

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 الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

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

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الميكروبيولوجيا

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

**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière** : Sciences biologiques  
**Spécialité** : *Biologie Moléculaire des microorganismes*

N° d'ordre : .....

N° de série : .....

Intitulé :

---

**Etude de l'effet des fruits séchés de grenadier (*Punica granatum*) sur la flore intestinale de souris (*Mus musculus*)**

---

Présenté par : Kechbat Racha Sirine  
Sellahi Nour El Houda

Le 30/06/2022

Jury d'évaluation :

**Encadreur** : Haddi M L (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 1** : Adjeroud M (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 2** : Boulahrouf K. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire  
2021 - 2022

## REMERCIEMENT

*Nous remercions en premier lieu Dieu tout puissant de nous avoir accordé force et volonté pour achever ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à notre encadrant Monsieur Haddi Mohamed Laid pour son aide et son suivi.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à Monsieur le vice-doyen Rouabah Abdelkader, Madame la cheffe de département Abdelaziz Wided et son adjoint Monsieur Boulahrouf Khaled pour leurs disponibilités leurs gentillesse leurs soutiens leurs conseils et leurs encouragements.*

*Nos remerciements s'adressent également à Madame Mounia responsable du laboratoire 14 et Monsieur Nabil responsable du laboratoire de biochimie ainsi que Madame Fatima et Madame Chafika, pour leur aide pratique et leur soutien moral et leurs encouragements.*

*Nos profonds remerciements vont également à l'ensemble de nos enseignants du département des sciences de la nature et de la vie qui ont veillé à notre formation.*

*Nous remercions également la Directrice du laboratoire de génétique et de biotechnologie végétale ainsi que Monsieur Boubekri Nadir et la gérante responsable de ce laboratoire pour leurs aides et leurs disponibilités.*

*Nos remerciements vont aux membres du jury Monsieur Adjeroud Moussa et Monsieur Boulahrouf Khaled pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*A la fin nous remercions du fond du cœur tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin par leurs conseils et leurs encouragements à l'accomplissement de ce mémoire.*

# Dédicace

*C'est avec beaucoup de respect et tant d'amour que je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à son accomplissement*

*A ma très chère mère Assia,*

*Affable, honorable, aimable ; tu représentes pour moi le symbole de l'espoir et de la bonté, la source de la tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager  
Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon modèle et fierté, mon père Abdelatif,*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit de vos sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mon cher frère Lamine et ma chère sœur Oumnia,*

*Pour leur motivation et les encouragements incessants.*

*A mon grand-père Ahmed,*

*Qui m'a toujours conseillé, orienté, et soutenu. Que dieu vous garde auprès de nous encore longtemps.*

*A mes oncles Toufik et Yacine et ma tante Mounia,*

*Vous avez de près ou de loin contribué à ce travail. Mes Affectueuses reconnaissances.*

*A mes amies Lina et Salsabile, et mon collègue Djihad*

*Je vous remercie pour votre aide précieuse*

*A mon binôme Rachia,*

*Je n'oublierai jamais les moments agréables qu'on a vécus ensemble et votre amour et respect sera toujours gravé sur mon cœur.*

*Nour el Houda*

# Dédicace

*A feu ADJEROUJ Abdelakrim*

*Tu étais le grand-père, le grand frère, le grand ami, le grand gentil, le souriant, le généreux, l'altruiste, le bienfaisant, le charitable, l'humain, l'indulgent, le magnanime, le magnifique, le bienveillant, le chevaleresque, le sensible, le bon, le brave...*

*Tant de mots pour te décrire, et si peu pour te représenter*

*Je te dédie ce travail*

*A mes chers parents pour qui tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

*A toi ma chère maman, mon soutien, ma force*

*A toi mon cher papa, qui n'a jamais rien refusé*

*Merci d'avoir donné un sens à ma vie. Merci pour votre amour, votre soutien et vos encouragements qui ont toujours été pour moi d'un grand réconfort.*

*Je dédie ce travail*

*A ma petite sœur Raouane, A mon grand frère Mininou,*

*Je dédie ce travail*

*A ma tante « Mama Hayet », qui m'a toujours encouragée,*

*A ma grand-mère « Nanna », qui est toujours présente dans mon cœur,*

*A mon autre « Nanna », Faous, paix à son âme,*

*A toute ma famille, paternelle et maternelle,*

*A mes amies Achouak, Yasmine, Saïda*

*A mon collègue Djihad et mon binôme et amie Noue El Houda,*

*A mon enseignante en primaire Ouassila Soltani*

*A tous ceux-là, Je dédie ce travail*

*Racha Sérine*

## SOMMAIRE

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Liste des abréviations

Introduction .....	1
--------------------	---

## Chapitre I : étude bibliographique

### Partie I : le grenadier

1. Origine du nom .....	2
2. Origine géographique et air de répartition du grenadier .....	2
2.1. Origine géographique du grenadier .....	2
2.2. Air de répartition du grenadier .....	2
3. Production de la grenade.....	4
4. La récolte des grenades .....	5
5. La conservation des grenades .....	5
6. Classification de <i>Punica granatum</i> .....	5
7. Description botanique du grenadier .....	6
8. Valeur nutritionnelle .....	7
9. Intérêts thérapeutiques de <i>Punica granatum</i> .....	8
9.1. Activité anti-oxydante .....	8
9.2. Activité anti-inflammatoire .....	9
9.3. Activité anti-cancéreuse .....	9
9.4. Activité anti-microbienne .....	10
9.5. Activité anti-ulcéreuse.....	11
9.6. Activité antidiabétique.....	11
10. La toxicité des grenades .....	11

### Partie II : la flore intestinale

1. La flore intestinale.....	12
2. Classification du microbiote intestinal.....	12
2.1. Flore intestinale résidente.....	12
2.2. Flore de passage.....	13
3. Développement du microbiote .....	13
4. Les facteurs influençant l'implantation du microbiote .....	15
4.1. L'effet de l'alimentation.....	15
4.2. L'effet des facteurs génétique.....	15
4.3. L'effet des antibiotiques .....	16
4.4. Condition d'hygiène .....	16

5. Répartition du microbiote intestinal humain .....	16
5.1. L'estomac .....	18
5.2. L'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon) .....	18
5.3. Le côlon .....	18
6. Bactéries à effet bénéfique .....	19
7. Bactéries à effet néfaste.....	22
8. Intérêt et rôle du microbiote .....	24
8.1. Effet de barrière .....	24
8.2. Rôle du microbiote dans la mise en place du système immunitaire intestinal .....	25
8.3. Fonction métabolique .....	27
8.3.1. Synthèse des molécules indispensables .....	27
8.3.2. Métabolisme digestif.....	28
8.4. Flore intestinale et l'insulinorésistance .....	30
8.5. Prévention du cancer colique.....	30
8.6. D'autres bénéfiques .....	30
9. Différence entre le tractus digestif humain vs souris .....	31
10. Microbiote humain vs souris .....	33

## **Chapitre II : matériel et méthodes**

1. Animaux d'expérience .....	35
1.1. Elevage .....	35
2. Aliment standard des souris .....	35
3. Matériel végétal .....	36
3.1. Site et condition d'échantillonnage .....	36
4. Méthode d'analyse de l'aliment d'étude.....	36
4.1. L'aliment d'étude (arilles des grenades) .....	36
4.2. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité des arilles du grenadier ...	36
4.3. Préparation de l'aliment d'étude.....	37
5. Méthode d'analyse de l'aliment standard .....	37
5.1. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité de l'aliment standard .....	37
5.1.1. Préparation de l'aliment standard.....	37
6. Préparations des granulés.....	37
7. Traitement et adaptation des souris.....	39
8. Etude microbiologique.....	39
8.1. Préparation de l'eau physiologique .....	39

8.2.	Isolement et dénombrement de la flore fécale.....	39
8.2.1.	Prélèvement des fèces .....	39
8.2.2.	Préparation et fixation des frottis .....	41
8.3.	Coloration de Gram .....	44
8.4.	Observation microscopique .....	44
9.	Etude statistique .....	45

### **Chapitre III : résultats et discussion**

1.	Poids des souris avant et après traitement.....	46
2.	Profils bactériens initiaux (sans ajout de fruits de grenadier) .....	47
3.	Profils bactériens après ajout de 1 % de fruits de grenadier .....	49
4.	Profils bactériens après ajout de 5 % de fruits de grenadier .....	51
5.	Profils bactériens après ajout de 10 % de fruits de grenadier .....	53
6.	Profils bactériens après ajout de 15 % de fruits de grenadier .....	55
7.	Effet du traitement sur les profils bactériens.....	57
7.1.	Effet du traitement sur les cocci Gram plus.....	59
7.2.	Effet du traitement sur les bacilles Gram plus.....	59
7.3.	Effet du traitement sur les bactéries incurvées Gram plus. ....	59
7.4.	Effet du traitement sur les cocci Gram moins.....	59
7.5.	Effet du traitement sur les bacilles Gram moins.....	59
7.6.	Effet du traitement sur les bactéries incurvées Gram moins. ....	59
7.7.	Effet du traitement sur le rapport cocci G+/bacilles G+ .....	60
7.8.	Effet du traitement sur le rapport cocci G-/bacilles G- .....	60
7.9.	Effet du traitement sur le rapport bacilles G+/bacilles G-.....	60
7.10.	Effet du traitement sur le rapport cocci G+/cocci G- .....	60
	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>61</b>

#### **Références bibliographiques**

#### **Résumé**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau. 1.</b> Valeurs nutritionnelles pour 100 grammes de grenade .....	7
<b>Tableau. 2.</b> Tableau représentatif de neurotransmetteurs, des espèces productrices et leurs effets physiologiques.....	27
<b>Tableau. 3.</b> Composition de l'aliment standard des souris (d'après GAE/ORAVIE).....	35
<b>Tableau. 4.</b> Poids des arilles avant et après séchage .....	36
<b>Tableau. 5.</b> Proportion des mélanges (aliment standard + aliment d'étude).....	38
<b>Tableau. 6.</b> Identification des tubes et des lames de microscope.....	40
<b>Tableau. 7.</b> Identification des lames.....	41
<b>Tableau. 8.</b> Coloration de Gram pour bactéries anaérobies selon Kopeloff .....	44
<b>Tableau. 9.</b> Poids des souris avant et après traitement.....	46
<b>Tableau. 10.</b> Poids des souris témoins sans traitement .....	47
<b>Tableau. 11.</b> Profil bactérien avant traitement (100 % aliment standard) .....	48
<b>Tableau. 12.</b> Profil bactérien après ajout de 1% de fruits de grenadier .....	50
<b>Tableau. 13.</b> Profil bactérien après ajout de 5 % de fruits de grenadier .....	52
<b>Tableau. 14.</b> Profil bactérien après ajout de 10 % de fruits de grenadier .....	54
<b>Tableau. 15.</b> Profil bactérien après ajout de 15 % de fruits de grenadier .....	56
<b>Tableau. 16.</b> Effet du traitement (avec 1 %, 5 %, 10 %, 15 %) sur les profils bactériens ....	58



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure. 1.</b> Répartition géographique de la grenade en Afrique. ....	3
<b>Figure. 2.</b> Répartition géographique de la grenade en France. ....	3
<b>Figure. 3.</b> Répartition géographique de la grenade en Amérique du nord .....	4
<b>Figure. 4.</b> Classification botanique de <i>Punica granatum</i> selon Linné (1753).....	5
<b>Figure. 5.</b> Classification botanique de <i>Punica granatum</i> selon l'Angiosperm Phylogeny Group (1998).....	6
<b>Figure. 6.</b> Le grenadier, <i>Punica granatum</i> L.....	7
<b>Figure. 7.</b> Phyla et quelques genres microbiens dominants dans le tube digestif de l'homme	17
<b>Figure. 8.</b> Répartition de la flore intestinale dans différents compartiments .....	18
<b>Figure. 9.</b> Répartition de la flore intestinale dans différents compartiments .....	19
<b>Figure. 10.</b> <i>Enterococcus faecalis</i> .....	20
<b>Figure. 11.</b> <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	21
<b>Figure. 12.</b> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .....	21
<b>Figure. 13.</b> <i>Bacillus coagulans</i> .....	22
<b>Figure. 14.</b> Les bactéries à effet bénéfique et d'autres à effet néfaste sur la santé humaine ..	24
<b>Figure. 15.</b> Interactions microflores et système immunitaire et orientation de la réponse immune.....	26
<b>Figure. 16.</b> Métabolisme glucidique et fermentaire dans le colon par des bactéries méthanogènes (CH <sub>4</sub> ), céto-gènes réductrices (acétate) et sulfato-réductrices .....	29
<b>Figure. 17.</b> Comparaison des caractéristiques du tractus intestinal chez l'homme et la souris	32
<b>Figure. 18.</b> Principaux genres des bactéries intestinales humaines et murines .....	34
<b>Figure. 19.</b> Aliment standard mélangé aux fruits de grenadier avec différents pourcentages sous forme de granulés.....	38
<b>Figure. 20.</b> Schéma d'expérimentation .....	43
<b>Figure. 21.</b> Observation microscopique de coloration de Gram avant traitement (100 % aliment standard). .....	49

<b>Figure. 22.</b> Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 1 % des fruits de grenadier. ....	51
<b>Figure. 23.</b> Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 5 % des fruits de grenadier. ....	55
<b>Figure. 24.</b> Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 10 % des fruits de grenadier. ....	55
<b>Figure. 25.</b> Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 15 % des fruits de grenadier. ....	57

## LISTE DES ABREVIATIONS

**APG** : *L'Angiosperm Phylogeny Group*

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ARN<sub>r</sub>** : acide ribonucléique ribosomique

**AGCC** : acide gras à chaînes courtes

***B. coagulans*** : *Bacillus coagulans*

***B. polypragmatus*** : *Bacteroides polypragmatus*

***B. xylanolyticus*** : *Bacteroides xylanolyticus*

**CD14** : groupe de différenciation 14

**CH<sub>4</sub>** : méthane

**DSA** : direction des services agricoles

***E. coli*** : *Escherichia coli*

***E. mundtii*** : *Enterococcus mundtii*

**GABA** : acide γ-aminobutyrique

**Ha** : hectare

**HSV** : *virus herpes simplex*

**IGA** : immunoglobuline A

**LPS** : lipopolysaccharides

**PSA** : antigène spécifique de la prostate

**PCR** : *polymerase chain reaction*

**Qx** : quintaux

***S. aureus*** : *staphylococcus aureus*

**Subsp** : *subspecies* (sous-espèce)

**SGB** : Streptocoques beta-hémolytique du groupe B

**SFB** : *segmented filamentous bacteria*

**TH 1, 2, 3** : *lymphocyte T helper*

**TLR** : *toll-like receptors*

**UV** : ultraviolets

**UFC** : unité formant colonie

## Résumé

Dans ce mémoire nous avons étudié l'effet des fruits du grenadier sur la flore fécale des souris. Pour cela 22 souris ont été suivies pendant 15 jours avec différents pourcentages de fruits séchés de grenadier mélangés avec l'aliment standard des souris sous forme de granulés.

Les fèces fraîches des souris ont été prélevées avant et après traitement.

Après coloration de Gram adaptée aux bactéries anaérobies, un dénombrement a été effectué sur 10 champs microscopiques par lame. Les cocci, les bacilles et les bactéries incurvées ont été dénombrés à l'aide d'un microscope optique équipé d'un appareil photo. L'analyse statistique montre que : 1.- Les cocci G+ varient d'un minimum de 8.5 à 27.5 cellules par champ microscopique et sont significativement affectées par le traitement ( $p < 0,0019$ )., 2- Les bacilles G+ varient d'un minimum de 65.6 à 92.2 cellules par champ et sont aussi affectés de manière significative ( $p < 0,0001$ ). 3- Les bactéries incurvées G+ varient d'un minimum de 0.12 à 1.16 cellules par champ et sont significativement affectés par le traitement ( $p < 0,0019$ )., 4- Les cocci G- varient d'un minimum de 3.4 à 17 cellules par champ et sont affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0,0001$ )., 5- Les bacilles G- varient d'un minimum de 8.2 à 54.6 cellules par champ et sont affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0,0001$ )., 6- Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum 0.8 à 3.4 cellules par champ et sont également affectées de manière significative ( $p < 0,0019$ ). 7- Le rapport cocci G+/bacilles G+ varie de 0.18 à 0.5 et il est significativement affecté par le traitement ( $p < 0,0006$ ). 8- Le rapport cocci G-/bacilles G- varie de 0.4 à 0.7, il est le seul à ne pas être affecté par le traitement ( $p < 0,07$ ). 9- Le rapport bacilles G+/bacilles G- varie de 0.2 à 10.8 et il est affecté de manière significative ( $p < 0,0001$ )., 10- enfin le rapport cocci G+/cocci G- varie de 2.3 à 4.8 et il est significativement affecté par le traitement ( $p < 0,0001$ ).

Comme perspective, une étude génético-moléculaire permettra l'identification des genres et des espèces bactériennes affectées par l'ajout des fruits de grenadier.

**Mots clés :** *Punica granatum*, flore intestinale, flore fécale, *Mus musculus*, cocci, bacilles, bactéries incurvées, effet.

## Abstract

In this thesis we studied the effect of pomegranate fruits on the faecal flora of mice. For this, 22 mice were monitored for 15 days with different percentages of dried pomegranate fruit mixed with the standard mouse food in the form of granules.

The fresh faeces of the mice were collected before and after treatment.

After Gram staining adapted to anaerobic bacteria, a count was carried out on 10 microscopic fields per slide. Cocci, bacilli and curved bacteria were counted using an optical microscope equipped with a camera. Statistical analysis shows that: 1.- G+ cocci vary from a minimum of 8.5 to 27.5 cells per microscopic field and are significantly affected by the treatment ( $p < 0.0019$ ), 2- G+ bacilli vary from a minimum of 65.6 to 92.2 cells per field and are also significantly affected ( $p < 0.0001$ ). 3- G+ curved bacteria vary from a minimum of 0.12 to 1.16 cells per field and are significantly affected by treatment ( $p < 0.0019$ ), 4- G- cocci vary from a minimum of 3.4 to 17 cells per field and are significantly affected by treatment ( $p < 0.0001$ ), 5- G-bacilli vary from a minimum of 8.2 to 54.6 cells per field and are significantly affected by treatment ( $p < 0.0001$ ), 6- G-curved bacteria vary from a minimum of 0.8 to 3.4 cells per field and are also significantly affected ( $p < 0.0019$ ). 7- The G+ cocci/G+ bacilli ratio varies from 0.18 to 0.5 and is significantly affected by the treatment ( $p < 0.0006$ ). 8- The ratio cocci G-/bacilli G- varies from 0.4 to 0.7, and is the only one not to be affected by the treatment ( $p < 0.07$ ). 9- The G+/G- bacilli ratio varies from 0.2 to 10.8 and is significantly affected ( $p < 0.0001$ ). 10- Finally, the G+/G- cocci ratio varies from 2.3 to 4.8 and is significantly affected by treatment ( $p < 0.0001$ ).

As a perspective, a genetic-molecular study will allow the identification of the genera and bacterial species affected by the addition of pomegranate fruits.

**Key words:** *Punica granatum*, intestinal flora, faecal flora, *Mus musculus*, cocci, bacilli, curved bacteria, effect.

## ملخص

درسنا في هذه المذكرة تأثير ثمار الرمان على النباتات البرازية للفئران لهذا تمت متابعة فأر لمدة خمسة عشر يوماً بنسب مختلفة من فاكهة الرمان المجففة الممزوجة مع طعام الفئران على شكل حبيبات.

تم جمع البراز الطازج من الفئران قبل وبعد العلاج.

بعد تلطيخ الجرام المكيف مع البكتيريا اللاهوائية، تم عد المكورات، العصيات، والبكتيريا المنحنية وهذا يشمل قراءة 10 حقول مجهرية لكل شريحة باستخدام مجهر بصري مزود بكاميرا، التحليل الإحصائي يظهر الآتي:

1- مكورات جرام السلبية تتراوح على الأقل بين 8.5 إلى 27.5 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث تأثرت بشدة بالمعالجة (p<0,0019).

2- عصيات جرام الموجبة تتراوح على الأقل بين 65.5 إلى 92.2 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث أنها أقل تأثراً بالمعالجة بالنسبة لعصيات جرام السلبية لأن المعالجة ليس لها نفس الأثر بالنسبة لعصيات جرام الموجبة والسالبة (p<0,0001).

3- بكتيريا جرام المنحنية الموجبة تتراوح على الأقل بين 0.12 إلى 1.16 خلية في الحقل المجهرى الواحد حيث تأثرت بشدة بالمعالجة (p<0,0019).

4- مكورات جرام السالبة تتراوح على الأقل بين 3.4 إلى 17 خلية في الحقل المجهرى الواحد حيث تأثرت بشدة بالمعالجة (p<0,0001).

5- عصيات جرام السالبة تتراوح على الأقل بين 8.2 إلى 54.6 خلية في الحقل المجهرى الواحد حيث تأثرت بشدة بالمعالجة (p<0,0001).

6- بكتيريا جرام المنحنية السالبة تتراوح على الأقل بين 0.8 إلى 3.4 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث أنها أقل تأثراً بالمعالجة بالنسبة لبكتيريا جرام المنحنية الموجبة لأن المعالجة ليس لها نفس الأثر بالنسبة لبكتيريا جرام المنحنية الموجبة والسالبة (p<0,0019).

7- النسبة مكورات جرام الموجبة / عصيات جرام الموجبة تتراوح على الأقل بين 0.18 إلى 0.5 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث أنها أقل تأثراً بالمعالجة بالنسبة لأن هذا الأخير ليس له نفس التأثير على مكورات جرام الموجبة وعصيات جرام الموجبة (p<0,0006).

8- النسبة مكورات جرام السالبة / عصيات جرام السالبة تتراوح على الأقل بين 0.4 إلى 0.7 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث أنها غير متأثرة بالمعالجة لأن هذا الأخير ليس له تأثير على النسبة مكورات جرام السالبة وعصيات جرام السالبة أقل تأثراً بالمعالجة بالنسبة لأن هذا الأخير ليس له نفس التأثير على مكورات جرام الموجبة وعصيات جرام الموجبة (p<0,07).

9- النسبة عصيات جرام الموجبة / عصيات جرام السالبة تتراوح على الأقل بين 0.2 إلى 10.8 خلية في الحقل المجهرى الواحد، وهي متأثرة بشدة بالمعالجة (p<0,0001).

10- النسبة مكورات جرام الموجبة/ مكورات جرام السالبة تتراوح على الأقل بين 2.3 إلى 4.8 خلية في الحقل المجهرى الواحد، حيث أنها أقل تأثراً بالمعالجة لأنه ليس له نفس التأثير على مكورات جرام الموجبة والسالبة (p<0,0001).

الدراسة الجينية الجزيئية تسنح بتحديد الأجناس والأنواع البكتيرية المتأثرة بإضافة ثمار الرمان.

**الكلمات المفتاحية:** شجرة الرمان، جراثيم معوية، جراثيم برازية، الفئران الرمامية، مكورات، عصيات، بكتيريا منحنية، تأثير.



## **INTRODUCTION**



### Introduction

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base des plantes connaît un succès croissant. Ainsi, d'après les estimations, 80% de la Population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle [1]. Et près de 25% des prescriptions sont à base de plantes [2], tandis que environ 60% de prescriptions en Europe proviennent directement ou indirectement des plantes [1]. Plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies. En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne etc. [2].

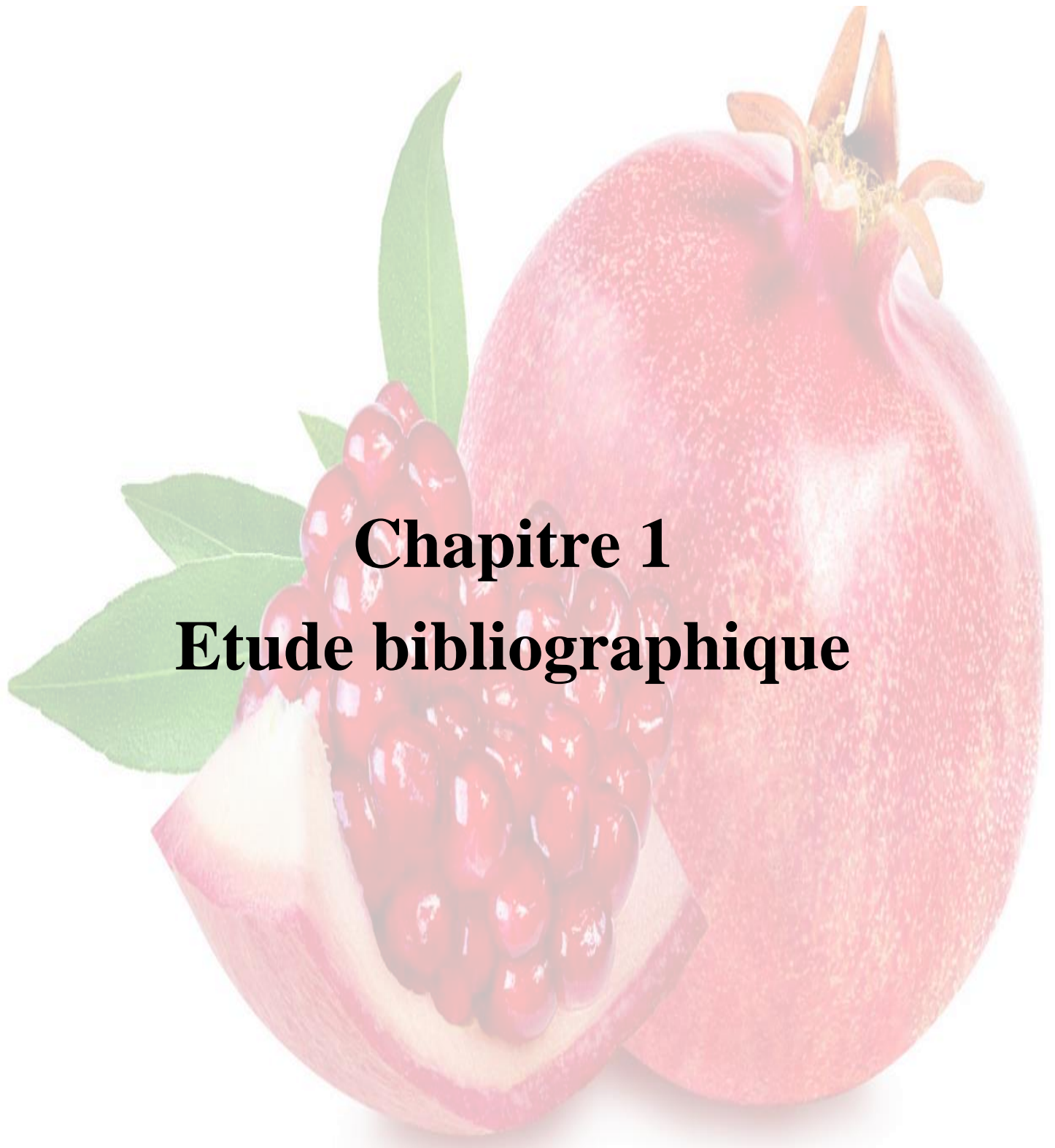
Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, notamment la disponibilité d'une gamme large de produits de santé, les traitements médicamenteux actuels restent insuffisants [3].

Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Pour être innovants et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles cibles d'action chez les bactéries. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives [4].

Le règne végétal constitue une source inépuisable de nouvelles molécules utilisables directement comme principe actif ou pouvant servir comme molécule guide pour le développement de nouveaux agents antioxydants. La recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle constitue un axe important de recherche au niveau mondial [5].

Les grenades ont été largement utilisées dans la médecine populaire de nombreuses cultures. C'est un fruit ancien avec une histoire médicale illustre et a fait l'objet de critiques classiques depuis plus de 100 ans [6]. *Punica granatum*, ses fruits ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs, sont utilisés, au Moyen-Orient et en Asie, régions dont cet arbuste est originaire, qui a une riche histoire de l'utilisation traditionnelle de la médecine [7]. Récemment devenue un grand intérêt pour les scientifiques qui se livrent eux même dans la recherche pharmaceutique, nutritionnelle et dans le développement de nouveau médicament en raison de ces multiples distinctif pièces officinale et bioactivité multiples tels que, antidiabétique, antivirale, antibactérien et antioxydant [8].

A l'égard de ce qui précède, nous nous sommes intéressés, dans le présent travail à tester les effets des fruits du grenadier (arilles) sur la flore intestinale.



**Chapitre 1**  
**Etude bibliographique**

# Partie I : le grenadier

## 1. Origine du nom

L'ancienne dénomination de la Grenade fut « *rimmon* » d'où les Arabes ont fait « *rumman* ». La dénomination portugaise « *romma* » ou « *rumman* » est dérivée de la même souche. Les Romains premièrement la dénommaient : « *malum punicum* » (= pomme punique ou pomme de Carthage) puis ce fut le nom « *granatum* » qui a remplacé la première dénomination. De ces deux mots « *punicum* » et « *granatuni* », C. Von linné a créé le nom botanique actuel : « *punica granatum* ». Dans tous les pays où la langue espagnole est répandue, ce fruit porte le nom : « *granada* ». Dans le Proche-Orient (Perse, Turquie, Syrie, etc.), dans l'Asie Centrale (Turkestan, Afghanistan) et aux Indes, la dénomination la plus courante du fruit est : « *anar* » [9].

## 2. Origine géographique et air de répartition du grenadier

### 2.1. Origine géographique du grenadier

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est l'un des premiers fruits domestiqués qui a été cultivé depuis des temps anciens [10] avec le figuier, l'olivier, le palmier dattier et la vigne [11]. Il est originaire d'Iran et d'Afghanistan, où le grenadier croît depuis plus de 4000 ans de façon spontanée. On le retrouve également sur des bas-reliefs égyptiens datant de 2500 ans [5].

### 2.2. Air de répartition du grenadier

Le grenadier est beaucoup plus représenté au moyen d'orient qui est sa terre d'origine. On le trouve aussi en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie, et en inde [7].

Il est également beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc (figure 1) [7].

Il est rarement rencontré dans le sud de la France (figure 2), au Portugal, en Bulgarie et en Crimée. En Amérique, la culture du grenadier est aussi très dispersée (figure 3). Il est présent en Californie en Utah, en Alabama, en Louisiane et en Floride [7].

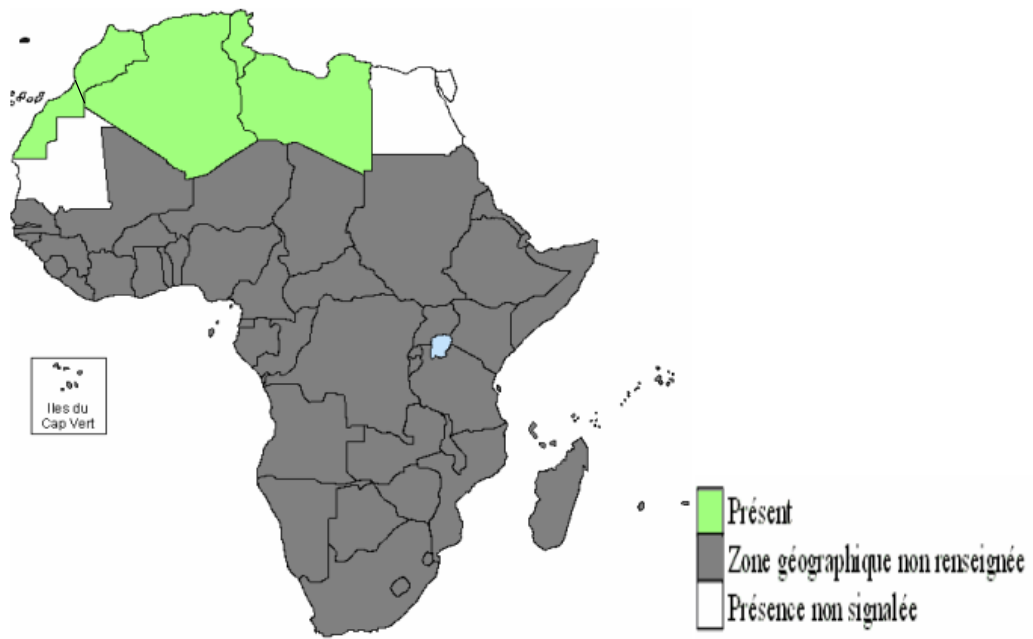


Figure. 1. Répartition géographique de la grenade en Afrique [5].

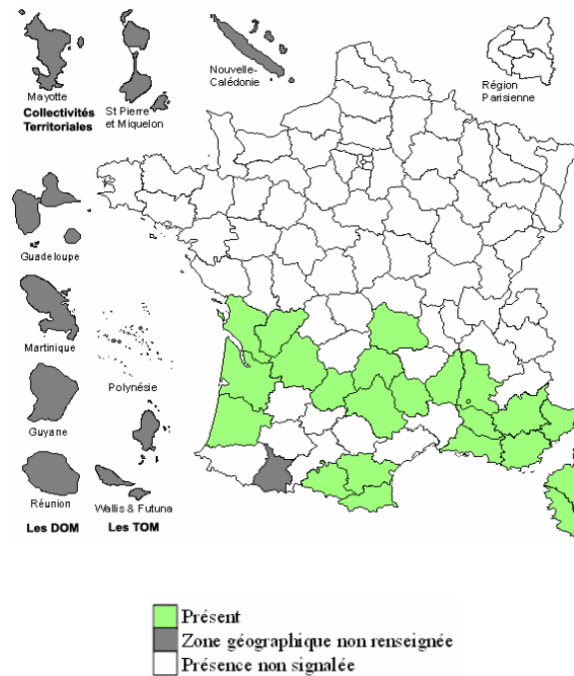
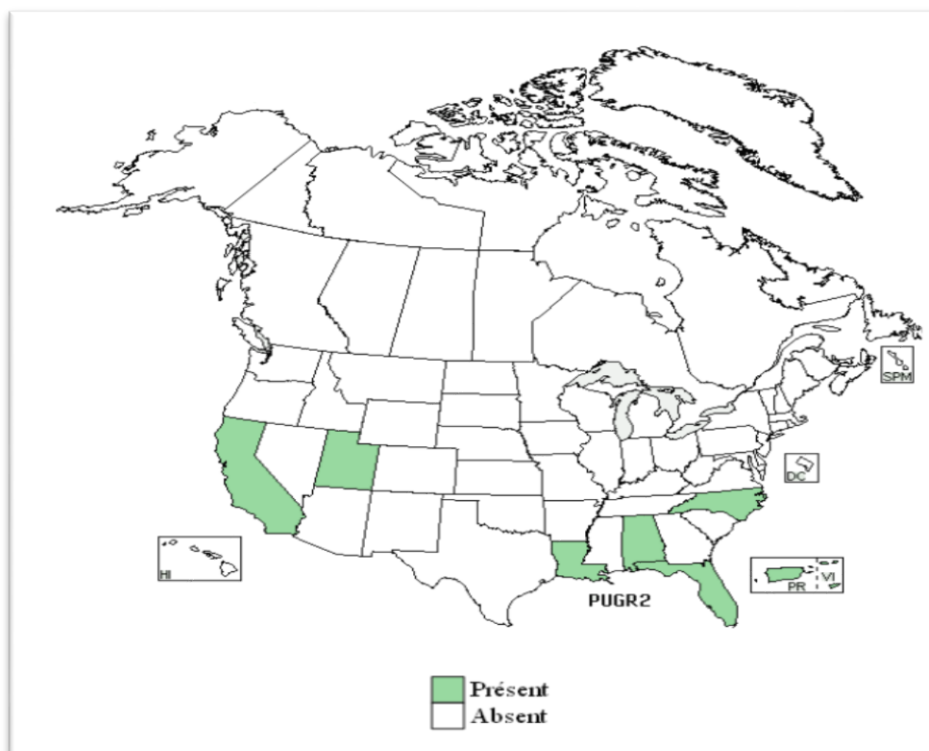


Figure. 2. Répartition géographique de la grenade en France [7].



**Figure. 3.** Répartition géographique de la grenade en Amérique du nord [7].

### 3. Production de la grenade

Ces dernières années la production de grenade est en nette augmentation, ce qui montre un regain d'intérêt pour ce fruit oublié depuis plusieurs décennies [12].

Les plus importants pays producteurs de grenades dans le monde sont les pays d'Orient dont l'Iran, la Turquie, la Transcaucasie et l'Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne la Tunisie, le Maroc, l'Espagne, l'Italie et la Grèce. Aux Etats-Unis la culture de la grenade est très développée, plus particulièrement en Californie [12].

La production totale du fruit du grenadier en Algérie est 421136 quintaux (Qx), selon les données de DSA (direction des services agricoles) en 2018 [11].

En comparaison avec la production et la superficie dédiée à la plantation du grenadier dans les pays producteurs de la grenade dans le monde, la production en Algérie est moins importante. En effet, la surface mondiale dédiée à la culture du grenadier est de 300 000 Ha, dont 228 000 Ha sont répartis sur les cinq pays : Inde, Iran, Chine, Turquie et USA. La production en Inde est environ 900000 tonnes en 2012, suivie par 800000, > 350000, > 200000 et 200000 tonnes en Iran, Chine, Turquie et USA, respectivement [11].

#### 4. La récolte des grenades

Il est prudent de faire la cueillette des grenades avant leur complète maturité, quand l'écorce se colore en jaune claire et qu'elles produisent un son métallique au toucher d'un objet dur [13].

#### 5. La conservation des grenades

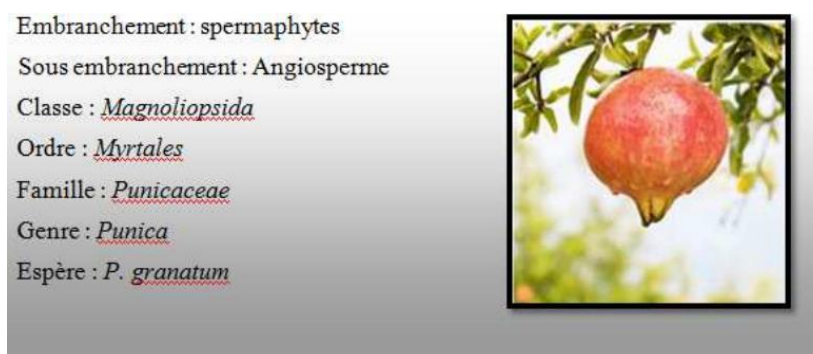
La grenade peut être stockée très longtemps si elle est intacte, mais elle se conserve beaucoup mieux au réfrigérateur qu'à température ambiante. Même s'il est possible de les laisser une semaine à l'air libre, ce n'est pas utile puisque les grenades ne mûrissent plus une fois cueillies [14].

Une grenade peut se conserver Au réfrigérateur jusqu'à six mois dans le meilleur des cas. Il est aussi possible d'extraire les graines et de les stocker, après les avoir bien séchées, dans un sac sous vide. De cette façon, on peut les garder une semaine au réfrigérateur ou les congeler pendant plusieurs mois [14].

Le jus de grenade ne se conserve que deux ou trois jours maximum au frais [14].

#### 6. Classification de *Punica granatum*

Le grenadier, *Punica granatum*, a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Telle est cette classification (figure 4) [15]:



**Figure. 4.** Classification botanique de *Punica granatum* selon Linné (1753) [16].

En 1998, une nouvelle classification des angiospermes, c'est-à-dire des plantes à graines, est créé par un groupe de botanistes, l'Angiosperm Phylogeny Group ou APG. Cette classification phylogénétique réorganise le règne végétal en fonction de critères moléculaires, s'intéressant essentiellement à l'ADN de deux gènes chloroplastiques et d'un gène nucléaire de ribosome. Ainsi, pour certaines espèces végétales, les résultats moléculaires sont en accord avec les anciennes classifications alors que pour d'autres espèces végétales, il est nécessaire de

modifier leur position dans la systématique. Ces résultats reconsidèrent la phylogénie des plantes. Cette nouvelle organisation se compose alors de 462 familles réparties dans 40 ordres.

Cette classification a été révisée en 2003, donnant naissance à la classification phylogénétique APGII, qui comporte 457 familles réparties dans 45 ordres. Au sein de cette classification, la position du grenadier est (figure 5) [15] :



**Figure. 5.** Classification botanique de *Punica granatum* selon l'Angiosperm Phylogeny Group (1998) [14].

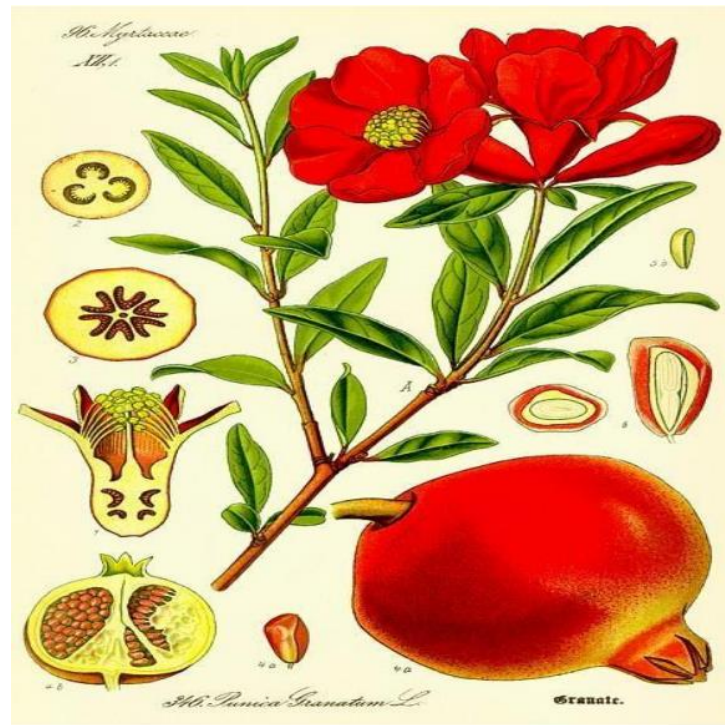
## 7. Description botanique du grenadier

Le Grenadier est un petit arbre ou plutôt un arbrisseau touffu (2 à 7 m de hauteur), à rameaux nombreux, sortant souvent de terre, parfois buissonnant. Les rameaux sont épineux pendant leur jeune âge. Les feuilles sont petites, lisses, vert foncé, vernissées et oblongues [9].

Fleurs solitaires d'un rouge vif, ou rouge écarlate, à 5-7 pétales, épaisses, grandes, simples, parfois doubles. Floraison tardive, en juin, parfois en juillet (Midi de la France) [9].

Le fruit, de la grosseur d'une orange ou encore plus volumineux, est sphérique ou à peine aplati, parfois hexaédrique, à péricarpe épais, coriace, surmonté des restes d'un calice dentelé très résistant. Le fruit d'abord vert, puis ivoire-rougeâtre, varie en pleine maturité du jaune brun jusqu'au rouge terne, marbré de points plus vifs ou foncés [9].

L'intérieur du fruit est divisé par de légères cloisons en quelques compartiments ou loges. Chaque loge est remplie de graines anguleuses ou polyédriques, enveloppées d'une pulpe d'un rose grenat plus ou moins foncé suivant les variétés (figure 6). Cette pulpe est juteuse, sucrée-acidulée, d'un goût très agréable, relevé, elle est rafraîchissante et désaltérante, c'est pourquoi le fruit est apprécié dans les pays chauds [9].



**Figure. 6.** Le grenadier, *Punica granatum* L [7].

### 8. Valeur nutritionnelle

La grenade est riche en vitamine C et une bonne source de fibres alimentaires et de folate [5].

Les valeurs nutritionnelles de grenadier sont portées dans (le tableau 1).

**Tableau. 1.** Valeurs nutritionnelles pour 100 grammes de grenade [16].

Nutriment	Valeur nutritionnelle pour 100 g
Energie (Kcal/100 g)	71,1
Eau (g/100 g)	81
Protéines (g/100 g)	1,1
Glucides (g/100 g)	13,6
Lipides (g/100 g)	0,6
Sucres (g/100 g)	13,6
Fibres (g/100 g)	2,3



<b>Sel (g/100 g)</b>	0,01
<b>Magnésium (mg/100 g)</b>	7,5
<b>Phosphore (mg/100 g)</b>	18
<b>Potassium (mg/100 g)</b>	262
<b>Cuivre (mg/100 g)</b>	0,114
<b>Zinc (mg/100 g)</b>	0,375
<b>Vitamine E (mg/100 g)</b>	0,55
<b>Vitamine K1 (µg/100 g)</b>	16,4
<b>Vitamine C (mg/100 g)</b>	8,1
<b>Vitamine B1 (mg/100 g)</b>	0,0623
<b>Vitamine B2 (mg/100 g)</b>	0,0577
<b>Vitamine B3 (mg/100 g)</b>	0,264
<b>Vitamine B5 (mg/100 g)</b>	0,486
<b>Vitamine B6 (mg/100 g)</b>	0,163
<b>Vitamine B9 (µg/100 g)</b>	22

## 9. Intérêts thérapeutiques de *Punica granatum*

Le grenadier est utilisé depuis des centaines d'années en médecine traditionnelle comme un agent de traitement dans de nombreuses maladies. Les propriétés qui lui sont attribuées laissent à penser que cet arbre est une véritable panacée [5].

### 9.1. Activité anti-oxydante

Des études ont montré que la capacité anti-oxydante du jus de grenade s'est avérée trois fois plus supérieure à celle du vin rouge et du thé vert en piégeant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique chez les animaux [17], Il a également été démontré qu'il avait des niveaux significativement plus élevés

d'antioxydants par rapport aux jus de fruits couramment consommés, tels que le jus de raisin, de canneberge, de pamplemousse ou d'orange [18].

Dans le jus de grenade les principaux polyphénols antioxydants comprennent les ellagitanins et les anthocyanes. Les ellagitanins représentent 92 % de l'activité anti-oxydante du jus de grenade et sont concentrés dans la peau, les membranes et les noyaux du fruit [18].

## **9.2. Activité anti-inflammatoire**

De nombreuses études ont démontré clairement la propriété anti-inflammatoire de la grenade et de ses produits dérivés[19]. Des études *in vivo* ont démontré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase. La cyclo-oxygénase, enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (principaux médiateurs de l'inflammation), a été inhibée de 37% par l'extrait d'huile de graines pressées. La lipooxygénase, qui catalyse la conversion de l'acide arachidonique en leukotriènes, aussi médiateurs importants de l'inflammation, ont été inhibés de 75% par le même extrait [20].

## **9.3. Activité anti-cancéreuse**

Le but des recherches faites sur le cancer est le développement de nouveaux agents chimiopréventifs inhibiteur du développement des tumeurs et sans toxicité systémique [12].

### **9.3.1. Cancer de la prostate**

Des études *in vivo* ont démontré que l'administration par voie orale d'un extrait de grenade à des souris auxquelles des cellules cancéreuses de la prostate avaient été implantées, a induit une inhibition significative de la croissance de la tumeur. De plus, le taux sérique de la PSA (antigène spécifique de la prostate) était réduit [21].

### **9.3.2. Cancer du sein**

La grenade est un fruit très particulier en ce qui concerne sa composition chimique. Elle contient une haute concentration en œstrogènes naturels, une hormone normalement synthétisée dans le règne animal. Les graines de grenades contiennent la plus forte concentration en œstrone observée dans le règne végétal. C'est pourquoi de nombreuses études ont été effectuées, dans le but d'évaluer les applications préventives et thérapeutiques de la grenade dans le cancer du sein [7].

Les composants polyphénoliques de la grenade inhibent la prolifération de cellules d'une lignée cancéreuse du sein et la 17-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type I,

enzyme qui convertit l'œstrogène, l'œstrone, en son métabolite le plus actif, le 17-bêta-œstradiol. Une forte expression de cette enzyme peut être un indicateur de mauvais pronostic chez des femmes ayant des tumeurs du sein avec des récepteurs œstrogènes positif [22].

### 9.3.3. Cancer du poumon

Le cancer du poumon est l'un des cancers les plus mortels en dépit des avancées scientifiques et médicales dans la radiothérapie et la chimiothérapie de ces dernières années. Des études ont été réalisées par des chercheurs montrent que les extraits du fruit de grenade ont diminué la viabilité des cellules cancéreuses humaines du poumon sans affecter les cellules bronchiales saines et diminue la progression de la tumeur [21].

### 9.3.4. Cancer du colon

Des études faites sur les composés phytochimiques de la grenade ont démontré un effet inhibiteur de la prolifération des cellules cancéreuses du colon et l'apoptose à travers la modulation de facteurs de transcriptions cellulaires et protéiques [12].

Les propriétés chimio-préventives du cancer du côlon des ellagitannines dérivées du jus de grenade, ont été étudiées dans des cellules cancéreuses du côlon humain HT-29, ces études ont démontrées que le jus de grenade inhibe la prolifération des cellules cancéreuses humaines de la lignée HT-29, et il est plus efficace que l'ellagitannin purifié de la grenade. Cela est dû à l'effet synergique des constituants du jus de grenade [12].

### 9.3.5. Cancer de la peau

L'exposition excessive aux ultraviolets (UV-B) a des effets néfastes sur la santé telle que le cancer de la peau [21].

Des extraits de grenade ont donnés un effet photochimio-préventif et protecteur des kératinocytes, cellules épidermiques humaines, contre les radiations UV-B et UV-A ; ainsi que des effets chimio-préventifs et curatifs des lésions cutanées chez le rat [21].

## 9.4. Activité anti-microbienne

Reddy *et al.* (2007) ont mené une étude sur les différents extraits de grenade dans différents solvants (eau, éthanol, etc.). Ils ont révélé une activité anti-microbienne significative contre *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et autres bactéries nocives [23].

Une autre étude a démontré que l'extrait méthanolique 80% de l'écorce de grenade constitue un puissant inhibiteur de la croissance de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica* [23].

### 9.5. Activité anti-ulcéreuse

L'écorce de grenade séchée en poudre présente un efficace traitement contre l'acidité d'estomac et l'ulcère d'estomac. L'extrait de peau de grenade possède une activité inhibitrice des ulcères de l'estomac induits par l'aspirine et l'éthanol grâce à ses propriétés antioxydantes [24].

### 9.6. Activité antidiabétique

Une étude visant l'évaluation de l'activité anti-diabétique des extraits de fleurs de grenade, a suggéré un mécanisme pour la diminution du diabète et cela par inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase [25]. De plus, il a été démontré que la consommation d'extrait d'écorce de grenade normalise les effets adverses d'un composé induisant le diabète chez les souris [26]. Une autre étude a permis d'évaluer le rôle de l'extrait de la poudre de peaux de grenade dans sa dose thérapeutique humaine sur le nombre des cellules bêta, la glycémie et les taux plasmatiques d'insuline chez des rats normaux et des rats diabétiques, dont le diabète est induit par l'alloxane, pendant 4 semaines de traitement. Le traitement a révélé que l'extrait aqueux de grenade a diminué significativement le niveau de glucose du sang et augmenté le niveau d'insuline chez les rats normaux, et il en est de même pour les rats diabétiques traités. Le pancréas a montré une augmentation du nombre des cellules bêta dans les rats normaux et les rats diabétiques traités [27].

## 10. La toxicité des grenades

La consommation de la partie comestible de la grenade est considérée comme non nocive à la santé humaine. Par contre l'extrait de ses parties et même l'écorce peuvent avoir des effets toxiques à grandes doses. Des études ont signalé que, en raison de la présence de tanins et d'alcaloïdes, la consommation de la décoction de l'écorce de l'arbre et aussi du péricarpe du fruit peut provoquer une inflammation gastrique et même la mort de la personne [28].

Le cancer d'œsophage et des réactions allergiques sont aussi signalés suite à la consommation excessive des gaines de fruits [29] [30].

Une autre étude a montré que les extraits phénoliques de fruits entiers causent une congestion des organes internes et une élévation de la créatinine in vivo [31]

An anatomical illustration of the human digestive system, showing the esophagus, stomach, and the large and small intestines. A circular inset provides a magnified view of the intestinal lumen, which is densely populated with various types of bacteria, representing the gut microbiome. The bacteria are shown in various shapes and sizes, including long rods, shorter rods, and some with flagella. The text 'Partie II' and 'La flore intestinale' is overlaid on the illustration.

**Partie II**  
**La flore intestinale**

## Partie II

### 1. La flore intestinale

La flore intestinale est l'ancienne dénomination aujourd'hui est connue sous le nom « microbiote intestinal » [32] qui est également appelé organe caché [33]. Le terme microbiote provient du grec ancien μικρός (mikros, « petit ») et βίωτος, (bíos, « vie ») [34].

C'est un écosystème très complexe riche en micro-organismes (Bactéries, Archées, Champignons, Protozoaires mais aussi Virus) [34] qui se développe suivant l'âge au cours de la petite enfance à l'âge adulte [35]. C'est un élément actif de la physiologie intestinale, avec des fonctions métaboliques, de flore de barrière et de stimulation du système immunitaire intestinal [36].

L'environnement dans lequel se développe le microbiote est nommé microbiome [37].

### 2. Classification du microbiote intestinal

Depuis des millions d'année l'être humain vit en association avec son microbiote intestinal [34]. Cette longue coévolution a conduit à la sélection de relations symbiotiques à travers lesquelles le microbiote contribue à de nombreux processus physiologiques chez l'hôte [38].

Il est constituée d'environ  $10^{14}$  micro-organismes estimés à 1.5 kg qui recouvrent près de 400 espèces bactériennes essentiellement des anaérobies [39] et divisé en deux groupes de micro-organismes : flore résidente et flore de passage [40].

#### 2.1. Flore intestinale résidente

La flore résidente ou flore autochtone est constituée de bactéries qui vivent normalement et qui ne présentent pas de danger pour l'organisme [41]. Elle regroupe les espèces qui existent en permanence. Cette flore est représentée par des entérobactéries du genre *Citrobacter*, Elle se divise en 2 groupes : dominante et sous-dominante [41].

➤ **Microflore dominante** se trouve en grand nombre et acquise dès la naissance elle s'héberge dans le colon fixée dans les cryptes des villosités intestinales sur les cellules à mucus [41] où le taux de colonisation de chacun des groupes bactériens atteint  $10^9$  à  $10^{11}$  germes/g ou ml de contenu intraluminal. Une large part de cette flore est composée de germes anaérobies stricts (*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium* et *Bifidobacterium* principalement) [5].

➤ **Microflore sous-dominante** ; intermédiaire est fixée sur les villosités intestinales près des cellules à mucus qui se trouve à des taux inférieurs par rapport aux germes de la flore dominante soit  $10^6$  à  $10^8$  germes/g ou ml de contenu intraluminal elle est constituée de bactéries pathogènes, dont certaines peuvent provoquer des maladies lorsque des conditions particulières leur permettent de se multiplier [41]. La majorité de ses germes sont des germes aéro-anaérobies facultatifs (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactobacillus* principalement) [5].

L'acceptation par la microflore résidente de cette flore intermédiaire entraîne « l'effet de barrière », c'est-à-dire d'une part l'impossibilité pour la flore de passage de rester et d'autre part la protection contre les infections des germes exogènes [41].

## 2.2. Flore de passage

La flore de passage ; allochtone ou transitoire [41] est incapable de s'implanter dans le tube digestif ou d'exprimer sa pathogénicité [32], elle présente le premier signal d'un changement environnemental et permet à l'homme de s'adapter à tout ce qui l'entoure [41]. Elle est polymorphe comporte tous ce qui peut être ingérés (bactéries, virus, levures) et se trouve en faible concentration  $< 10^4 - 10^6$  germes/g [32].

## 3. Développement du microbiote

Le microbiote se caractérise par une grande variabilité et cela au fil du temps, en fonction de la physiologie et de l'alimentation [42].

### a. A la naissance

L'intestin du nouveau-né est dépourvu de toute bactérie, le processus de Colonisation bactérienne commence à partir de ce moment. Il est colonisé en rentrant en contact avec la flore fécale et vaginale de la maman lors de l'accouchement soit par voie basse soit par la flore cutanée lors d'une césarienne. Sa composition va évoluer vers un microbiote individuel sous l'influence de plusieurs facteurs tel que le mode d'alimentation, l'hygiène, le mode d'accouchement et les traitements médicaux et il se stabilise à l'âge de deux voire quatre ans [43].

**Phase I**

Dans les premières 48 heures, le tube digestif est rapidement colonisé par un microbiote peu diversifié. Lors de l'accouchement la rupture des membranes fœtales présente le début de la colonisation par les bactéries présentes dans l'environnement. Les premières bactéries qui s'implantent sont des germes anaérobies facultatifs, notamment des streptocoques, des staphylocoques et des entérobactéries. Les germes anaérobies stricts sont peu retrouvés [44].

**Phase II**

Dans les jours qui suivent le nouveau-né est clairement influencé par l'alimentation [45]. Les anaérobies facultatifs consomment l'oxygène ce qui entraîne l'augmentation de la concentration des germes anaérobies stricts (*Bifidobacterium* et lactobacilles) jusqu'à  $10^9$  UFC/ml au dixième jour. Le profil bactérien se diversifie où *Escherichia coli*, *Bacteroides spp* sont en grande quantité et *Clostridia* en petite quantité. Le groupe des staphylocoques diminue parallèlement [44].

A un mois de vie, les enfants nourris au sein ont un contenu intestinal plus riche en bactéries anaérobies strictes notamment en bifidobactéries et dans une moindre mesure, en lactobacilles (cela est lié à l'existence de nombreux facteurs "bifidogènes" dans le lait maternel) [44].

**Phase III**

Cette phase est influencée par la diversification alimentaire (6 mois). Les entérobactéries, les streptocoques et les *Clostridia* augmentent de la même façon en nombre. La flore anaérobie stricte plus diversifiée augmente également durant cette phase, au profit de variétés microbiennes très spécifiques du côlon (*Fusobacterium*, *Eubacterium*, etc.) [44].

**Phase IV**

A la fin de la première année voire la deuxième année, la composition de la flore intestinale se stabilise [46] et se rapproche de celle de l'adulte. Cette phase est distinguée par une très grande augmentation de la flore anaérobie stricte dans la partie distale du côlon [44].

**b. À l'âge adulte**

la composition du microbiote est stable et il peut y avoir des perturbations liées au stress, aux infections, à une pathologie aiguë, à la pratique d'un exercice physique ou bien à la



prise d'antibiotiques [47]. Le microbiote a la capacité de revenir à son état initial après une agression. Le délai est variable d'un individu à l'autre [48].

### c. Chez les personnes âgées

la composition du microbiote intestinal peut être modifiée et cela est lié au vieillissement peuvent avoir un impact sur leur santé et peuvent être causées par des facteurs tels que le stress psychosocial, la mobilité et la nutrition [49].

## 4. Les facteurs influençant l'implantation du microbiote

La composition et les fonctions de la microflore du tractus gastro-intestinal sont influencées par divers facteurs [50].

### 4.1. L'effet de l'alimentation

La composition microbienne de l'intestin dépend de différentes habitudes alimentaires. Ceci est démontré en comparant l'alimentation et le microbiote fécal d'enfants européens et celui d'enfants africains. L'enfant africain est allaité jusqu'à l'âge de deux ans en complément d'une alimentation mixte et qui suit un régime alimentaire traditionnel africain rural pauvre en graisses et en protéines animales et riche en amidon, en fibres et en polysaccharides végétaux, et à prédominance végétarienne. Alors qu'un enfant européen est allaité jusqu'à l'âge d'un an et consomme un régime alimentaire occidental typique riche en protéines animales, en sucre, en amidon et en matières grasses et pauvre en fibres. Ce qui a démontré l'augmentation des *Bacteroidetes* et des *Actinobacteria* au détriment des *Firmicutes* et des *Proteobacteria*, dont les *Enterobacteriaceae* (*Shigella* et *Escherichia*), en comparaison avec des enfants Européens. Les genres *Prevotella* et *Xylanibacter* contenant des gènes impliqués dans l'hydrolyse de cellulose et de xylanes se sont avérés absents chez les enfants Européens [51].

### 4.2. L'effet des facteurs génétique

Selon Dr Christopher Quince de l'Université de Glasgow qui a traité une analyse statistique sur 30 gènes spécifiques de l'ADN bactérien séquencé, connus pour augmenter le risque de maladie de Crohn à partir d'échantillons de tissu intestinal de 51 personnes en bonne santé et sans troubles intestinaux. La variation de l'ADN dans l'un de ces gènes est associée à la présence des *Prevotella* ce qui a mené à des résultats qui démontrent l'influence d'un gène sur la composition globale du microbiote [52].

### 4.3. L'effet des antibiotiques

Il s'agit d'une interaction négative microbe – microbe. D'après Penders *et al*, l'utilisation orale d'antibiotiques (principalement amoxicilline) par le nourrisson au cours du premier mois de vie a entraîné une diminution nombre des *Bifidobacterium* et d'espèces du groupe *Bacteroides fragilis*. Le microbiote intestinal est énormément détérioré par l'effet nocif de l'antibiothérapie. D'autre part, la perturbation du microbiote par l'effet de l'antibiothérapie peut faciliter la colonisation des espèces pathogènes résistantes aux antibiotiques [53].

### 4.4. Condition d'hygiène

Le progrès de l'hygiène peut entraîner une forte réduction de la mortalité dans les pays développés, mais certaines pathologies y sont aussi devenues plus fréquentes. C'est le cas notamment des allergies, de l'asthme ou des maladies auto-immunes comme les inflammations chroniques de l'intestin, des pathologies qui sont toutes liées à un déséquilibre du système immunitaire. Un excès d'hygiène, empêchera notamment notre immunité de se « régler » correctement, et cela particulièrement au cours de l'enfance [54].

Schmidt *et al*, ont montré que l'acquisition d'un microbiote adulte optimal nécessite une exposition continue aux bactéries de l'environnement pour établir une biodiversité et un processus de sélection ce qui permettra un bon développement et maturation de l'intestin et de l'immunité [55].

## 5. Répartition du microbiote intestinal humain

Le microbiote intestinal varie qualitativement et quantitativement tout au long du tractus digestif (figure 7) en densité différente [37].

Des méthodes moléculaires d'écologie microbienne (électrophorèse en milieu dénaturant de l'ARNr 16S, hybridation in situ couplée à la cytométrie, PCR quantitative) permettent aujourd'hui une analyse à haut débit de la composition de la microflore intestinale [56].

Selon Barbut et Joly (2010) les bactéries dominantes du microbiote sont réparties en 3 phyla bactériens majeurs [57] :

### Phylum des *Firmicutes*

Des bactéries à gram positif qui représentent plus de la moitié de la flore (environ 80%) avec une forte proportion du genre *Clostridia*. Ce phylum comporte trois classes de bactéries [57] :

**Classe I ; Clostridia.**

**Genre ; Clostridium, Ruminococcus et Faecalibacterium.**

**Classe II ; Mollicutes.**

**Genre ; Mycoplasma.**

**Classe III ; Bacilli.**

**Genre ; Listeria, Staphylococcus, Lactobacillus, Enterococcus et Streptococcus.**

### **Phylum des Bacteroidetes**

Ce phylum représente 30% de la population bactérienne. il comporte les bactéries deux genres : *Bacteroides* sous forme de bacille à gram négatif anaérobie et les *Prevotella* [57].

### **Phylum des Actinobacteria**

Les *Actinobacteria* représentent 5-10% de la flore. Ce phylum comporte des grams positifs [57] :

**Genres ; Actinomyces, Mycobacterium ou Bifidobacterium.**

- Et selon P. Marteau, lors d'une examination des selles en plus des 3 phyla cité avant il a découvert : les *Proteobacteria* [58].

Phyla	Genres
<i>Firmicutes</i>	<i>Ruminococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Lactobacillus, etc.</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Escherichia</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Helicobacter, etc.</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacterium, etc.</i>

**Figure. 7.** Phyla et quelques genres microbiens dominants dans le tube digestif de l'homme [57].

### 5.1. L'estomac

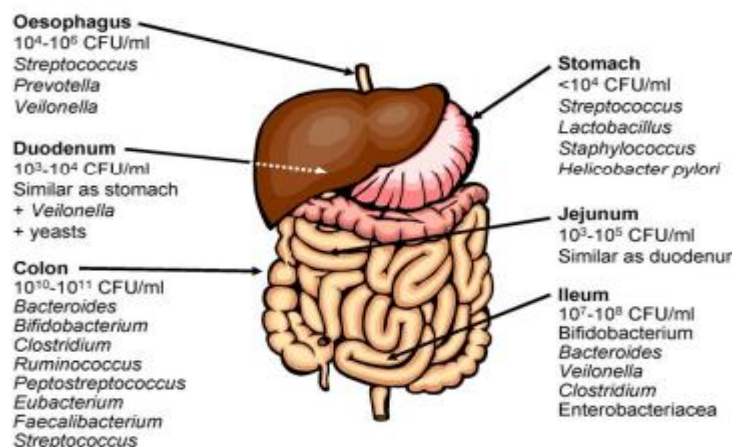
En raison de son pH acide, La densité bactérienne est faible et varie de  $10^2$  à  $10^3$  bactéries/g [37]. Elle est composée *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Helicobacter pylori* (figure 8) [39].

### 5.2. L'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon)

Après le passage de l'estomac à pH acide, le pH redevient neutre, l'oxygène se raréfie et la flore bactérienne qui a 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'espèces 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'assurerait pas de fonctions majeures en dehors de situations pathologiques (figure 8) [56].

### 5.3. Le côlon

Le côlon est le segment le plus riche en bactéries. Les taux atteignent  $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g de contenu. Dans le côlon, le transit, très fortement ralenti et associé à un très bas potentiel d'oxydoréduction et à l'origine de l'augmentation importante de la population bactérienne anaérobie. Le côlon, où 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 (figure 8) [56].



**Figure. 8.** Répartition de la flore intestinale dans différents compartiments [38].

## 6. Bactéries à effet bénéfique

Ce sont des bactéries qui ont une action positive sur la santé et apportent des effets bénéfiques comme les bactéries lactiques dont les *Lactobacillus*, le genre *Bifidobacterium*, certaines espèces de *Bacillus* (figure 14) [59].

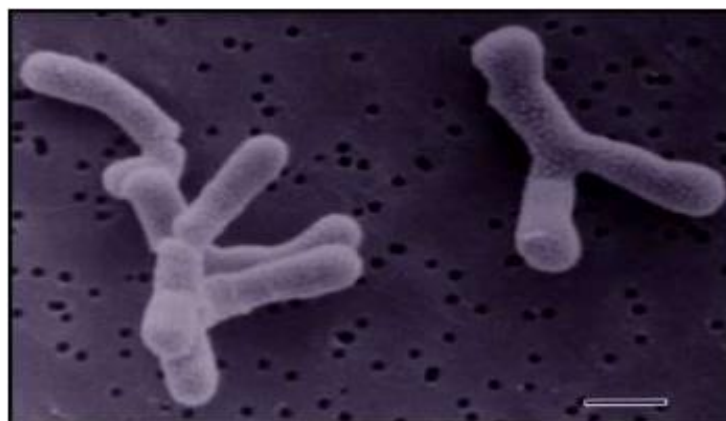
### a. Bifidobactéries

Les bifidobactéries ont été isolées et décrites pour la première fois par Henry Tissier à la fin de XIX<sup>ème</sup> siècle [60].

Les bifidobactéries sont des bâtonnets Gram-positifs anaérobies non sporulant représentant des habitants omniprésents du tractus gastro-intestinal humain. Le genre se compose de plus de 50 espèces, avec seulement dix espèces trouvées chez l'homme. Chez le nourrisson allaité, les bifidobactéries constituent plus de 80 % du microbiote intestinal, alors que les bifidobactéries ne représentent que 3 à 6 % de la flore fécale adulte [61].

De plus, la répartition des espèces est différente chez les nourrissons et les adultes *Bifidobacterium adolescentis* (figure 9) et *Bifidobacterium longum subsp.* sont les principales espèces de bifidobactéries de la flore intestinale adulte et *Bifidobacterium longum subsp. Infantis* et *Bifidobacterium breve* sont les espèces prédominantes dans le tractus intestinal des nourrissons humains [61].

Le genre *Bifidobacterium* appartient au Phylum des *Actinobacteria*, et ensuite retrouvé dans la Classe des *Actinobacteria* et la Sous-Classe des *Actinobacteridæ*, l'Ordre des *Bifidobacteriales* et la famille des *Bifidobacteriaceæ* [62].



**Figure. 9.** *Bifidobacterium adolescentis* [59].

**b. Coques**

Lorsqu'une bactérie est de forme ronde, on parle de coque, ou encore de coccus [63]. Généralement groupés ou en chaînettes et sont représentées par les streptocoques et les entérocoques et dont certaines espèces sont utilisées dans des probiotiques tels que *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* (figure 3) ou *E.faecium* notamment [60].

**• Entérocoques**

Les entérocoques sont des bactéries lactiques utilisées depuis des siècles dans la conservation des aliments. Ils sont ubiquitaires trouvées dans la flore microbienne du tractus gastro-intestinal. Ces microorganismes sont des coccoïdes Gram<sup>+</sup> généralement des anaérobies facultatifs et non mobiles. Les cellules sont ovoïdes et se présentent sous forme de cellules isolées, par paire ou encore sous forme de chaînette [64].

Les entérocoques apportent des bénéfices pour la santé (effets positifs sur la flore intestinale) et ils ont la capacité de produire des substances antimicrobiennes, y compris les bactériocines ainsi que ces dernières luttent contre les bactéries gram négatifs, les champignons et les levures. Il a été rapporté que certaines souches d'*E.mundtii* peuvent inhiber certains virus. Les chercheurs expliquent cet effet sur la propagation du virus HSV (virus herpès simplex) par une inhibition de la synthèse des glycoprotéines, le mécanisme impliqué dans l'activité antivirale n'est pas bien connu mais il pourrait avoir agrégation des particules virales ou blocages de leurs sites récepteurs [64].

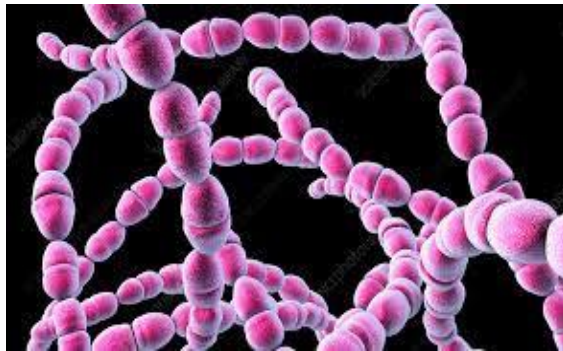


**Figure. 10.** *Enterococcus faecalis* [59].

**• Streptocoques**

Les cellules de streptocoques sont des coques ou coccobacilles chimioorganotrophes, généralement groupées en paires et surtout en chaînes, de longueur variable. L'espèce

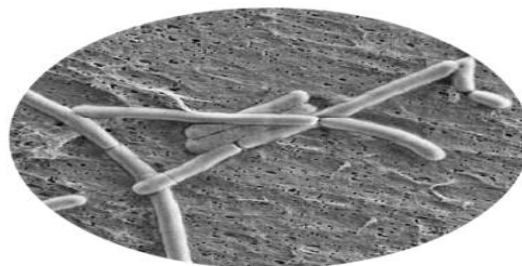
thermophile *S. thermophilus* (figure 11), se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), par son caractère non pathogène et ses propriétés probiotiques et technologiques [59].



**Figure. 11.** *Streptococcus thermophilus* [64].

### c. Lactobacilles

Les lactobacilles sont un composant important du microbiote des humains [65]. Ces bactéries sont des bâtonnets de culture anaérobies, gram positif, non sporulés, appartient au phylum *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordre des *Lactobacilla* et famille des *Lactobacillus*. Elle est composée de plus de 170 espèces et 17 sous espèces parmi eux *Lactobacillus acidophilus* qui est naturellement présente dans le tractus gastro- intestinal [66], *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus rhamnosus* (figure 12), ces trois espèces offrent une bonne résistance à l'acidité gastrique et présentent une forte capacité d'adhérence aux cellules intestinales [67].



**Figure. 12.** *Lactobacillus rhamnosus* [59].

### d. *Bacillus coagulans*

*B. coagulans* (figure 13) est une bactérie à Gram positif, anaérobie facultative, non pathogène, sporulée et productrice d'acide lactique. Bien que *B. coagulans* produit de l'acide, il ne produit pas de gaz à partir de la fermentation du maltose, du raffinose, du mannitol et du saccharose [68].

*Bacillus coagulans* (*B. coagulans*) a récemment attiré l'attention des chercheurs et des fabricants de produits alimentaires, car il présente des caractéristiques des deux genres *Bacillus* et *Lactobacillus* [68].

Des études récentes ont montré que *B. coagulans* a des effets thérapeutiques sur les maladies intestinales, telles que la diarrhée aiguë, le syndrome du côlon irritable, la diarrhée liée aux antibiotiques, la constipation et la colite, grâce à la modulation de la composition du microbiote, de l'immunité de l'hôte et du métabolisme [69].



**Figure. 13.** *Bacillus coagulans* [59].

## 7. Bactéries à effet néfaste

Bactéries à effet néfaste sur la santé se sont des bactéries qui sont potentiellement pathogènes autrement appelés « bactéries opportunistes » qui, en fonction de l'environnement et du contexte profitent d'un état de fragilité pour coloniser l'endroit telles qu'*Escherichia Coli* ou encore *Streptococcus*. La présence de ce type de micro-organismes, et leur quantité varient en fonction de chaque individu (figure 14) [70].

### a. *Pseudomonas aeruginosa*

Il s'agit des bactéries aérobie à Gram négatif de la famille des *Pseudomonadaceae* (un membre des *Gammaproteobacteria*) [71], bacille, mobile pourvue d'un flagelle simple. Se trouve au niveau du tube digestif. Elle peut être dans certaines conditions pathogènes. Elle présente de nombreuses résistances aux antibiotiques ce qui en fait l'une des bactéries les plus difficiles à traiter [72].

### b. *Proteus mirabilis*

*Proteus mirabilis* est une bactérie à Gram-négative en forme de bâtonnet (bacille). Elle appartient à la classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Enterobacteriales*, famille des *Enterobacteriaceae*. *Mirabilis* peut être trouvé dans une grande variété d'environnements,



mais il s'agit principalement d'un commensal du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. Alors la bactérie est capable de provoquer une infection du tractus gastro-intestinal [73].

**c. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est un coccus Gram positif anaérobie facultatif et immobile. Les cellules sont des cocci sphériques simples ou appariés, ou forment des grappes ressemblant à des raisins (*staphylo* signifie raisin en grec). La paroi cellulaire est résistante au lysozyme et sensible à la lysostaphine. Certaines souches de *S. aureus* sont capables de produire des entérotoxines staphylococciques. L'intoxication par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée [74].

**d. *Clostridium***

*Clostridium* est une bactérie sous forme bacille Gram positif, anaérobie strict. Elle fait partie de la flore intestinale et comprend plusieurs genres pathogènes à l'homme [75].

- ***Clostridium difficile***

*Clostridium difficile* capable de provoquer des symptômes allant d'une diarrhée plus ou moins sévère à une inflammation mortelle du côlon [75].

**e. *Enterococcus faecalis***

*Enterococcus faecalis* est une bactérie lactique commensale. Elle se retrouve dans le tube digestif des humains et des autres mammifères. C'est une bactérie Gram positif souvent sous forme de coque ovoïde en chaînette, immobile appartient au genre *Enterococcus*. Elle peut se développer en présence ou en absence d'oxygène [76].

**f. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est une bactérie aérobie, Gram positif en forme bacille qui constitue la majorité de la flore intestinale de l'homme. Elle peut devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites [77].

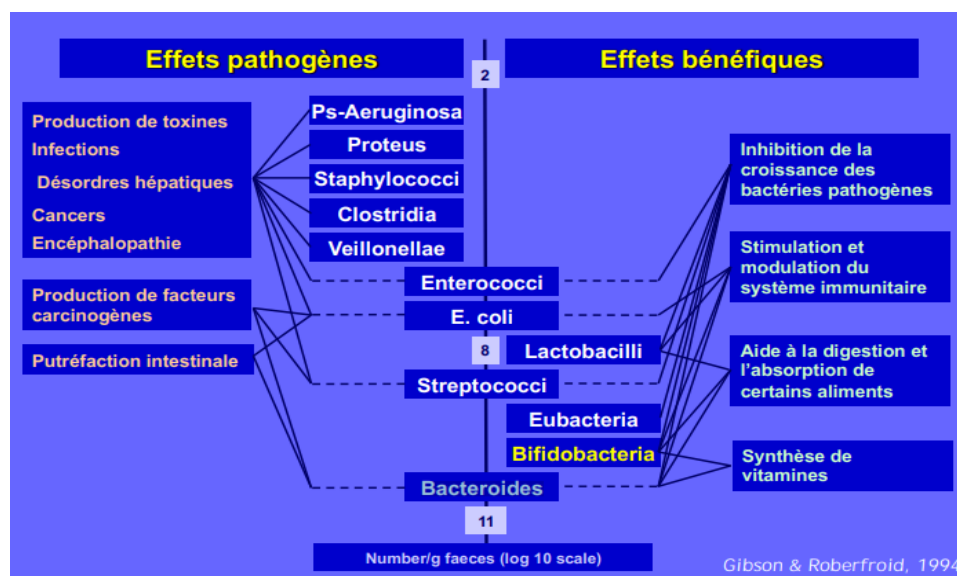
C'est le cas des souches de *E. coli* entérohémorragiques (ECEH) qui provoquent des diarrhées sanglantes [78].

### g. *Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus agalactiae* appartient au phylum des *Firmicutes*, à l'ordre des *Lactobacillales*, à la famille des *Streptococcaceae* et au genre *Streptococcus* [79]. C'est un Streptocoque beta-hémolytique du groupe B (SGB), commensal du tube digestif et qui est considéré comme un agent pathogène touchant principalement les nouveau-nés et les femmes en péri-partum [80].

### h. *Bacteroides spp*

Des espèces Gram négatif en forme bacilles, encapsulés, anaérobies stricts non sporulés du genre *Bacteroides* ; certaines espèces (*B. polypragmatus*, *B. xylanolyticus*) sont mobiles grâce à un flagelle péritriche et d'autres ne sont pas mobiles. Ils sont normalement commensaux et se trouvent dans le tube digestif [81].



**Figure. 14.** Les bactéries à effet bénéfique et d'autres à effet néfaste sur la santé humaine [81].

## 8. Intérêt et rôle du microbiote

Le microbiote intestinal a deux fonctions fondamentales : d'une part, il permet améliorer l'efficacité de la digestion et effectuer des activités de synthèse, en particulier celles de vitamines. D'autre part, il constitue une barrière physique, microbiologique et immunitaire qui est sélective pour les agents qui pouvant être nocifs pour les organismes [82].

### 8.1. Effet de barrière

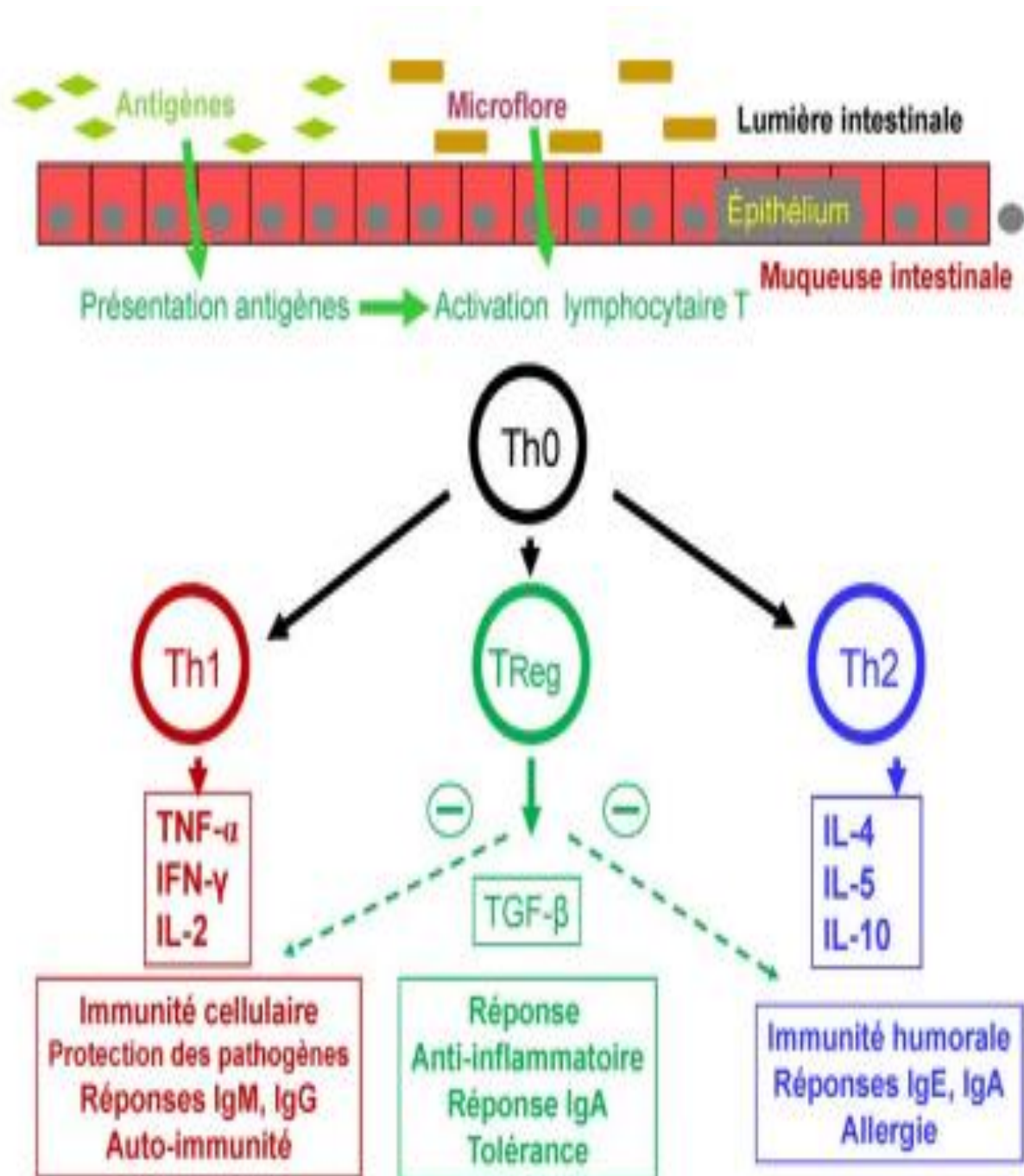
Le microbiote forme une barrière à la colonisation par des bactéries pathogènes. L'équilibre de la flore intestinale résulte d'interactions microbiennes sous la forme de

compétitions pour les substrats nutritifs ou les sites d'adhérences et de modifications de l'environnement intestinal par des produits du métabolisme bactérien : pH, bactériocines, acides organiques... [43].

## **8.2. Rôle du microbiote dans la mise en place du système immunitaire intestinal**

Il existe un lien entre la flore bactérienne, la muqueuse intestinale et le système immunitaire par l'intermédiaire du système immunitaire inné dont les toll-like receptors (TLR) sont les principaux acteurs. La muqueuse intestinale, avec une surface de plus de 300 m<sup>2</sup>, est en permanence exposée à une quantité très importante d'antigènes, qu'ils soient d'origine alimentaire ou bactérienne. La flore bactérienne intestinale joue des rôles essentiels au niveau des systèmes immunitaires intestinal et périphérique : rôle d'activation, rôle de modulation des réponses spécifiques, par exemple au niveau intestinal sur la réponse vaccinale ou sur la réponse protectrice IgA antirotavirus [43].

Alors la flore intestinale joue un rôle de régulation du système immunitaire (figure 15). Celui-ci est immature et caractérisé par une réponse déséquilibrée des lymphocytes T helper 2 (Th2) supérieure à celle des Th1 de même qu'une insuffisance de T régulateurs. La colonisation bactérienne progressive du tube digestif est, à cet égard, essentielle pour établir un équilibre entre les Th2 et les autres types de lymphocytes (Th1 et Th3). La flore intestinale joue donc un rôle dans l'acquisition de tolérance et par conséquent dans la prévention de l'allergie [43].



**Figure. 15.** Interactions microflore et système immunitaire et orientation de la réponse immunitaire [42].

### 8.3. Fonction métabolique

Un autre rôle primordial de cette communauté bactérienne est la nutrition et la dégradation de composés d'origine alimentaire non digestibles via le processus de fermentation. En effet ces processus fermentaires sont corrélés aux substrats disponibles, la plupart des métabolites fermentaires synthétisés par le microbiote seront absorbés puis utilisés par l'hôte. La majorité de ces métabolites sont potentiellement bénéfiques (acide gras à courte chaîne, gaz) toutefois certains peuvent avoir des effets délétères sur la santé (production de nitrosamines cancérigène par exemple [83]).

#### 8.3.1. Synthèse des molécules indispensables

##### a. Synthèse des vitamines

Les bactéries de la flore intestinale ont la capacité de synthétiser plusieurs vitamines essentielles telle que le facteur de la coagulation sanguine (vitamine K), la thiamine (vitamine B1), la biotine (vitamine B8), l'acide folique (vitamine B9) et la cobalamine (vitamine B12) jouant un rôle important au sein de nos cellules [84].

##### b. Synthèse des neurotransmetteurs

Les neurotransmetteurs sont des molécules chimiques synthétiser par les bactéries du microbiote, comme la sérotonine qui est produite à 95% dans notre intestin, mais aussi du GABA, de la dopamine, de la noradrénaline [84], du glutamate et de l'acétylcholine [85] (tableau 2).

**Tableau. 2.** Tableau représentatif de neurotransmetteurs, des espèces productrices et leurs effets physiologiques [84].

Neurotransmetteur	Genre microbien producteur	Effets physiologiques
GABA	<i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i>	Anxiolytique Myorelaxant
Noradrénaline	<i>Bacillus</i> <i>Escherichia</i> <i>Saccharomyces</i>	Multiples

Sérotonine/Tryptamine	<i>Candida</i> <i>Escherichia</i> <i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>	Régulation de la voie vagale Péristaltisme
Dopamine	<i>Bacillus</i> <i>Serratia</i>	Multiples
Acétylcholine	<i>Lactobacillus</i>	Multiples
Glutamate	<i>Corynebacterium glutamycum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Multiples
Histamine	<i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i>	Hypotension, allergies
Mélatonine	<i>Bifidobacterium</i>	Relaxation des muscles lisses

### 8.3.2. Métabolisme digestif

#### a. Métabolisme des glucides

Les glucides ingérés par l'individu vont être dégradés en transformant les polysides en métabolites de fermentation par le microbiote intestinal en plusieurs étapes. En première étape, les bactéries fibrolytiques synthétisent des enzymes qui assurent l'hydrolyse des polymères glucidiques contenus dans les fibres végétales en fragments de petite taille (oses et oligosides) qui ne peut pas être effectuée par les cellules humaines. En deuxième étape, les bactéries glycolytiques transforment les glucides en pyruvate par glycolyse puis ce dernier sera transformé en acides gras à chaîne courte comme l'acétate, le propionate et le butyrate qui sert comme source d'énergie pour les cellules épithéliales du colon en favorisant leur renouvellement rapide et en stimulant les échanges d'eau et des minéraux [84].

#### b. Métabolisme des protéines

Le microbiote intestinal participe dans la dégradation des protéines en petits peptides hydrolysés au niveau du colon par l'activité enzymatique de certaines bactéries (protéase, désaminase, transaminase). Ces peptides seront à leur tour métabolisés en acides aminés ces derniers seront utilisés comme source d'énergie ou d'azote par les bactéries qui n'utilisent pas les glucides lors de la fermentation. Les produits issus de la désamination des peptides en acides aminés sont les acides gras à chaînes courtes (AGCC) et l'ammoniac. L'ammoniac sera utilisé

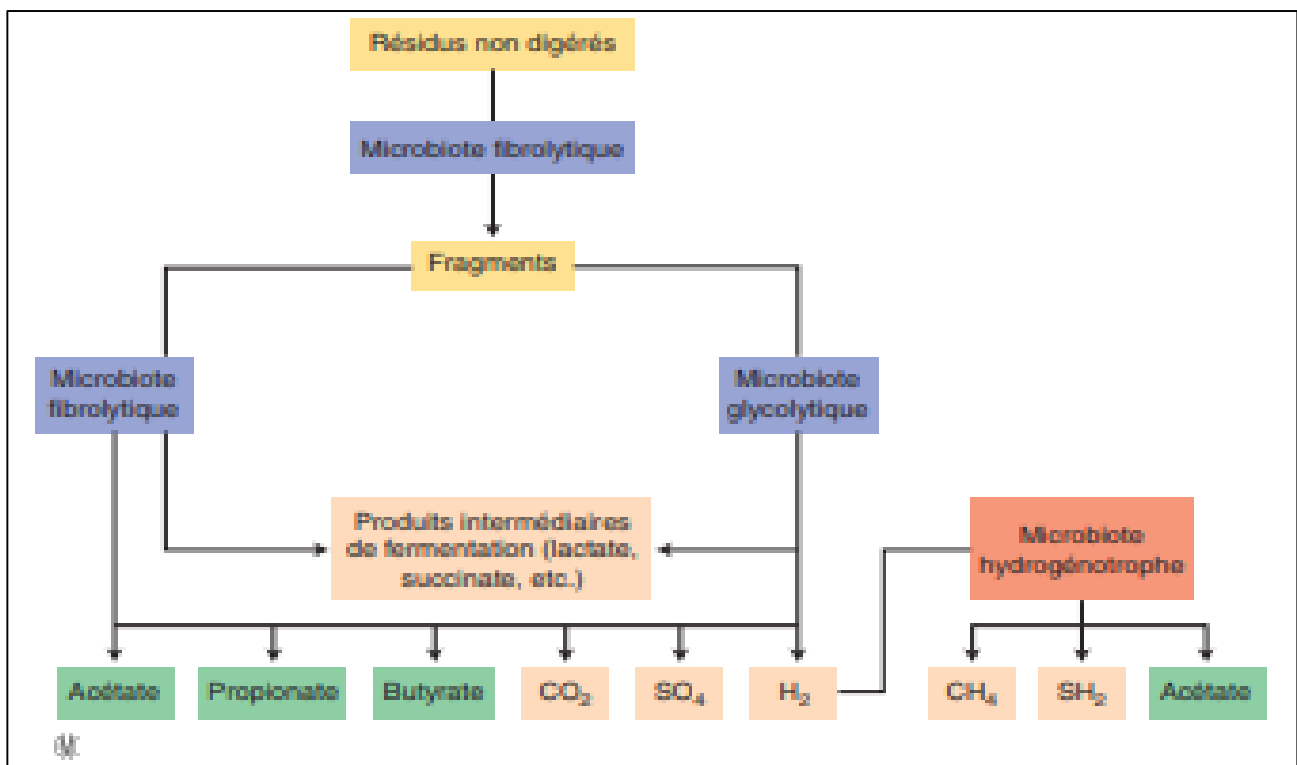
comme source d'azote par les bactéries qui ne peuvent pas synthétiser des acides aminés et des protéines, ou bien il sera transformé en urée et éliminé dans les urines [86].

### c. Métabolisme des lipides

La conversion du cholestérol en coprostanol dans l'intestin humain est un phénomène bien établi défini comme une caractéristique associée au microbiote résulte principalement de l'abondance de bactéries coprostanoligéniques. Le niveau de bactéries réduisant le cholestérol doit être d'au moins  $10^6$  cellules/g (poids humide) de selles pour convertir efficacement le cholestérol dans l'intestin humain, alors qu'une population contenant plus de  $10^8$  cellules/g (poids humide) de selles conduit à conversion presque complète. Le coprostanol non absorbable sera éliminé dans les fèces [87].

### d. Métabolisme des gaz

Le principal gaz produit lors de la fermentation est l'hydrogène en grande quantité lors de la fermentation bactérienne dans le colon. Ce dernier est majoritairement transformé par des bactéries méthanogènes ( $\text{CH}_4$ ), céto-gènes réductrices (acétate) et sulfato-réductrices (figure 16). L'excrétion se fait dans le milieu extérieur soit par voie pulmonaire ou bien par émission de gaz rectaux [88].



**Figure. 16.** Métabolisme glucidique et fermentaire dans le colon par des bactéries méthanogènes ( $\text{CH}_4$ ), céto-gènes réductrices (acétate) et sulfato-réductrices [57].

#### 8.4. Flore intestinale et l'insulinorésistance

Il y a une relation entre le type de flore intestinale et l'insulinorésistance. Une alimentation riche en lipides favorise la prolifération d'une flore intestinale riche en bacilles Gram négatif dont on sait que les parois sont riches en lipopolysaccharides (LPS). Ainsi que le LPS est considéré comme le plus fort inducteur de sécrétion de cytokines. Le récepteur au LPS est le CD14, glycoprotéine membranaire qui contrôle la synthèse et la production de cytokines inflammatoires. Celles-ci, à leur tour, sont impliquées dans la genèse de l'insulinorésistance en induisant de multiples altérations de la voie de signalisation de l'insuline [89].

En résumé, l'excès lipidique, en modifiant la flore intestinale, augmente la disponibilité du LPS au niveau général, ce qui favorise la production de cytokines inflammatoires via le CD14 puis l'insulinorésistance [89].

#### 8.5. Prévention du cancer colique

La viande peut être convertie en amines hétérocycliques pendant sa cuisson et la fermentation bactérienne des protéines produit des amines et de l'ammoniac, qui sont toxigéniques. L'ingestion de légumes peut offrir une protection contre le cancer colorectal à partir de composés tels que les flavoles, les lycopènes, les composés soufrés, les isoflavones, les lignanes et les saponines. Deux enzymes capables de produire des carcinogènes sont la  $\beta$ -glucuronidase chez l'hôte et la  $\beta$ -glucosidase chez la microflore, cette dernière catalyse d'autre part la production de substances antimutagéniques. Les bactéries lactiques sont capables de réduire les taux de ces deux enzymes dans les fèces. Cela peut être dû à l'inhibition de l'enzyme ornithine décarboxylase, ou par le blocage du gène promoteur de la tumeur. De plus la stimulation du système immunitaire devrait être un autre mécanisme anticancéreux de certaines bactéries de la flore intestinale [90].

#### 8.6. D'autres bénéfices

En cas de mauvaise digestion du lactose (déficience en  $\beta$ -galactosidase), les produits laitiers fermentés sont mieux tolérés que le lait. Cela est dû à la présence de bactéries lactiques, qui peuvent posséder cette enzyme. La lyse des bactéries dans le tractus gastro-intestinal libère cette enzyme en permettant une meilleure digestion du lactose dans l'intestin. Ce mécanisme pourrait également être utile dans le cas de la digestion du saccharose chez les nourrissons déficients en sucrase où il a été démontré que *Saccharomyces cerevisiae* agit de manière similaire [90].



## 9. Différence entre le tractus digestif humain vs souris

### a. La physiologie

Le tractus digestif a été comparé chez la souris et l'homme alors la principale différence était la taille et la présence d'un pré-estomac non glandulaire qui représente les deux tiers de l'estomac utilisé pour le stockage des aliments qui se trouve seulement chez les souris contient les *Lactobacillus*, le tiers qui reste est l'estomac glandulaire qui ressemble à celui de l'homme (figure 17) [91].

### b. Le temps de vidange

Chez l'homme le temps de vidange est de manière linéaire calculé (30 minutes) et chez la souris est observé par une décroissance exponentielle (17 à 34 minutes) cette différence est expliquée par les habitudes alimentaires car l'homme se nourrit durant la journée et les souris durant la nuit [91].

### c. L'estomac

Selon des études ils ont démontré que le pH de l'estomac de l'homme est bas ( $\text{pH} = 1$ ) colonisé par les streptocoques, *Prevotella spp* et les *Helicobacter pylori* qui sont adaptés au milieu acide alors que le pH de l'estomac des souris égale à 2.7 jusqu'à 4 [91] (figure 17).

### d. L'intestin grêle

L'intestin grêle de l'homme est de longueur 10 cm par kg et celui de la souris 1500 cm par kg les deux sont composés d'un duodénum, jéjunum et un iléon. La couche muqueuse est lisse chez l'homme, contient des plis circulaires chez la souris. La villosité a la forme d'une feuille dans les duodénums des deux cas et elle prend la forme cylindrique dans le jéjunum et l'iléon des souris et de forme plus mince et claire chez l'homme [91] (figure 17).

### e. Le gros intestin

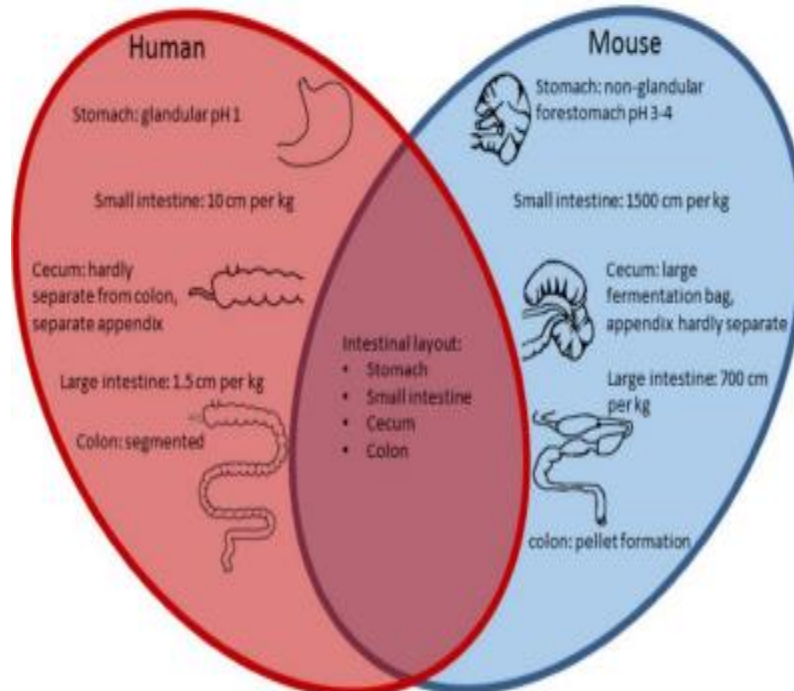
Le gros intestin est divisé en deux : le cæcum (représente un sac de fermentation dans les l'intestin des souris) et le colon (le colon humain est segmenté par contre celui de la souris est lisse) [91] (figure 17).

### f. La couche du mucus

C'est la barrière entre les bactéries et l'hôte sa modification entraîne des maladies intestinales. Sa croissance est plus élevée dans le colon de l'homme que dans celui des souris et plus épaisse chez l'homme que chez la souris. De plus la capacité de pénétration du mucus était similaire dans les deux cas celle-là était confirmé en utilisant des billes fluorescentes qui ont été capable de pénétrer que 40 % de la couche [91].

### g. D'autres différences

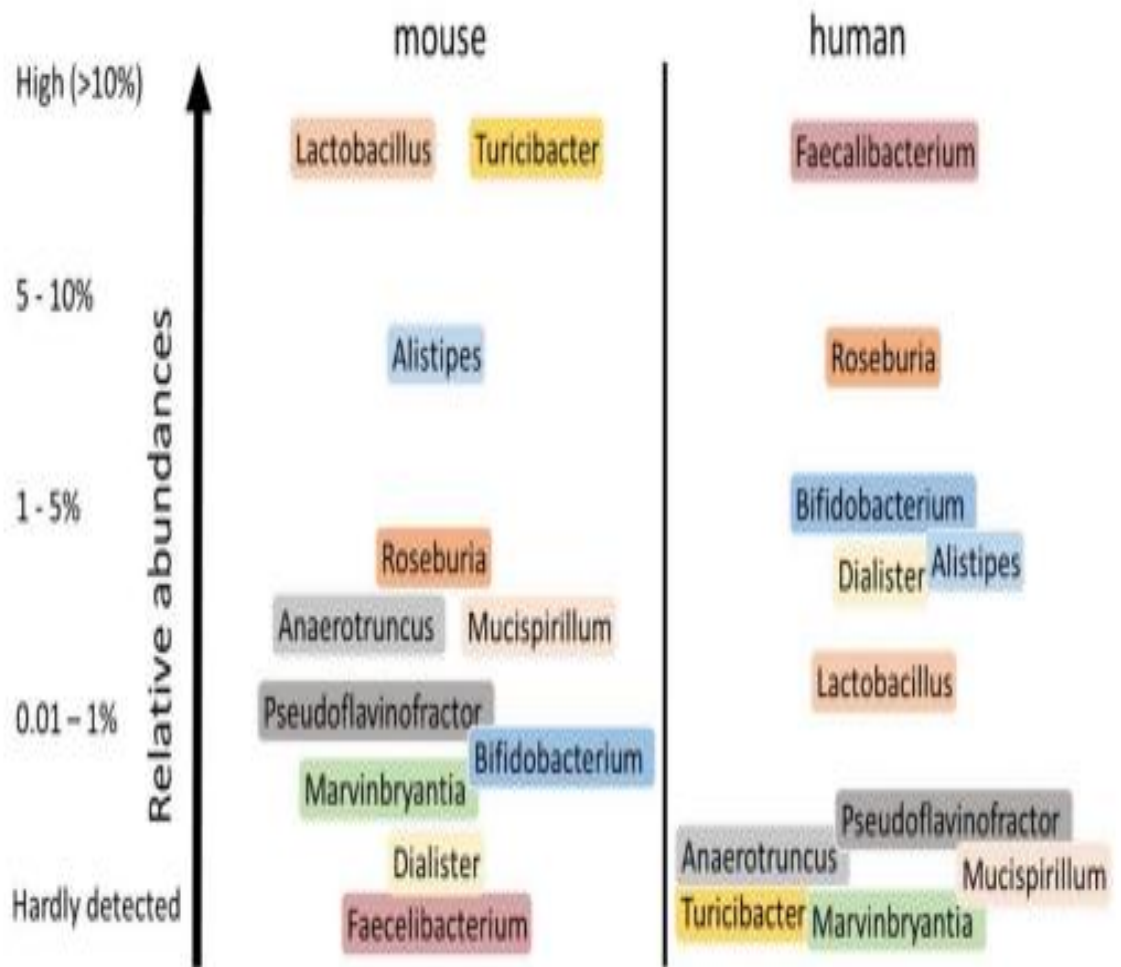
Les besoins énergiques des souris sont plus élevés que celle de l'homme. Ainsi que la coprophagie était toujours considérée comme différence entre l'homme et les souris. A partir de cette dernière les souris recyclent leurs microbiote en veillant que certains vitamine et acide gras à chaîne courte ne soient pas perdu par la dé-faction [91].



**Figure. 17.** Comparaison des caractéristiques du tractus intestinal chez l'homme et la souris [72].

## 10. Microbiote humain vs souris

En examinant le microbiote intestinal de l'homme et des souris, les chercheurs ont trouvé deux principaux phylums similaires : les *Firmicutes* et les *Bacteroidetes*, et le phylum *Deferribacteres* (*Mucispirillum*) en grande quantité dans la couche mucus des souris et en quantité infirme dans l'estomac de l'homme. D'après une analyse récente ils ont confirmé la présence des SFB (des *Firmicutes* avec une morphologie inhabituelle) aussi appelées *Candidatus arthromitus* chez les innés. Une autre étude basée sur la composition phylogénétique de 16 sujets humains, trois lignées de souris et des données métagénomiques a montré que leur microbiote se ressemble mais quantitativement différent, où les souris présentent des *Faecalibacterium* en quantité à peine détectable par contre chez l'homme se trouve en grande quantité. Les *Lactobacillus* les *Turicibacter* sont en grande quantité chez la souris par contre chez l'homme les *Lactobacillus* se présentent en quantité infirme et des *Turicibacter* à peine détectable. Des *Roseburia* étaient en quantité moyenne chez l'homme et en quantité infirme chez la souris. Des *Alistipes* en quantité moyenne chez la souris et en quantité infirme chez l'homme. Des *Anaerotruncus*, des *Mucispirillum* et des *Pseudoflavinofractor* en quantité moyenne chez la souris et qui sont à peine détectables chez l'homme. En comparant aussi les *Bifidobacterium* et les *Dialister* ils ont trouvé que ces derniers sont en quantité moyenne chez l'homme par contre chez la souris sont à peine détectable. En dernier les *Marvinbryantia* sont en quantité à peine détectable dans les deux cas [91].



**Figure. 18.** Principaux genres des bactéries intestinaux humains et murins [91].

# **Matériel et méthodes**

## 1. Animaux d'expérience

Cette étude a été réalisée sur vingt-deux (22) souris mâles du genre *Mus musculus* âgées de trois mois, dont le poids varie de 36 à 45 g. Ces souris sont élevées à l'animalerie de la faculté SNV située à Chaab El Resas dans des cages avec accès libre à la nourriture et à l'eau.

### 1.1. Elevage

Les vingt-deux souris ont été placées dans un environnement protégé à l'abri des bruits. Une pièce à température ambiante 25 °C car la température trop élevée peut être l'origine de la mort de certains animaux. La pièce est munie d'un système de ventilation qui a pour but d'amener de l'air, réduire les odeurs, les gaz toxiques, la poussière, la chaleur et l'humidité.

## 2. Aliment standard des souris

L'aliment standard est composé de maïs qui est un anti-diarrhéique, tourteaux de soja, issues de meunerie calcaire, phosphates et de complément alimentaire vitaminé pour améliorer la reproduction. Il est caractérisé par sa forme compacte qui empêche le rongeur de trier donc ce qui assure son équilibre alimentaire. Ainsi qu'il est considéré comme une source de protéines, de lipides et de calcium (tableau 3).

L'aliment standard des souris est conservé dans des sacs polypropylène tissés et stocké dans un placard à température ambiante (20 – 25 °C). Ces aliments peuvent être contaminés par des bactéries. Parmi les bactéries responsables de la toxi-infection alimentaire, on a les *salmonelles*, les *staphylocoques*, les *Clostridium* et les bactéries du groupe *Bacillus cereus* [92].

**Tableau. 3.** Composition de l'aliment standard des souris (d'après GAE/ORAVIE).

Nom des composés
Maïs
Tourteaux de soja.
Issues de meunerie calcaire.
Phosphates
CMV (complément alimentaire vitaminé)

Note : Les pourcentages ne sont pas indiqués sur les étiquettes.

### 3. Matériel végétal

#### 3.1. Site et condition d'échantillonnage

L'aliment d'étude (arilles) des « *Punica granatum* » provient de la région Izmir ville à l'Ouest de la Turquie au bord de la mer Égée récolté au mois de décembre 2021.

### 4. Méthode d'analyse de l'aliment d'étude

#### 4.1. L'Aliment d'étude (arilles des grenades)

Les grenades n'avaient ni de blessures ni de dommages. Les parties externes ont été lavées à l'eau du robinet pour éliminer les résidus. Les arilles des grenades ont été séparées manuellement du reste du fruit puis emballées dans des sachets de congélation et conservées au congélateur à - 18 °C.

Les arilles ont été soigneusement transportées dans une glacière au laboratoire, où ils ont été pesées sur une balance analytique puis séchées dans l'étuve à 55 °C avec la portière semi ouverte pendant six jours. Les arilles ont été broyées à l'aide d'un moulin à café aseptisé avec de l'eau de javel (tableau n° 4).

**Tableau. 4.** Poids des arilles avant et après séchage.

Poids des arilles avant séchage	Poids des arilles après séchage	Perte d'eau au cours du séchage
2055 g (100 %)	378 g (18,39 %)	81,61 %

#### 4.2. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité des arilles du grenadier

##### a. Définition de la matière sèche

La matière sèche (MS) est obtenue lorsqu'on retire l'eau d'un produit dans l'étuve à 105 °C pendant 24 h [93].

##### b. Définition du taux d'humidité

C'est la quantité d'eau perdue lors d'un chauffage à 105 °C pendant 24 h [94].

##### • Mode opératoire

On effectue 3 répétitions avec 2 g (Pi, poids initial) dans l'étuve à 105 °C pendant 24 h, on met ensuite l'échantillon dans le dessiccateur pour ramener sa température à la température ambiante, sans qu'il absorbe de l'humidité. On pèse l'échantillon sec (Pf, Poids final).

- Expression des résultats

On calcule la différence du poids avant et après séchage pour avoir la teneur en matière sèche et en eau.

$$Q_E = P_i - P_f$$

$P_i$  = poids initial.

$P_f$  = poids final.

$Q_E$  = quantité d'eau perdue.

$$\% \text{ MS} = \% P_i - \% Q_E$$

#### **4.3. Préparation de l'aliment d'étude**

Les arilles ont été mises dans un hachoir aseptisé à fin d'obtenir une texture en poudre.

### **5. Méthode d'analyse de l'aliment standard**

#### **5.1. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité de l'aliment standard**

- **Mode opératoire**

On effectue 3 répétitions avec 2 g ( $P_i$ , poids initial) dans l'étuve à 105 °C pendant 24 h, on met ensuite l'échantillon dans le dessiccateur pour ramener sa température à la température ambiante, sans qu'il absorbe de l'humidité. On pèse l'échantillon sec ( $P_f$ , Poids final).

##### **5.1.1. Préparation de l'aliment standard**

L'aliment standard a subi un broyage à l'aide d'un hachoir aseptisé suivis d'un passage dans un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une texture en poudre.

### **6. Préparations des granulés**

L'aliment standard a été mélangé avec l'aliment d'étude selon les proportions suivantes dans des boîtes étiquetées (tableau 5):



**Tableau. 5.** Proportions des mélanges (aliment standard + aliment d'étude).

<b>Boites</b>	<b>Aliment standard (g) (MS = 85 %)</b>	<b>Aliment d'étude (g) (MS = 88.5 %)</b>
<b>1</b>	<b>100</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	<b>98.88</b>	<b>1.12</b>
<b>3</b>	<b>94.36</b>	<b>5.64</b>
<b>4</b>	<b>88.71</b>	<b>11.29</b>
<b>5</b>	<b>83.06</b>	<b>16.94</b>

Ensuite l'eau distillée a été additionnée au mélange précédent (aliment standard + aliment d'étude) pour obtenir une pâte homogène.

Chaque échantillon est mis dans un hachoir à datte manuel aseptisé pour avoir la forme des granulés. Ensuite ces derniers ont été séchés dans des plateaux étiquetés dans l'étuve à 55 °C pendant 72 h.

Les granulés séchés ont été conservés à température ambiante dans des boîtes étiquetées avec la date de préparation et le pourcentage de l'aliment d'étude (voir figure 19).



**Figure. 19.** Aliment standard mélangé aux fruits de grenadier avec différents pourcentages sous forme de granulés.

## 7. Traitement et adaptation des souris

Durant la période expérimentale, les souris ont été traitées avec les granulés préparés pendant 15 jours. Les souris de chaque cage ont pris quatre jours pour terminer la quantité d'aliment mise à consommer. Puis elles se sont adaptées à consommer leur aliment en 2 à 3 jours maximum, sachant que naturellement le régime alimentaire de la souris est de 5 grammes par jour.

Les souris sont réparties dans les cages en deux lots comme suit :

**Lot 1 (contient six souris) :** TL 1 (cage témoin lot 1) : 100 % aliment standard.

**Lot 2 (chaque cage contient quatre souris) :**

AL 2 (cage A lot 2) : contient 1% d'aliment d'étude et 99 % d'aliment standard.

BL 2 (cage B lot 2) : contient 5 % d'aliment d'étude et 95 % d'aliment standard.

CL 2 (cage C lot 2) : contient 10 % d'aliment d'étude et 90 % d'aliment standard.

DL 2 (cage D lot 2) : contient 15 % d'aliment d'étude et 85 % d'aliment standard.

## 8. Etude microbiologique

### 8.1. Préparation de l'eau physiologique

Dans 1 L d'eau distillé 9 g de NaCl ont été dilués et agités avec un agitateur magnétique pendant 15 min.

L'eau physiologique a été répartie dans 38 tubes à essai puis une stérilisation a été effectuée avec un autoclave pendant 20 min à 120 ° C.

### 8.2. Isolement et dénombrement de la flore fécale

La flore intestinale des souris ou des autres mammifères est riche en bactéries à effets bénéfiques et à effets néfastes. Les effets néfastes sont présents lorsque les conditions sont défavorables. Ce présent travail s'est focalisé sur la recherche de la diversité de la flore intestinale implantée essentiellement au niveau rectal. Cette étude est réalisée sur les selles fraîches des souris en bonne santé traitées par un aliment naturel « *Punica granatum* » mélangé à l'aliment industriel standard des souris sous forme de granulés.

#### 8.2.1. Prélèvement des fèces

Dans un premier temps les fèces de toutes souris de tous les lots ont été prélevées et introduites dans des tubes à essai qui contiennent 10 ml d'eau physiologique.

Dans un deuxième temps un autre prélèvement a été effectué à la fin de l'expérience (Après quinze Jours).

Les souris ont été identifiées ainsi que les tubes de la façon suivante (tableau 6) :

**Tableau. 6.** Identification des tubes et des lames de microscope. (Les lettres A, B, C, D, T : indiquent les cages A, B, C, D, T. La lettre S : indique souris. Les chiffres 1, 2, 3, 4, 5, 6 : indiquent les numéros de souris et des tubes).

numéros de souris et des tubes	Premier prélèvement avant traitement	Deuxième prélèvement après traitement
	La Date du prélèvement : 17/05/2022	La Date du prélèvement : 31 /05/2022
1	AS1	AS1
2	AS2	AS2
3	AS3	AS3
4	AS4	AS4
5	BS1	BS1
6	BS2	BS2
7	BS3	BS3
8	BS4	BS4
9	CS1	CS1
10	CS2	CS2
11	CS3	CS3
12	CS4	CS4
13	DS1	DS1
14	DS2	DS2
15	DS3	DS3
16	DS4	DS4
17	TS1	TS1

18	TS2	TS2
19	TS3	TS3
20	TS4	TS4
21	TS5	TS5
22	TS6	TS6

### 8.2.2. Préparation et fixation des frottis

Le frottis est réalisé à partir d'un étalement d'une goutte de la suspension agitée sur la lame puis séchée à 15 cm de haut de la flamme du bec bunsen. Le dépôt est fixé afin de tuer les micro-organismes tout en permettant une bonne accroche sur la lame, par la suite il est soumis à la coloration de Gram des anaérobies selon Kopeloff (tableau 6). Tous les frottis ont été effectués en trois répliques, à la fin le nombre total des lames est 126 lames fixées.

Les lames ont été identifiées selon le tableau suivant (tableau 7) :

**Tableau. 7.** Identification des lames. (Les lettres A, B, C, D, T : indiquent les cages A, B, C, D, T. Les lettres S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> : indiquent les numéros de souris. Les chiffres 1, 2, 3, 4, 5, 6 : indiquent les numéros de lames).

code des lames	Nombre de lames	code d'aliment
T1S <sub>1</sub>	1	100 % aliment standard
T2S <sub>1</sub>	2	
T3S <sub>1</sub>	3	
T1S <sub>2</sub>	4	
T2S <sub>2</sub>	5	
T3S <sub>2</sub>	6	
T1S <sub>3</sub>	7	
T2S <sub>3</sub>	8	
T3S <sub>3</sub>	9	
T1S <sub>4</sub>	10	
T2S <sub>4</sub>	11	
T3S <sub>4</sub>	12	
T1S <sub>5</sub>	13	
T2S <sub>5</sub>	14	
T3S <sub>5</sub>	15	
T1S <sub>6</sub>	16	
T2S <sub>6</sub>	17	
T3S <sub>6</sub>	18	
A1S <sub>1</sub>	19	1 % fruit 99 % aliment standard
A2S <sub>1</sub>	20	
A3S <sub>1</sub>	21	
A1S <sub>2</sub>	22	

A2S <sub>2</sub>	23		
A3S <sub>2</sub>	24		
A1S <sub>3</sub>	25		
A2S <sub>3</sub>	26		
A3S <sub>3</sub>	27		
A1S <sub>4</sub>	28		
A2S <sub>4</sub>	29		
A3S <sub>4</sub>	30		
B1S <sub>1</sub>	31	5 % fruit 95 % aliment standard	
B2S <sub>1</sub>	32		
B3S <sub>1</sub>	33		
B1S <sub>2</sub>	34		
B2S <sub>2</sub>	35		
B3S <sub>2</sub>	36		
B1S <sub>3</sub>	37		
B2S <sub>3</sub>	38		
B3S <sub>3</sub>	39		
B1S <sub>4</sub>	40		
B2S <sub>4</sub>	41		
B3S <sub>4</sub>	42		
C1S <sub>1</sub>	43		10 % fruit 90 % aliment standard
C2S <sub>1</sub>	44		
C3S <sub>1</sub>	45		
C1S <sub>2</sub>	46		
C2S <sub>2</sub>	47		
C3S <sub>2</sub>	48		
C1S <sub>3</sub>	49		
C2S <sub>3</sub>	50		
C3S <sub>3</sub>	51		
C1S <sub>4</sub>	52		
C2S <sub>4</sub>	53		
C3S <sub>4</sub>	54		
D1S <sub>1</sub>	55	15 % fruit 85 % aliment standard	
D2S <sub>1</sub>	56		
D3S <sub>1</sub>	57		
D1S <sub>2</sub>	58		
D2S <sub>2</sub>	59		
D3S <sub>2</sub>	60		
D1S <sub>3</sub>	61		
D2S <sub>3</sub>	62		
D3S <sub>3</sub>	63		
D1S <sub>4</sub>	64		
D2S <sub>4</sub>	65		
D3S <sub>4</sub>	66		

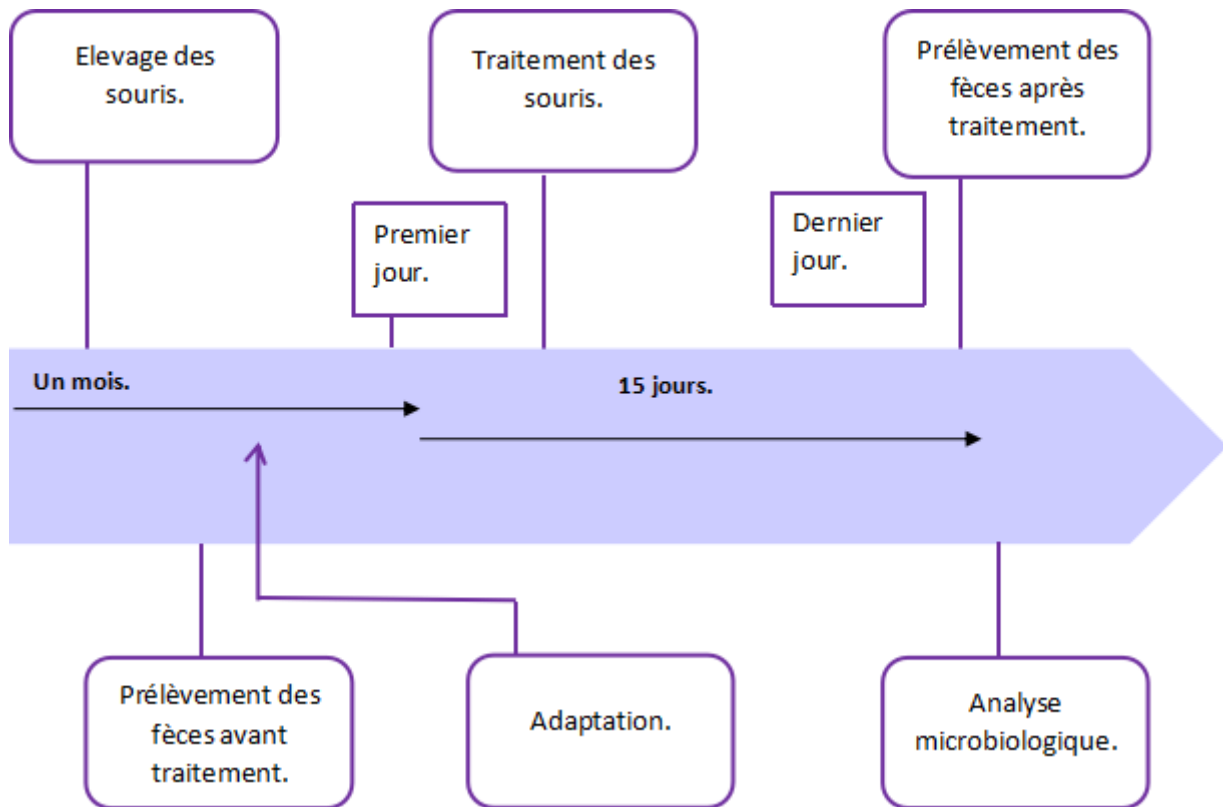


Figure. 20. Schéma d'expérimentation.

### 8.3. Coloration de Gram

La coloration de Gram pour bactéries anaérobies est faite selon Kopeloff (tableau 8) [95].

**Tableau. 8.** Coloration de Gram pour bactéries anaérobies selon Kopeloff.

Réactifs utilisés	Procédure de coloration
Cristal violet alcalin	1-On fait agir le cristal violet pendant 1 minute. 2- On rince à l'eau de robinet pendant 2 à 3 secondes.
Solution Lugol	3-On couvre avec la solution du mordant 1 minute. 4- On rince à l'eau de robinet pendant 2 à 3 secondes. 5-On éponge l'eau avec un buvard propre.
Solution décolorant : Éthanol/Acétone	6-On décolore au maximum pendant 15-20 secondes. 7-On rince à l'eau immédiatement. 8- On éponge l'eau en excès.
Solution de contre-colorant : Fushine	9-On recouvre avec la solution de contre colorant pendant 1 minute. 10-On rince puis on sèche avant d'examiner le résultat.

### 8.4. Observation microscopique

L'observation microscopique des frottis de fèces est faite afin de déterminer la flore intestinale et observer les bactéries obtenues ou perdues après traitement par le fruit du grenadier. Une analyse morphologique est faite en balayant dix champs microscopiques au grossissement (10 x 100). Les bactéries Gram négatif apparaissent roses tandis que les bactéries Gram positif sont bleu foncé /violet.

Le type de Gram (+/-), le pourcentage de chaque forme, le nombre de bactérie ayant une forme particulière est défini par rapport au nombre total de bactéries présentes par champ.

**9. Etude statistique**

La moyenne de chaque groupe de bactérie, l'écart-type, le maximum, le minimum et le coefficient de variation ainsi que la comparaison des moyennes pour évaluer l'effet du traitement par les fruits de grenadier, ont été calculés en utilisant le logiciel SAS (Statistical Analysis System). Les moyennes ont été comparées en utilisant le test de Student-Keuls, pour un seuil de significativité inférieur ou égal à 0.05.



## **Résultats et discussion**

### 1. Poids des souris avant et après traitement

Les souris ont été pesées avant et après le traitement (tableaux 9 et 10).

Le poids moyen de l'ensemble des souris avant l'expérience était de 36,87 g, après l'expérience il était de 38,65 g avec une différence moyenne de poids qui égale à  $+1,77 \text{ g} \pm 0,06$ .

**Tableau. 9.** Poids des souris (en g) avant et après traitement (Les lettres A, B, C, D, T : indiquent les cages A, B, C, D, T. La lettre S : indique souris. Les chiffres 1, 2, 3, 4, 5, 6 : indiquent les numéros de souris).

Numéro de souris	Poids des souris avant traitement (g)	Poids des souris après traitement (g)	Différence des poids avant et après traitement (g)
1	AS1 = 32	AS1 = 33,5	1,5
2	AS2 = 37	AS2 = 37,8	0,8
3	AS3 = 36	AS3 = 36,6	0,6
4	AS4 = 36	AS4 = 37,7	1,7
5	BS1 = 35	BS1 = 36,3	1,3
6	BS2 = 35	BS2 = 37,3	2,3
7	BS3 = 36	BS3 = 38,5	2,5
8	BS4 = 34	BS4 = 36,1	2,1
9	CS1 = 43	CS1 = 45	2
10	CS2 = 37	CS2 = 39	2
11	CS3 = 39	CS3 = 41	2
12	CS4 = 40	CS4 = 41	1
13	DS1 = 41	DS1 = 43,4	2,4
14	DS2 = 40	DS2 = 42	2
15	DS3 = 31	DS3 = 32,2	1,2
16	DS4 = 38	DS4 = 41	3
moyenne	36,87	38,65	1,77
Ecart type	3.11	3.33	0,06

**Tableau. 10.** Poids des souris (g) témoins sans traitement. (Pour les abréviations voir tableau 9)

1	TS1 = 37,2
2	TS2 = 37
3	TS3 = 38
4	TS4 = 39,5
5	TS5 = 40
6	TS6 = 37,2

## 2. Profils bactériens initiaux (sans ajout de fruits de grenadier)

Nos résultats montrent qu'au départ de notre expérience, avec l'aliment standard, les souris présentaient le profil bactérien révélé par la coloration de Gram adaptée aux bactéries anaérobies, présenté au tableau n° 11. Ce tableau montre que :

- a) Les cocci G+ varient d'un minimum de 0 à un maximum de 201 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 26,41, un écart type de 1,77 et un coefficient de variation de 99,44 %.
- b) Les bacilles G+ varient d'un minimum de 5 à un maximum de 250 cellules par champ microscopique et une moyenne de 74.55 avec un écart type de 2.99 ainsi qu'un coefficient de variation de 59.60 %.
- c) Les bactéries incurvées G+ varient d'un minimum de 0 à un maximum de 7 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 1.16, un écart type de 0.09 et un coefficient de variation de 118.74 %.
- d) Les cocci G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 127 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 17, un écart type de 1.39 et un coefficient de variation de 122.05 %.
- e) Les bacilles G- varient d'un minimum de 6 à un maximum de 196 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 54.58, un écart type de 2.57 et un coefficient de variation de 70.04 %.
- f) Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 6 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 1, un écart type de 0.08 ainsi qu'un coefficient de variation de 141.21 %.
- g) Le rapport cocci G+, bacilles G+ débute d'un minimum de 0 à un maximum de 6.63 avec une moyenne de 1(égalité), un écart type de 0.04 et un coefficient de variation de 141.36 %.

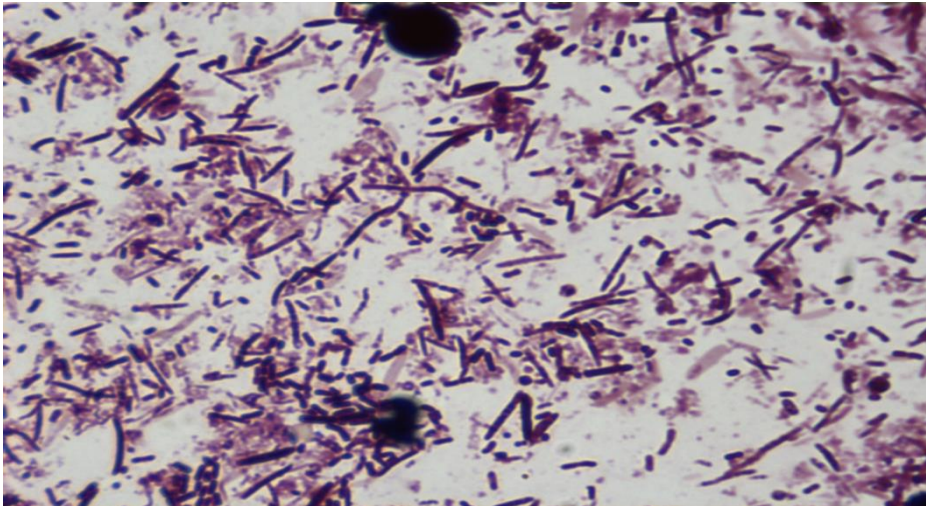
h) Le rapport cocci G-/bacilles G- varie d'un minimum de 0 à un maximum de 3.05 avec une moyenne de 0.42, un écart type de 0.03 et un coefficient de variation de 117.47 %.

i) Le rapport cocci G+/cocci G- varie d'un minimum de 0 à un maximum de 15.50, pour une moyenne de 2.33, un écart type de 0.16 et un coefficient de variation de 103.13 %.

j) Le rapport bacilles G+/bacilles G- possède une moyenne de 2.26. Ce rapport varie d'un minimum de 0.09 à un maximum de 15.16, un écart type de 0.16 ainsi qu'un coefficient de variation de 105.64 %.

**Tableau. 11. Profil bactérien avant traitement (100 % aliment standard).** CocGp = cocci Gram positif. BacGp = bacilles Gram positif. IncGp = incurvés Gram positif. CocGm = cocci Gram négatif. BacGm = bacilles Gram négatif. IncGm = incurvés Gram négatif. CoP\_baP = cocci Gram positif \_ bacilles Gram positif. CoM\_baM = cocci Gram négatif \_ bacilles Gram négatif. CoP\_coM = cocci Gram positif \_ cocci Gram négatif. BaP\_baM = bacilles Gram positif \_ bacilles Gram négatif.

variable	N	moyenne	minimum	maximum	écart type	coefficient de variance
cocGp	220	26,41	0	201	1,77	99,44
bacGp	220	74,55	5	250	0,99	59,6
incGp	220	1,16	0	7	0,09	118,74
cocGm	220	17	0	127	1,39	122,05
bacGm	220	54,58	6	196	2,57	70,04
incGm	220	1	0	6	0,08	141,25
coP_baP	220	1	0	6,63	0,04	141,36
coM_baM	220	0,42	0	3,05	0,03	117,47
coP_coM	207	2,33	0	15,5	0,16	103,13
baP_baM	220	2,26	0,09	15,16	0,16	105,64



**Figure. 21.** Observation microscopique de coloration de Gram avant traitement (100 % aliment standard).

### 3. Profils bactériens après ajout de 1 % de fruits de grenadier

L'introduction de 1 % de fruits de grenadier dans l'alimentation normale des souris a modifié les profils bactériens comme le montre le tableau n° 12. Ce tableau montre que :

- a) Les cocci G+ varient d'un minimum de 10 à un maximum de 100 cellules par champ microscopique avec moyenne de 27.90, un écart type de 3.56 et un coefficient de variation de 80.91 %.
- b) Les bacilles G+ varient d'un minimum de 20 à un maximum de 250 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 92.22, un écart type de 8.68 et un coefficient de variation de 59.52 %.
- c) Les bactéries incurvées G+ débutent d'un minimum de 0 à un maximum de 3 cellules par champ microscopique avec une moyenne de 0.12, un écart type de 0.08 et un coefficient de variation de 412.62 %.
- d) Les cocci G- varient d'un minimum 0 à un maximum de 33 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 6.05, un écart type de 0.96 et un coefficient de variation de 100.85 %.
- e) Les bacilles G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 40 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 12.32, un écart type de 1.45 et un coefficient de variation de 74.75 %.
- f) Les bactéries incurvées G- divers de 0 à 7 cellules par champ microscopique, ont une moyenne de 1.20, un écart type de 0.24. Le coefficient de variation est de 129.64 %.

**g)** Le rapport cocci G+/bacilles G+ varie d'un minimum de 0.10 à un maximum de 1, avec une moyenne de 0.32, un écart type de 0.02 et un coefficient de variation de 52.45 %.

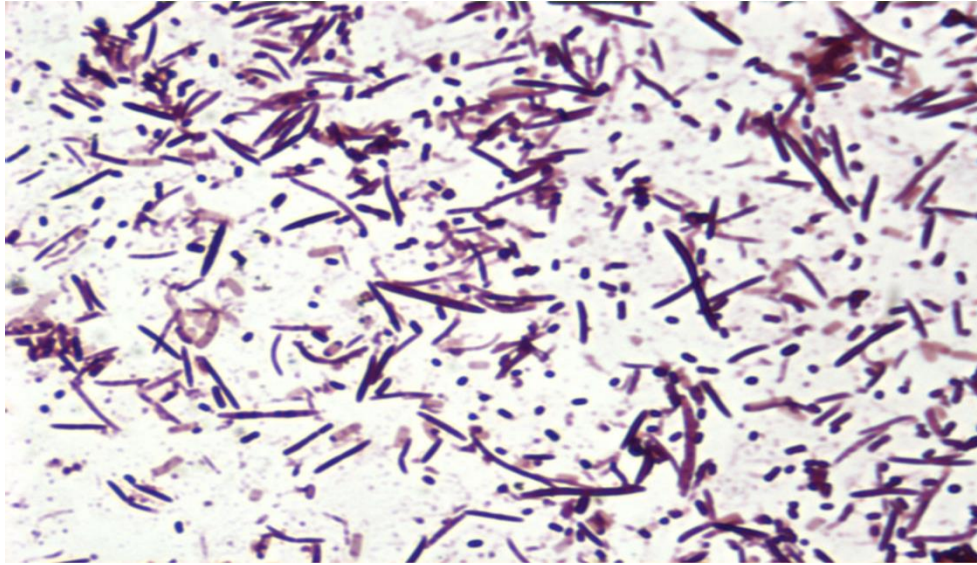
**h)** Le rapport cocci G+, bacilles G- débute d'un minimum de 0 à un maximum de 1.50, pour une moyenne de 1 et un écart type de 0.05. Le coefficient de variation est de 70.74 %.

**i)** Le rapport cocci G+/cocci G- varie entre 1 et 15. Ce rapport a une moyenne de 4.86, un écart type égale à 0.56 et un coefficient de variation de 67.45 %.

**j)** Le rapport bacilles G+/bacilles G- varie d'un minimum de 2.06 à un maximum de 24, pour une moyenne de 9.29, un écart type de 0.95 et un coefficient de variance de 64 % dont la moyenne 9.29 varie de plus de 64 % ou de moins de 64 %.

**Tableau. 12.** Profil bactérien après ajout de 1% de fruits de grenadier. (Pour les abréviations voir tableau 11)

variable	N	moyenne	minimum	Maximum	écart type	coefficient de variance
cocGp	40	27,9	10	100	3,56	80,91
bacGp	40	92,22	20	250	8,68	59,52
incGp	40	0,12	0	3	0,08	412,62
cocGm	40	6,05	0	33	0,96	100,85
bacGm	40	12,32	0	40	1,45	74,75
incGm	40	1,2	0	7	0,24	129,64
coP_baP	40	0,32	0,1	1	0,02	52,45
coM_baM	39	1	0	1,5	0,05	70,74
coP_coM	34	4,86	1	15	0,56	67,45
baP_baM	39	9,29	2,06	24	0,95	64



**Figure. 22.** Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 1 % des fruits de grenadier.

#### 4. Profils bactériens après ajout de 5 % de fruits de grenadier

L'introduction de 5 % de fruits de grenadier dans l'alimentation normale des souris a modifié les profils bactériens comme le montre le tableau n° 13. Ce tableau montre que :

- a) Les cocci G+ varient entre 0 et 27 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 13.40, un écart type de 0.88 et un coefficient de variation de 41.69 %.
- b) Les bacilles G+ divers d'un minimum de 17 à un maximum de 230 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 85.45, un écart type de 7.22 et un coefficient de variation de 53.46 %.
- c) Les bactéries incurvées G+ présentent une moyenne de 0.30 cellules par champ microscopique et varient d'un minimum de 0 à un maximum de 3, un écart type de 0.10 et un coefficient de variation de 228.95 %.
- d) Les cocci G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 14 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 3.97, un écart type de 0.65 et un coefficient de variation de 103.72 %
- e) Les bacilles G- varient d'un minimum de 1 à un maximum de 23 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 10.90, un écart type de 0.89 et un coefficient de variation de 51.88 %.

f) Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 13 cellules par champ microscopique avec une moyenne de 3.45, un écart type de 0.49 et un coefficient de variation de 90.70 %.

g) Le rapport cocci G+/bacilles G+ divers d'un minimum de 0 à un maximum de 1 et avec une moyenne de 0.22, un écart type de 0.03 et un coefficient de variation de 97.47 %.

h) Le rapport cocci G-/bacilles G- possède une moyenne de 0.46 et varient d'un minimum de 0 à un maximum de 1.80 avec un écart type de 0.08 et un coefficient de variation de 112.34 %.

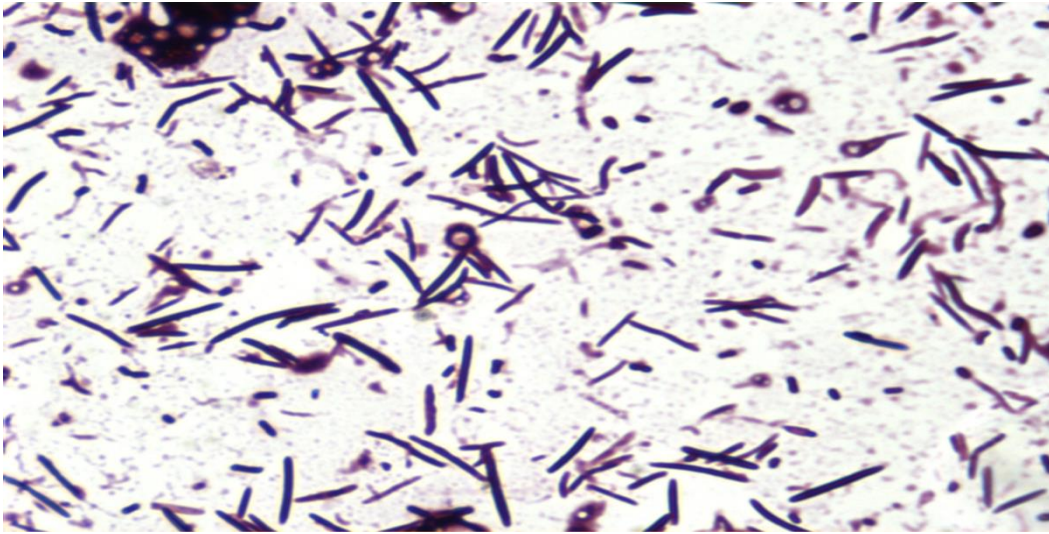
i) Le rapport cocci G+/cocci G- varie entre 0.42 et 16, avec une moyenne de 3.33, un écart type de 0.62 et un coefficient de variation de 94.17 %.

j) Le rapport bacilles G+/bacilles G- débute d'un minimum de 0.95 à un maximum de 70.7, une moyenne de 10.80, un écart type de 1.80 et un coefficient de variation de 105.56 %.

**Tableau. 13.** Profil bactérien après ajout de 5 % de fruits de grenadier. (Pour les abréviations voir tableau 11)

variable	N	moyenne	minimum	Maximum	écart type	coefficient de variance
cocGp	40	13,4	0	27	0,88	41,69
bacGp	40	85,45	17	230	7,22	53,46
incGp	40	0,3	0	3	0,1	228,95
cocGm	40	3,97	0	14	0,65	103,72
bacGm	40	10,9	1	23	0,89	51,88
incGm	40	3,45	0	13	0,49	90,7
coP_baP	40	0,22	0	1	0,03	97,47
coM_baM	40	0,46	0	1,8	0,08	112,34
coP_coM	25	3,33	0,42	16	0,62	94,17
baP_baM	40	10,8	0,95	70	1,8	105,56





**Figure. 23.** Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 5% des fruits de grenadier.

### **5. Profils bactériens après ajout de 10 % de fruits de grenadier**

L'introduction de 10 % de fruits de grenadier dans l'alimentation normale des souris a modifié les profils bactériens comme le montre le tableau n° 14. Ce tableau montre que :

- a)** Les cocci G+ divers d'un minimum de 0 à un maximum de 13 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 8.55, un écart type de 0.81 et un coefficient de variation de 59.98 %.
- b)** Les bacilles G+ varient d'un minimum de 15 à un maximum de 100 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 56.60, un écart type de 3.32 et un coefficient de variation de 37.11 %
- c)** Les bactéries incurvées G+ varient entre 0 à 1 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 0.12, un écart type de 0.05 et un coefficient de variation de 267.94 %.
- d)** Les cocci G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 14 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 3.40, un écart type de 0.54 ainsi qu'un coefficient de variation de 103.72 %.
- e)** Les bacilles G- divers d'un minimum de 0 à un maximum de 20 cellules par champ microscopique. La moyenne de ces derniers est de 8.20 avec un écart type de 0.83 et un coefficient de variation de 64.71 %.

f) Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 10 cellules par champ microscopique avec une moyenne de 1.52, un écart type de 0.33 ainsi qu'un coefficient de variation de 137.69 %.

g) Le rapport cocci G+/bacilles G+ varie entre 0 et 1.46, pour une moyenne de 0.18, un écart type de 0.03 et un coefficient de variation de 123.19 %.

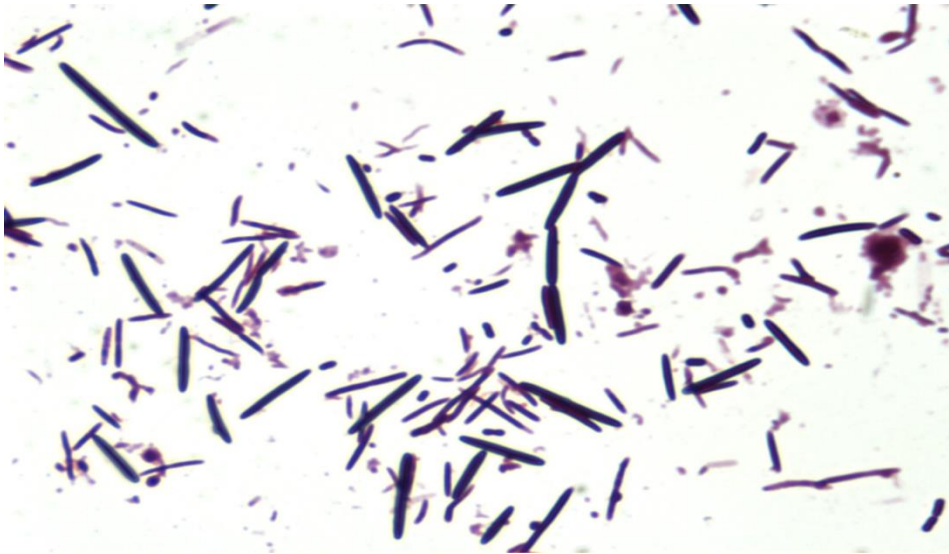
h) Le rapport cocci G-/bacilles G- varie d'un minimum de 0 à un maximum de 3.33, avec une moyenne de 0.52, un écart type de 0.10 et un coefficient de variation de 127.67 %.

i) Le rapport cocci G+/cocci G- varie de 0 à 22, avec une moyenne de 2.75, un écart type de 0.77 et un coefficient de variation de 146.38 %.

j) Le rapport bacilles G+/bacilles G- possède une moyenne de 10.52 et varie d'un minimum de 2.20 à un maximum de 55 avec un écart type de 1.51 et un coefficient de variation de 89.72 %.

**Tableau. 14.** Profil bactérien avec ajout de 10 % de fruits de grenadier. (Pour les abréviations voir tableau 11)

variable	N	moyenne	minimum	maximum	écart type	coefficient de variance
cocGp	40	8,55	0	23	0,81	59,98
bacGp	40	56,6	15	100	3,32	37,11
incGp	40	0,12	0	1	0,05	267,94
cocGm	40	3,4	0	14	0,54	100,96
bacGm	40	8,2	0	20	0,83	64,71
incGm	40	1,52	0	10	0,33	137,69
coP_baP	40	0,18	0	1,46	0,03	123,19
coM_baM	39	0,52	0	3,33	0,1	127,67
coP_coM	27	2,75	0	22	0,77	146,38
baP_baM	39	10,52	2,2	55	1,51	89,72



**Figure. 24.** Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 10% des fruits de grenadier.

#### **6. Profils bactériens après ajout de 15 % de fruits de grenadier**

L'introduction de 15 % de fruits de grenadier dans l'alimentation normale des souris a modifié les profils bactériens comme le montre le tableau n° 15. Ce tableau montre que :

- a)** Les cocci G+ varient d'un minimum de 3 à un maximum de 40 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 16.67, un écart type de 1.41 et un coefficient de variation de 53.61 %.
- b)** Les bacilles G+ varient d'un minimum de 21 un maximum de 155 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 67.27, un écart type de 5.47 et un coefficient de variation de 51.51 %.
- c)** Les bactéries incurvées G+ divers de 0 à 2 cellules par champ microscopique avec une moyenne de 0.15 et un écart type de 0.07 ainsi qu'un coefficient de variation de 322.03 %.
- d)** Les cocci G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 16 cellules par champ microscopique, leur moyenne est de 5.05, l'écart type de 0.58 ainsi qu'un coefficient de variation de 73.67 %.
- e)** Les bacilles G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 50 cellules par champ microscopique, avec une moyenne de 10.12, un écart type de 1.64 et un coefficient de variation de 102.47 %.

f) Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum de 0 à un maximum de 7 cellules par champ microscopique, pour une moyenne de 1.32, un écart type de 0.25 et un coefficient de variation de 123.70 %.

g) Le rapport cocci G+/bacilles G+ varie d'un minimum de 0.07 à un maximum de 0.66, avec une moyenne de 0.28, un écart type de 0.02 et un coefficient de variation de 53.73 %.

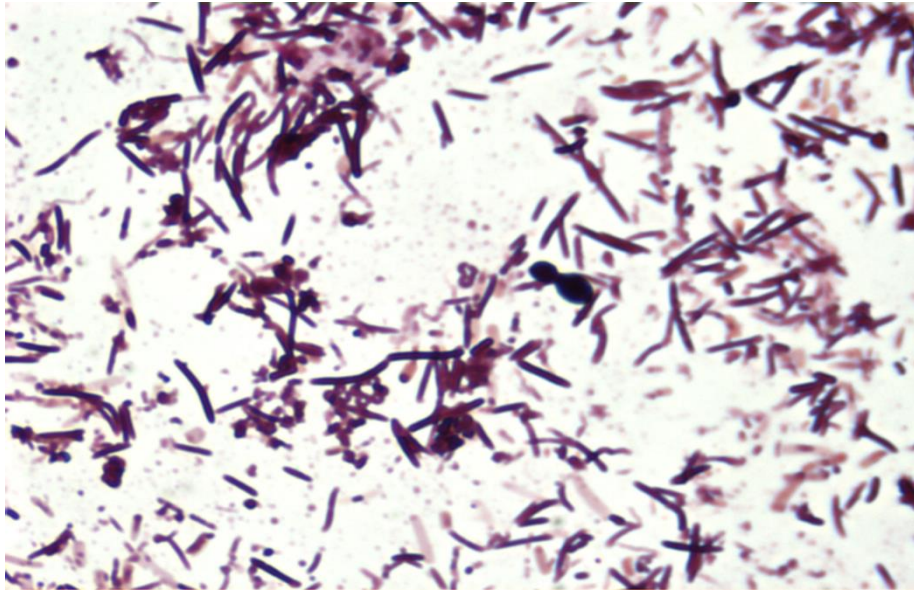
h) Le rapport cocci G-/bacilles G- varie d'un minimum de 0 à un maximum de 2.50, pour une moyenne de 0.69, un écart type de 0.11 ainsi qu'un coefficient de variation de 95.19 %.

i) Le rapport cocci G+/cocci G- peut varier de 0.31 à 10 avec une moyenne de 3.47, un écart type de 0.32 et un coefficient de variation de 54.45 %.

j) Le rapport bacilles G+/bacilles G- varie d'un minimum de 1.30 à un maximum de 38.33, pour une moyenne de 10.78, un écart type de 1.42 et un coefficient de variation de 79.30 %.

**Tableau. 15.** Profil bactérien après ajout de 15 % de fruits de grenadier. (Pour les abréviations voir tableau 11)

variable	N	moyenne	minimum	maximum	écart type	coefficient de variance
cocGp	40	16,67	3	40	1,41	53,61
bacGp	40	67,27	21	155	5,47	51,51
incGp	40	0,15	0	2	0,07	322,03
cocGm	40	5,05	0	16	0,58	73,67
bacGm	40	10,12	0	0	1,64	102,47
incGm	40	1,32	0	7	0,25	123,7
coP_baP	40	0,28	0,07	0,66	0,02	53,73
coM_baM	36	0,69	0	2,5	0,11	95,19
coP_coM	34	3,47	0,31	10	0,32	54,45
baP_baM	36	10,78	1,3	38,33	1,42	79,3



**Figure. 25.** Observation microscopique de coloration de Gram après ajout de 15% des fruits de grenadier.

### **7. Effet du traitement sur les profils bactériens**

L'analyse statistique de l'effet du traitement avec différents pourcentages de fruits de grenadier sur la flore fécale des souris, montre que les groupes bactériens sont affectés différemment (tableau n° 16).

**Tableau. 16.** Effet du traitement (avec 0 %, 1 %, 5 %, 10 %, 15 %) sur les profils bactériens. (Pour les abréviations voir tableau 11)

Traitement	Coccis G+	Bacilles G+	Incurvés G+	Coccis G-	Bacilles G-	Incurvés G-	Rapport cocG+/BacG+	Rapport cocG-/BacG-	Rapport C BacG+/BacG-	Rapport C CocG+/CocG-
0 %	26.4 <sup>a</sup>	74.5 <sup>abc</sup>	1.16 <sup>a</sup>	17.0 <sup>a</sup>	54.6 <sup>a</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.5 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	2.2 <sup>b</sup>	2.3 <sup>b</sup>
1 %	27.5 <sup>a</sup>	92.2 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	6.0 <sup>b</sup>	12.4 <sup>b</sup>	1.2 <sup>b</sup>	0.3 <sup>ab</sup>	0.5 <sup>a</sup>	9.3 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>
5 %	15.4 <sup>b</sup>	85.4 <sup>ab</sup>	0.30 <sup>b</sup>	3.9 <sup>b</sup>	10.9 <sup>b</sup>	3.4 <sup>a</sup>	0.2 <sup>ab</sup>	0.4 <sup>a</sup>	10.8 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>
10 %	8.5 <sup>b</sup>	56.6 <sup>c</sup>	0.12 <sup>b</sup>	3.4 <sup>b</sup>	8.2 <sup>b</sup>	1.5 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.5 <sup>a</sup>	10.5 <sup>a</sup>	2.8 <sup>b</sup>
15 %	16.6 <sup>b</sup>	67.3 <sup>bc</sup>	0.15 <sup>b</sup>	5.0 <sup>b</sup>	10.1 <sup>b</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.3 <sup>ab</sup>	0.7 <sup>a</sup>	10.7 <sup>a</sup>	3.5 <sup>b</sup>
p	<b>&lt;0.0019</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0019</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0019</b>	<b>&lt;0.0006</b>	<b>&lt;0.07</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
Effet	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Non significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>	<b>Hautement significatif</b>

Note : les moyennes qui comportent des lettres différentes en exposant, sont significativement différentes au seuil de 0.05.

**7.1. Effet du traitement sur les cocci G+.**

Le tableau n° 16, montre que 1 % de fruits de grenadier n'a pas modifié de manière significative le nombre de bactéries fécales après 15 jours d'alimentation. Alors que ce nombre a significativement baissé avec l'ajout de 5, 10 et 15 % de fruits de grenadiers séchés. Donc les cocci G+ sont significativement affectés par le traitement ( $p < 0.0019$ ).

**7.2. Effet du traitement sur les bacilles G+.**

Le tableau n° 16 montre que le nombre des bactéries fécales n'a pas été modifié de manière significative après 15 jours d'alimentation avec différents pourcentages 1, 5, 10 et 15 % de fruits du grenadier. Les bacilles G+ possèdent un ( $p < 0.0001$ ) ce qui signifie qu'ils ont été affectés de manière significative par le traitement.

**7.3. Effet du traitement sur les bactéries incurvées G+.**

D'après le tableau n° 16, les incurvées G+ ont significativement baissé après le traitement avec 1, 5, 10 et 15 % de fruits de grenadier séchés. Avec un  $p < 0.0019$ , les incurvées G+ sont significativement affectées par le traitement.

**7.4. Effet du traitement sur les cocci G-.**

Les résultats du tableau n° 16 montrent qu'après 15 jours de traitement avec différents pourcentages 1, 5, 10, 15 % de fruits de grenadier sèches les cocci G- ont significativement baissés. Ces derniers sont également affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0.0001$ ).

**7.5. Effet du traitement sur les bacilles G-.**

D'après le tableau n° 16, les résultats ont montré que le traitement Avec 1, 5, 10, 15 % de fruits de grenadier séchés sur les bacilles G- a fait le même effet que sur les cocci G- . Donc les bacilles G- sont aussi affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0.0001$ ).

**7.6. Effet du traitement sur les bactéries incurvées G-.**

Les résultats du tableau n° 16 montrent que le traitement de 1, 10, 15 % de fruits de grenadier séchés n'a pas modifié le nombre des incurvées G+ de manière significative alors que le nombre de ces derniers à augmenter avec l'ajout de 5 % de fruits de grenadier séchés. Les incurvées G- sont également significativement affectées ( $p < 0.0019$ ).

**7.7. Effet du traitement sur le rapport cocci G+/bacilles G+**

D'après le tableau n° 16, le rapport cocci G+/bacilles G+ n'a pas été modifié après l'ajout de 1 %, 5 %, 15 % de fruits de grenadier et il a baissé significativement avec l'ajout de 10 % de fruits de grenadier séché. Ce qui montre que le rapport cocci G+/bacilles G+ est significativement affecté par le traitement ( $p < 0.0006$ ).

**7.8. Effet du traitement sur le rapport cocci G-/bacilles G-**

Le rapport cocci G-/bacilles G- est le seul à ne pas être affecté par le traitement avec 1, 5, 10 et 15 % de fruits de grenadier séchés ( $p < 0.07$ ), bien il ait varié du simple (0.4) au double (0.7).

**7.9. Effet du traitement sur le rapport bacilles G+/bacilles G-**

Le tableau n° 16, montre que le rapport bacilles G+/bacilles G- de bactéries fécales après 15 jours d'alimentation a significativement augmenté avec l'ajout de 1, 5, 10 et 15 % de fruits de grenadier séchés. Il est affecté de manière significatif ( $p < 0.0001$ ).

**7.10. Effet du traitement sur le rapport cocci G+/cocci G-**

Les résultats du tableau n° 16, montrent que le traitement avec 5, 10, 15 % de fruits de grenadier n'a pas modifié de manière significative le rapport cocci G+/cocci G- et que l'ajout de 1 % de fruits de grenadiers séchés à augmenter de manière significative ce rapport de 2.3 à 4.8, il est significativement affecté par le traitement ( $p < 0.0001$ ).



# **Conclusion et perspectives**

**Conclusion**

Dans le cadre de ce mémoire notre travail a porté sur l'effet de l'ajout des fruits séchés de grenadier (*Punica granatum*), dans le d'évaluer leurs effets sur la flore intestinale des souris (*Mus musculus*). Nous avons obtenu différents résultats dus à l'effet de traitement avec l'ajout de 1, 5, 10 et 15 % de fruits séchés de grenadier sur le nombre des bactéries cocci Gram positif, bacilles Gram positif, bactéries incurvées Gram positif, cocci Gram négatif, bacilles Gram négatif, bactéries incurvées Gram négatif présents dans la flore fécale, ainsi que sur les rapport cocci G-/bacilles G-, cocci G+/bacilles G+, bacilles G+/bacilles G- et cocci G+/cocci G-.

Ces résultats nécessitent une identification génético-moléculaire qui permettra la détermination des genres et des espèces bactériennes pour évaluer la nature de l'effet des fruits de grenadier séchés sur les bactéries fécales.

**Perspectives :**

Que l'effet de l'ajout des fruits séchés de grenadier à l'alimentation des souris soit positif ou négatif sur les groupes bactériens de la flore intestinale étudiée, nous ne sommes pas en mesure d'évaluer la nature de cet effet, car elle nécessite l'identification des genres et des espèces bactériennes. Les moyens de travail offerts par l'Université de Constantine ne permettent l'identification des bactéries. On ne peut savoir si la modification des profils bactériens est quantitative (diminution ou augmentation du nombre des mêmes genres et espèces) ou qualitative (disparition de certains genres ou espèces). La continuation de cette étude par une évaluation basée sur l'identification génético-moléculaire nous permettra de répondre à ces questions.

## **Références bibliographiques**

Références bibliographiques

- [1] W. Ghnimi, « Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase », PhD Thesis, Université de Lorraine, 2015.
- [2] S. Kada, « Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques », PhD Thesis, 2018.
- [3] S. Hamimed, « Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'Anacyclus pyrethrum L », Université Mentouri Constantine Faculte des Sciences Exactes Departement de Chimie, 2009.
- [4] P. Yagupsky, « Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community », The Pediatric infectious disease journal, vol. 25, no 10, p. 974-976, 2006.
- [5] Y. A. Reguieg, « l'effet de punica granatum sur la flore gastrique ; étude in vitro et in vivo chez le rat », abdelhamid ibn badis, mostganem, 2019. Consulté le : 6 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/13295>
- [6] O. Alhijna et E. habib Bourich, « grenade de beni snous : etude et caracterisation chimique des extraits de pepins,evaluation de l'activité microbiologique », universite de telmcen, 2017. Consulté le : 13 avril 2022. [En ligne]. Disponible sur : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/10307/1/grenade-de-beni-snous-etude-et-catacterisation.pdf>
- [7] E. Wald, « le grenadier (*punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. », universite henri poincare, Nancy, 2009.
- [8] R. Wang, Y. Ding, R. Liu, L. Xiang, et L. Du, « Pomegranate: constituents, bioactivities and pharmacokinetics », Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology, vol. 4, no 2, p. 77-87, 2010.
- [9] V. A. Evreinoff, « Le grenadier (*Punica granatum L.*) », Fruits, vol. 4, no 5, p. 161-170, 1949.
- [10] E. Shaygannia, M. Bahmani, B. Zamanzad, et M. Rafieian-Kopaei, « A Review Study on Punica granatum L », J Evid Based Complementary Altern Med, vol. 21, no 3, p. 221-227, juill. 2016, doi : 10.1177/2156587215598039.
- [11] Z. R. Benkherbache et A. Benkherbache, « *Punica granatum L.* un arbre historique, évolutions thérapeutique récentes et activités biologiques. », universite mohamed boudiaf, M'sila, 2020. Consulté le : 4 avril 2022. [En ligne]. Disponible sur : <http://dspace.univmsila.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/24469/rania%20amira2021-%d9%85%d8%ad%d9%88%d9%84.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [12] N. Boussalah, « Propriétés antioxydantes de deux variétés de grenade (*Punica granatum L.*) de la région de Béjaia », Université abderrahmane mira, béjaia, 2009. Consulté le : 3 mai 2022.
- [13] F. Afaq, A. Malik, D. Syed, D. Maes, M. S. Matsui, et H. Mukhtar, « Pomegranate Fruit Extract Modulates UV-B-mediated Phosphorylation of Mitogen-activated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal Keratinocytes », Photochemistry and Photobiology, vol. 81, no 1, p. 38-45, mai 2007, doi: 10.1111/j.1751-1097.2005.tb01520.x.
- [14] « Grenade - Conservation Nature ». <https://www.conservation-nature.fr/food/fruits/grenade/> (consulté le 11 juin 2022).
- [15] R. Spichiger, V. V. Savolainen, et M. Figeat, Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales, 3. éd., rev. Corr. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, 2004.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [16] « La grenade, un super-fruit riche en antioxydants », Sciences et Avenir, 11 février 2015. [https://www.sciencesetavenir.fr/nutrition/la-grenade-un-super-fruit-riche-en-antioxydants\\_101528](https://www.sciencesetavenir.fr/nutrition/la-grenade-un-super-fruit-riche-en-antioxydants_101528) (consulté le 11 juin 2022).
- [17] A. Basu et K. Penugonda, « Pomegranate juice: a heart-healthy fruit juice », Nutrition reviews, vol. 67, no 1, p. 49-56, 2009.
- [18] N. P. Seeram, R. Lee, et D. Heber, « Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice », Clinica chimica acta, vol. 348, no 1-2, p. 63-68, 2004.
- [19] B. Oudane, « Caractérisation physico-chimique et évaluation des potentialités thérapeutiques de l'extrait du *Punica granatum* », universite ferhat abbas setif-1, setif, 2018. Consulté le: 5 mai 2022.
- [20] S. Y. Schubert, E. P. Lansky, et I. Neeman, « Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids », Journal of ethnopharmacology, vol. 66, no 1, p. 11-17, 1999.
- [21] D. N. Syed, F. Afaq, et H. Mukhtar, « Pomegranate derived products for cancer chemoprevention », in Seminars in cancer biology, 2007, vol. 17, no 5, p. 377-385.
- [22] N. D. Kim et al., « Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer », Breast cancer research and treatment, vol. 71, no 3, p. 203-217, 2002.
- [23] M. K. Reddy, S. K. Gupta, M. R. Jacob, S. I. Khan, et D. Ferreira, « Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. », Planta medica, vol. 53, no 05, p. 461-467, 2007.
- [24] K. B. Ajaikumar, M. Asheef, B. H. Babu, et J. Padikkala, « The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L.(pomegranate) methanolic extract », Journal of Ethnopharmacology, vol. 96, no 1-2, p. 171-176, 2005.
- [25] Y. Li et al., « *Punica granatum* flower extract, a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats », Journal of Ethnopharmacology, vol. 99, no 2, p. 239-244, 2005.
- [26] H. S. Parmar et A. Kar, « Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice », Biofactors, vol. 31, no 1, p. 17-24, 2007.
- [27] E. A. Khalil, « Antidiabetic effect of an aqueous extract of Pomegranate (*Punica granatum* L.) peels in normal and alloxan diabetic rats », The Egyptian Journal of Hospital Medicine, vol. 16, no 1, p. 92-99, 2004.
- [28] G. Squillaci et G. Di Maggio, « Acute morbidity and mortality from decoctions of the bark of *Punica granatum* », Bollettino Societa Italiana Biologia Sperimentale, vol. 1946, p. 1095-1096, 1946.
- [29] P. Ghadirian, « Thermal irritation and esophageal cancer in northern Iran », Cancer, vol. 60, no 8, p. 1909-1914, 1987.
- [30] P. Ghadirian, J. M. Ekoe, et J. P. Thouez, « Food habits and esophageal cancer: an overview. », Cancer detection and prevention, vol. 16, no 3, p. 163-168, 1992.
- [31] A. Vidal et al., « Studies on the toxicity of *Punica granatum* L.(Punicaceae) whole fruit extracts », Journal of ethnopharmacology, vol. 89, no 2-3, p. 295-300, 2003.
- [32] P. J. Taoufik, « 1- enseignants-chercheurs medecins et pharmaciens », p. 158.
- [33] Philippe Seksik, « Le microbiote intestinal, un véritable nouvel organe : ce que le... » <https://www.edimark.fr/lettre-psychiatre/microbiote-intestinal-veritable-nouvel-organe-ce-que-psychiatre-doit-savoir> (consulté le 30 mai 2022).
- [34] K. Fabiani, « Microbiote intestinal, immunité et transfert de microbiote : vers un espoir thérapeutique ? », p. 229, déc. 2019.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [35] N. A. Bokulich et al., « Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life », *Sci Transl Med*, vol. 8, no 343, p. 343ra82, juin 2016, doi: 10.1126/scitranslmed.aad7121.
- [36] Campeotto Florence, Waligora-Dupriet Anne-Judith, Doucet-Populaire Florence, Kalach et Nicolas, Dupont Christophe, Butel Marie-José, « Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* ». 2007. Consulté le : 30 mai 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0399832007894243>
- [37] P. P. Piccerelle, « département bio-ingénierie pharmaceutique », p. 233.
- [38] L. V. Hooper et A. J. Macpherson, « Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota », *Nat Rev Immunol*, vol. 10, no 3, Art. no 3, mars 2010, doi: 10.1038/nri2710.
- [39] K. Tiihonen, A. C. Ouwehand, et N. Rautonen, « Human intestinal microbiota and healthy ageing », *Ageing Research Reviews*, vol. 9, no 2, 107-116, avr.2010, doi : 10.1016/j.arr.2009.10.004.
- [40] « La flore intestinale ». <http://www.anydros.com/flore-intestinale.php> (consulté le 31 mai 2022).
- [41] Sergi Rollan, « l'intestin grele le reflet de notre image sante », p. 2-11., 1997.
- [42] « Cours microbiologie digestive préparé par : Mme Metlef S. », p. 17.
- [43] O. Goulet, « La flore intestinale : un monde vivant à préserver », *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, vol. 22, no 3, p. 102-106, mai 2009, doi : 10.1016/j.jpp.2009.03.007.
- [44] P. C. Silvain, P. F. Pierre, et D. V. Sohet, « Président : Monsieur le Professeur Denis ORIOT », p. 85, 2019.
- [45] F. Guaraldi et G. Salvatori, « Effect of Breast and Formula Feeding on Gut Microbiota Shaping in Newborns », *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 2, 2012, Consulté le: 2 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2012.00094>
- [46] J. M. Lecerf et N. Delzenne, *Microbiote intestinal et santé humaine*. Elsevier Health Sciences, 2021.
- [47] A. Ticinesi, F. Lauretani, C. Tana, A. Nouvenne, E. Ridolo, et T. Meschi, « Exercise and immune system as modulators of intestinal microbiome : implications for the gut-muscle axis hypothesis », p. 12, 2019.
- [48] « microbiote intestinal », p. 10, 2015.
- [49] S. P. van Tongeren, J. P. J. Slaets, H. J. M. Harmsen, et G. W. Welling, « Fecal Microbiota Composition and Frailty », *Appl Environ Microbiol*, vol. 71, no 10, p. 6438-6442, oct. 2005, doi: 10.1128/AEM.71.10.6438-6442.2005.
- [50] M. J. Hopkins, R. Sharp, et G. T. Macfarlane, « Variation in human intestinal microbiota with age », *Digestive and Liver Disease*, vol. 34, p. S12-S18, sept. 2002, doi: 10.1016/S1590-8658(02)80157-8.
- [51] C. De Filippo et al., « Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa », *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 107, no 33, p. 14691-14696, août 2010, doi: 10.1073/pnas.1005963107.
- [52] C. Quince et al., « The impact of Crohn's disease genes on healthy human gut microbiota: a pilot study », *Gut*, vol. 62, no 6, p. 952-954, juin 2013, doi: 10.1136/gutjnl-2012-304214.
- [53] J. Penders et al., « Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy », *Pediatrics*, vol. 118, no 2, p. 511-521, août 2006, doi: 10.1542/peds.2005-2824.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [54] minet pascaline, « trop d'hygiène nuit à la santé », planète santé, juill. 2013, Consulté le : 5 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.planetesante.ch/Magazine/Bebes-enfants-et-adolescents/Etre-parent/Tropd-hygiene-nuit-a-la-sante>
- [55] B. Schmidt et al., « Establishment of normal gut microbiota is compromised under excessive hygiene conditions », PLoS One, vol. 6, no 12, p. e28284, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0028284.
- [56] J. C. Rambaud, Flore microbienne intestinale : physiologie et pathologie digestives. 2005.
- [57] Frédéric Barbut et Francisca Joly, « Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose », Hépatogastro & Oncologie Digestive, vol. 17, no 6, p. 511-520, nov. 2010, doi: 10.1684/hpg.2010.0496.
- [58] P. Marteau et J. Doré, « Le microbiote intestinal », EMC-Gastro-entérologie, vol. 12, p. 1-8, 2017.
- [59] W. Atmania, L. Khelif, et S. Zarai, « Le microbiote intestinal, les probiotique et leur place dans les pathologies digestives », Université Larbi Tébessi, Tébessa, 2021. Consulté le : 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <http://dspace.univtebessa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/214/1/Memoire%201%20Master%20Microbiote.pdf>
- [60] D. Khelili, « Effet des probiotiques et prébiotiques sur les infections virales », Université Mouloud Mammer, Tizi-Ouzou, 2020. Consulté le : 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.ummo.dz/dspace/bitstream/handle/ummo/14305/Khelili%20Dihia.pdf?sequence=1>
- [61] E. Esaiassen, E. Hjerde, J. P. Cavanagh, G. S. Simonsen, et C. Klingenberg, « Bifidobacterium Bacteremia: Clinical Characteristics and a Genomic Approach to Assess Pathogenicity », J Clin Microbiol, vol. 55, no 7, p. 2234-2248, juill. 2017, doi : 10.1128/JCM.00150-17.
- [62] N. Biard, « Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson », université de lorraine, 2016. Consulté le : 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734070/document>
- [63] Bandrui, « Qu'est-ce que les bactéries Gram positif ? - Vulgariscience », Vulgariscience - Média de vulgarisation scientifique, 3 mars 2022. <https://vulgariscience.com/sante/quest-ce-que-les-bacteries-gram-positif/> (consulté le 11 juin 2022).
- [64] A. Aguilar-Galvez, R. Dubois-Dauphin, J. Destain, D. Campos, et P. Thonart, « Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique) », Biotechnol. Agron. Soc. Environ., janv. 2012, Consulté le : 11 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=8423>
- [65] U. Dobrindt, J. H. Hacker, et C. Svanborg, Between Pathogenicity and Commensalism. Springer Science & Business Media, 2014.
- [66] E. J. C. Goldstein, K. L. Tyrrell, et D. M. Citron, « Lactobacillus Species: Taxonomic Complexity and Controversial Susceptibilities », Clinical Infectious Diseases, vol. 60, no suppl\_2, p. S98-S107, mai 2015, doi: 10.1093/cid/civ072.
- [67] M. Bernardeau, J. Vernoux, S. Henridubernet, et M. Gueguen, « Safety assessment of dairy microorganisms: The Lactobacillus genus☆ », International Journal of Food Microbiology, vol. 126, no 3, p. 278-285, sept. 2008, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.015.
- [68] G. Konuray et Z. Erginkaya, « Potential Use of Bacillus coagulans in the Food Industry », Foods, vol. 7, no 6, p. 92, juin 2018, doi: 10.3390/foods7060092.
- [69] Y. Mu et Y. Cong, « Bacillus coagulans and its applications in medicine », Beneficial Microbes, vol. 10, no 6, p. 679-688, juill. 2019, doi : 10.3920/BM2019.0016.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [70] F. Boutoille et C. Morin, « Quand mes bactéries protègent la santé de mon bébé », Haute école libre de Bruxelles, Bruxelles, 2017. Consulté le : 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://sagefemme.be/wpcontent/uploads/2019/04/BSF2017MORINCecileBOUTOILLEFannyTFE.pdf>
- [71] M. Wu et X. Li, « *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* », in *Molecular Medical Microbiology*, Elsevier, 2015, p. 1547-1564. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00087-1.
- [72] « *Pseudomonas aeruginosa* : symptômes et traitements - Ooreka », Ooreka.fr. //cancer-du-poumon.ooreka.fr/astuce/voir/474967/pseudomonas-aeruginosa (consulté le 12 juin 2022).
- [73] C. E. Armbruster, H. L. Mobley, et M. M. Pearson, « *Pathogenesis of Proteus mirabilis* Infection », *EcoSal Plus*, vol. 8, no 1, févr. 2018, doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017.
- [74] Y. Le Loir, F. Baron, et M. Gautier, « *Staphylococcus aureus* and food poisoning », *Genet Mol Res*, vol. 2, no 1, p. 63-76, mars 2003.
- [75] « *Clostridium* : définition, causes, symptômes, traitement - Ooreka », Ooreka.fr. //digestion.ooreka.fr/astuce/voir/421295/clostridium (consulté le 12 juin 2022).
- [76] « *Enterococcus faecalis* : symptômes et traitements - Ooreka », Ooreka.fr. //digestion.ooreka.fr/astuce/voir/509133/enterococcus-faecalis (consulté le 12 juin 2022).
- [77] « *Escherichia coli* (Colibacille) ». <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/colibacille> (consulté le 12 juin 2022).
- [78] « *Escherichia coli* entérohémorragiques (ECEH) », in Institut Pasteur, 2015. Consulté le : 12 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli>
- [79] M. Frédérique, C. Poyart, et A. Tazi, « *Streptococcus agalactiae* ». Consulté le : 13 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : [https://www.sfm-microbiologie.org/wpcontent/uploads/2019/07/BACTERIE\\_StreptoB.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wpcontent/uploads/2019/07/BACTERIE_StreptoB.pdf)
- [80] M. Rafai, N. Chouaib, S. Zidouh, H. Bakkali, et L. Belyamani, « Méningo-encéphalite à *Streptococcus agalactiae* chez l'adulte non immunodéprimé », *Pan Afr Med J*, vol. 20, p. 5, janv. 2015, doi: 10.11604/pamj.2015.20.5.4526.
- [81] A. de la santé publique du Canada, « Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – *Bacteroides* spp. », 19 avril 2011 Disponible sur : <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosuret-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/bacteroides.html> (consulté le 13 juin 2022).
- [82] J. Qin et al., « A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing », *Nature*, vol. 464, no 7285, p. 59-65, mars 2010, doi: 10.1038/nature08821.
- [83] A. Bernalier-Donadille, « Activités métaboliques du microbiote intestinal humain », 2010, doi: 10.1016/S0399-8320(10)70003-8.
- [84] laura Descoins, « Microbiote et cerveau : corrélation avec les pathologies neurologiques et psychiatriques », Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, Université Toulouse III Paul Sabatier, France, 2017. Consulté le : 6 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://sante-naturelle-tout-simplement.com/wp-content/uploads/2020/08/Microbiote-et-cerveau.pdf>
- [85] M. Jaglin, « Axe intestin-cerveau : effets de la production d'indole par le microbiote intestinal sur le système nerveux central. », Thèse du diplôme docteur en Biologie, Université Paris Sud, 2013. Consulté le : 6 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01057811/document>



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [86] sarah Hamid et H. Hidouchi, « Pré-étude sur l'identification et la caractérisation de la flore intestinale des patients atteints d'un dysfonctionnement neurologique », Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira, 2020. Consulté le : 8 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur : <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/9268/1/Pr%C3%A9-%C3%A9tude%20sur%20l%E2%80%99identification%20et%20la%20caract%C3%A9risation%20de%20la%20flore%20intestinale%20des%20patients%20atteints%20d%E2%80%99un%20dysfonctionnement%20neurologique.pdf>
- [87] P. Gérard, P. Lepercq, M. Leclerc, F. Gavini, P. Raibaud, et C. Juste, « Bacteroides sp. Strain D8, the First Cholesterol-Reducing Bacterium Isolated from Human Feces », *Appl Environ Microbiol*, vol. 73, no 18, p. 5742-5749, sept. 2007, doi: 10.1128/AEM.02806-06.
- [88] P. Blondel, « Implication du microbiote intestinal dans la physiopathologie du syndrome de l'intestin irritable et perspectives thérapeutiques », p. 111.
- [89] A. Yazigi, B. Gaborit, J. P. Nogueira, M.-E. Butiler, et F. Andreelli, « Rôle de la flore intestinale dans l'insulinorésistance et l'obésité », *La Presse Médicale*, vol. 37, no 10, p. 1427-1430, 2008, doi : <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2007.11.020>.
- [90] C. L. Vernazza, B. A. Rabiou, et G. R. Gibson, « Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics ». 2006.
- [91] F. Hugenholtz et W. M. de Vos, « Mouse models for human intestinal microbiota research: a critical evaluation », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 75, no 1, p. 149-160, janv. 2018, doi: 10.1007/s00018-017-2693-8.
- [92] Delmas G., Jourdan da Silva N., Pihier N., Weil F. X., Vaillant V., De Valk H, « Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008 », *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, no 31-32, p. 344-348, 2010.
- [93] « Matière sèche », *Gastronomiac*.  
[https://www.gastronomiac.com/ustensiles\\_et\\_vocabu/matiere-seche/](https://www.gastronomiac.com/ustensiles_et_vocabu/matiere-seche/) (consulté le 20 juin 2022).
- [94] [https://www.dictionnaire-environnement.com/taux\\_humidite\\_ID258.html](https://www.dictionnaire-environnement.com/taux_humidite_ID258.html) (Consulté le 20 juin 2022).
- [95] « Techniques for Oral Microbiology », in *Atlas of Oral Microbiology*, Elsevier, 2015, p. 15-40. doi: 10.1016/B978-0-12-802234-4.00002-1.

**Etude de l'effet des fruits séchés de grenadier (*Punica granatum*) sur la flore intestinale de souris (*Mus musculus*)****Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en *Biologie Moléculaire des microorganismes*****Résumé**

Dans ce mémoire nous avons étudié l'effet des fruits du grenadier sur la flore fécale des souris. Pour cela 22 souris ont été suivies pendant 15 jours avec différents pourcentages de fruits séchés de grenadier mélangés avec l'aliment standard des souris sous forme de granulés. Les fèces fraîches des souris ont été prélevées avant et après traitement.

Après coloration de Gram adaptée aux bactéries anaérobies, un dénombrement a été effectué sur 10 champs microscopiques par lame. Les cocci, les bacilles et les bactéries incurvées ont été dénombrés à l'aide d'un microscope optique équipé d'un appareil photo. L'analyse statistique montre que : 1.- Les cocci G+ varient d'un minimum de 8.5 à 27.5 cellules par champ microscopique et sont significativement affectées par le traitement ( $p < 0,0019$ )., 2- Les bacilles G+ varient d'un minimum de 65.6 à 92.2 cellules par champ et sont aussi affectés de manière significative ( $p < 0,0001$ ). 3- Les bactéries incurvées G+ varient d'un minimum de 0.12 à 1.16 cellules par champ et sont significativement affectés par le traitement ( $p < 0,0019$ )., 4- Les cocci G- varient d'un minimum de 3.4 à 17 cellules par champ et sont affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0,0001$ )., 5- Les bacilles G- varient d'un minimum de 8.2 à 54.6 cellules par champ et sont affectés de manière significative par le traitement ( $p < 0,0001$ )., 6- Les bactéries incurvées G- varient d'un minimum 0.8 à 3.4 cellules par champ et sont également affectées de manière significative ( $p < 0,0019$ ). 7- Le rapport cocci G+/bacilles G+ varie de 0.18 à 0.5 et il est significativement affecté par le traitement ( $p < 0,0006$ ). 8- Le rapport cocci G-/bacilles G- varie de 0.4 à 0.7, il est le seul à ne pas être affecté par le traitement ( $p < 0,07$ ). 9- Le rapport bacilles G+/bacilles G- varie de 0.2 à 10.8 et il est affecté de manière significative ( $p < 0,0001$ )., 10- enfin le rapport cocci G+/cocci G- varie de 2.3 à 4.8 et il est significativement affecté par le traitement ( $p < 0,0001$ ).

Comme perspective, une étude génético-moléculaire permettra l'identification des genres et des espèces bactériennes affectés par l'ajout de fruits de grenadier.

**Mots-clefs :** *Punica granatum*, flore intestinale, flore fécale, *Mus musculus*, cocci, bacilles, bactéries incurvées, effet.

**Laboratoire de Mycologie, biotechnologie et activités microbiennes  
(Université Frères Mentouri, Constantine 1).**

**Encadreur :** Haddi M L (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 1 :** Adjeroud M (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 2 :** Boulahrouf K. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).