et au lait commercialisé (**Hassani, 2017**).

Lait maternel	Lait industriel
<b>Bifidobactéries</b>	<i>Bactéroïdes</i>
<b>Lactobacilles</b>	<i>Clostridies</i>
<b>Bactéroïdes</b>	<i>Entérobactéries</i>

### **I.3. Rôles physiologiques et fonctions de la flore intestinale :**

La flore intestinale, en contact permanent avec l'épithélium colique, exerce de nombreux effets structuraux et métaboliques, ainsi que de nombreuses fonctions physiologiques qui sont, pour la grande majorité, bénéfiques pour l'hôte.

Le microbiote peut être considéré comme un organe à part entière, en raison du très grand nombre de gènes qui le composent et donc de la multiplicité des fonctions physiologiques et par moment des mécanismes pathologiques qui en résultent. Les principales fonctions du microbiote, réparties en 4 grandes classes sont :

#### **I.3.1.Fonctions métaboliques :**

Sa principale fonction est la synthèse des acides aminés et des vitamines (K, B1 à B12, acide folique, biotine et acide pantothénique). Le microbiote permet la digestion des glucides fermentescibles. Il a également un potentiel anti-inflammatoire et antioxydant. Par ailleurs, il joue aussi un rôle dans le métabolisme des protéines, qui sont transformées en acides aminés libres et représentant une source d'azote pour d'autres bactéries. Concernant les lipides, les acides gras et les acides biliaires sont métabolisés à leur tour en petite partie à niveau colique par le microbiote (**Practitioners , 2014**).

#### **I.3.2.Fonction de Maintien de l'intégrité membranaire:**

Les bactéries commensales sont impliquées dans la régulation du renouvellement des cellules épithéliales de l'intestin, dans la reconstruction épithéliale et dans la réorganisation des jonctions serrées afin de fortifier la fonction de barrière intestinale. Si une perte de l'intégrité membranaire se produit et qu'une hyperperméabilité s'installe, on parle de « leaky gut syndrome » qui peut avoir pour conséquence le développement d'une allergie, d'une maladie auto-immune, d'une maladie inflammatoire, d'une candidose (**Yu et al., 2016**).

#### **I.3.3.Fonction de barrière contre l'implantation de bactéries pathogènes :**

Le tractus intestinal est continuellement exposé à un grand nombre de micro-organismes et pour y faire face l'épithélium de surface déploie un arsenal de protéines antimicrobiennes qui sont bactéricides ou inhibe le développement des micro-organismes. Ces protéines antimicrobiennes incluent les défensines ( $\alpha$ -défensine principalement), cathélicidines, lectines, ribonucléases et psoriasines.

#### **I.3.4. Fonction immunitaire:**

Les réponses immunes sont multiples. On distingue les réponses innées qui sont rapides, non spécifiques, se traduisant par les fonctions de phagocytose et la destruction des éléments étrangers et cellules anormales exprimant des protéines virales ou tumorales. Elles sont assurées par les monocytes circulants, les cellules « Natural Killer » (NK), et les macrophages et cellules dendritiques présents dans tous les tissus. Ces cellules jouent aussi un rôle important de « sentinelle », alertant, via des contacts cellulaires type « clé-serrure » et la sécrétion de cytokines

## *Synthèse bibliographique*

(molécules permettant le dialogue entre les cellules immunitaires),

D'autres populations de cellules immunitaires. Celles-ci, les cellules T et B, donnent ensuite des réponses spécifiques de l'antigène, appelées réponses adaptées, qui sont cellulaires et/ou humorales (fabrication d'anticorps appartenant à différents isotypes, IgG, IgE, IgA), et douées de mémoire immunitaire. (Moreau , 2006).

### **I.3.5. Fonction neurologique :**

Plus récemment, il a été suggéré, que le microbiote participerait à la communication entre l'intestin et le cerveau via des voies humorales et neuronales (Yu *et al.*, 2016).

### **I.4. Notion de dysbiose :**

Le microbiote intestinal est un écosystème actif, capable de s'auto-entretenir dont l'équilibre reste malheureusement fragile face aux multiples agressions. Un déséquilibre du microbiote s'appelle une dysbiose et correspond à une modification de la composition des populations bactériennes intestinales accompagnée d'une altération qualitative (perte de diversité) et/ou quantitative (perte d'abondance).

Cet état écologique anormal va altérer les relations entre le microbiote et l'hôte. Ces altérations influencent la physiologie de l'hôte pouvant aller de la simple dérégulation à la pathologie ou à l'excès de mécanismes pathogènes dans le microbiote humain.

Nous avons déjà vu qu'une dysbiose naturelle pouvait s'installer au cours du vieillissement. Nonobstant le mécanisme de dysbiose peut intervenir sous la contrainte de plusieurs facteurs et ce à tous les âges (Lys et Bey ,2020).

Cette perte de stabilité génère la plupart du temps la prolifération de micro-organismes délétères (bactéries ou levures tel que *Candida*), et conduit à la fragilisation de la muqueuse intestinale. Or, la muqueuse intestinale est un véritable filtre, qui une fois affaiblie devient extrêmement perméable et peut compromettre la santé de l'hôte.

Dans un certain nombre de pathologies telles que le syndrome du côlon irritable, l'allergie, les maladies inflammatoires chroniques intestinales ou même le diabète, des remaniements sont observés en termes de composition, structure et d'activité de cet écosystème digestif.

Les causes de dysbiose sont diverses. Beaucoup de facteurs peuvent compromettre cette homéostasie intestinale, parmi lesquels, nous distinguons des facteurs endogènes liés à l'hôte (péristaltisme, pH, sécrétions), liés aux bactéries (adhésion, motilité...), mais aussi les interactions bactériennes (synergie, antagonisme). Pour ce qui est des facteurs exogènes, nous distinguons diverses infections (virales, bactériennes, parasitaires), certains médicaments (dont les antibiotiques), un déficit immunitaire et les pathologies éventuelles associées, le stress psychologique ou physiologique, l'alimentation moderne (sucres rapides, graisses saturées, protéines et absence de fibres), le climat (température), le niveau d'hygiène, et autres addictions (alcool, tabac, autres), ainsi que l'hygiène de vie en général (activité physique, toxines, polluants, additifs alimentaires, ...)(Lys et Bey , 2020) qui' il s'agit :

### I.4.1. Microbiote endogène résident :

Le microbiote « normal », dit endogène résident ou autochtone, comprend l'ensemble des espèces microbiennes présentes dans l'écosystème digestif de façon permanente. Ces espèces ont colonisé un site spécifique et sont capables de se multiplier dans cet environnement car elles sont parfaitement adaptées aux conditions du milieu. Le microbiote gastro-intestinal résident fournit une barrière microbienne contre les agents pathogènes microbiens. *Lactobacillus sp* et *Bifidobacterium sp* d'origine intestinal humaine produisent des substances antimicrobiennes actives in vitro et in vivo contre les microorganismes entéropathogènes impliqués dans la diarrhée alors les deux ont la capacité d'interférer ou bloquer les pathogènes. (Lys et Bey ,2020). Il se divise en deux sous groupes :

#### ▪ La flore dominante :

Qui est la plus nombreuse se localise essentiellement au niveau du colon où le taux de colonisation de chacun des groupes bactériens qui la compose atteint  $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g ou ml de contenu intraluminal avec très peu de variations inter individuelles, elle est composée essentiellement de germes anaérobies stricte, les groupes principaux représentant la flore dominante sont celles des bifidobactéries et des lactobacilles.

#### ▪ La flore sous dominante :

Se localise au niveau du colon à des taux inférieurs à ceux des germes de la flore dominante soit  $10^6$  à  $10^8$  UFC/g ou ml de contenu intraluminal, elle est composée de germes aéro- anaérobies facultatifs (*Entérobactéries*, *Streptocoques*).Le microbiote sous dominant est beaucoup moins stable au plan qualitatif et sujet à un relais constant d'espèces. De plus, de légères fluctuations de l'alimentation ou de la physiologie de l'hôte peuvent conduire les niveaux de population de ce microbiote à devenir dominant. (Lys et Bey, 2020).

### I.4.2. Microbiote exogène transit :

Le microbiote de transitoire, appelé également allochtone ou de passage, correspond aux espèces bactériennes qui, sauf lors de circonstances pathologiques, traversent le tube digestif sans pouvoir le coloniser. Il est représenté par des entérobactéries du genre *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* ou *Enterobacter*, mais aussi par des *Pseudomonas*, des staphylocoques et des levures essentiellement du genre *Candida*.

Les bactéries de ce microbiote polymorphesont présentes à des taux inférieurs à  $10^6$  UFC par gramme de fèces et proviennent surtout de l'alimentation. Certains de ces microorganismes sont potentiellement pathogènes mais généralement ils sont réprimés par le microbiote dominant et n'expriment donc pas leur toxicité (Bendjedi et Barkati , 2021).



**Figure 2** : Facteurs exogènes de la dysbiose.

### **Chapitre II : Les probiotiques :**

#### **II.1. Historique des probiotiques:**

**Elie Metchnikoff, 1907** (scientifique russe, lauréat du Nobel et professeur à l'Institut Pasteur à Paris) a postulé que les bactéries produisant de l'acide lactique (LAB) offraient des bénéfices pour la santé conduisant à une plus grande longévité. Il a suggéré que "l'auto intoxication intestinale" et le vieillissement qui en résultait pouvait être supprimé en modifiant la flore microbienne de l'intestin et en remplaçant les microbes protéolytiques qui produisent des substances toxiques comme les phénols, les indoles et l'ammonium à partir des protéines de la digestion par des microbes utiles. Il développa un régime alimentaire à base de lait fermenté par une bactérie qu'il appela "Bacille bulgare."

Les isolats un *Bifidobacterium* à partir d'un enfant nourri au sein avec l'intention de l'administrer aux enfants souffrant de diarrhée. Il a postulé que la bifidobactérie remplacerait la bactérie protéolytique qui cause la diarrhée. Au Japon, le Dr Minoru Shirota isola la souche *Lactobacillus casei* Shirota afin de l'utiliser pour combattre les épidémies de diarrhée et un produit probiotique utilisant cette souche a été commercialisé depuis 1935 (**WGO, 2017**).

Le terme probiotique provient de deux mots grecs, **pro** et **bios**, qui signifient littéralement, « en faveur de la vie », La première définition spécifiait qu'un probiotique était simplement un organisme ou une substance qui influence la balance de la microflore intestinale. Ils ont des propriétés non pathogènes, Résistance à l'acidité gastrique, à la bile et aux enzymes pancréatiques, Capacité de coloniser transitoirement la muqueuse intestinale (**Parker, 1974**).

#### **II.2. Définition générale des probiotiques :**

Aujourd'hui, selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (**FAO/OMS, 2001**), les probiotiques sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (**Francois, 2010**).

Le terme "probiotique" devrait être réservé aux microbes vivants pour lesquels un bénéfice pour la santé a été démontré dans des études contrôlées chez les humains. La fermentation concerne globalement la préservation d'un vaste ensemble de produits agricoles (céréales, racines, tubercules, fruits, légumes, lait, viande, poissons, etc.) (**WGO, 2017**).

Plus tard, une autre définition très proche du sens actuel a été proposée : «Supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (Makhloufi, 2012).

De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, Il en existe 3 grands groupes:

- Les ferments lactiques : Ils sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Ils sont regroupés en 2 catégories, en fonction de leur morphologie: les lactobacilles (*Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*) .
- Les Bifidobactéries: D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. Avec l'âge, la population de Bifidobactéries diminue et leurs espèces varient.
- Les différentes levures de type Saccharomyces : Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire (Dias *et al.*, 1995).

### II.2. 1. Les bactéries lactiques :

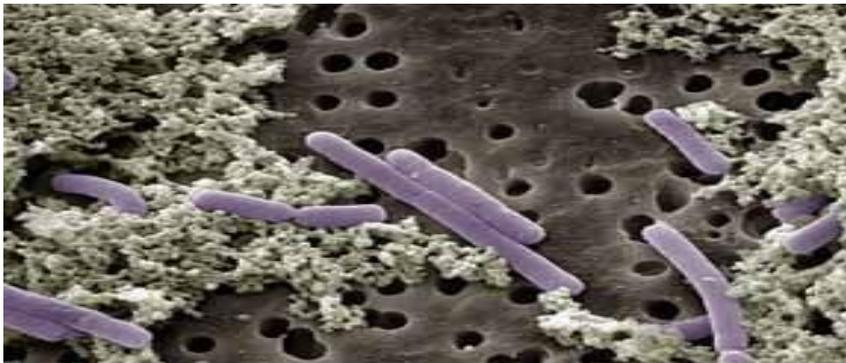
Les bactéries lactiques incluent les genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*. Ce sont des cellules procaryotes, organotrophes bactéries à Gram positif, généralement immobiles, asporulées, anaérobies ou microaérophiles. Le pourcentage en bases guanine et cytosine (GC %) de leur ADN montre une hétérogénéité des espèces constituant ces genres, Selon leur morphologie, ils sont capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C les bactéries lactiques peuvent être divisées en trois catégories : les lactobacilles, et les bifidobactéries et les levures (Bendjedi et Barkati , 2021).

#### II.2. 1. Genre de *Lactobacillus* :

Les *Lactobacillus* sont très hétérogènes (le pourcentage en G+C varie de 33 % à 55%). Il contient 140 espèces et 27 sous-espèces, mais sa classification évolue régulièrement. Les lactobacilles sont des bacilles Gram positifs, non mobiles, non sporulants, se développant dans des conditions microaérophiles à strictement anaérobies. Les *Lactobacillus* sont largement utilisés comme probiotiques, Leur croissance est lente et exige des milieux enrichis en facteurs de croissance. On distingue trois groupes de métabolisme :

- **Les Lactobacilles homofermentaire strict** du groupe I ne fermentant que des hexoses Les espèces de ce groupe fréquemment rencontrées dans les produits laitiers sont : *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus* et *L. helveticus* .

- **Les Lactobacilles Hétérofermentaires facultatifs** du groupe II sont des bactéries qui fermentent les hexoses et produisent presque exclusivement de l'acide lactique en synthétisant d'autres produits finaux comme l'acétate, l'éthanol, le succinate, Ce groupe rassemble entre autres *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. rhamnosus*, *L. casei* et *L. paracasei*
- **Les lactobacilles hétérofermentaires stricts** du groupe III sont. l'utilisation des sucres suit la voie des pentoses phosphate et conduit à la formation de lactate, d'acétate ou d'éthanol et de CO<sub>2</sub>. (**Benreguiég , 2015**).  
Ces bactéries ont une forme de bâtonnets qui sont souvent groupés en chaînettes  
Ces deux espèces offrent une bonne résistance à l'acidité gastrique et présentent une forte capacité d'adhérence aux cellules intestinales, retrouve notamment au niveau de la flore vaginale mais aussi au niveau digestif (**Ezzariga , 2015**).



**Figure 3 :** *lactobacillus casei* (Martin , 2009).

### II.2.2. Le genre *Bifidobacterium* :

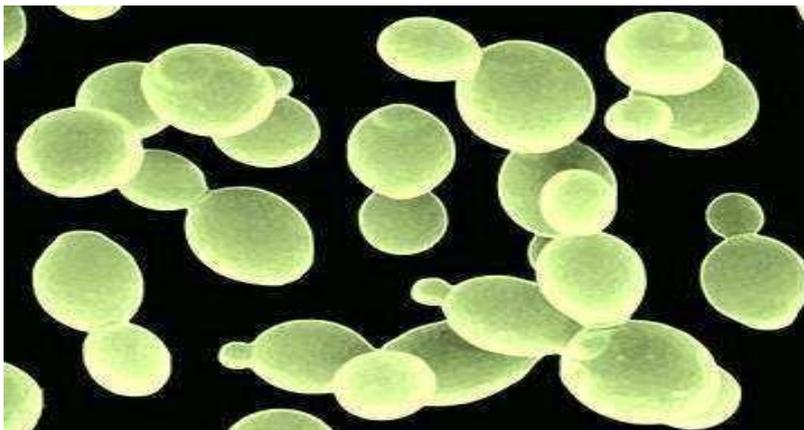
Regroupe des bactéries à Gram positif, en forme de Y, ne produisant pas de spores, anaérobies strictes. De nombreuses espèces sont utilisées comme probiotiques, plus particulièrement les espèces *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium breve* (**Ezzariga , 2015**)



**Figure 4 :** *Bifidobacterium spp*

### **II.2. 3. Les levures :**

Les levures, chez lesquels la forme unicellulaire prédomine, sont utilisées depuis des siècles par l'Homme en panification et pour la fermentation de boissons alcooliques. Depuis de nombreuses années, elles sont également utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulateur du microbiote intestinal chez l'Homme. Les levures utilisées comme probiotiques sont des souches de *Saccharomyces cerevisiae*, et en particulier une souche bien déterminée dénommée *Saccharomyces boulardii* (Ezzariga , 2015)



**Figure 5 :** *Saccharomyces boulardii*.

## Synthèse bibliographique

**Tableau 3:** Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques chez l'Homme (Piquepaille , 2013).

Bactéries lactiques	Autres	Les levures
Espèces de <i>Lactobacillus</i>	Espèces de <i>Bifidobactérium</i>	
<i>L. acidophilus</i> <i>L. brevis</i> <i>L. casei</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. delbrueckii subsp. bulgaris</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. lactis</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. salivarius</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i>  <i>B. longum</i>	<i>Saccharomyces. boulardii</i> <i>S. cerevisiae</i>

*L* : *Lactobacillus* *B* : *Bifidobacterium* *S*: *Saccharomyces*

## *Synthèse bibliographique*

### **II.3.Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé :**

En février 2005, l'Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments, AFSSA, publie un rapport sur les 'Effets des probiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte » (Afssa, 2005). Ce rapport reprend également quelques directives du groupe de travail FAO /OMS. Ce chapitre peut être utilisé comme un guide pour le pharmacien d'officine. Il permet de bien choisir les souches probiotiques et de faire la différence entre un laboratoire sérieux commercialisant des bons probiotiques et un laboratoire un peu moins scrupuleux commercialisant des produits dits probiotiques ( Colarelli , 2010) .

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans les préparations pharmaceutiques sous forme de gélules. De nombreuses souches bactériennes ont montré leurs bénéfices sur la santé humaine qui sont déjà commercialisées. (Hassani, 2017), Parmi leur application :

#### **II.3.1.Inhibition des bactéries pathogènes :**

La répression du développement de germes indésirables ou pathogènes peut se faire de plusieurs façons :

La production d'acides organiques (acide lactique ou acide acétique) à partir de glucides ingérées lors de la prise alimentaire, limite, en abaissant le pH, le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella*. La diminution de la concentration des bactéries coliformes dans le tube digestif serait due au pH très bas, obtenu grâce à l'apport de lait acidifié par l'acide lactique.

Certaines souches probiotiques, en particulier les *Lactobacillus*, ne possèdent pas de complexes cytochromes pour réaliser les phosphorylations oxydatives mais utilisent les flavoprotéines pour l'oxydation terminale et forment du peroxyde d'hydrogène qui est un composé inhibiteur pour ces bactéries. Il existe probablement des concentrations suffisantes en oxygène dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal des animaux pour que des quantités significatives de peroxyde d'hydrogène soient produites. Ceci pourrait être une des explications de l'effet antagoniste des *Lactobacillus* contre des souches de *Salmonella* dans le jabot des volailles.

Le peroxyde d'hydrogène produit par *Lactobacillus* inhibe des bactéries comme : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium butyricum*, *Pseudomonas ssp*, *Salmonella*, des virus comme : le virus de la fièvre aphteuse, le virus de la poliomyélite, certains champignons comme le *Candida albicans*.(Adams et Moss, 2000).

### **II.3.2. Les traitements gastriques:**

L'infection à *Helicobacter pylori* touche plus de 50% de la population mondiale et 80% de la population dans les pays en développement. Elle est la principale cause de l'ulcère gastroduodéal (70-90% des cas), le lymphome et dans 1% des cas, ça conduit au développement de cancer de l'estomac (**Malago et al., 2011**).

### **II.3.3. L'amélioration de la digestion du lactose :**

L'un des effets des BL qui a été le plus mis en avant et démontré chez l'homme est celui qui concerne l'amélioration de l'intolérance au lactose. Ce disaccharide, présent exclusivement dans le lait et ses dérivés, est formé de glucose et de galactose reliés entre eux par une liaison  $\beta$ . Sa digestion nécessite une lactase, ou  $\beta$ -galactosidase, qui hydrolyse cette liaison et permet alors l'absorption des sucres simples libérés. Plusieurs études ont montré que la  $\beta$ -galactosidase des BL participait à la digestion du lactose dans l'intestin. En principe, le remplacement du lait par du yaourt conduit à une meilleure absorption et une meilleure tolérance chez les sujets présentant une intolérance au lactose (primaire et secondaire).

Il a été démontré que les bactéries qui survivaient dans l'intestin gardaient une activité métabolique suffisante pour hydrolyser le lactose et que celles dont la membrane est facilement lysée par les acides biliaires libéraient leur lactase dans l'intestin (**Izquierdo, 2009**).

### **II.3.4. Réduction du taux de cholestérol sanguin :**

Il a été observé que, par rapport à des témoins, les animaux élevés en environnement stérile, et donc exempts de microorganismes, excrètent des niveaux de cholestérol dans les selles plus faibles, ce qui a suggéré que la flore intestinale aurait une influence sur les niveaux de cholestérol sanguin. Des tests *in vitro* ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus*. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme l'assimilation du cholestérol par les bactéries ou l'hydrolyse des sels biliaires conjugués (**Izquierdo, 2009**).

Les acides biliaires, synthétisés par le foie à partir du cholestérol, sont "recyclés" et utilisés en moyenne trois fois pendant un même repas. L'hydrolyse des sels biliaires conjugués (les acides biliaires doivent être conjugués à la taurine et à la glycine pour être solubles) rend nécessaire la synthèse de sels biliaires supplémentaires, ce qui conduirait à une réduction du cholestérol. Bien que la déconjugaison des sels biliaires puisse avoir des effets bénéfiques sur l'hôte, comme la diminution des niveaux de cholestérol, une déconjugaison excessive ou une déshydroxylation des acides biliaires par certains microorganismes semble avoir plusieurs effets néfastes sur l'hôte. Les bactéries les plus fréquemment désignées comme probiotiques, telles que les souches des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont incapables de déshydroxyler les sels biliaires déconjugés (**Izquierdo, 2009**).

### **II.3.5. Diminution des allergies alimentaires :**

La théorie est à l'origine de l'utilisation des probiotiques, modulateurs du microbiote, dans la prévention et le traitement de l'allergie, stratégie qui suscite beaucoup d'intérêt.

L'augmentation dans les pays industrialisés d'incidence d'un certain nombre de désordres immunitaires a coïncidé avec l'amélioration des conditions de vie. Cette augmentation est actuellement reliée, entre autres facteurs, à un défaut de maturation du système immunitaire par les bactéries commensales (le manque d'exposition aux agents microbiens en bas âge), à une hygiène accrue, à la vaccination et à l'utilisation fréquente d'antibiotiques, responsables d'une modification d'établissement du microbiote intestinal au cours des premiers mois de vie ; ce qui serait responsable de l'augmentation de fréquence des allergies. (Waligora *et al.*, 2011).

L'allergie alimentaire du nourrisson se traduit souvent par de l'eczéma atopique. Les traitements curatif et préventif de cette pathologie par des BL ont été évalués lors d'une étude clinique sur 27 enfants nourris au sein et souffrant d'eczéma atopique par Isolauri *et al.* (2000). Il a été notamment observé qu'après deux mois de traitement avec une formule supplémentée en *Lb.rhamnosus* et *B.lactis* Bbl2, il y a eu une amélioration plus rapide de l'état atopique en comparaison avec le groupe placebo. Un effet préventif de *Lb. rhamnosus* a aussi été observé chez des enfants à risque nés de parents atopiques (Izquierdo, 2009).

### **II.3.6. Réduction du risque de diarrhée :**

Plusieurs types de diarrhées sont dus à des infections microbiennes. Des effets protecteurs de souches probiotiques contre certaines infections intestinales ont été observés sur des animaux. Les mécanismes potentiellement impliqués incluent la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion, des actions anti-toxines et la stimulation du système immunitaire (Izquierdo A E, 2009).

Plusieurs souches de lactobacilles et bifidobactéries semblent réduire les effets secondaires des traitements antibiotiques et améliorer la complaisance des patients. Une méta-analyse récente de 14 essais randomisés suggère que l'adjonction de certains probiotiques aux traitements antibiotiques anti-*H. pylori* peut augmenter les taux d'éradication et pourrait se révéler utile chez les patients chez lesquels l'éradication de *H. pylori* a échoué. Actuellement l'évidence est insuffisante pour supporter le concept qu'un probiotique seul, sans antibiothérapie associée est efficace (WGO, 2017).

### **II.3.7. La prévention du cancer du côlon et autres cancers :**

La flore intestinale et le système immunitaire jouent un rôle dans la cancérogenèse colique, ces deux paramètres pouvant être eux-mêmes modulés par des probiotiques. Plusieurs études ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes, la concentration de mutagènes ou d'acides biliaires secondaires dans les selles, qui pourraient être impliqués dans la cancérogenèse colique. Les probiotiques pourraient empêcher la croissance d'autres souches qui transforment les pro cancérogènes en cancérogènes, réduisant ainsi la quantité de cancérogènes dans l'intestin (Moroni, 2007 et Izquierdo, 2009).

### **II.3.8. Production de bactériocines :**

Les bactériocines sont des substances antimicrobiennes de nature protéique dont l'activité inhibitrice est dirigée contre des espèces taxonomiquement proches du microorganisme producteur (**Tagg et al., 1973**). La détection des bactériocines remonte à **1925 par Andre Gratia** qui a observé que la croissance de certaines souches d'*Escherichia coli* a été inhibée en présence d'un composé antibactérien, dont il a donné le nom de colicin V. La colicin V a été caractérisée comme composé peptidique thermostable (**Gratia ,1946 ;Tagg et al.,1973**) suggéraient qu'un composé antimicrobien ne doit pas être considéré comme une bactériocine que lorsqu'il satisfait aux critères suivants :

- L'activité des bactériocines doit disparaître sous l'action des protéases.
- Un spectre d'inhibition étroit dirigé contre les espèces apparentées à la souche productrice.
- La présence d'une fraction protéique biologiquement active.
- Un mode d'action bactéricide.
- un site d'attachement (récepteurs) spécifique sur les cellules sensibles.
- La bactérie productrice synthétise une molécule qui la protège contre sa propre bactériocine.
- Certains gènes de bactériocines sont portés par des plasmides.

Les bactériocines produites par les bactéries à Gram positif doivent être au moins des protéines biologiquement actives ayant une action bactéricide contre les micro-organismes qui leurs sont sensibles. Les bactériocines sont produites par une vaste gamme d'espèces bactériennes et forment un groupe hétérogène de souches productrices, à leurs spectres d'action antimicrobiens, leurs modes d'action et leurs propriétés physico-chimiques (**Kim et al., 2001**).

### **II.4. les propriétés et Critères de sélection des probiotiques :**

Afin qu'un microorganisme puisse être reconnu en tant que potentiel probiotique, il lui faut répondre à certains critères. Tout d'abord, il doit être non pathogène et être reconnu comme sécuritaire. Il doit avoir la capacité de survivre et de croître dans les conditions physiologiques du tube digestif, ainsi qu'avoir une bonne tolérance au pH acide rencontré au niveau de l'estomac et sels biliaires rencontrés au niveau du duodénum. L'adhérence aux cellules épithéliales de l'intestin est souvent citée comme un critère de sélection (**Guarner et al., 1998**).

## Synthèse bibliographique

**Tableau 4 :** Proposition de critère de sélection des probiotiques à application intestinal (Rahli, 2015).

Critères de sécurité	Critères fonctionnels	Critères technologique
<p>Souche pour l'usage humain (isolée du tractus intestinal d'un homme sain) ou alimentaire (utilisée dans les produits laitiers).</p> <p>Souche déposée dans une collection de culture reconnue mondialement.</p> <p>Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques.</p> <p>Histoire de non pathogénicité (innocuité).</p> <p>Pas de déconjugaison excessive des sels biliaires au risque d'induire des lyses cellulaires.</p> <p>Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques.</p> <p>Pas de dégradation excessive du tractus.</p>	<p>Tolérance à l'acidité et aux enzymes gastriques.</p> <p>Tolérance à la bile et aux enzymes digestives.</p> <p>Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastro-intestinal.</p> <p>Immun stimulation.</p> <p>Production de substances antimicrobiennes et antagonisme vis-à-vis des pathogènes.</p> <p>Effet sur la santé documenté.</p>	<p>Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini.</p> <p>Conservation des propriétés probiotiques après production.</p>

## *Synthèse bibliographique*

### **II.4.1. Propriétés fonctionnelles :**

Afin d'être conformes à la définition des probiotiques, les microorganismes doivent survivre, persister temporairement dans le tractus digestif et montrer une activité qui doit se traduire par des effets positifs pour l'hôte. **(Bahri , 2014).**

#### **II .4.1. A. Résistance à l'acidité :**

Le comportement des bactéries dépend de la souche, par conséquent, il est nécessaire de connaître le genre et l'espèce des souches utilisées. La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les pH bas. Le temps de passage peut-être d'une à trois heures selon l'individu et le régime. Par conséquent, des auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2,5 dans un milieu de cultures pendant quatre heures. **(Tahlaiti , 2019).**

Les lactobacilles sont naturellement bien adaptés à des pH acides. Lors de la fermentation lactique, ils produisent et accumulent dans leur environnement des composés acides qui rendent le milieu acide et défavorable à la croissance des autres bactéries. Dans ces conditions, les lactobacilles, sont protégés grâce à de mécanismes inductibles leur conférant une tolérance aux stress acide. Cette tolérance est augmentée en phase de croissance exponentielle ou bien si la bactérie subit une phase d'adaptation à pH acide préalablement au choc acide. Par conséquent, après ingestion, les lactobacilles rencontrent un autre environnement acide, l'estomac ce qui suggère leur adaptation et leur fonctionnement à des pH bas. Les méthodes d'études, in vitro, de la résistance des probiotiques aux conditions stomacales reposent généralement sur la survie des bactéries mesurée principalement par dénombrement sur des milieux de culture gélosés après exposition à des conditions simulant le jus gastrique **(Bahri , 2014)**

#### **II.4.1.B. résistance aux sels biliaires ou activité d'hydrolase des sels biliaires :**

Dans l'intestin grêle, la tolérance aux sels biliaires est un facteur important qui contribue à la survie des probiotiques. Les bactéries qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion des repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des sels biliaires en les hydrolysant avec des hydrolases, de ce fait diminuant leur solubilité **(Benreguieg , 2015)**

Les BSH sont généralement des enzymes intracellulaires, insensibles à l'oxygène qui catalysent l'hydrolyse des sels biliaires. Un certain nombre de BSH ont été identifiés et caractérisés chez des bactéries probiotiques, la capacité des souches probiotiques à produire des a été souvent considérée comme critère de sélection des souches probiotiques. **(Belhamra, 2017).**

### **II .4.1.C Résistance aux antibiotiques :**

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie, ont montré que 68.4% des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la kanamycine (81%), à la tétracycline (29.5%), à l'érythromycine (12%) et a chloramphénicol (8.5%). 38% des isolats de *Enterococcus faecium* ont été trouvés résistants à la vancomycine. Dans la plupart des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autre espèces et genre. 'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert derésistance (**Hadef, 2012**).

### **II.4.1.D Production de substances antimicrobiennes :**

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide/ bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments. (**Tahlaiti , 2019**).

### **II.4.2.Propriétés technologiques :**

Des critères technologiques sont également pris en considération dans la sélection des souches probiotiques (**Hadef , 2012**).

En effet, les souches probiotiques doivent garder leurs caractéristiques durant tous les procédés de production, de conservation et de distribution. La plupart des définitions des probiotiques, soulignent que les microorganismes doivent être viables et atteindre leur site d'action vivants. Un nombre minimal de 10<sup>7</sup> cellules viables /g de produit est nécessaire pour exercer un effet probiotique. Les souches doivent garder leur viabilité sans se multiplier pour ne pas provoquer d'effet indésirable sur la qualité organoleptique du produit Les produits doivent être conservés dans des conditions appropriées, il est nécessaire de contrôler régulièrement l'identité de la souche et ses propriétés (**Belhamra , 2017**).

### **II.5.Commercialisations des probiotiques:**

#### **II.5.1. Définition réglementaire du complément alimentaire :**

On entend par les compléments alimentaires « les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seul ou combinés, commercialisés sous forme de doses à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules, les sachets en poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité » (**Décret n° 2006-352 , 2006**) .

### **II.5.2. Commercialisations des probiotiques au territoire national :**

A la différence des médicaments, la commercialisation des compléments alimentaires en Algérie ne nécessite pas d'autorisation de la mise sur le marché (**AMM**), ils sont en vente libre, non soumis à prescription médicale et peuvent être indifféremment vendus en officine ou en grandes et moyennes surfaces.

Les compléments alimentaires ne nécessitent aucune autorisation du ministère du commerce et de la promotion des exportations pour leur fabrication, importation ou commercialisation.

Les compléments sont réglementés conformément aux dispositions de (**Loi n° 09-03, 2009**) et (**Décret n°12-203 ,2012**) et (**Décret n° 13-378, 2013**). Le complément alimentaire doit répondre aux mentions obligatoires prévues par la législation et la réglementation en vigueur, donc l'étiquetage doit comporter, selon leur nature et leur mode de présentation, les mentions obligatoires suivantes :

- La dénomination de vente du produit.
- La quantité nette du produit, exprimée en unité du système métrique international.
- Le nom ou la raison sociale, la marque déposée et l'adresse du fabricant ou du conditionneur ou du distributeur ou de l'importateur lorsque le produit est importé
- Le pays d'origine et/ou de provenance lorsque le produit est importé
- Le mode d'emploi du produit.
- l'identification du lot ou de la série et/ou la date de fabrication.
- La date limite d'utilisation.
- Les précautions à prendre en matière de sécurité.
- La composition du produit et les conditions de stockage.
- La marque de conformité liée à la sécurité.

### **II.5.3. La surveillance des compléments alimentaires :**

En Algérie, la surveillance des compléments alimentaires par le centre national de pharmacovigilance et de matériovigilance (CNPM) est une obligation, elle a pour objectifs d'améliorer la sécurité du consommateur en identifiant les effets indésirables liés à leur consommation. De ce fait, il est important de :

- Eviter des prises prolongées répétées ou multiples au cours de l'année de compléments alimentaires.
- Respecter les conditions d'utilisation fixées par les fabricants, responsables de la sécurité des produits qu'il commercialise.
- Signaler au CNPM tout effet indésirable survenant suite à la consommation d'un complément alimentaire (**CNPM, 2022**).

## Synthèse bibliographique

### II.6. les probiotiques pharmaceutiques utilisés dans notre travail :

Sont 4 produit :Ultra biotiques de la flore intestinale ,Ultra biotique infantile, Smebiocta , Ultra levure selon le tableau suivant

**Tableau 5 :** Les probiotiques pharmaceutiques utilisés dans notre travail :

Probiotiques commercialisés	composition	Indication	Mode d'emploi
<b>Ultrabiotique flore intestinale restaure équilibre du transit Adulte</b> 	16 gélules à 4.7g chaque gélule Contient: <i>lactobacillus acidophilus</i> <i>lactobacillus plantarum</i> <i>bifidobacterium breve</i> <i>bifidobacterium lactis</i> (8 milliards UFC).	Complément alimentaire pour contribue à rééquilibrer la flore intestinale et à renforcer les défenses naturelles de l'organisme.	Prendre 2 gélules par jour (une le matin ,une e soir) au moment du repas pendant 1 semaine.
<b>Ultrabiotique Infantile</b> 	07 sachets à 14g chaque sachet contient : <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (6 milliards UFC)	Ultra biotique infantile pour le fonctionnement digestif et immunitaire, et assure multiples fonctions sur la digestion et l'absorption des nutriments.	1 sachet par jour à diluer dans un peu d'eau matin pendant 7 jours.
<b>Smebiocta</b> 	20 gélules à 9.7g chaque gélule contient : <i>Lactobacillus Plantarum 299v</i> (10 milliards UFC)	Maintien l'équilibre de la flore intestinale, pour un bon confort digestif..	1 à 2 gélules par jour pendant 4 semaines.
<b>Ultra levure</b> 	10 gélules à 200mg chaque gélule compose : <i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	Traitement Symptomatique d'appoint de la diarrhée en complément de réhydratation Réservé à l'adulte et à l'enfant de plus de 6 ans.	1 gélule par jour

### ***III. Matériel & méthodes***

**Matériel et méthodes :**

**III.1. Matériel :**

**III 1.1. Lieu de l'étude:**

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la répression des fraudes et le laboratoire d'hygiène de Saïda.

**III. 1.2.Le choix des souches :**

Lors de la réalisation des différentes parties expérimentales, nous avons utilisé le matériel biologique suivant :

- **Souches probiotiques :**

Les différents souches utilisées au cours de notre étude sont essentiellement des probiotiques commercialisés et des compléments alimentaires (Ultrabiotique flore intestinale adulte, Ultra probiotique infantile, Smebiocta, ultra levure) chaque produit contient différentes bactéries lactiques, des bifidobactéries et des levures (**Tableau 6**).

**Tableau 6 :** Les produits pharmaceutiques utilisés et taxon de chaque souche.

<b>Les produits pharmaceutiques</b>	<b>Genre et espèce</b>
Ultrabiotique de la flore intestinale adulte	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium breve</i>
Ultrabiotique infantile	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
Smebiocta	<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v
Ultra levure	<i>Saccharomyces boulardii</i>

### **III 1.3. Les produits chimiques et les milieux de cultures employés :**

- **Milieux de culture :** gélose MRS et bouillon MRS pour la croissance des lactobacilles, Milieu Sabouraud liquide et gélose pour les levures, Milieu Mueller- Hinton pour effectuer l'antibiogramme, permet une bonne diffusion des antibiotiques et amidon qui contient les inhibiteurs en quantité infimes, Milieu LB molle pour les entérobactéries avoir inhibition avec les probiotiques et les bactéries lactiques. Pour chaque préparation on doit faire un autoclavage pour tous les milieux à une température 120°C pendant 20 minutes.
- **Colorants:** la coloration de Gram: (fushine, violet de gentiane, lugol), bleu de méthylène.
- **Sels et tampons:** sels biliaires, HCl.

### **III.2. Méthodes :**

#### **III. 2.1. Revivification des probiotiques:**

Les colonies sont obtenues sont prélevées au hasard de chaque boîte correspondant aux dilutions  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  pour observer leur aspect phénotypique. Frotti des différentes colonies bactériennes et des saccharomyces sont réalisés avant d'effectuer une coloration de gram.

- **Étude Macroscopique :** pour déterminer les caractères (taille, couleur, aspect et forme des colonies).
- **Étude Microscopique :** après coloration de gram pour confirmer l'appartenance des souches au groupe des Gram positif et coloration de bleu méthylène pour les levures.

#### **III. 2.2. Dénombrement des probiotiques :**

La préparation d'une pré-culture des souches étudiées est nécessaire avant la réalisation des différents tests, on prend une gélule ou un sachet de chaque souche dans un tube contenant 5 ml de bouillon MRS stérile, ces pré-cultures sont incubées à 30°C pendant 24h-48h en anaérobiose. Le dénombrement est réalisé par une série de dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$  par le transfert d'un volume de 1ml de chaque pré-culture à 9ml de solution d'eau physiologique stérile (0.85% m/v). Ensuite ; on a ensemencé en masse le milieu MRS gélosé avec 1% de chaque dilution préparée précédemment pour le dénombrement des lactobacilles et les levures. Après incubation en anaérobiose dans des jarres d'anaérobiose à 30°C pendant 24h -48h. Les boîtes contenant 30 à 300 colonies seront retenues pour le dénombrement des bactéries et levures.



**Figure 6:** les différentes dilutions pour le dénombrement.

### **III. 2.3. Conservation des souches :**

Après ensemencement de chaque souche probiotique dans des tubes de MRS gélosé inclinés, la conservation est réalisée à +4°C. Les cultures sont renouvelées mensuellement (**Badis et al., 2005**).

### **III .2.4.Croissance des bactéries lactiques et les levures en milieu acide :**

Selon différentes études, la plupart des bactéries sont détruites par l'acide gastrique. Seules les souches les plus résistantes parviennent indemnes dans l'intestin, les probiotiques sont bénéfiques pour notre santé uniquement si leur viabilité est assurée jusqu'au côlon, la croissance des probiotiques commercialisés est testée en milieu acide afin de confirmer leur persistance après leur passage à travers le tube digestif.

La méthode utilisée consiste à soumettre les lactobacilles et les levures à différents pHs allant de pH1 à pH6. Les séries de bouillon MRS ont été ajustées aux différents pHs avec une solution de HCl (0,6 ml de la soude chlorure de sodium +100 ml Eau distiller) en utilisant un pH mètre. Chaque tube est ensemencé avec 1% des différentes souches.

La croissance est estimée par absorbance de spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600 nm après 24h d'incubation à 30°C.

### **III. 2.5. Test de Résistance aux sels biliaries :**

La tolérance des bactéries lactiques et des saccharomyces aux sels biliaries est recherchée à des concentrations croissantes en bile (0.25%, 0.5% ,1.0%, 2.0%, 5.0% et 10%). De la bile de mouton a été stérilisée à l'aide d'un filtre millipore (Millipore, MILLEX-GV, 0.22µm, SLGV0130S, Perkin Elmer, Boston, MA) puis additionnée stérilement au bouillon MRS. Chaque tube a été ensemencé avec 1% d'une pré-culture microbienne (bactéries lactiques ou levure) ( $DO_{600nm} \approx 1$ ).

La croissance est mesurée après 24h d'incubation à 30°C par absorbance spectrophotométrie à unelongueur d'onde de 600 nm.



**Figure 7** : filtration des sels biliaires

### III .2.6. Résistance aux antibiotiques :

Selon l'EFSA (European Food Safety Authority) pour être probiotique une bactérie doit être sensible à un maximum d'antibiotiques afin d'éviter la propagation des gènes de résistance aux microorganismes de l'hôte.

La résistance des lactobacilles et les levures sont réalisées sur des différentes familles d'antibiotiques (**selon le tableau suivant**).

**Tableau 7** : les antibiotiques, leur concentration et leur famille.

Les antibiotiques	Famille ATB	Quantité ( $\mu\text{g}$ /Disque)
Amoxicilline (AX)	Béta-lactamine	25 $\mu\text{g}$
Tétracycline (TE)	Tétracycline	30 $\mu\text{g}$
Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT)	le triméthoprime de la famille des diaminopyrimidines. Le sulfaméthoxazole de la famille des sulfamides	30 $\mu\text{g}$
Céfotaxime (CX)	Céphalosporine	30 $\mu\text{g}$

Les antibiogrammes sont réalisés sur un milieu solide soit le Muller Hinton par un ensemencement en surface en utilisant un écouvillon ou sur des géloses molles ou Sabouraud. Une couche de gélose molle MRS ou Sabouraud est ensemencée à raison 1% de pré-culture de lactobactéries ou de levures, après avoir laissé sécher les milieux, des disques d'antibiotiques sont déposés stérilement à leur surface. Les résultats d'inhibition sont obtenus après une

incubation des boîtes pétries à 30°C pendant 24h en anaérobiose.

Les bactéries sont dites résistantes si le diamètre des zones d'inhibition est inférieur à 15mm, s'il dépasse ou est égal à 15mm les bactéries sont dites sensibles à l'antibiotique.

### III .2.7. Test antagonisme entre les probiotiques et les bactéries pathogènes :

L'antagonisme contre les pathogènes est l'un des principaux critères de sélection d'une bactérie probiotique. Ce test permet de simuler les conditions rencontrées dans le tube digestif en testant l'effet antagoniste que pourrait avoir les lactobacilles contre les pathogènes. Les souches testées sont les 04 probiotiques commercialisés et les souches autochtones qui sont des lactobacilles de la collection de laboratoire de LBLM de l'université d'Oran, les souches étaient conservées lyophilisées. Nous avons réalisé une revivification des souches conservées, les souches proviennent de différentes origines selon le tableau 8 :

**Tableau 8 :** taxons des souches autochtones utilisées et leur source d'isolement.

Souches	Genre et espèce	Source d'isolement
NSC5C	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de chamelle de Naama
JUM III 4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de jument de Saida

Pour déterminer l'effet inhibiteur de nos souches probiotiques et les souches autochtones. Nous avons utilisé des souches pathogènes isolées et identifiées. Selon le tableau suivant :

**Tableau 9 :** Souches des bactéries pathogènes utilisées et leurs origines.

Genre et espèce	Source isolement
<i>Staphylococcus aureus</i>	Au niveau de l'hôpital (bloc opératoire, laboratoire central)
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Shigella ssp</i>	
<i>Aeromonas salmonicida</i>	
<i>Cedeceadavisoe</i>	
<i>Cedecealapagei</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Serratia odorifera</i>	
<i>Chromobacterium violaceum</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	

L'antagonisme est réalisé par des pré-cultures de l'ensemble des souches probiotiques et autochtones sur milieu MRS liquide et des bactéries pathogènes sur bouillon LB, les tubes sont incubés à 30 et 37°C respectivement pendant 48 h avant de procéder les tests en utilisant 2 méthodes différentes :

- **Méthodes des disques imprégnés :**

Le pouvoir des lactobacilles et saccharomyces est recherché avec la méthode des disques imprégnés, 15ml de LB semi solide sontensemencées avec 1% de la pré-culture des souches pathogènes, après solidification des boites, des disques de papier WATMAN d'un diamètre de 6 mm sont imprégnés de la culture des souches probiotiques puis déposés à la surface de la gélose molle LB précédemmentensemencée. Les boites sont placées à 4°C pendant 4h pour la diffusion des substances inhibitrices, elles sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

- **La méthode des puits :**

Pour la réalisation de ce test, les souches pathogènes sontensemencées à raison de 400µl de pré-culture de bouillon LB dans 20 ml de gélose molle LB, après solidification des boites, des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans la gélose molle en utilisant une cloche de Durham stérile, les pré-cultures des bactéries lactiques et levures du milieu MRS sont centrifugées à 10000 tour pendant 10 min, les surnageants de cultures sont ensuite déposés dans les puits. Les résultats sont obtenus après incubation de 24h à 37°C.



**Figure 8 :** Activité antagoniste des probiotiques et des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes avec deux méthodes.

## ***IV. Résultats & discussion***

### **IV. Résultats et discussion :**

#### **IV.1. Revivification des probiotiques:**

La revivification des probiotiques est une étape initiale pour la réalisation de ce travail, les souches sont pharmaceutiques et lyophilisées à intérêt probiotiques, elles ont été achetées à partir de différentes pharmacies de la wilaya de Saïda.

##### **IV.1.1. Caractères culturels :**

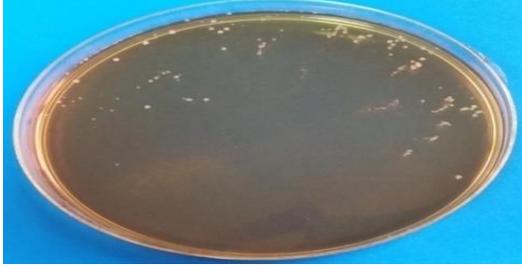
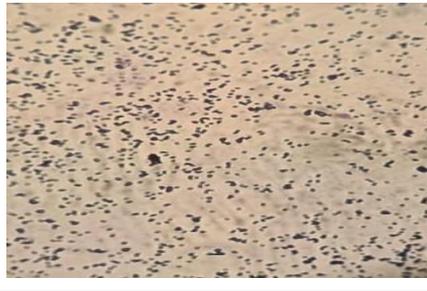
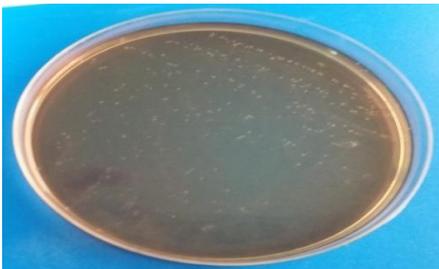
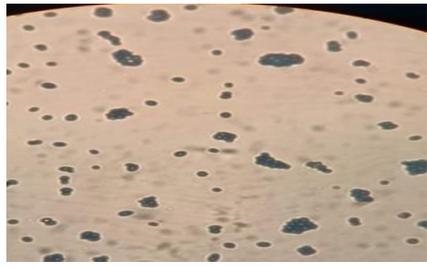
L'ensemencement des différents probiotiques commercialisés a été réalisé sur le milieu MRS pour favoriser la croissance des bactéries lactiques et sur le milieu Sabouraud pour la croissance des saccharomyces.

Les colonies développées sur leur milieux spécifiques sont observées à l'œil nu. La forme, la taille et la couleur des colonies sont notées.

La pureté des bactéries est déterminée par:

- **L'observation macroscopique** : a révélé que les colonies des différents souches présentent les mêmes caractéristiques phénotypiques ; forme ronde avec contour régulier, couleur blanchâtre et aspect crémeux.
- **L'observation microscopique** : après coloration des frottis, nous avons pu observer que les bactéries lactiques sont bâtonnets à gram positif associés en deux ou en chaînettes. Les colonies sont illustrées sur le tableau suivant ;

**Tableau 10** : observation macroscopique et microscopique des probiotiques

Le produit probiotique	Observation macroscopique	Observation microscopiques
<b>Ultrabiotique flore intestinale</b> <i>(Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve)</i>	 <p>Colonies blanchâtres et Aspect crémeux</p>	 <p>des bacilles à G + arrangés en chainettes (x100)</p>
<b>Ultrabiotique Infantile</b> <i>(Bifidobacterium lactis et Lactobacillus rhamnosus)</i>	 <p>Colonies blanchâtres et Aspect crémeux</p>	 <p>des bacilles à G + arrangés en chainettes (x100)</p>
<b>Smebiocta</b> <i>(Lactobacillus plantarum)</i>	 <p>Colonies blanchâtres et Aspect crémeux</p>	 <p>des bacilles à G + arrangés en chainettes (x100)</p>
<b>Ultra levure</b> <i>(Saccharomyces boulardii)</i>	 <p>des colonies blanc crème à jaunâtre</p>	 <p>des saccharomyces forme ovale et ou spherique (x100)</p>

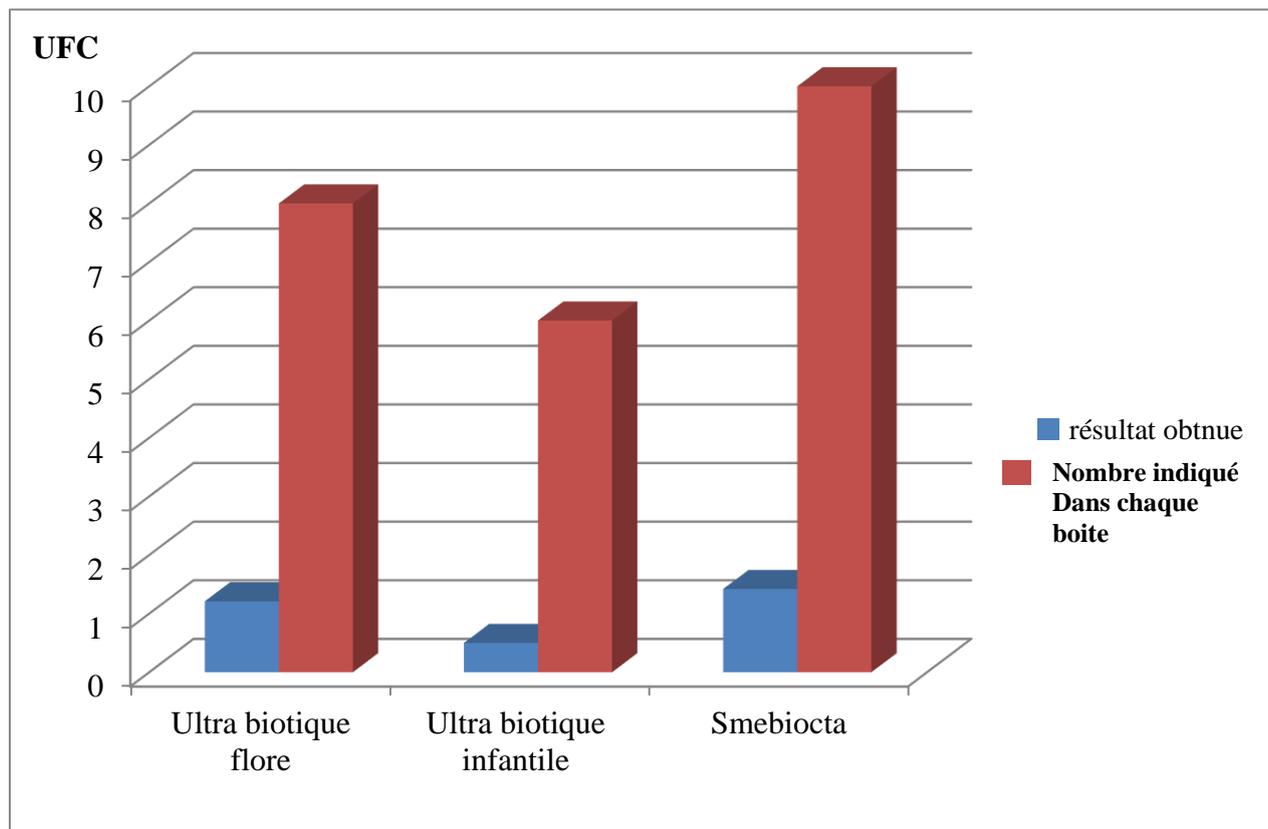
### IV. 2. Dénombrement des probiotiques commercialisés :

Les résultats obtenus montrent que le nombre indiqué sur la boîte des probiotiques de flore intestinale adulte est 8 milliards par gélule, on a trouvé  $121 \cdot 10^6$  ufc/ml.

Les probiotiques infantiles est 6 milliards par sachet, on a trouvé  $51 \cdot 10^6$  ufc/ml.

Le nombre indiqué sur la boîte Smebiocta est 10 milliards par gélule on a trouvé  $142 \cdot 10^6$  ufc/ml.

Le nombre des levures n'est pas indiqué sur la boîte.



**Figure 9** : Dénombrement des probiotiques étudiés.

Les valeurs trouvées lors du dénombrement sont relativement basses et ne correspondent pas aux chiffres indiqués sur les boîtes des différents produits commercialisés Ultrabiotique de la flore intestinale adulte (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*), Ultra biotique infantile (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*) et Smebiocta (*Lactobacillus plantarum*) sont dues à la difficulté de culture, l'anaérobiose n'a pas été respecté à 100% spécialement pour les produits contenant des *Bifidobacterium* qui exigent des conditions d'anaérobiose strictes et des exigences nutritionnelles spécifiques (nous n'avons pas pu fournir des conditions adéquates pour une croissance optimale). Mais pour les levures le nombre de charge microbienne n'est pas indiqué sur la boîte.

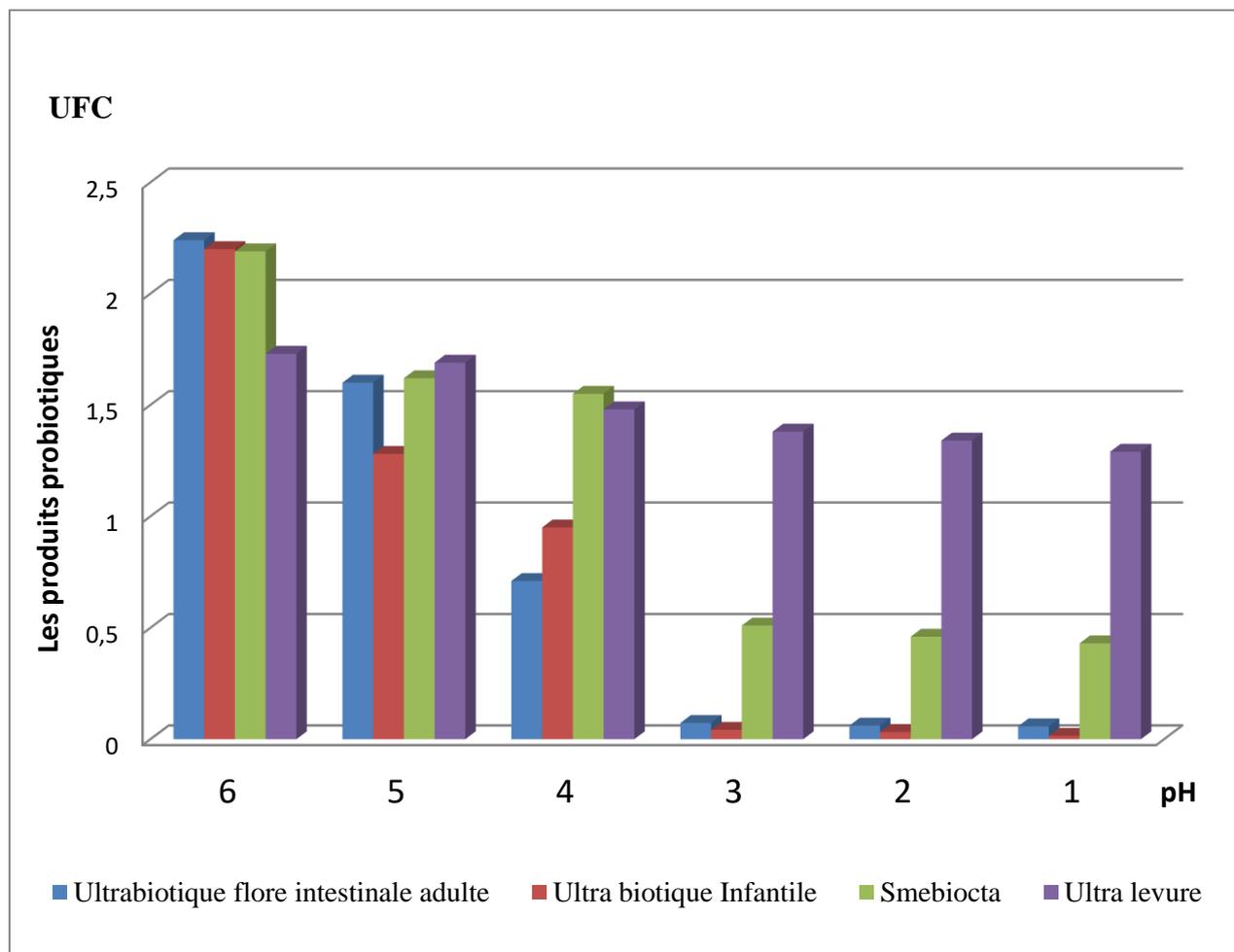
Les valeurs obtenues sont en accord avec celles obtenues par **Badis et al., (2005)** sur le dénombrement des bactéries lactiques sur le milieu MRS à partir des probiotiques commercialisés.

### IV.3. Croissance des probiotiques commercialisés en milieu acide :

Les méthodes d'études, *in vitro*, de la résistance des probiotiques aux conditions stomacales reposent généralement sur la survie des bactéries en milieu acide mesurée principalement sur des milieux de culture liquides (**Bessila et Messaoudi , 2021**)

Milieu liquide MRS pour les bactéries lactiques et le milieu Sabouraud pour les levures, ils sont ajustés à différents pH : 6, 5, 4, 3, 2,1 par l'acide chlorhydrique pour simuler l'environnement gastrique (**Ketema et al., 2009**).

Les résultats obtenus sont mentionnés dans la courbe ci-dessous :



**Figure 10** : croissance des probiotiques commercialisés dans les différents pH.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que le développement des souches commercialisés (Ultra biotique flore intestinale adulte, Ultra biotique infantile) sont significativement affectés dans les milieux acides (pH :1, pH:2, pH:3) par rapport à leur croissance à (pH: 6) cela est dû au mélange des *Lactobacillus et Bifidobacteriums*, ces dernières étaient incapables de croître à ces pH alors qu'elles montrent une bonne croissance à pH :4, pH:5 et pH:6.

Smebiocta et Ultra levure montrent une croissance relativement acceptables aux différents pH cela est due probablement à la composition en mono souche et l'absence des *Bifidobacteriums* qui sont plus sensibles aux conditions hostiles.

On sait que chez les bactéries cette résistance au stress acide est attribuée à un ensemble des protéines qui sont fortement induites en condition d'adaptation au stress acide. Ces protéines pourraient correspondre à des « **Heat shock proteins** » ou Hsp impliquées dans les mécanismes de résistance aux stress tels que le stress acide.

#### **IV.4. Croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaires :**

Après le passage par l'estomac, les bactéries arrivent au duodénum où est sécrétée la bile qui réduit leur viabilité en détruisant la membrane cellulaire.

La tolérance à la bile est donc l'une des caractéristiques recherchées lors de la sélection des bactéries probiotiques pour avoir le plus grand nombre possible de bactéries qui traversent le duodénum en direction de leur site d'action, tout en restant viable et capable de se multiplier (**Izquierdo Alegre, 2009; Boke et al., 2010**).

Dans ce travail, on a constaté que les ferments lactiques et les levures ont une bonne croissance pour les concentrations les plus faibles en sels biliaires (0.25% ; 0.5% ; 1% ; 2%), par contre pour les concentrations 5 % à 10% en sels biliaires ; il ya un ralentissement de croissance surtout les probiotiques Ultra biotique flore intestinale et Ultra biotique infantile qui ont des valeurs de DO<sub>600nm</sub> : 0.64 ,0.54 et 0.80, 0.50 respectivement.

La courbe suivant montre la croissance des probiotiques dans différentes concentrations en sels biliaires :

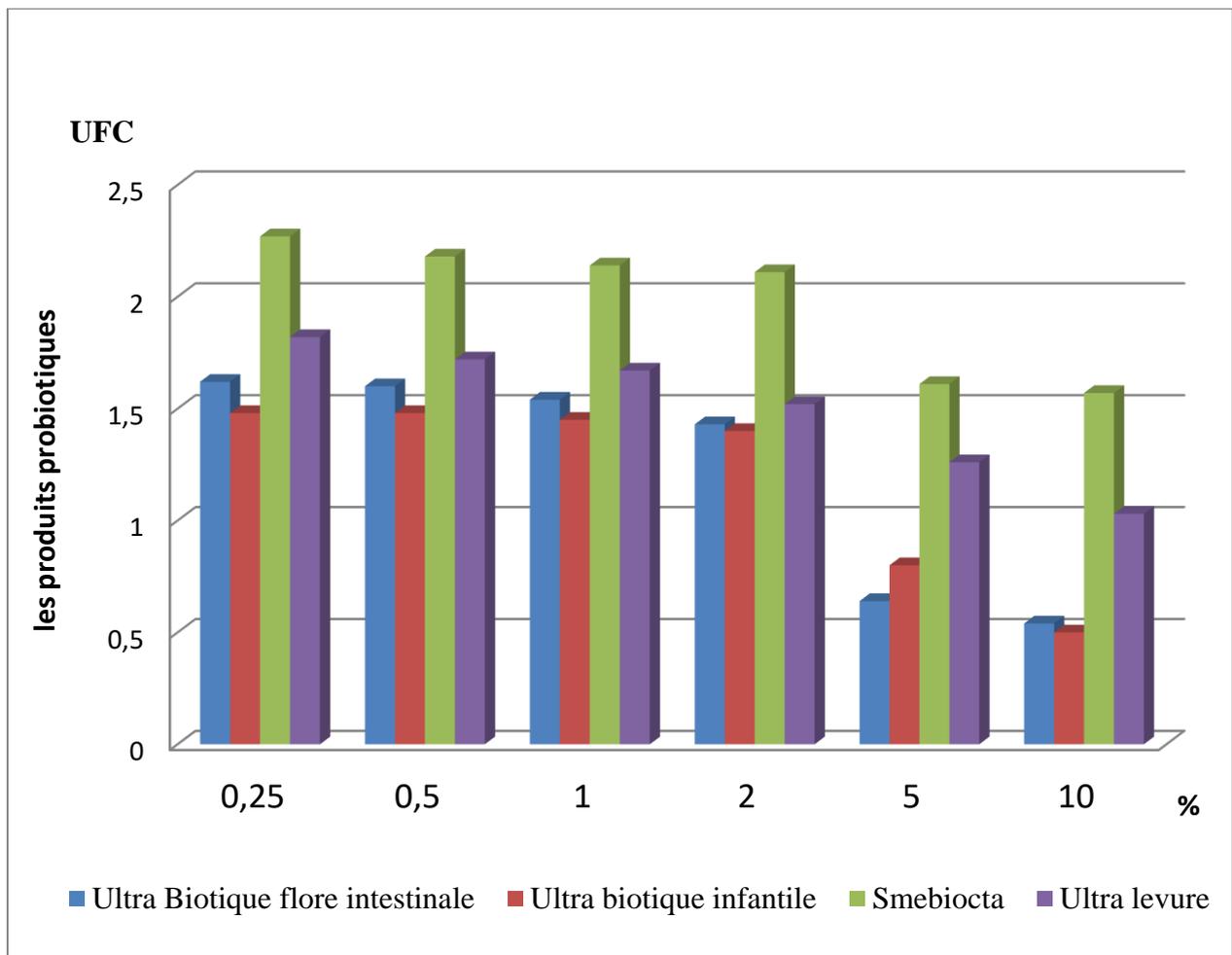


Figure 11 : croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaries

Cette capacité des *lactobacillus* à croître dans des concentrations élevées en sels biliaries est due à une activité exo-hydrolasique, qui leur permet de résister à l’action détergente des sels biliaries en les transformant en dérivés inoffensifs. La « Bile Salt Hydrolase » (BSH) aussi appelée cholyglycine hydrolase est responsable de la déconjugaison des sels biliaries, cette enzyme catalyse l’hydrolyse des sels biliaries conjugués avec la glycine, ce qui réduit leurs effets toxiques (Bakari et al., 2011).

#### IV.5. Les antibiogrammes :

Ce test consiste à rechercher la résistance des souches probiotiques vis-à-vis à 04 antibiotiques de différentes familles, L’antibiogramme a été réalisé sur deux milieux: le milieu Muller Hinton n’ayant pas conduit à des résultats concluants, ce test a été réitéré en utilisant la gélose molle MRS car les souches étaient exigeantes, le **Tableau 11** regroupe les résultats obtenus :

**Tableau 11** : Antibiogramme des probiotiques commercialisés.

Les souches	ATB			
	AX	TE	SXT	CX
Ultrabiotique flore intestinale adulte	S	S	S	R
Ultrabiotique infantile	S	S	S	R
Smebiocta	S	S	S	R
Ultra levure	R	R	R	R

**R** (résistantes):Diamètre de la zone d'inhibition  $\leq 15$ mm,

**S** (sensible): Diamètre de la zone d'inhibition  $\geq 15$ mm.

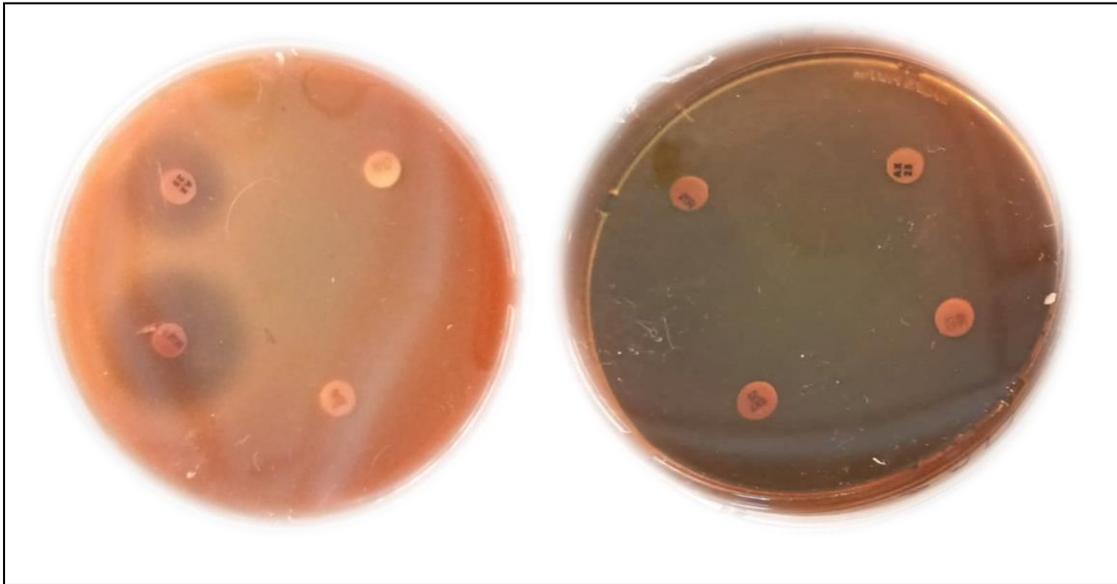
Les bactéries les plus sensibles étaient Ultrabiotique Flore intestinale adulte, Ultrabiotique infantile, Smebiocta, Elles sont sensibles à 03 antibiotiques Amoxicilline (AX), Tétracycline (TE), Triméthoprime- sulfaméthoxazole (SXT). La plus forte résistance était observée pour les levures qui a résisté à tous les antibiotiques.

En accord avec nos résultats, de nombreuses études ont rapporté que les lactobacilles sont généralement sensibles aux antibiotiques :

- Les tétracyclines inhibitrices de la synthèse protéique (**Temmerman et al., 2002 ;Coppola et al., 2005** )
- Amoxicilline inhibiteur de la paroi bactérienne (**Coppola et al., 2005 ;Koll et al., 2008** ).
- Triméthoprime- sulfaméthoxazole inhibiteur la réplication de l'ADN.

Les lactobacilles sont généralement sensibles aux bêta-lactamines ; mais ils sont naturellement résistant aux céphalosporines de deuxième génération comme la Céfotaxime (**Danielsen et Wind, 2003**) dont le mécanisme de résistance n'est pas complètement élucidé, mais l'imperméabilité de la membrane cellulaire a été suggérée (**Elkins et Mullis, 2004 ; Ammor et al., 2007**).

Par contre les levures sont résistant aux 4 antibiotiques qui sont AX, TE, SXT, CX (inhibiteur de paroi bactérienne, inhibiteur d'ADN, et inhibiteur de la synthèse protéique) car les antibiotiques n'ont pas d'effets sur les levures, pour inhiber les levures ils auraient fallu utiliser des antifongiques.



**Figure 12** : Aspect d'antibiogramme des probiotiques commercialisés sur milieux MRS.

#### **IV.6. Antagonisme des probiotiques commercialisés et autochtones contre les bactéries d'altération :**

L'activité antibactérienne des souches probiotiques est testée sur douze bactéries d'altération ou pathogènes afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste par deux méthodes : la méthode des disques imprégnés n'ayant pas conduit à des résultats concluants, ce test a été réitéré en utilisant la méthode des puits. Les résultats de ce test sont rassemblés dans le tableau suivant :

**Tableau 12 :** Activité antibactérienne des souches probiotiques vis-à-vis des bactéries d'altération.

Genre et espèce	Les bactéries Autochtones		Ultra biotique de la flore	Ultra infantile	Smebiocta	Ultra levure
	NSC5C	JUM III 4				
<i>Staphylococcus aureus</i>	±	±	+	+++	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	++	++	±	++
<i>Proteus mirabiis</i>	±	±	+	+++	±	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	±	+	+++	±	+
<i>Shigella ssp</i>	+	±	+	+++	±	±
<i>Aeromonas selmonicida</i>	-	-	-	++	-	±
<i>Cedecea davisoe</i>	-	-	+	+	+	-
<i>Cedecea larpagai</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	-	-	±	-	-	-
<i>Serratia adorifera1</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Chromobacterium violoceanum</i>	-	-	±	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	±	±	++	±	-

(+++)  
(++) Zone d'inhibition >20 mm;(++) zone d'inhibition >15 mm,

(+) zone d'inhibition > 10 mm;(±) zone d'inhibition <10mm, (-) pas de croissance

La présence d'une zone claire au tour des puits indique une activité inhibitrice exercée par les souches probiotiques vis- à-vis des souches indicatrices est le résultat d'un antagonisme.

Les souches ont montré une activité antagoniste contre les pathogènes à Gram négatif (entérobactéries) entre 10 à 30 mm et les Gram positif (*Staphylococcus aureus*) entre 11et 31mm, Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par d'autres auteurs qui ont montré queles bactéries à effet probiotique sont capables d'empêcher la croissance des bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif *in vitro et in vivo* (Balcazar et Luna-Rojas, 2007).

## Résultats et discussion

Les probiotiques Ultra biotique flore intestinale adulte (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium breve*) et Ultra infantile (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*) ont inhibé l'ensemble deS souches indicatrices testées et avec un effet moins inhibiteur respectivement pour les probiotiques Smebiocta (*Lactobacillus plantarum*), Ultra levure (*Saccharomyces boulardii*) et les bactéries lactiques autochtones isolées de lait de chamelle et de jument respectivement NSC5C et JUM III 4.

- Les 06 souches indicatrices pathogènes les plus inhibées sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella ssp*, *Enterobacter aerogenes*.
- Les 02 souches indicatrices pathogènes les moins inhibées sont : *Cedecea davisoe*, *Aeromonas selmonicida*
- Les 04 souches indicatrices pathogènes les plus résistantes sont : *Cedecea larpagei*, *Serratia adoriferal*, *Klebsella pneumoniae*, *Chromobacterium violoceanum*, elles n'ont été inhibées par aucun probiotique avec un halo d'inhibition maximal ne dépassant pas 05 mm de diamètre.

L'activité antibactérienne des bactéries lactiques et levures à l'encontre des bactéries pathogènes peut être associées à de nombreux éléments. Elle résulte de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques, soit par production d'acide lactique, production de bactériocines ou de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

En effet, les bactéries lactiques diminuent le pH du milieu de culture suite à une production des acides organiques qui peuvent être soit de l'acide lactique seul chez les homofermentaires, ou accompagné d'autres produits comme l'acide acétique chez les hétérofermentaires, ce qui conduit à l'inhibition de développement des bactéries pathogènes (**Salminen et al., 2004; Cotter et Hill, 2003**).

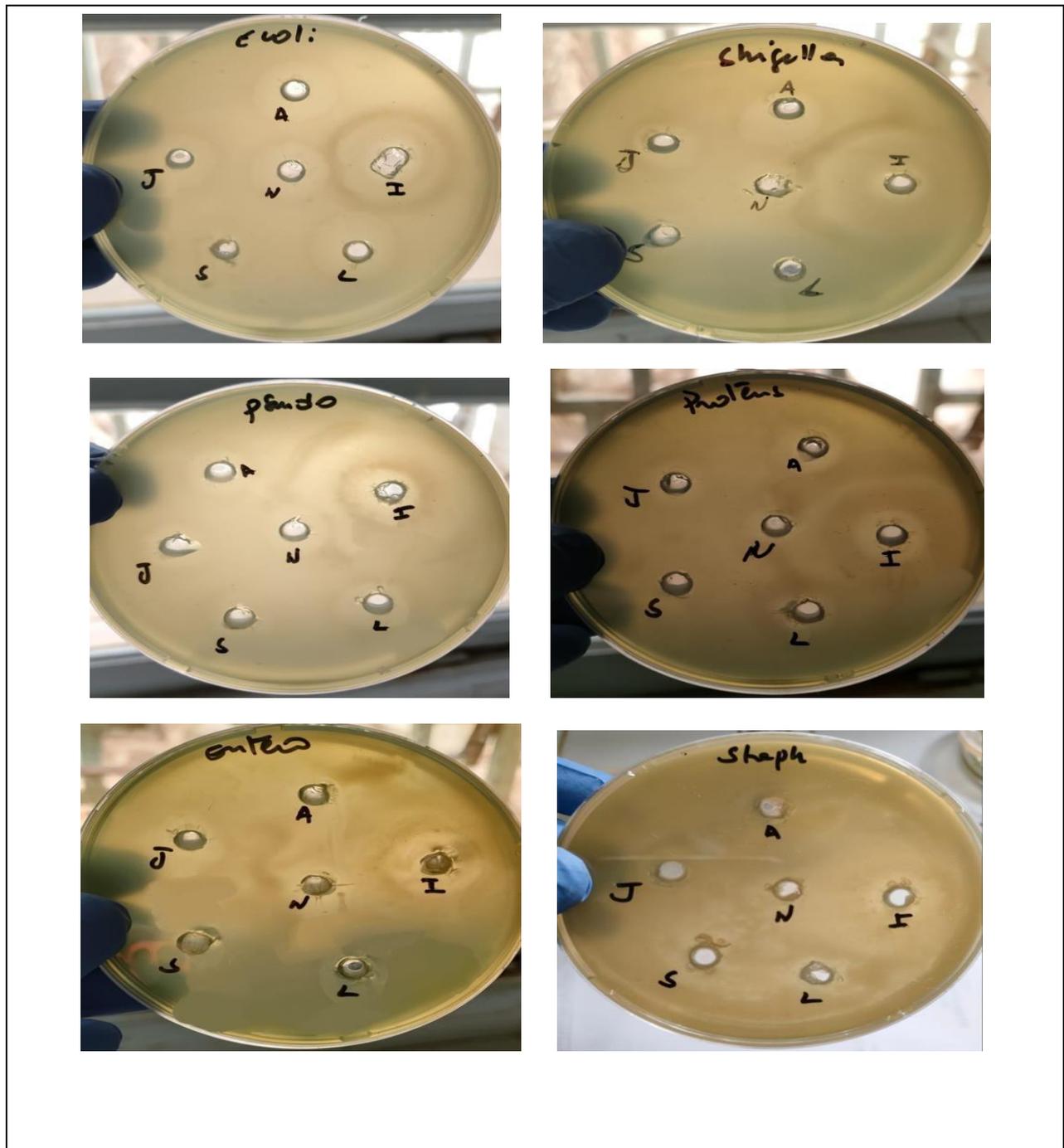
L'autre facteur qui est reconnu, depuis longtemps, comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des LAB particulièrement celle des lactobacilles est le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). L'effet de ce dernier est réduit, car l'incubation des bactéries lactiques a été réalisée en anaérobiose (**Mami et al., 2008**).

Les bactéries lactiques peuvent aussi synthétiser des peptides ou des protéines appelées: bactériocines. Ces métabolites exercent des activités antimicrobiennes, habituellement spécifiques et contre les bactéries des espèces apparentées sans être létales à la souche productrice (**Salminen et al., 2004**).

Les résultats obtenus de cette étude montrent que tous les probiotiques commercialisés inhibent la croissance de la plupart des bactéries pathogènes, par contre les bactéries lactiques (NSC5C et JUM III 4) du LBMB (**Amara, 2020**) semblent moins efficaces suite à une conservation de trop longue durée donc il semblerait qu'elles auraient perdu leur activité fortement inhibitrice observée précédemment.

## Résultats et discussion

En résulte les probiotiques commercialisés et les bactéries lactiques de façon général jouent un rôle thérapeutiques dans le milieu hospitalier, en produisant des agents antimicrobiens utilisaiient comme alternative aux antibiotiques pour le traitement des maladies gastro- intestinales depuis de nombreuses années (Akpinar et al., 2011) .



**Figure 13 :** Activité antagoniste de certains probiotiques commercialisés et bactéries lactiques contre des bactéries indicatrices pathogènes.

## ***V .Conclusion générale***

## *Conclusion générale*

### **Conclusion générale :**

Les probiotiques font aujourd'hui l'objet de nombreuses études et les publications à leur sujet se multiplient. Les preuves s'accumulent pour montrer que l'administration de ces probiotiques en compléments alimentaires peut avoir un rôle thérapeutique préventif ou curatif dans certaines affections intestinales, en favorisant le maintien de l'équilibre du microbiote.

Notre travail consistait à étudier l'efficacité de quatre produits probiotiques pharmaceutiques commercialisés: Ultra biotique flore intestinale adulte (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*), Ultra biotique infantile (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*), Smebiocta (*Lactobacillus plantarum*) et Ultra levure (*Saccharomyces boulardii*).

Une série de tests *in vitro* ont été effectués, Les probiotiques commercialisés doivent être capables de survivre au pH acide de l'environnement stomacal et de tolérer l'effet nocif des sels biliaires, la comparaison est réalisée entre les différents stress exercés ainsi qu'entre les souches testées afin de justifier les résultats obtenus lors du test de résistance aux conditions gastro-intestinales simulées, la résistance au stress acide est un facteur important pour les bactéries lactiques puisqu'elles acidifient leur milieu au cours de la croissance, donc les résultats obtenus montrent que les souches Ultrabiotique de la flore intestinale Adulte, Ultra biotique infantile sont affectés aux (pH:1, pH:2 et pH:3) et aussi aux concentrations 5 % à 10% en sels biliaires sont dus probablement aux bifidobactéries qui sont plus sensibles à ces concentrations et qui exigent toujours des conditions d'anaérobiose strictes et des exigences nutritionnelles spécifiques, La présence des bifidobactéries a influencé aussi le résultat des dénombrements des probiotiques Ultra biotique flore intestinale adulte, Ultra biotique infantile, les valeurs trouvées sont relativement basses et ne correspondent pas aux chiffres indiqués sur les boîtes. Pour Smebiocta et Ultra levure qui sont composé d'une mono souche, les résultats montrent une bonne croissance aux différents pH et aux différentes concentrations de sels biliaires.

L'Antibiogramme effectué pour tester la sensibilité des souches aux 04 antibiotiques montre que les bactéries Ultra biotique de la flore intestinale Adulte, Ultra biotique infantile, Smebiocta étaient sensibles aux 03 antibiotiques Amoxicilline, Tétracycline, Triméthoprime-sulfaméthoxazole et ils ont résisté à un seul qui est Céfotaxime, alors que Ultra levure a résisté à tous les antibiotiques car les champignons ne sont sensibles qu'aux antifongiques.

L'activité anti microbienne contre 12 bactéries pathogènes montre que les souches Ultrabiotique de flore intestinale Adulte et Ultra infantile ont inhibé l'ensemble de souches indicatrices testées contre les Gram négatif (entérobactéries) entre 10 à 30mm et les Gram positif (*Staphylococcus aureus*) entre 11 et 31mm et avec un effet moins inhibiteur respectivement pour Smebiocta, Ultra levure et les bactéries lactiques isolées de lait de chamelle et de jument respectivement NSC5C et JUMIII 4 du LBMB.

Les produits probiotiques jouent un rôle important dans l'inhibition des microorganismes pathogènes, ils sont utilisés ou reconnus efficaces pour de nombreuses pathologies digestives,

## ***Conclusion générale***

Donc pour prouver l'efficacité d'une souche ou d'un produit probiotique, des tests doivent être effectués en utilisant des systèmes de plus en plus complexes, allant des études *in vitro* aux études *in vivo* sur les animaux et sur l'homme.

A la lumière des résultats obtenus, nous envisageons les perspectives suivantes:

- Réaliser une encapsulation des souches autochtones lyophilisées afin de les protéger contre les conditions défavorables rencontrées dans l'estomac et dans l'intestin grêle.
- Comparer les effets *in vitro* des souches commercialisées et les souches autochtones sur différents modèles d'animaux puis sur l'être humain sur des volontaires.
- La production de compléments alimentaires et des médicaments composés de souches locales pour promouvoir les souches du territoire algérien.

## ***VI. Annexes***

## **Annexe 1**

### **1. Les milieux de cultures :**

**Milieu MRS** :(De Man; Rogosa et Sharpe) : Pour un litre de milieu



Pour le bouillon **MRS** sans agar

#### **Sabauroud :**



Pour le bouillon Sabauroud sans agar

## **Annexe 2**

### **Mueller Hinton :**

- Peptone 17.5g
  - Extrait de viande 2g
  - Amidon 1,5g
  - Agar 17g
  - Eau distillée 1l
- pH = 7,3 +/- 0,1

### **Milieu LB (lysogenybroth):**

Pour un litre de milieu

- Peptone 10 g
- Extrait de levures 5 g
- NaCl 10 g

Stérilisation par autoclave à 120c° pendant 15 min pour tous les milieux

## **Annexe 3**

### **2. Appareillage** : appareillage utilisés dans notre travail :

- Agitateur électrique
- Autoclave
- Bain marie
- Balance de précision
- Etuve
- Bec bensen
- Micropipettes
- Microscope optiques
- pH mètre
- Spectrophotomètre
- centrifugeuse
- Réfrigérateur

## **Annexe 4**

### **3. Préparation de frottis :**

- Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de la lame.
- Étaler avec la pipette sur la lame, de façon à obtenir un étalement mince
- Sécher et fixer en portant la lame au-dessus de la flamme du Bec Bunsen.

### **Coloration de Gram :**

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer
- Colorer au violet de gentiane durant environ 1 min
- Rincer à l'eau distillée
- Faire agir la solution de lugol durant environ 30 secondes;
- Laver à l'eau distillée
- Faire agir l'éthanol à 0.95 durant 10 secondes
- Rincer à l'eau distillée
- Colorer à la fuchsine quelques secondes à 1 min selon sa concentration ;
- Rincer à l'eau distillée
- Observer après séchage à l'immersion (objectif x100) et à pleine lumière.
- Les bactéries à Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement celles à Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.
- Après séchage, on passe à l'observation microscopique (**Bouguerra, 2012**)

## Annexe 5 :

Tableau 13 : Le dénombrement des bactéries lactiques et des levures.

Les probiotiques	Le nombre des colonies dans dilution $10^{-5}$	Le nombre des colonies dans dilution $10^{-6}$	Le nombre de la micro flore de chaque probiotique
Probiotique de flore intestinale adulte	281	121	08 milliards 16 gélules ,4.7 g
Ultra biotique infantile	100	51	06 milliards 07 sachet 14g
Smebiocta	177	142	10 milliards 20 gélules, 9.7 g
Ultra levure	147	90	Le nombre n'est pas indiqué 20 gélules 200 mg

Tableau 14 : croissance des probiotiques commercialisés dans les différents pH.

pH	Les produits probiotiques			
	Ultrabiotique flore intestinale adulte	Ultra biotique Infantile	Smebiocta	Ultra levure
6	2.24	2.20	2.19	1.73
5	1.60	1.28	1.62	1.69
4	0.71	0.95	1.55	1.48
3	0.073	0.042	0.51	1.38
2	0.061	0.032	0.46	1.34
1	0.058	0.015	0.43	1.29

**Tableau 14 :** croissance des probiotiques commercialisés en présence de sels biliaries.

<b>%</b>	<b>Ultra Biotique de la flore intestinale</b>	<b>Ultra biotique infantile</b>	<b>Smebiocta</b>	<b>Ultra levure</b>
<b>0.25</b>	<b>1.62</b>	<b>1.48</b>	<b>2.27</b>	<b>1.82</b>
<b>0.5</b>	<b>1.60</b>	<b>1.48</b>	<b>2.18</b>	<b>1.72</b>
<b>1</b>	<b>1.54</b>	<b>1.45</b>	<b>2.14</b>	<b>1.67</b>
<b>2</b>	<b>1.43</b>	<b>1.40</b>	<b>2.11</b>	<b>1.52</b>
<b>5</b>	0.64	0.80	1.61	1.26
<b>10</b>	0.54	0.50	1.57	1.03

## ***VII. Références bibliographiques***

### Référence bibliographiques :

1. Adams,L.,Moss,S.(2000). Affecting its composition\*.J Pathol Bacteriol ,23.
2. Afssa. (2005). Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité del'homme adulte
3. Akpinar, A., Yerlikaya, O., & Kiliccedil, S. (2011). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts. *African Journal of Microbiology Research.* , 5(6), 675-682.  
Algérien .Thèse de doctorat université abd elhamid ibn badis .Mostaganem .Faculté des Sciences
4. Amara,S. (2012). effet probiotique des bactéries lactiques sur le poulet de chair
5. Ammor, M. S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food microbiology*, 24(6), 559-570.  
Assessment of stress reponc of probiotic lactobacillus acidophillus .curr Microbiol.
6. Badis, A. Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R.( 2005).  
Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et Kabyle". *Sciences et Technologie.* 23: 30-37.
7. Bahri, F.( 2014). Isolement et caractérisation des souches de lactobacilles à caractères probiotiques à partir de selles d'enfants, thèse de doctorat. UniversitéConstantine I Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie.
8. Bakari, D., Tatsadjieu, N. L., Mbawala, A., Mbofung, C. M. (2011). Assessmentof physiological properties of some lactic acid bacteria isolated from the intestine ofchickens use as probiotics and antimicrobial agents against enteropathogenic bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*
9. Balcazar, J., & Rojas-Luna, Tyrone. (2007). Inhibitory Activity of Probiotic*Bacillus subtilis* UTM 126 against *Vibrio* Species Confers Protection against Vibriosis in Juvenile Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Current microbiology*.
10. Belhamra, Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires, thèse de doctorat. Université Ferhat AbbasSétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
11. Belkaid ,Y ., Hand TW.( 2014). Rôle of the microbiota in immunity andinflammation. *Cell*.
12. Bendjedi ,D., Barkati ,N .(2021) .Intérêt et importance biotechnologiques desprobiotiques .these Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A

## *Références bibliographiques*

13. **Benreguiég , M .(2015) .** Propriétés Antibactériennes et Probiotiques de Bactéries Lactiques Isolées à Partir du Lait de Vache, de Chèvre et de Brebis dans la région del'Ouest
14. **Bessila , R., Messaoudi ,L.(2021).** Propriétés probiotiques des bactéries lactiques Bifidobactéries des produits laitiers fermentés dans le tube digestif de l'homme.
15. **Boke, H., Aslim, B., Alp, G.( 2010).** The role of resistance to bile salts and acid tolerance of exopolysaccharide (EPSS) produced by yogurt starter bacteria. Archives of Biological Sciences .
16. **Bouguerra, A .(2012) .**Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamois
17. **Bruno, E. (2012).** Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz. Autre. Université de Bourgogne, 2012. Français. NNT : 2012DIJOS069
18. **Cammarota ,G. (2017).** Ianiro G, et al. European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. Gut.
19. **Chaplin,AV., Rebrikov, D., Boldyreva ,MN. (2017).**The human microbiome.Bulletin of Russian State Medical University.
20. **Cherifi ,S .(2021) .**Enquête sur la consommation des Probiotique comme compléments alimentaires .these Université aboubakr belakaid – Tlemcen.
21. **Cibik, R.F., Marcille, G.,Corthier, and J. Dore. (2004).** “La flore intestinale: mise en place, description et influence du mode d'alimentation,” Arch. Pédiatrie, vol.
22. **CNPM,(2022).** ( <https://www.cnpm.org.dz>)
23. **Codex Alimentarius .(2018).** <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh>
24. **Colarelli, M .(2010) .** Les probiotiques, du conseil officinal à la prise en charge micronutritionnelle. Sciences pharmaceutiques. fhal-01738857 . <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738857K>
25. **Coppola, Jr, E. A., Rana, A. J., Poulton, M. M., Szidarovszky, F., & Uhl, V. W.(2005).** A neural network model for predicting aquifer water level
26. **Corthier, G. (2007).** Le microbiote : un monde polymorphe aux fonctions multiples. Cah Nutr Diététique.
27. **Cotter, P.D. and Hill, C. (2003).** Surviving the acid test: responses of Gram positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*67:429–453.

## Références bibliographiques

28. **Danielsen, M., & Wind, A. (2003).** Susceptibility of *Lactobacillus spp.* to antimicrobial agents. *International journal of food microbiology* 82(1), 1-11. de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

29. **Décret exécutif n° 13-378 du 9 novembre (2013)** fixant les conditions et les modalités relatives à l'information du consommateur.

30. **Décret exécutif n° 2006-352 du 20 mars 2006** modifié relatif aux compléments alimentaires.

31. **Décret exécutif n° 12-203 du 06 mai (2012)** relatif aux règles applicables en matière de sécurité des produits.

32. **Dias, R. S., Bambirra, E. A., Silva, M. E., and Nicoli, J. R. (1995).** Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*

Doctorat d'immunologie, Université de Tours Équipe « Cellules Dendritiques,

Immunomodulation et Greffes

elevations. *Groundwater* 43(2), 231-241.

33. **Elkins, C. A., & Mullis, L.B. (2004).** Bile-mediated aminoglycoside sensitivity in *Lactobacillus* species likely results from increased membrane permeability attributable to cholic acid. *Appl. Environ. Microbiol* 70(12), 7200-7209.

34. **Ezzariga, N. (2015).** Probiotique : application thérapeutique et effets secondaires. Thèse de doctorat. université Mohamed V de Rabat .

35. **Fanny, L. (2016).** La place des probiotiques dans l'arsenal thérapeutique. Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine. Sciences pharmaceutiques.

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-0141042>

36. **FAO/OMS. (2001).** Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/ Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes. Cordoba, Argentine.

37. **François, A. (2010).** Actualités Pharmaceutiques · N 501 .

<https://www.researchgate.net/publication/257234695>

38. **Gérard, P. (2011).** Nutrithérapie, Le microbiote intestinal : composition et fonctions.

39. **Gratia, A. (1946).** Techniques selectives pour la recherche systématique des germes antibiotiques S R SCI. SOc. Bio. Paris.

## Références bibliographiques

40. **GUARNER, F.,SCHAAFSMA, G.J.( 1998).** Probiotics. International Journal of Food Microbiology. 39(3), 237-238.
41. **Guarner,F., Aamir, G., Khan., Aamir, G.,Khan .( 2008) .** Recommandation pratique :Probiotiques et Prébiotiques .Organisation mondiale de gastroentérologie
42. **Hadef ,S. (2012).** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales, thèse de magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'UniversDépartement des Sciences de la Nature et de la Vie .
43. **Hassani, Z .(2017) .** Contribution à l'étude des propriétés probiotiques des cultures mixtes de certaines bactéries lactiques sur quelques paramètres biochimiques et microbiologiques des rats Wistar .master en biologie .université moulay taher saida
44. **Izquierdo ,A. E.( 2009).** Les proteines bactériennes en tant que biomarqueurs del' activité probiotique. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg
45. **Joffin, J. N., Leyral, G. (2006).** Microbiologie technique « Tome 1 »: Dictionnaire des techniques. CRDP Aquitaine, Bordeaux.
46. **Ketema, B., Tetemke, M., Mogessie, A. (2009).** In-vitro probiotic potential of
47. **Kheris ,B.(2017).** La réglementation en cours de finalisation. Journal Liberté. [En ligne].<https://dzpharma.com/index.php/fr/news-algerie/dz-reglementation/146-complementalimantaire-nouvelle-reglementation-en-cours-de-finalisation>.
48. **Kim ,W. S.,Per,l. L.,Park , J. H .,Tandianus ,J. E .,Dunn ,N. W.( 2001) .**
49. **Koll, P., Mändar, R., Marcotte, H., Leibur, E., Mikelsaar, M., & Hammarström, L. (2008).** Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral microbiology and immunology*
- l'institut Pasteur, a mis en évidence le mécanisme de la phagocytose, présente dans tout le règne animal. <http://archive.org/details/prolongationofli00metciala>.
- lactic acid bacteria isolated from “wakalim”, a traditional Ethiopian fermented beef sausage. Ethiopian Journal of Health Sciences.
50. **Loi n° 09-03 du 25 février. (2009).** relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes.

## Références bibliographiques

51. **Lys, M., Bey, V. (2020)** .Situations de délivrance de probiotiques en pharmacie dans la patientèle de médecine générale en Corrèze. Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine
52. **Makhloufi. (2012)**. Caractérisation d'une bactériocine d'une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat université de Pierre et Marie Curie. ; 3-86. Marteau Ph., Pochart Ph., Bouhnik Y., Rambaud J-C.(1994) Écologie microbienne, Survie et effets de *Lactobacilles acidophiles* et
53. **Malago, J.J., Koninkx, J.F.J.G. and Marinsek-Logar J. (2011)**. Probiotic Bacteria and Enteric Infections. Cytoprotection by Probiotic Bacteria. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
54. **Mami, A., Henni, J. E., Kihal, M. (2008)**. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. World Journal of Dairy and Food Sciences
55. **Martin, L. (2009)** . Probiotiques, prébiotiques, symbiotiques et « métabiotiques » : ce qu'il faut savoir. Unité 563 – Centre de Physiopathologie Toulouse Purpan
56. **Metchnikoff, E. (1907)**. zoologiste russe et directeur du service microbiologie à
57. **Moreau, M. (2006)**. « Effet probiotique des laits fermentés : un impact sur l'immunité », *Science des Aliments* 22:97–105.
58. **Moroni, O. (2007)**. Contribution à l'étude du rôle des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections entériques à *Listeria monocytogenes*: analyse in vitro et étude in vivo des mécanismes d'action antimicrobien. Thèse de doctorat. Université Laval.
59. **Parker, B. (1974)**. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Animal Nutrition and Health.*, 29, pp. 4-8.. FULLER, R. A review : Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Microbiology.* 1989, 66, pp. 365-378.
60. **Patel, R., DuPont, H.L. (2015)** .New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clin Infect Dis.*
61. **Piquépaille, C. (2013)** .Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales [Thèse]. Pharmacie .Limoge .
62. **Practitioners TRAC of G. RACGP. (2014)** .The gut microbiome .
63. **Rahli, F. (2015)** . Valorisation de lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement .thèse de doctorat université ahmed ben bela 1 oran. spécialité ; Microbiologie appliquée, option ; control Microbiologique et hygiène

## Références bibliographiques

alimentaire

64. **Rambaud, J.C.J., Buts, G., Corthier, B., Flourié. (2004)** .« Flor microbienne intestinale physiologie et pathologie digestive »s, Édition John Libbey Eurotext,amazonFrance, Page 28-30

65. **Rowland ,I. (2009)** .the role of the gastro intestinal microbiota in colorectal cancer

66. **Salminen, M. K., Tynkkynen, S., Rautelin, H., Poussa, T., Saxelin, M., Ristola,M., ... & Järvinen, A. (2004)**. The efficacy and safety of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG on prolonged, noninfectious diarrhea in HIV patients on antiretroviral therapy: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *HIV clinical trials*5(4), 183-191.

67. **Schwartz, A.(2016)**. Microbiota of the Human Body: Implications in Health andDisease.

Springer.

68. **Sender ,E. (2022)** .Le microbiote allié de notre cerveau. Science et Avenir; Disponible : <https://www.sciencesetavenir.fr/sante/cerveau-et-psy/le-microbiote-alliede-notre-cerveau>

69. **Tagg ,J.R., Dajani A.S., Wanamaker L.W. and Gray E.D. (1973)**. Group (A) Streptococci bacteriocins. The Journal .of. Experimental. Medecine.

70. **Tahlaiti , H.( 2019)**. Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blè fermentè, Thèse de doctorat. Université Abdelhamid ibn badis Mostaganem, faculté des sciences de la nature et de la vie

71. **Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., & Swings, J. (2003)**. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *InternationalJournal of Food Microbiolog*81(1), 1-10.

72. **Victor,H. (2021)**.L'avenir du marché des probiotiques dans le domaine de la santé. these de doctorat .université de bordeaux numéro 23 .P 1HAL Id: dumas-03161018 <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03161018>

73. **Waligora-Dupriet ,A.J., Rodriguez B. et Butel M.J. (2011)**. Nutrithérapie :Probiotiques et prévention de l' allergie.

74. **WGO,World Gastroenterology Organisation Global Guidelines .(2017)** .probiotique et prébiotique.

75. **Yu, A.Q.,Li, L. (2016)** .The Potential Role of Probiotics in Cancer Prevention and Treatment. Nutr Cancer.

76. **Ziani, I.(2020)**. Les produits probiotiques disponibles en pharmacie à l'usage des Algériens.Mémoire de fin étude .université Abd al hamid bn badis Mostaganem