

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Effet de la consommation des antibiotiques sur la flore intestinale chez les rats wistar et leur lien avec la dépression et l'anxiété

- Présenté par :
- Mme : NEMER KHOLOUD
- Mme : MAAMERI IMENE

Soutenu le : 24/06/2025

Président : Mme Chaalen Fatiha (MCA).

Examinateur : Mme Chahroud Wassila (MCA).

Encadrant : Mme Amara Sabrina (MCB).

ANNEE UNIVERSITAIRE 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ
الرَّحِيمِ

"يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا
مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ"

سورة المجادلة الآية

Remerciements

Nous commençons par exprimer notre profonde gratitude à Dieu Tout-Puissant pour Ses innombrables bénédictions, ainsi que pour la force, la patience et la persévérance qu'il nous a données, qui nous ont permis de terminer ce travail malgré les difficultés auxquelles nous avons été confrontés.

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre encadrante, **Mme Amara Sabrina**, professeur à l'Université Dr Moulay Taher de Saida, elle nous a transmis de précieuses recommandations pour mener à bien ce travail et nous espérons que dieu protège ses enfants et lui apporte de la joie à travers eux.*

*Ainsi qu'au **Dr Hassani Zahira**, pour son soutien et ses conseils continus tout au long de nos recherches. Nous adressons également nos sincères remerciements au **Dr Tazi Lamia** pour son soutien et ses soins et nous demandons à dieu de leur accorder du succès dans leur parcours et de les récompenser pour leurs efforts.*

Nous adressons également nos remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer attentivement notre travail et dont les commentaires pertinents vont grandement enrichir notre réflexion.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous les enseignants qui, par leur engagement et leurs connaissances, ont contribué à élargir nos horizons intellectuels et à stimuler notre curiosité tout au long de notre parcours universitaire.

Merci.

Nemer Khouloud et MaameriImene

Dédicace

À ma chère mère, celle qui a contribué à toute mon éducation.

Votre amour, votre soutien et vos sacrifices ont été la lumière qui m'a guidée à chaque étape de mon chemin. Que Dieu continue de vous bénir.

À ma grand-mère,

Source de compassion et de sagesse infinies, merci pour vos prières sincères et votre amour inconditionnel. Que Dieu vous garde au-dessus de nos têtes.

À mes tantes, ainsi qu'à **mon oncle et à sa femme,**

Votre gentillesse et vos encouragements m'ont toujours réchauffé le cœur. Merci à tous.

À mes chères amies : Wafaa, Imene, Maroua et Aicha.

Merci pour votre présence, votre patience et vos paroles encourageantes dans les moments les plus difficiles.

À ma chère Binôme, Imene,

Votre soutien, votre force et votre persévérance m'ont portée plus loin que je n'aurais pu l'imaginer. Merci d'être restée à mes côtés à chaque étape.

Et à mon père, décédé trop tôt,

Tu vis en moi à chaque instant. Je te dédie ce travail avec tout mon amour. Que Dieu vous accorde sa miséricorde et vous compte parmi ses saints au paradis.

NEMER KHOULLOUD

Dédicace

*Je dédie humblement ce travail à **mes chers parents**, qui ont été mes piliers, mon inspiration et ma motivation tout au long de ce parcours. A mon père, pour son soutien inébranlable, et à ma mère, pour sa lumière, son amour inconditionnel et sa patience infinie. Que Dieu les protège et les bénisse.*

A mes frères et sœurs, qui ont été mes complices, mes confidents et mes meilleurs supporters. Votre présence a été un réconfort constant.

À ma famille élargie, à mes tantes, oncles, cousins et cousines, dont le soutien et les encouragements ont été une source de force et de courage.

*À mes amis(es) **Imene, Nouria, Marwa, Ikram, Sara, Amel, Hafsa, Ghania** qui ont partagé mes joies, mes peines et mes succès. Votre amitié est un trésor que je chérirai toujours.*

*À mon Binôme **Nemer Khouloud**, avec qui j'ai partagé ce voyage académique. Merci pour notre collaboration fructueuse et notre soutien mutuel*

MAAMERI IMENE

<i>Introduction</i>	21
<i>I. Partie bibliographique</i>	3
Chapitre 01	3
La Flore intestinale et son interaction avec les antibiotiques	3
1. La Flore Intestinale chez l'Homme	9
1.1. Composition de la flore intestinale chez l'homme.....	9
1.2. Diversité microbienne	10
1.3. Impact de la flore intestinale pour la santé globale	11
1.4. Rôle de la flore intestinale	11
1.4.1. Rôle métabolique.....	11
1.4.2. Rôle barrière et fonction immunitaire.....	11
1.5. LE RÔLE DU MICROBIOTE DANS L'IMMUNITÉ	12
1.5.1. La première ligne de défense du système immunitaire	12
1.5.2. L'équilibre fragile du microbiote	12
1.5.3. Comment le microbiote intestinal protège-t-il l'organisme ?	13
1.5.4. Les acteurs de l'immunité intestinale	13
1.6. Facteur influençant l'installation du microbiote	14
1.6.1. Le mode d'accouchement	15
1.6.2. L'alimentation.....	15
1.7. CONSEQUENCES DE LA DYSBIOSE	16
1.7.1. Les antibiotiques	17
1.8. Importance de la flore intestinale pour la santé globale.....	17
1.8.1. L'importance d'un intestin sain	17
1.8.2. Façons d'améliorer votre santé intestinale	17
1.9. Les probiotiques.....	18
1.9.1. Définition.....	18
1.9.2. Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques	18
1.9.3. Classification des souches probiotiques.....	19
1.9.4. Effets bénéfiques des probiotiques	19
1.10. Lien entre la flore intestinale et la santé mentale	20
1.10.1. Concept de l'axe intestin-cerveau	20
1.9.2. Les liens entre microbiote et cerveau	21
2. La Flore Intestinale chez le Rat Wistar	22

2.1. Composition de la flore intestinale chez rat wistar	22
2.2. Comparaison de la flore intestinale du rat Wistar avec celle de l'homme	22
Tableau2: comparaison entre la flore intestinale humaine et celle du rat Wistar	22
2.3. Histologie DU TRACTUS DIGESTIF	23
3. Conséquences des Modifications de la Flore Intestinale	25
3.3. Maladies intestinales.....	25
3.4. Relation avec les maladies métaboliques.....	27
3.5. Influence sur le comportement et la santé mentale (dépression et anxiété)	27
4. Stratégies pour Atténuer les Effets Négatifs des Antibiotiques.....	28
4.3. Probiotiques et prébiotiques.....	28
4.4. Régimes alimentaires et suppléments.....	28
4.5. Alternatives aux antibiotiques.....	28
4.5.1. La thérapie phagique	28
4.5.2. Les peptides antimicrobiens	30
4.5.3. Les huiles essentielles	31
4.5.4. Les nanoparticules	31
4.5.5. Les plantes médicinales.....	32
4.6. Avantages et limites de l'utilisation du rat Wistar dans la recherche	32
4.6.1. Avantage.....	32
4.6.2. Limite	33
Chapitre 02.....	8
Les antibiotiques	8
1.1. Définition	9
1.2. Classification des antibiotiques	36
1.2.1. Classification par Mécanisme d'Action.....	36
1.2.2. Classification par Spectre d'Activité	39
1.2.4. Classification par Structure Chimique :	40
1.3. Mécanismes d'action des antibiotiques.....	41
1.5. Utilisation des antibiotiques en recherche et en médecine	43
1.5.1. Déséquilibre du microbiote : La dysbiose	44
1.5.2. Effets indésirables cliniques des antibiotiques : l'exemple de la colite à Clostridium difficile	45
1.5.3. Perturbation du microbiote intestinal : le rôle des antibiotiques	46
1.6. Conséquences à long terme sur la santé intestinale	47

Chapitre 3.....	49
Impact des antibiotiques.....	49
1. Impact sur la flore intestinal.....	54
1.1. Troubles gastro-intestinaux	55
1.2. Maladies métaboliques.....	55
1.3. L'inflammation.....	56
2. Impact sur le cerveau	57
2.1. Troubles anxieux.....	57
2.2. Schizophrénie.....	57
2.3. Le stress	57
2.4. La dépression	58
2.5. L'anxiété	59
II. Matériels et Méthodes	59
1. Lieu de l'étude	67
1.1. Les milieux de culture.....	67
2. Expérimentation <i>In vitro</i> pour les souches probiotiques.....	59
2.1. Sélection et revivification des souches probiotiques	59
2.2. Vérification du potentiel probiotique des souches sélectionnées	59
2.2.1. Activité hémolytique.....	59
2.2.2. Activité lipolytique	59
2.2.3. Activité protéolytique	59
2.2.4. Résistance à acidité.....	60
2.2.5. Résistance aux sels biliaires.....	60
2.2.6. Résistance aux antibiotiques	60
2.2.7. Etude de l'activité inhibitrice des lactobacilles vis-à-vis despathogènes	60
III. Résultats et discussion	68
1. Résultats de l'expérimentation <i>In vitro</i>.....	68
1.1. <i>Lactobacillus plantarum SNC10 Gx100</i>	68
1.3. Pouvoir hémolytique.....	69
1.4. Antibiogramme des bactérieslactiques.....	70
1.5. la résistance aux sels biliaires	72
.1.6 La résistance à l'acidité	73
1.7. Résultats de l'activité protéolytique	75
1.8. Résultats de l'activité antagonisme	75

Table de matières

2. Résultats de l'étude <i>In vivo</i>.....	77
2.1. Le poids	77
2.2. Paramètres microbiologiques	78
2.2.1. La flore totale	79
2.2.2. Les entérobactéries	79
2.2.3. Evolution des bactéries lactiques	80
2.2.4. Evolution de la charge des staphylocoques	81
2.3. Les tests neurocomportementaux	82
2.3.1. Test Dark and light	82
2.3.2. Test nage forcée.....	82
2.3.3. Test de l'Open Field.....	83
2.4. La dissection des rats	85
<i>Conclusion.....</i>	88
<i>Annexes</i>	89

Liste des figures

Figure 1:Microbiote intestinal (microbiote-intestinal, 2021)	9
Figure 2: facteurs majeurs influençant la composition de microbiote humain. IMC : indice de masse corporelle ; SI : système immunitaire (L. Maroua, S, 2021).	15
Figure 3:conséquences de la dysbiose à long terme (Andy, 2024).	16
Figure 4:l'axe intestin-cerveau (axe-intestin-cerveau, 2020).	21
Figure 5 : Répartition schématique de la flore microbienne dans les divers compartiments du tube digestif chez l'homme et le rat (ABDALI et BELHADJ, 2021).	22
Figure 6 : HISTOLOGIE DU TRACTUS DIGESTIF (GASPÉRINI, 2022).	24
Figure 7 :L'ECOSYSTEME DYNAMIQUE ET COMPLEXE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL (GASPÉRINI, 2022).	25
Figure 8 : l'effet PAS du phage wmpsur E. Coli MFP sur des plaques de gélose LB (Luria-Bertani) (B. Imane, 2023).	29
Figure 9 : le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement (A) et en phagothérapie (B) (B. Imane, 2023).	30
Figure 10 : Rat wistar (Janvier-Labs., 2019).	33
Figure 11 : l'amoxicilline, spiramycine,antibiotiques (lamontagne, 2023).	9
Figure 12: Vancomycine pour Injection (advacarepharma, 2024).	40
Figure 13 : Classification selon la structure (sofia.medicalistes, 2024).	41
Figure 14 : structure des déférents antibiotiques (sofia.medicalistes, 2024).	41
Figure 15 : Action des antibiotiques et résistance (S. Noura et s, 2019).	42
Figure 16 : Conditions d'activité des ATB (M. Archambaud, 2009).	43
Figure 17 : Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques (Pascale Lesseur, 2024).	43
Figure 18 : les bactéries et les antibiotiques (biocodexmicrobiotainstitute, 2023).	45
Figure 19 : Mécanismes physiopathologiques expliquant le développement de l'infection à Clostridium difficile suite à l'administration d'antibiotiques.....	47
Figure 21 :microbiote intestinal (dentaire365, 2022).	55
Figure 22: Présentation d'une inflammation ABDALI Rachida, 2021).	57
Figure 23:Diagramme récapitulatif des étapes de l'expérimentation in vivo.	61
Figure 24 : habitat des rats	62
Figure 25 : Gavage des rats	62
Figure 26 : Antibiotique (Amoxicilline).	63
Figure 27 : Le dispositif de l'Open Field.	65
Figure 28 : Le test Dark and Light.....	66
Figure 29 : Le dispositif du test la nage forcée.	66
Figure 30 : Anesthésie des rats dans une jarre par inhalation de chloroforme.	67
Figure 31 : Observation microscopique de <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10 Gx100	68
Figure 32 : Observation microscopique de <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4 Gx100	68
Figure 33:Ensemencement en stries à partir d'inoculum MRS liquide de <i>Lactobacillus</i>	69
Figure 34:Résultats de l'activité hémolytique de <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10et <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4	69
Figure 35:Résultats de la résistance aux sels biliaires de <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4 et <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10.....	72

Liste des figures et tableaux

Figure 36: Résultats de la résistance à l'acidité de <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4 et <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10	73
Figure 37: Résultats de l'activité lipolytique de <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4 et <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10	74
Figure 38: Résultats de l'activité protiolytique de <i>Lactobacillus plantarum</i> JUMII4 et <i>Lactobacillus plantarum</i> SNC10	75
Figure 39 : Résultats d'activité antagonisme inhiber par des souches pathogènes	75
Figure 40: le poids des rats durant le temps d'étude	77
Figure 41: Milieux utilisés pour le dénombrement de la flore fécale.	78
Figure 42 : Evolution de la flore totale	79
Figure 43 : Evolution de la charge des entérobactéries	79
Figure 44 : Evolution des bactéries lactiques	80
Figure 45 : Evolution de la charge des staphylocoques	81
Figure 46 : Test dark and light pour déférents rats	82
Figure 47 : Test nage forcée pour déférents rats	83
Figure 48 : Test de l'Open Field pour déférents rats	83
Figure 49 : Comparaison de colon des lots A, P, T	86
Figure 50 : ensemble des bactéries dans le tube digestif des rats	86

Liste des tableaux

Tableau1: Principaux effets bénéfiques associés à la prise de probiotiques et mécanismes supposés (BOUKHALFI, 2019).....	19
Tableau2: comparaison entre la flore intestinale humaine et celle du rat Wistar	22
Tableau 3 : Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes représentés sur le tableau suivant (sofia.medicalistes, 2024).....	36
Tableau 4: l'antibiotique, le spectre d'activité et le mode d'action des carbapénèmes (sofia.medicalistes, 2024).....	38
Tableau 5: Flores bactériennes recherchées et milieux de culture utilisés.	63
Tableau6: Antibiogramme des lactobacilles.	70
Tableau 7 : Croissance des souches <i>Lactobacillus plantarum</i> en présence de différentes concentrations de sels biliaires.	72
Tableau8: Croissance des souches <i>Lactobacillus plantarum</i> dans un milieu MRS à différents pH exprimés en densité optiques.....	74
Tableau 9 : la moyenne de tube digestif pour certain rats de chaque lot.....	85

Liste d'abréviation

ADN:acide désoxyribonucléique

BLSE:bêta-lactamases à spectre étendu

Kpc:*Klebsiella pneumoniae*

MBL: métallo-bêta lactamases

PLP: protéines liant pénicilline

SARM:*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

ARN: acide ribonucléique

PABA: acide parraminobenzoïque

TMP:triméthoprime

ATB: antibiotique

OMS:organisation mondiale de santé

ECDC:center Européen de prévention et de contrôle des maladies

%:pour cent

LPS:lipopolysaccharides

TMAO: triméthylamine-N-oxyde

MICL: maladie inflammatoire chronique de l'intestin.

Eschiph: potentiel d'hydrogène

IMC: indice de masse corporelle

SI:système immunitaire

NV: nerf vague

PAS:synergie phage-antibiotique

P. Aeruginosa:*pseudomonasaeruginosa*

S. Aureus:*Staphylococcus aureus*

E. Coli:*Escherichia coli*

Gram-:grammenégatif**NP:**nanoparticules

Ag:argent

P. Mirabilis:*Pseudomonas mirabilis*

LB:luria-Bertani

AMP: peptide antimicrobines

CMI:concentration minimale inhibitrice

CEO:huileessentielledecannelle

ATP:Adenosine triphosphate

TOC:troublesobessionnels compulsifs

Kg:kilogramme

RT-PCR: Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

COVID-19:Coronavirus

SARS-cov-2:coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2

Mg+2:Les ions magnésium

Mmhg: Millimètres de mercure

Mmol /L:millimoles par litre

Cm: centimètre

ESKAPE:*Enterococcusfaecium, Staphylococcus aureus, Klebsiellapneumoniae, Acinetobacterbaumannii, Pseudomonas aeruginosa, and Enterobacterspp*

CRP:protéine C réactive

SOPK:syndrome des ovines polykystiques

B9:acide folique

PCR:polymerasechain Réaction

A:adénine

G:guanine

C:cytosine

T:thymine

Ma:méthyladénine

Mc:méthylcytosine

HIS:Hybridation in situ

CISH: chromogenic *in situ* hybridization

Liste d'abréviation

HDL: high Density lipoprotéine

°C:dégréesCelsius

Résumé

Ce travail vise à évaluer les effets des antibiotiques sur la flore intestinale des rats Wistar et à explorer le lien potentiel entre cette altération microbienne et des troubles comportementaux tels que la dépression et l'anxiété. Des analyses *in vitro* ont été menées sur deux souches de *Lactobacillus plantarum* (*SNC10* et *JUMII4*), qui ont montré une bonne résistance à l'acidité, aux sels biliaires et à certains antibiotiques, ainsi qu'une activité antimicrobienne et enzymatique significative, en particulier pour la souche *JUMII4*. L'étude *in vivo* a révélé que les antibiotiques perturbent gravement le microbiote intestinal, entraînant une perte de poids, une diminution de la flore bénéfique, et des comportements anxiodépressifs chez les rats. En revanche, l'administration de probiotiques a permis une restauration partielle de la flore et une amélioration des paramètres comportementaux. Ces résultats confirment l'existence d'un lien entre dysbiose intestinale et troubles neurocomportementaux, et suggèrent l'intérêt des probiotiques pour atténuer les effets secondaires des antibiotiques.

Mots clés : antibiotiques, flore intestinale, rats wistar, *lactobacillus plantarum*, Probiotiques, dysbiose intestinale, dépression, anxiété, microbiote intestinal, troubles neurocomportementaux, résistance bactérienne, activité enzymatique, activité antimicrobienne.

Abstract

This study aims to evaluate the impact of antibiotics on the gut microbiota of Wistar rats and to explore the potential link between microbial imbalance and behavioral disorders such as depression and anxiety. In vitro analyses were conducted on two *Lactobacillus plantarum* strains (*SNC10* and *JUMII4*), which exhibited good tolerance to acidity, bile salts, and some antibiotics, along with significant enzymatic and antimicrobial activities, particularly for strain *JUMII4*. The *in vivo* study showed that antibiotic treatment significantly disrupted the intestinal microbiota, leading to weight loss, decreased beneficial bacterial populations, and increased anxiety- and depression-like behaviors in rats. Conversely, probiotic supplementation resulted in partial microbiota restoration and behavioral improvements. These findings confirm a functional link between gut dysbiosis and neurobehavioral disorders, highlighting the potential of probiotics in mitigating the side effects of antibiotic therapies.

Keywords: antibiotics, intestinal flora, Wistar rats, *Lactobacillus plantarum*, Probiotics, intestinal dysbiosis, depression, anxiety, intestinal microbiota, neurobehavioral disorders, bacterial resistance, enzymatic activity, antimicrobial activity.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم تأثير المضادات الحيوية على الفلورا المعوية لدى فئران ويستر، ودراسة العلاقة المحتملة بين هذا الاضطراب الميكروبي وسلوكيات مرتبطة بالاكتئاب والقلق. أظهرت التجارب المخبرية على سلالتين قدرة جيدة على مقاومة الحموضة وأملاح الصفراء وبعض (*JUMII4*) من *Lactobacillus plantarum* (*SNC10*) أو *JUMII4*. أما التجارب الحية فقد بيّنت أن المضادات الحيوية تحدث اضطراباً كبيراً في الميكروببيوتا المعوية، بالإضافة إلى نشاط إنزيمي ومضاد للميكروببات، خاصة لدى السلالة المفيدة وظهور سلوكيات تميل إلى الاكتئاب والقلق. في المقابل، ساهمت المكمّلات البروبيوتية في استعادة جزئية للتوازن الميكروبي وتحسين السلوك. تؤكّد هذه النتائج على وجود علاقة بين اضطراب الميكروببيوتا المعوية والاضطرابات النفسية، وتشير إلى أهمية البروبيوتيك في التخفيف من الآثار الجانبية للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية، البكتيريا المعوية، فئران ويستر، بكتيريا اللاكتوباسيلوس بلانتاروم، البروبيوتيك، خلل التوازن المعوي، الاكتئاب، القلق، ميكروببات الأمعاء، الاضطرابات العصبية السلوكية، مقاومة البكتيريا، النشاط الإنزيمي، النشاط المضاد للميكروببات.

Introduction

Au cours des dernières décennies, la recherche scientifique a mis en lumière l'importance capitale du microbiote intestinal dans le maintien de la santé générale, que ce soit au niveau digestif, immunitaire ou même neurologique. Cet écosystème microbien complexe, constitué de milliards de micro-organismes vivant en symbiose dans l'intestin, joue un rôle central dans la digestion, la synthèse de certaines vitamines, la protection contre les agents pathogènes, ainsi que dans la régulation de l'humeur et du comportement à travers l'axe intestin-cerveau. Toutefois, cet équilibre fragile peut être perturbé par différents facteurs, notamment la prise d'antibiotiques, qui bien qu'efficaces contre les infections bactériennes, peuvent provoquer une dysbiose — un déséquilibre du microbiote — aux conséquences cliniques et psychologiques significatives (Sekirov *et al*, 2010).

Les études récentes ont démontré que la dysbiose intestinale pourrait être liée à l'apparition de troubles neurocomportementaux tels que la dépression et l'anxiété, en influençant la production de neurotransmetteurs, l'inflammation systémique et la perméabilité intestinale. Face à cette problématique, l'utilisation de probiotiques émerge comme une stratégie prometteuse pour restaurer l'équilibre de la flore intestinale et prévenir les effets délétères associés aux traitements antibiotiques (Foster *et al*, 2013).

Ce travail s'inscrit dans cette perspective et vise à évaluer les effets de la consommation d'antibiotiques sur la flore intestinale chez les rats Wistar, ainsi que leur impact sur le comportement émotionnel de ces derniers. En parallèle, l'étude explore l'efficacité des probiotiques dans la modulation de ces effets, en s'appuyant à la fois sur des analyses microbiologiques et des tests neurocomportementaux. À travers une démarche expérimentale rigoureuse, cette recherche ambitionne de contribuer à une meilleure compréhension des interactions entre microbiote et cerveau, et d'ouvrir des pistes thérapeutiques pour l'usage combiné des antibiotiques et des probiotiques (El Aidy *et al*, 2015).

Dans notre étude, nous avons jugé utile de partager notre travail en deux parties :

- Partie bibliographique comportant des notions sur le microbiote intestinal, les antibiotiques et les probiotiques, l'axe intestin-cerveau.
- La deuxième partie représente la partie expérimentale au cours de laquelle nous avons effectué des tests *in vitro* et *in vivo*
 - ✓ ***In vitro*** : nous avons entamé la purification des souches utilisées, les tests d'inhibitions et de résistance aux antibiotiques.
 - ✓ ***In vivo*** : nous avons exploré l'effet des antibiotiques sur un modèle animal (le rat wistar) et l'efficacité des souches probiotiques et le lien avec l'axe intestin-cerveau

I. Partie bibliographique

Chapitre 01

La Flore intestinale et son interaction avec les antibiotiques

1. La Flore Intestinale chez l'Homme

1.1. Composition de la flore intestinale chez l'homme

Le microbiote intestinal, souvent appelé flore intestinale, est l'ensemble des micro-organismes présents dans notre intestin. Pendant longtemps, on a sous-estimé sa composition. Les bactéries, virus, champignons et même parasites qui vivent dans notre tube digestif ont un environnement très spécifique, difficile à reproduire en laboratoire. Ce n'est qu'à partir des années 2000, grâce aux avancées dans le séquençage de l'ADN, que nous avons pu réellement comprendre la composition du microbiote intestinal. L'analyse métagénomique, qui étudie l'ensemble des génomes bactériens, a révélé qu'il y a environ 10^{14} bactéries dans notre tube digestif, soit dix fois plus que dans le reste de notre corps. Ces bactéries pèsent environ 1 kg. La colonisation bactérienne de l'intestin commence à la naissance et se stabilise vers l'âge de 3 ans. Des facteurs comme le mode d'accouchement, l'allaitement, le régime alimentaire et l'utilisation de médicaments, notamment les antibiotiques, influencent la composition du microbiote. Chaque personne a un microbiote unique, mais on peut regrouper les individus en trois entérotypes basés sur certaines similitudes :

- Bactéroïdes, chez ceux qui consomment beaucoup de sucres simples, protéines et graisses animales,
- *Prevotella*, chez ceux qui ont une alimentation riche en fruits et légumes,
- *Ruminococcus*(BENCHERIF,1991).

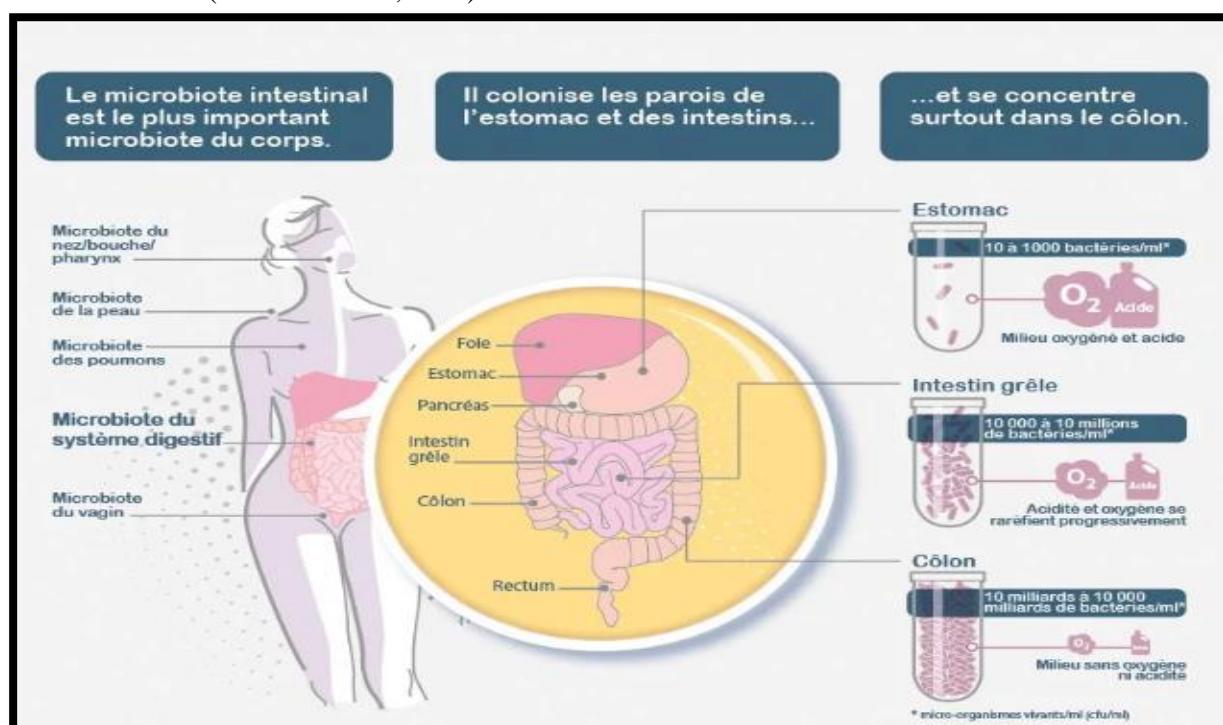


Figure 1:Microbiote intestinal (microbiote-intestinal, 2021)

Depuis plus d'un siècle, on sait que des micro-organismes peuplent notre intestin, et l'idée d'une symbiose entre notre corps et cette flore a rapidement émergé. Cependant, les outils techniques pour explorer cette interaction en détail étaient limités, car seule une petite fraction des espèces bactériennes du microbiote intestinal peut être cultivée facilement en laboratoire. L'avènement du séquençage génétique à haut débit a récemment révolutionné ce domaine de recherche. Bien que cette méthode ne soit pas encore parfaite pour analyser de manière exhaustive tous les génomes, dont certains restent inconnus, elle fournit suffisamment d'informations pour comprendre la composition générale d'un microbiote. Cette approche est souvent associée à des analyses métabolomiques et lipidomiques, qui identifient les substances produites par cet écosystème. Grâce à ces avancées, les scientifiques peuvent désormais décrire avec une précision croissante les interactions entre l'hôte et le microbiote, ainsi que celles entre les micro-organismes eux-mêmes, et leur impact sur le fonctionnement de l'organisme (microbiote-intestinal, 2021).

1.2. Diversité microbienne

Aujourd'hui, il est reconnu que plus de 80 % des bactéries du microbiote intestinal ne peuvent pas être cultivées avec les techniques actuelles. Seul le séquençage de leurs génomes, et bientôt celui des ARN messagers qu'elles produisent, peut nous éclairer sur leurs fonctions spécifiques. Ces méthodes permettront de relier les grandes fonctions globales observées aux gènes bactériens impliqués. L'analyse de la composition en taxa (genres bactériens et/ou grands groupes phylogénétiques) révèle des éléments récurrents présents chez tous les humains. Trois phylums bactériens, Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria, constituent la majorité des bactéries fécales dominantes. Le phylum Firmicutes est toujours largement représenté. Les Bacteroidetes incluent des genres tels que Bacteroides, Prevotella et Porphyromonas, qui sont constamment présents et partagent la dominance avec les Firmicutes. Le phylum Actinobacteria, bien que moins souvent dominant, comprend les bifidobactéries.

Pour préserver et améliorer la santé des générations actuelles et futures, il est suggéré de prendre soin de notre microbiote. Cela pourrait ouvrir la voie à de nouveaux traitements pour les maladies intestinales et d'autres troubles chroniques liés au microbiome, comme les allergies, l'obésité et le diabète. Voici quelques actions pour maintenir l'état actuel du microbiote intestinal :

- Utiliser les antibiotiques de manière raisonnée.
- Réduire le nombre de césariennes non nécessaires.
- Encourager l'allaitement.
- Diminuer l'utilisation de produits antimicrobiens dans notre environnement.
- Améliorer notre alimentation en augmentant la consommation de fibres et d'aliments variés pour favoriser la diversité microbienne et une bonne santé.

- Consommer des aliments fonctionnels contenant des probiotiques, prébiotiques et post-biotiques (Kaplun, 2019).

1.3. Impact de la flore intestinale pour la santé globale

Notre microbiote intestinal joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions vitales de notre corps, telles que la synthèse des vitamines, l'absorption des nutriments, la modulation de la réponse immunitaire, la régulation hormonale et métabolique, ainsi que la protection contre divers agents pathogènes. Un déséquilibre de ces microorganismes, connu sous le nom de dysbiose, peut perturber ces fonctions essentielles. La dysbiose intestinale est associée à divers problèmes de santé, y compris les allergies, les maladies auto-immunes, certains cancers, l'asthme, les troubles métaboliques comme le diabète de type 2 et l'obésité, ainsi que des troubles mentaux tels que l'anxiété et la dépression. Cependant, il reste à déterminer si ces altérations du microbiote sont la cause ou la conséquence de ces maladies.

Les chercheurs ont également observé que les personnes atteintes de certaines maladies présentent un microbiote intestinal différent de celui des personnes en bonne santé. Par exemple, les individus souffrant de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ou de diabète de type 2 ont un microbiote significativement distinct de ceux qui ne sont pas affectés par ces conditions (eufic, 2023).

1.4. Rôle de la flore intestinale

Différents rôles sont attribués au microbiote intestinal notamment sur le plan immunitaire et métabolique :

1.4.1. Rôle métabolique

Le microbiote intestinal tire principalement son énergie des glucides et des protéines présentes dans les fibres alimentaires non digérées. Grâce à cela, il est capable de produire des vitamines, de synthétiser des acides aminés, d'influencer l'absorption des minéraux et de participer au métabolisme des lipides. Diverses études ont démontré que les métabolites produits par le microbiote peuvent être transportés dans la circulation sanguine et avoir un impact sur différents organes. Par exemple, le système nerveux central, en ce qui concerne les fonctions cognitives et comportementales, le foie, pour le métabolisme des lipides et des médicaments, ainsi que le pancréas, pour le métabolisme des glucides, sont tous liés au microbiote intestinal. De plus, ce microbiote joue un rôle dans l'activation ou l'inactivation de certains composés cancérigènes.

1.4.2. Rôle barrière et fonction immunitaire

Le microbiote intestinal joue un rôle crucial en tant que barrière mécanique, contribuant à maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal. Il le fait en préservant les jonctions serrées entre les cellules, en réparant l'épithélium et en régulant le renouvellement des cellules épithéliales. La présence de bactéries pathogènes dans le tube digestif est contrôlée par plusieurs mécanismes : elles sont mises en compétition avec les bactéries bénéfiques du microbiote pour les sites d'adhérence et les nutriments, et le microbiote produit des peptides antimicrobiens. Ces peptides sont également stimulés par les cellules épithéliales

intestinales. En outre, le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans le développement et la maturation du système immunitaire, en produisant divers métabolites utilisés par les cellules (BENCHERIF, 1991).

1.5. LE RÔLE DU MICROBIOTE DANS L'IMMUNITÉ

1.5.1. La première ligne de défense du système immunitaire

Le système immunitaire agit comme un château fort, protégeant notre corps contre les envahisseurs tels que les virus et les bactéries. Dès la naissance, l'immunité innée s'efforce de bloquer et d'éliminer les agents infectieux. Au fil du temps, notre immunité se renforce et se spécialise, devenant ce que l'on appelle l'immunité acquise. Il est estimé que près de 70 % des cellules immunitaires de notre corps résident dans l'intestin, soulignant ainsi l'importance cruciale de cet écosystème pour notre protection. Avec environ 100 000 milliards de bactéries, l'intestin ne se limite pas à la digestion. Le microbiote intestinal constitue la première ligne de défense immunitaire et joue un rôle essentiel dans la lutte contre les agents pathogènes (Microbiote et immunité, 2023).

1.5.2. L'équilibre fragile du microbiote

Divers facteurs peuvent perturber l'équilibre de la flore intestinale, conduisant à une condition appelée dysbiose. Ce déséquilibre du microbiote peut entraîner des troubles intestinaux, le développement de maladies inflammatoires, de la fatigue ou un affaiblissement du système immunitaire. Le lien entre le microbiote et le système immunitaire intestinal est crucial pour maintenir une bonne immunité. Un déséquilibre du microbiote pourrait provoquer une absence de réponse des cellules immunitaires face aux pathogènes ou, à l'inverse, une hyperactivation de ces cellules contre les aliments ou les bactéries commensales, entraînant des intolérances alimentaires, des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), et des troubles auto-immuns. Ainsi, lorsque l'équilibre intestinal est compromis, c'est l'ensemble du système immunitaire qui s'affaiblit. De nombreuses études ont démontré l'influence du microbiote sur le métabolisme et la dégradation de la santé. Ces dernières années, le microbiote humain est suspecté de jouer un rôle dans l'apparition ou l'aggravation de certains problèmes de santé chroniques, tels que les maladies auto-immunes (comme les maladies inflammatoires de l'intestin, l'arthrite inflammatoire, le psoriasis, les allergies et les intolérances alimentaires), mais aussi l'obésité, la dépression, l'autisme, les maladies neurodégénératives (comme Alzheimer et Parkinson), et bien sûr la plupart des pathologies digestives (Microbiote et immunité, 2023).

1.5.3. Comment le microbiote intestinal protège-t-il l'organisme ?

Le lien entre le microbiote, également connu sous le nom de flore intestinale, et le système immunitaire est de plus en plus étudié, avec de nombreuses publications scientifiques à ce sujet. Le système immunitaire joue un rôle complexe dans l'intestin : il doit protéger l'organisme contre les agents pathogènes ingérés par voie orale tout en tolérant les nutriments alimentaires et les micro-organismes qui composent le microbiote intestinal. Les cellules épithéliales de la paroi intestinale constituent la principale barrière contre l'entrée de nombreux agents indésirables, tels que les bactéries et les antigènes alimentaires. Heureusement, notre corps est une machine remarquable, capable de se défendre naturellement contre les agressions extérieures grâce à divers mécanismes de défense impliquant plusieurs acteurs (Microbiote et immunité, 2023).

1.5.4. Les acteurs de l'immunité intestinale

1.5.4.1. Le microbiote (ou flore intestinale)

Le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le bon fonctionnement du système immunitaire. Dès les premières années de vie, il aide l'immunité intestinale à distinguer les bactéries bénéfiques des pathogènes. Les "bonnes bactéries" occupent l'espace intestinal, empêchant ainsi la prolifération des bactéries nuisibles. En recouvrant la muqueuse intestinale, le microbiote entre en compétition avec les agents indésirables, limitant leur expansion. Il influence également les conditions ambiantes, comme le ph et la disponibilité en oxygène, et produit des substances, telles que les bactériocines, qui nuisent aux microbes pathogènes. Les différentes souches bactériennes d'un microbiote sain modulent la réponse immunitaire et renforcent la résistance de l'hôte. Ainsi, l'équilibre de cet écosystème est crucial pour maintenir des défenses immunitaires efficaces. Cependant, des facteurs comme le stress, une alimentation déséquilibrée, et la consommation excessive de certains médicaments ou substances toxiques peuvent perturber cet équilibre (Microbiote et immunité, 2023).

1.5.4.2. La muqueuse intestinale

C'est une substance gélifiée dont les principales fonctions sont de lubrifier, hydrater et protéger les cellules épithéliales sous-jacentes. Dans le côlon, où la densité bactérienne est la plus élevée, le nombre de cellules productrices de mucus augmente considérablement, permettant ainsi la formation d'une couche muqueuse plus épaisse. Riche en anticorps et en substances antimicrobiennes, le mucus constitue la première ligne de défense contre les menaces biologiques et chimiques traversant notre tube digestif. Il possède une forte activité antimicrobienne et antifongique, notamment contre la souche *Candida Albicans*, impliquée dans la candidose. Le mucus agit comme une barrière physique entre la paroi intestinale et les substances potentiellement nocives présentes dans la lumière intestinale (l'espace creux où transitent les aliments). De plus, la couche superficielle du mucus intestinal offre une niche idéale pour la colonisation du microbiote. C'est en effet dans le mucus que les «

bonnes bactéries » peuvent puiser les substrats nécessaires à leur croissance (Microbiote et immunité, 2023).

1.5.4.3. L'épithélium intestinal

L'épithélium intestinal est une interface dynamique composée de divers types cellulaires, chacun ayant des fonctions spécialisées. Ces cellules, notamment les entérocytes, jouent un rôle crucial dans l'absorption des nutriments et assurent la connexion entre la lumière intestinale et l'intérieur de l'organisme. Elles forment une barrière sélective qui empêche les éléments pathogènes de pénétrer tout en permettant le passage des nutriments, vitamines et minéraux issus de l'alimentation.

En outre, ces cellules contribuent à la production de substances antimicrobiennes dans l'intestin grêle, un mécanisme immunitaire qui combat les bactéries pathogènes, champignons, parasites et certains virus. Des recherches ont montré que la présence d'un microbiote intestinal sain stimule la production de ces substances immunitaires.

Les cellules de l'épithélium intestinal agissent également comme gardiens de l'intégrité de la muqueuse digestive, limitant les contacts entre le microbiote et la muqueuse intestinale. Elles sont impliquées dans la présentation d'antigènes au système immunitaire, ce qui active les lymphocytes B et T, des cellules immunitaires responsables de la production d'anticorps. Tout au long de la vie, ces cellules sont stimulées par le microbiote pour maintenir une tolérance envers les « bonnes bactéries » et assurer une protection contre les germes pathogènes.

La muqueuse intestinale constitue donc un écosystème complexe qui, en conditions physiologiques, reste en équilibre malgré les agressions qu'elle peut subir. Elle possède une capacité extraordinaire de régénération grâce à un renouvellement rapide à partir de cellules souches. Plusieurs études ont suggéré que le microbiote intestinal joue un rôle dans ce processus de régénération, influençant potentiellement la capacité proliférative des cellules souches intestinales (Microbiote et immunité, 2023).

1.6. Facteur influençant l'installation du microbiote

Comme dans tout écosystème microbien, le microbiote sain peut être évalué grâce à des facteurs environnementaux parmi ces facteurs :

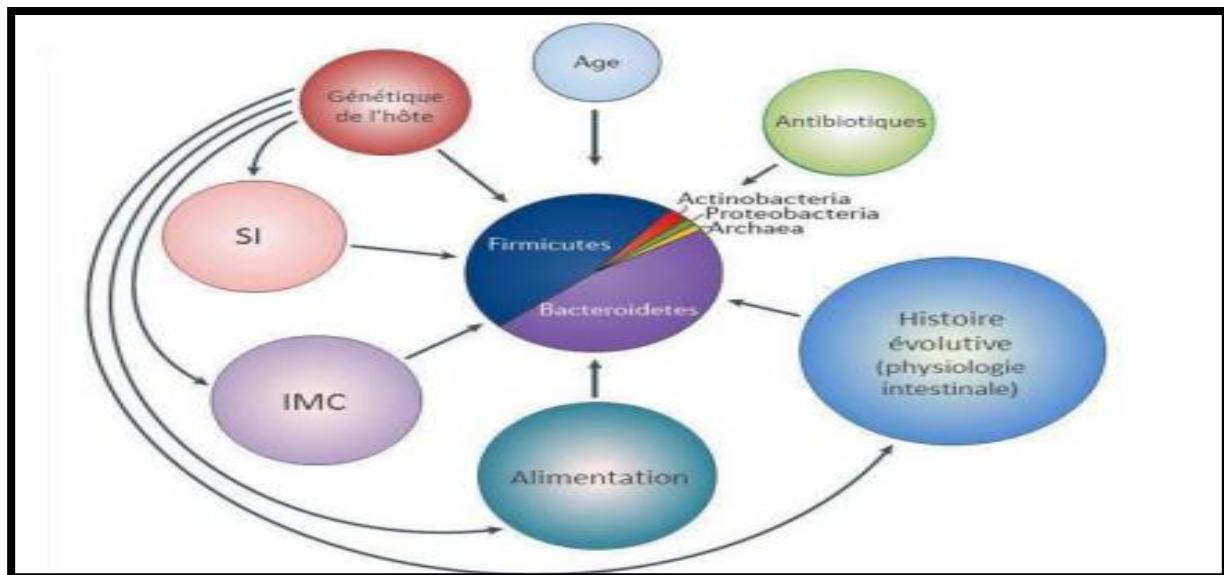


Figure 2: facteurs majeurs influençant la composition de microbiote humain. IMC : indice de masse corporelle ; SI : système immunitaire (L. Maroua, S, 2021).

1.6.1. Le mode d'accouchement

Selon une étude menée par le département de biologie de Porto Rico, le mode d'accouchement est le principal facteur influençant la composition du microbiote intestinal chez le nourrisson. Les nouveau-nés nés par voie vaginale présentent un microbiote intestinal similaire à celui du microbiote vaginal de leur mère, dominé par les genres bactériens *Lactobacillus* et *Prevotella*. En revanche, les bébés nés par césarienne ont une communauté bactérienne qui ressemble davantage à celle de la peau, comprenant des genres tels que *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*, avec une diminution de l'abondance relative de *Bifidobacterium* et de *Bacteroides*(L. Maroua, S, 2021).

1.6.2. L'alimentation

Chez le nouveau-né, le type d'alimentation joue un rôle crucial dans l'établissement de la flore intestinale. Pour les nourrissons allaités, le genre *Bifidobacterium* est prédominant. En revanche, chez les enfants nourris au lait artificiel, la flore intestinale est principalement dominée par le genre *Lactobacillus*. Vers l'âge de deux ans, la flore intestinale de l'enfant atteint une composition presque définitive, se rapprochant de celle de l'adulte, que l'on qualifie de flore normale. À l'âge adulte, bien que chacun possède une collection unique de bactéries, celles-ci remplissent des fonctions similaires. Des études ont également révélé des différences significatives entre les populations en fonction de leur alimentation. Un régime riche en fruits, légumes et fibres est associé à une plus grande richesse et diversité du microbiote intestinal, avec une prévalence accrue des Bacteroidetes, notamment les genres *Prevotella* et *Bifidobacterium*. À l'inverse, les phyla Firmicutes et Proteobacteria dominent dans un régime riche en graisses et pauvre en fibres. Cependant, une alimentation riche en fibres favorise l'abondance d'organismes capables de métaboliser les glucides, tels que ceux

appartenant au phylum des Firmicutes, notamment les genres *Ruminococcus*, *Roseburia* et *Eubacterium*. Ces changements structurels peuvent se produire rapidement et les taxa affectés varient selon les individus (L. Maroua, S, 2021).

1.7. CONSEQUENCES DE LA DYSBIOSE

Les conséquences d'un microbiome intestinal déséquilibré peuvent se manifester à court et à long terme.

Par exemple, les personnes souffrant de dysbiose sont plus susceptibles de présenter des symptômes tels que des gaz, des ballonnements, une mauvaise absorption des nutriments, un brouillard cérébral, une baisse de l'humeur, des inflammations corporelles et bien d'autres choses encore (Andy, 2024).

Tout déséquilibre du microbiote intestinal (dysbiose) peut potentiellement entraîner des effets négatifs sur la santé à l'avenir

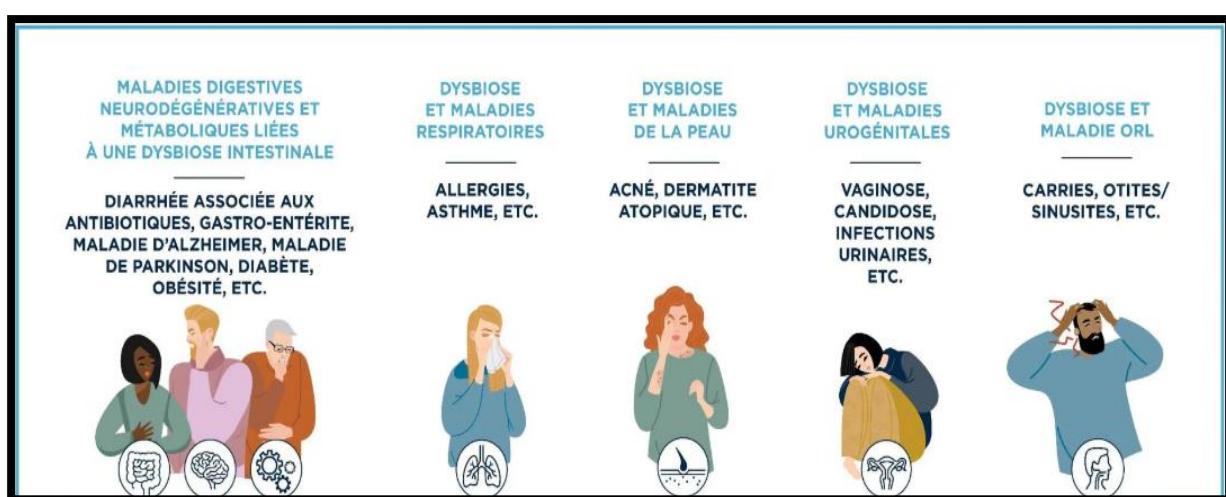


Figure 3: conséquences de la dysbiose à long terme (Andy, 2024).

En tant que diététicien, je suis également très conscient que la dysbiose est souvent associée à la résistance à l'insuline, ce qui la rend fréquente dans des pathologies courantes telles que la stéatose hépatique, le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) et le diabète de type 2, entre autres.

Les chercheurs ont remarqué des tendances et des différences marquées entre les microbiomes des individus en bonne santé et ceux souffrant de diverses maladies.

Cela n'est pas surprenant dans une certaine mesure, car le microbiome est une communauté complexe qui joue un rôle crucial dans le maintien du système immunitaire. Chaque "membre de la communauté" a une fonction importante, et les perturbations du

microbiome augmentent notre risque d'effets indésirables, d'infections et même de maladies (Andy, 2024).

1.7.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont employés pour éliminer les bactéries pathogènes responsables de maladies infectieuses. Toutefois, ils peuvent également encourager la prolifération de certains microorganismes en créant une pression sélective, ce qui nuit à la croissance d'autres espèces et perturbe gravement le microbiote intestinal. L'impact sur la flore dépend de la sensibilité des bactéries au spectre d'action de l'antibiotique utilisé ainsi que de la durée du traitement (L. Maroua, S, 2021).

1.8. Importance de la flore intestinale pour la santé globale

1.8.1. L'importance d'un intestin sain

Votre intestin ne se limite pas à digérer les aliments : il joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions corporelles essentielles à votre bien-être global :

- Soutien du système immunitaire : Environ 70 à 80 % de votre système immunitaire se trouve dans votre intestin. Un microbiome équilibré renforce vos défenses immunitaires, vous aidant à combattre les maladies, les infections et même certains problèmes cutanés.- Lien avec la santé mentale : l'axe intestin-cerveau connecte votre système digestif à votre cerveau. Des études montrent que la santé intestinale influence la santé mentale, et des déséquilibres peuvent contribuer à l'anxiété et à la dépression. Fait intéressant, 95 % de la sérotonine du corps, souvent appelée "hormone du bonheur", est produite dans l'intestin.

- Équilibre hormonal : Les bactéries intestinales jouent un rôle dans la régulation des hormones. Certaines hormones, comme l'œstrogène, sont métabolisées dans l'intestin et converties en leur forme active. Un déséquilibre intestinal peut entraîner des perturbations hormonales affectant divers aspects, des cycles menstruels aux sautes d'humeur.

- Santé de la peau et des cheveux : Un microbiote intestinal équilibré contribue également à la santé de la peau et des cheveux. Les déséquilibres intestinaux peuvent provoquer une inflammation, se manifestant par des problèmes de peau tels que l'acné, l'eczéma et la rosacée. De plus, un intestin sain améliore l'absorption des vitamines et minéraux essentiels pour des cheveux forts et en bonne santé (health-library, 2025).

1.8.2. Façons d'améliorer votre santé intestinale

• **Consommez des aliments riches en fibres** : Intégrez des céréales complètes, du millet, des fruits, des légumes et des légumineuses dans votre alimentation. Les fibres contribuent à augmenter le volume des selles et favorisent la croissance de bactéries bénéfiques dans l'intestin.

- **Probiotiques et prébiotiques :** Les aliments fermentés tels que le yaourt, les légumes marinés et le kimchi sont riches en probiotiques, qui aident à rééquilibrer votre microbiote intestinal. En complément, les prébiotiques sont essentiels pour la santé intestinale. Parmi les aliments riches en prébiotiques, on trouve l'ail, les oignons, les bananes, les asperges et l'avoine.
- **Activité physique :** l'exercice stimule la digestion et encourage la diversité du microbiome. Même des activités modérées, comme la marche ou le yoga, peuvent être bénéfiques pour la santé intestinale.
- **Gestion du stress :** Les pratiques de pleine conscience, le yoga et la méditation sont d'excellents moyens de gérer le stress, qui peut sinon perturber l'axe intestin-cerveau et causer des problèmes digestifs.
- **Sommeil :** Essayez de dormir entre 7 et 9 heures par nuit pour permettre à votre intestin de se régénérer et de fonctionner correctement. Établir une routine de coucher peut aider à réguler l'horloge interne de votre corps (health-library, 2023).

1.9. Les probiotiques

1.9.1. Définition

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants que l'on peut retrouver dans divers produits, tels que les aliments, les médicaments et les compléments alimentaires. Les espèces de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont les plus couramment utilisées comme probiotiques, mais d'autres comme la levure *Saccharomyces cerevisiae*, ainsi que certaines espèces d'*E. Coli* et de *Bacillus*, sont également employées. Les bactéries lactiques, y compris certaines espèces de *Lactobacillus*, ont été utilisées depuis des millénaires pour conserver les aliments par fermentation, jouant ainsi un double rôle en tant qu'agents de fermentation et promoteurs de santé. Toutefois, le terme « probiotique » devrait être strictement réservé aux micro-organismes vivants dont les bienfaits pour la santé ont été prouvés par des études contrôlées. La fermentation des aliments confère un goût distinctif et réduit le ph, ce qui aide à prévenir la contamination par des agents pathogènes potentiels. Ce processus de fermentation s'applique à une large gamme de produits agricoles, tels que les céréales, racines, tubercules, fruits, légumes, lait, viande, poissons, etc (Francisco et G ,2011).

1.9.2. Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques

Pour être sélectionnées comme probiotiques chez l'humain, les souches microbiennes doivent répondre à des critères fonctionnels, sécuritaires et technologiques spécifiques. Ces caractéristiques sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être généralisées à d'autres souches, même au sein de la même espèce.Les divers critères de sélection sont présentés dans le tableau 1. La survie est un critère crucial pour les probiotiques, qui doivent atteindre vivants leur site d'action, l'intestin, et donc résister aux mécanismes de défense de l'hôte, car ils sont administrés par voie orale.Pour assurer leur survie à travers le tractus digestif, les

probiotiques sont d'abord évalués pour leur tolérance à l'acidité et à la bile. L'adhésion des bactéries probiotiques au tractus digestif leur permet de produire de manière continue des molécules bénéfiques pour l'hôte, tout en excluant les pathogènes et en stimulant le système immunitaire (BOUKHALFI, 2019).

1.9.3. Classification des souches probiotiques

Les bactéries probiotiques doivent être désignées conformément aux règles du Code International de Nomenclature des Bactéries afin d'assurer une compréhension universelle. Cela implique de mentionner le nom du genre, le nom de l'espèce, ainsi que l'identifiant de la souche. En général, la classification des organismes vivants suit une hiérarchie qui inclut le domaine, le phylum, la classe, la sous-classe, l'ordre, la famille, le genre et l'espèce, comme illustré dans le tableau 1. À chaque niveau taxonomique, un suffixe spécifique est utilisé pour indiquer sa position dans cette hiérarchie (BELMARES et GHRAIRIA, 2022)

Tableau1: Principaux effets bénéfiques associés à la prise de probiotiques et mécanismes supposés (BOUKHALFI, 2019).

Effets sur la santé	Mécanismes supposés
Protection contre les Pathogènes entériques	<ul style="list-style-type: none"> Activité antagoniste (compétition pour les nutriments et les récepteurs, production de composés antimicrobiens) Stimulation du système immunitaire systémique Résistance à la colonisation et diminution de l'accès aux pathogènes (modification du ph, production de bactériocines, de Peptides anti-microbiens et de métabolites toxiques)
Aide à la digestion du Lactose	<ul style="list-style-type: none"> Les lactases bactériennes permettent le clivage du lactose en glucose et galactose assimilables
Effet anti-cancéreux	<ul style="list-style-type: none"> Activité antimutagène Altération de l'activité enzymatique pro-cancéreuse de microorganismes du côlon Neutralisation de carcinogènes alimentaires
Lutte contre L'hypercholestérolémie	<ul style="list-style-type: none"> Assimilation du cholestérol par les enzymes bactériennes Diminution de l'activité des hydrolases de sels biliaires

1.9.4. Effets bénéfiques des probiotiques

Les probiotiques sont théoriquement associés à de nombreux bienfaits pour la santé de l'hôte, mais les preuves scientifiques soutenant ces affirmations nécessitent encore des recherches approfondies. Les principaux effets confirmés ont été démontrés par des études cliniques en

double aveugle. D'autres effets sont simplement hypothétiques, car ils reposent sur des essais *in vitro* qui doivent être validés par des études *in vivo* (BOUKHALFI,2019).

1.10. Lien entre la flore intestinale et la santé mentale

1.10.1. Concept de l'axe intestin-cerveau

Il existe de nombreuses voies, tant directes qu'indirectes, par lesquelles le cerveau et l'intestin communiquent de manière bidirectionnelle. Les deux principales voies sont la voie nerveuse, représentée par le nerf vague en gris, et la voie sanguine, comprenant le réseau artériel en bleu et veineux en rouge, qui relient physiquement ces deux organes malgré la distance qui les sépare. Ainsi, tout signal émis par l'intestin peut potentiellement être détecté par le cerveau, et inversement. Les molécules libérées par le microbiote, telles que les nutriments ou les fragments bactériens, représentées par de petits ronds verts, peuvent être directement perçues et déclencher diverses réponses. Cependant, cette communication entre l'intestin et le cerveau est bien plus complexe, car elle implique non seulement ces deux organes, mais aussi l'ensemble des systèmes de notre organisme. Le système immunitaire, particulièrement actif dans l'intestin, joue un rôle intermédiaire crucial. Il est en effet en contact étroit avec notre microbiote et capable de détecter tout changement. Les cellules immunitaires, une fois activées par les microorganismes, peuvent également produire des molécules qui stimulent le nerf vague ou circulent dans le sang jusqu'au cerveau. Ces cellules peuvent même emprunter cette voie. De plus, des recherches récentes suggèrent que les signaux émis par le microbiote peuvent être "mémorisés" par nos cellules via des mécanismes épigénétiques, entraînant ainsi des effets à long terme (axe-intestin-cerveau, 2020).

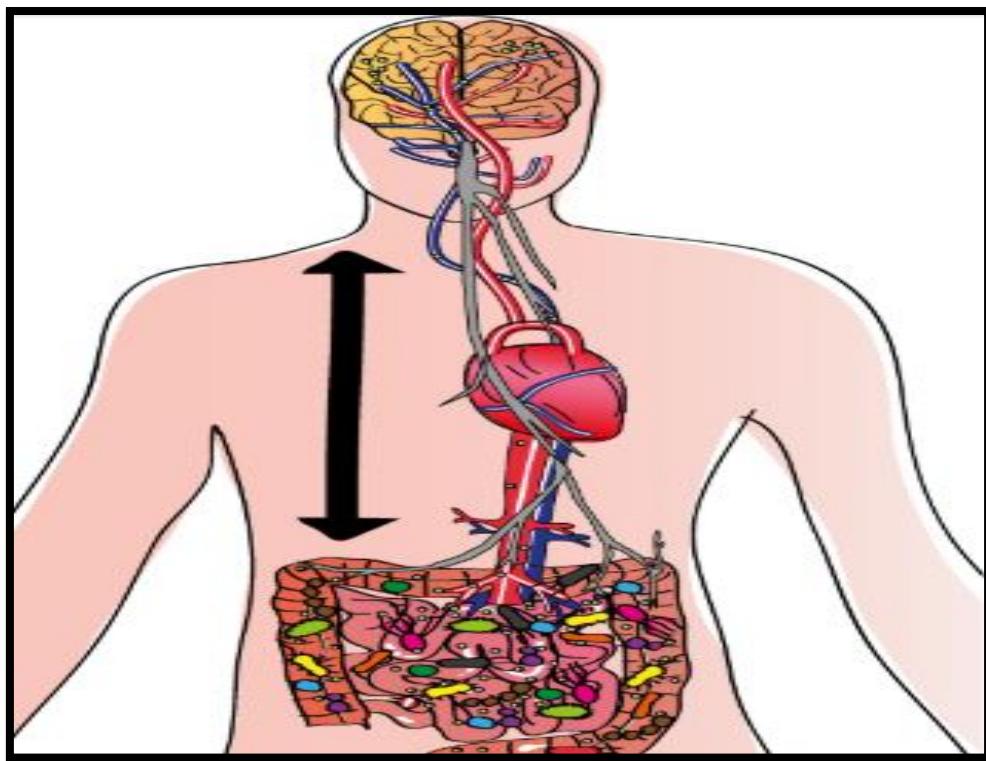


Figure 4: l'axe intestin-cerveau (axe-intestin-cerveau, 2020).

1.9.2. Les liens entre microbiote et cerveau

Le rôle des microbes intestinaux dépasse la simple digestion. Des preuves scientifiques établissent un lien entre ces microbes et le cerveau. Une étude belge, publiée dans la revue *Nature Microbiology*, suggère que certains types de bactéries intestinales pourraient influencer la qualité de vie et être associés à la dépression.

L'intestin abrite 200 millions de neurones qui communiquent constamment avec ceux du cerveau, assurant une interaction continue entre ces deux organes.

Stress, anxiété et dépression... Vos bactéries intestinales peuvent influencer votre comportement et interférer avec certaines maladies du système nerveux. « Cela peut sembler surprenant, mais il est certainement vrai que les états dépressifs peuvent être liés à un déséquilibre des bactéries intestinales », explique Natalie Ballesteros.

Ainsi, les microbes intestinaux jouent un rôle dans la gestion du stress et des émotions. Actuellement, les médecins cherchent à comprendre la véritable nature des liens entre les bactéries intestinales et le cerveau, souvent considéré comme le deuxième cerveau du corps humain (axe-intestin-cerveau, 2020).

2. La Flore Intestinale chez le Rat Wistar

2.1. Composition de la flore intestinale chez rat wistar

Le système digestif se compose du tube digestif et des organes digestifs accessoires. Le tube digestif est segmenté en plusieurs parties, allant de la bouche à l'anus, en passant successivement par l'œsophage, l'estomac, le duodénum, le jéjunum, l'iléon, le côlon et le rectum. Les organes digestifs accessoires incluent les glandes salivaires, le pancréas, le foie et la vésicule biliaire.

Le terme "microbiote" désigne l'ensemble des espèces bactériennes qui colonisent les surfaces du corps humain exposées à l'environnement extérieur. Le tractus intestinal est l'organe le plus densément peuplé, avec le côlon abritant plus de 70 % de tous les micro-organismes du corps humain. Ces micro-organismes coexistent harmonieusement dans notre tractus gastro-intestinal, interagissant avec la muqueuse, l'épithélium intestinal et le système immunitaire mucosal.

Le microbiote intestinal joue un rôle crucial dans le fonctionnement du système immunitaire intestinal, essentiel pour maintenir la barrière protectrice de la paroi intestinale, qui est exposée dès la naissance à un flux constant d'antigènes alimentaires et microbiens. Par exemple, des bactéries comme *Escherichia coli* aident à prévenir la colonisation du tube digestif par des espèces pathogènes, grâce à la compétition et à la production de substances bactéricides, appelées bactériocines. De plus, dès les premières années de vie, le microbiote est indispensable pour que l'immunité intestinale apprenne à différencier les espèces commensales des pathogènes (ABDALI et BELHADJ, 2021).

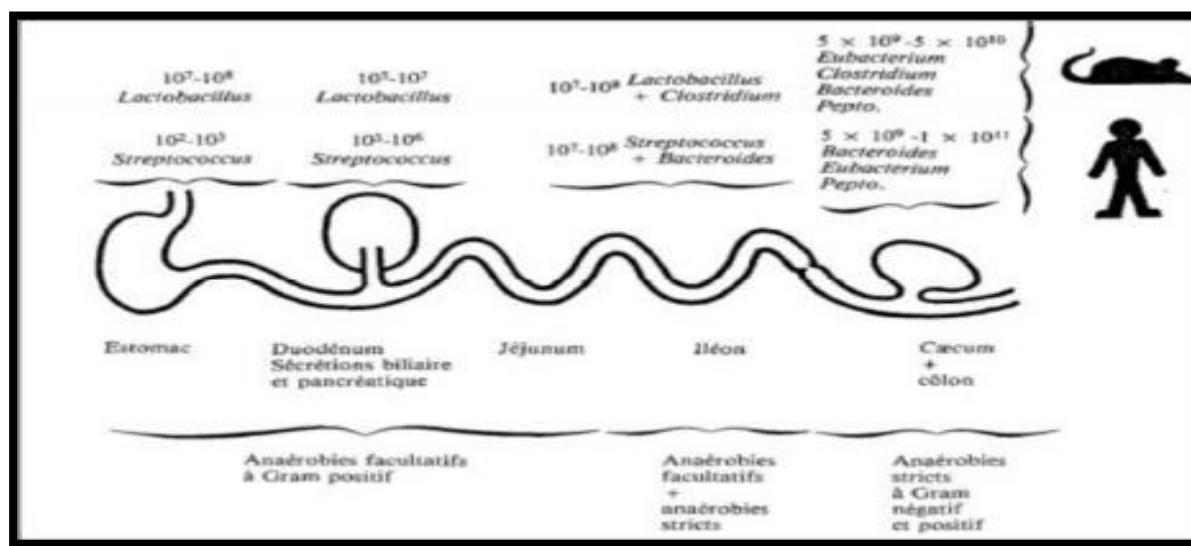


Figure 5 : Répartition schématique de la flore microbienne dans les divers compartiments du tube digestif chez l'homme et le rat (ABDALI et BELHADJ, 2021).

2.2. Comparaison de la flore intestinale du rat Wistar avec celle de l'homme

Tableau2: comparaison entre la flore intestinale humaine et celle du rat Wistar

Caractéristiques	Homme	Rat wistar
Diversité bactérienne	La flore intestinale est plus diversifiée, avec une prédominance de <i>*Firmicutes*</i> et <i>*Bacteroidetes*</i> . Les genres <i>*Bifidobacterium*</i> et <i>*Escherichia*</i> sont également courants.	Dominée par les bactéries des genres <i>*Lactobacillus*</i> , <i>*Bacteroides*</i> , et <i>*Clostridium*</i> . Ces bactéries jouent un rôle crucial dans la digestion des fibres alimentaires et la production d'acides gras à chaîne courte.
Fonctions métaboliques	Chez l'homme, la flore intestinale est impliquée dans une gamme plus large de fonctions métaboliques, y compris la modulation du système immunitaire, la protection contre les pathogènes, et la régulation du métabolisme lipidique.	Les bactéries intestinales des rats aident principalement à la fermentation des glucides complexes et à la synthèse de certaines vitamines.
Impact des facteurs environnementaux	La flore intestinale humaine est influencée par une multitude de facteurs, y compris le régime alimentaire, le mode de vie, l'utilisation d'antibiotiques, et même le stress.	Les conditions de laboratoire contrôlées signifient que les variations de la flore intestinale sont souvent dues à des changements dans le régime alimentaire ou à des interventions expérimentales.
Résilience et adaptation	Bien que la flore intestinale humaine soit également adaptable, elle montre une résilience significative, revenant souvent à un état d'équilibre après des perturbations.	S'adapter rapidement aux changements alimentaires, ce qui en fait un bon modèle pour étudier les effets des régimes alimentaires spécifiques.

2.3. Histologie DU TRACTUS DIGESTIF

Les couches qui composent le tractus digestif sont différentes en fonction de la localisation et dépendent de la fonction exercée.

L'ensemble du tractus digestif est composé de 4 couches

De l'intérieur vers l'extérieur et débutant avec la lumière du tube digestif :

- La muqueuse, avec l'épithélium, le chorion et la musculaire muqueuse
- La sous-muqueuse, où se trouve le plexus nerveux de Meissner
- La muscleuse, contenant les cellules « pacemaker » qui contrôle le rythme du péristaltisme (plexus nerveux myentérique d'Auerbach et des cellules de Cajal)
- La séreuse (adventice ou sous-séreuse), un tissu conjonctif dans le péritoine riche en adipocytes.

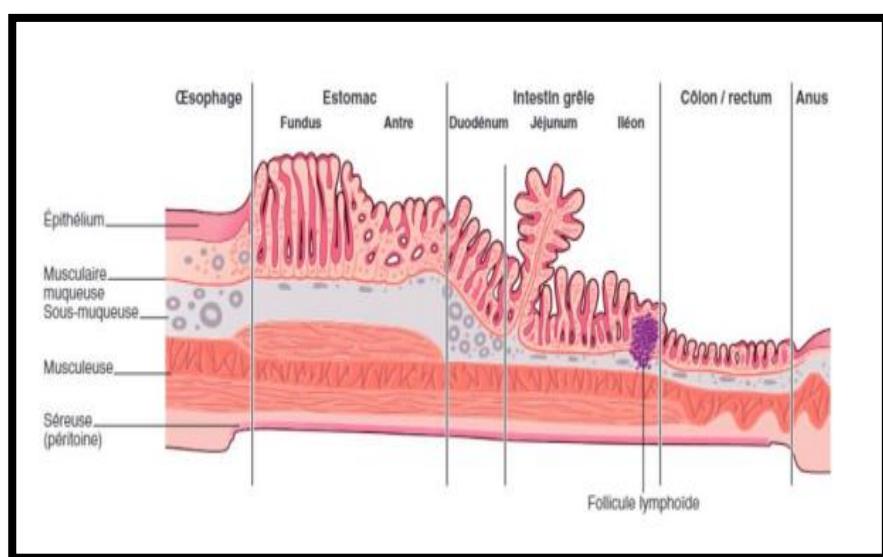


Figure 6 : HISTOLOGIE DU TRACTUS DIGESTIF (GASPÉRINI, 2022).

La muqueuse de l'intestin grêle est organisée en deux structures principales : les villosités et les cryptes de Lieberkühn. Les villosités sont des projections en forme de doigt recouvertes d'un épithélium unistratifié, tandis que les cryptes s'enfoncent dans le chorion. Plusieurs types cellulaires composent l'épithélium de ces structures :

- Entérocytes : Principaux composants, dotés de microvillosités formant une bordure en brosse, ils jouent un rôle crucial dans l'absorption de l'eau et des nutriments.
- Cellules caliciformes : Elles produisent du mucus, stabilisé par des mucines et des peptides, formant une couche protectrice le long du tractus gastro-intestinal. Cette couche est particulièrement épaisse dans l'iléon terminal et le côlon.

- Cellules entéro-endocrines : Sécrètent des hormones essentielles comme la sérotonine, la somatostatine et le peptide YY, influençant la motilité intestinale et la satiété.
- Cellules de Paneth : Situées au fond des cryptes, elles sécrètent des facteurs de prolifération pour les cellules souches et des peptides antimicrobiens, contribuant à la stérilité des cryptes.
- Cellules M : Impliquées dans la surveillance immunitaire, elles échantillonnent les éléments présents dans la lumière intestinale pour éduquer le système immunitaire.
- Cellules Tuft : Sécrètent des β -endorphines, bien que leurs fonctions précises restent à élucider.
- Cellules souches : Présentes dans les cryptes, elles assurent le renouvellement de l'épithélium en 4 à 5 jours.

Dans le côlon, la muqueuse est similaire à celle de l'intestin grêle, mais sans villosités. Les cryptes sont présentes, et les entérocytes sont remplacés par des colonocytes, qui ont également une fonction absorbante. Un défaut d'intégrité de cet épithélium peut entraîner une perméabilité accrue, associée à des pathologies comme le syndrome de l'intestin irritable (GASPÉRINI, 2022).

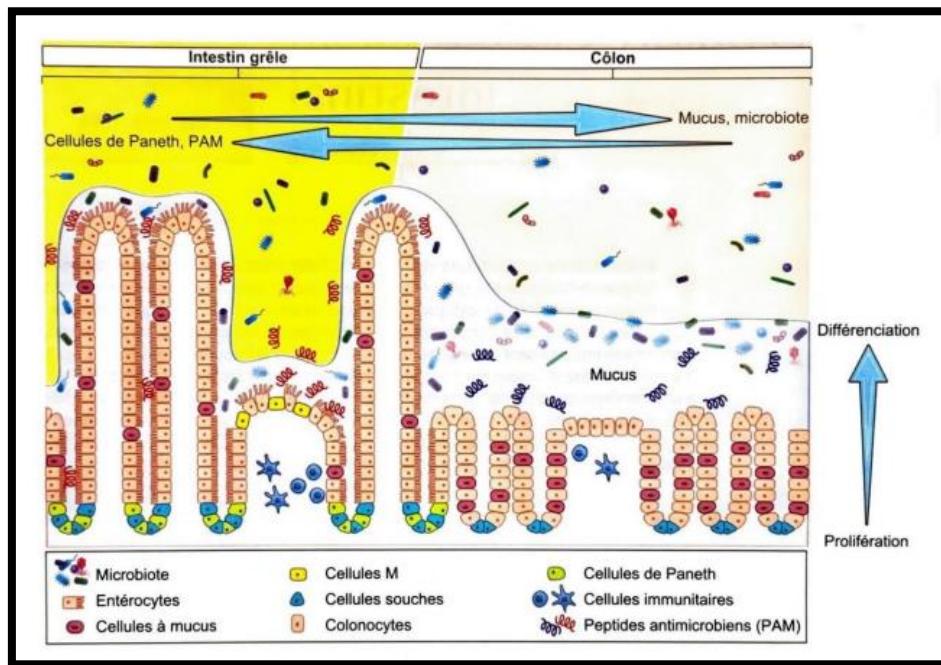


Figure 7 :L'ECOSYSTEME DYNAMIQUE ET COMPLEXE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL (GASPÉRINI, 2022).

3. Conséquences des Modifications de la Flore Intestinale

3.3. Maladies intestinales

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), telles que la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, résultent d'une activation inappropriée du système immunitaire au niveau intestinal. Leur apparition est influencée par des facteurs génétiques et environnementaux, comme l'alimentation et l'âge. Le microbiote intestinal joue un rôle crucial dans ces maladies, comme le suggère l'amélioration des symptômes chez les patients traités par antibiotiques, ou la disparition des lésions inflammatoires chez ceux dont l'intestin est isolé des matières fécales grâce à une dérivation fécale. Cela s'explique probablement par l'influence des bactéries intestinales et de leurs métabolites sur l'équilibre de la réponse immunitaire locale (microbiote-intestinal, 2021).

Des dysbioses associées aux MICI ont été décrites. Elles sont caractérisées par un déficit en certaines bactéries, comme *Faecalibacteriumprausnitzii* ou d'autres espèces du groupe *Clostridium*, ainsi que par une augmentation de la population d'autres bactéries pro-inflammatoires comme les entérobactéries ou les bactéries du genre *Fusobacterium*. On pense que ces déséquilibres sont à la fois une cause et une conséquence de la maladie : la dysbiose apparaît sous l'influence de facteurs génétiques et environnementaux, mais jouerait elle-même un rôle dans le démarrage, le maintien ou la sévérité de l'inflammation, engendrant un cercle vicieux. Le rôle des métabolites bactériens dans ces mécanismes est aussi suspecté (microbiote-intestinal, 2021).

Parmi les dizaines de gènes de prédisposition aux MICI aujourd'hui identifiés, certains jouent un rôle déterminant vis-à-vis du microbiote. C'est par exemple le cas du gène NOD2, dont les variations sont celles qui ont le plus de poids dans le risque de survenue de la maladie de Crohn en occident. Or ce gène code pour un récepteur de l'immunité innée, chargé de détecter un composant de la paroi bactérienne. Muté, il ne peut plus jouer ce rôle et favoriser le maintien de la barrière intestinale. Autre exemple, celui des polymorphismes qui affectent le gène CARD9, également impliqué dans la reconnaissance des micro-organismes par l'immunité innée. Son dysfonctionnement favorise le déséquilibre du microbiote et l'instauration d'une inflammation au niveau local (microbiote-intestinal, 2021).

Des liens ont également été établis entre dysbiose et développement de cancers, tels que le cancer de l'estomac, le cancer colorectal et le cancer du sein. Le microbiote intestinal pourrait par la même occasion impacter la réponse à certains traitements anticancéreux comme l'immunothérapie dans le cas du cancer du poumon. Ainsi, certaines espèces bactériennes pourraient intervenir dans le succès de ces traitements (focus-microbiote-intestinal, 1990).

Il existe aussi des associations entre le microbiote et le système immunitaire. La recherche tend aujourd'hui à montrer que la dégradation du microbiote aurait une influence directe sur la gravité de plusieurs maladies infectieuses, telles que la grippe et la Covid-19. Une dysbiose favoriserait ainsi les surinfections pulmonaires dans la grippe et augmenterait la sévérité des symptômes dans les infections dues au SARS-cov-2, le virus responsable de la Covid-19 (focus-microbiote-intestinal, 1990).

En outre, des études ont suggéré que des perturbations dans l'établissement du microbiote intestinal après la naissance pouvaient aussi se répercuter à plus long terme sur le développement du système immunitaire. Ainsi, dans les méningites bactériennes néonatales par exemple, l'immaturité du microbiote chez les nouveau-nés élèverait le risque d'infection (focus-microbiote-intestinal, 1990).

3.4. Relation avec les maladies métaboliques

Les avancées récentes dans la compréhension des maladies métaboliques, telles que le diabète de type 2, l'obésité et la stéatose hépatique non-alcoolique, ont mis en lumière le rôle potentiel du microbiote intestinal. Grâce au séquençage à ultra-haut débit, des associations entre ces pathologies et des modifications du microbiote ont été établies. Par exemple, les recherches menées par le groupe d'o. Pedersen au Danemark ont révélé une signature caractéristique du microbiote chez les patients obèses et, dans une certaine mesure, chez ceux atteints de diabète de type 2.

Chez les patients obèses, on observe souvent une réduction significative du nombre de gènes bactériens, introduisant le concept de dysbiose intestinale. Cette réduction de la diversité microbienne est généralement plus marquée chez les individus avec un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 45, mais elle peut être partiellement compensée par un régime riche en fibres alimentaires, qui augmente la diversité microbienne et améliore la santé globale.

La notion d'entérotypes, qui regroupe des patients selon leur métagénome bactérien plutôt que leur phénotype, a également été avancée. Cependant, l'identification de signatures bactériennes spécifiques pour le diabète de type 2 et l'obésité reste complexe et ambiguë. La réduction de la diversité microbienne n'est pas exclusive aux maladies métaboliques, car elle est également observée dans d'autres pathologies, comme la maladie de Crohn. De plus, une proportion significative de patients obèses ne présente pas cette altération du microbiote, soulignant le caractère multigénique et multi-étiologique de ces maladies ([All issues](#), 2016).

3.5. Influence sur le comportement et la santé mentale (dépression et anxiété)

Le microbiote intestinal joue un rôle crucial dans l'axe intestin-cerveau, une voie de communication bidirectionnelle qui influence à la fois la santé physique et mentale. Cette interaction complexe implique l'échange de signaux chimiques et neuronaux entre le système digestif et le cerveau. Par exemple, le microbiote produit des neurotransmetteurs comme la sérotonine, qui peuvent influencer l'humeur et le comportement. Des études ont montré que des altérations du microbiote peuvent être associées à des troubles psychiatriques et neurodégénératifs, tels que l'anxiété et la dépression.

Un exemple fascinant de cette interaction est l'effet de certaines bactéries probiotiques, comme *Lactobacillus rhamnosus*, sur le comportement. Des recherches sur des modèles animaux ont démontré que l'administration de cette bactérie peut réduire les symptômes de la dépression, mais cet effet bénéfique disparaît si le nerf vague (NV), une voie de

communication clé entre l'intestin et le cerveau, est sectionné. Cela souligne l'importance du nerf vague dans la médiation des effets du microbiote sur le cerveau.

De plus, le stress, qu'il soit psychologique ou physique, peut modifier la composition et l'activité du microbiote intestinal, ce qui peut avoir des répercussions sur la santé globale. Ces découvertes ouvrent la voie à de nouvelles approches thérapeutiques pour traiter les maladies mentales et physiques en modulant le microbiote intestinal (GASPÉRINI, 2022).

4. Stratégies pour Atténuer les Effets Négatifs des Antibiotiques

4.3. Probiotiques et prébiotiques

L'utilisation de probiotiques et de prébiotiques est une approche prometteuse pour maintenir et restaurer l'équilibre du microbiote intestinal. Les probiotiques, qui sont des micro-organismes vivants bénéfiques, peuvent aider à rétablir l'équilibre du microbiote après des perturbations, comme les traitements antibiotiques. Ils ont montré leur efficacité dans le traitement et la prévention de certaines diarrhées infectieuses et présentent un potentiel dans la gestion de troubles gastro-intestinaux tels que le syndrome de l'intestin irritable. Les prébiotiques, en revanche, sont des composés alimentaires non digestibles qui favorisent la croissance et l'activité des bactéries bénéfiques dans l'intestin. En nourrissant ces bactéries, les prébiotiques peuvent améliorer la santé digestive, renforcer le système immunitaire et même aider à réguler le métabolisme. Des études continuent d'explorer les effets spécifiques de différentes souches de probiotiques et de types de prébiotiques, ainsi que leur potentiel dans le traitement de diverses conditions de santé (quest-ce-que-la-flore-intestinale).

4.4. Régimes alimentaires et suppléments

Les aliments riches en fibres, tels que les fruits, les légumes et les grains entiers, nourrissent les bactéries bénéfiques dans l'intestin et peuvent aider à rétablir un microbiote sain. Les aliments fermentés, qui contiennent des probiotiques naturels, peuvent également aider à repeupler l'intestin avec des bactéries saines et diversifiées, potentiellement réduisant les réactions d'intolérance alimentaire (quest-ce-que-la-flore-intestinale).

4.5. Alternatives aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques, et plus largement aux antimicrobiens, continue de progresser et de se répandre. Cela rend le traitement des maladies infectieuses de plus en plus complexe, voire parfois impossible, ce qui entraîne une hausse de la morbidité et de la mortalité. Face à l'inefficacité des thérapies antimicrobiennes traditionnelles, de nouvelles stratégies alternatives ont été développées pour combattre ces infections microbiennes multi-résistantes (B. Imane, 2023).

4.5.1. La thérapie phagique

Les bactériophages, découverts par Frederick Twort en 1915 et Félix d'Hérelle en 1917, ont été envisagés comme une solution potentielle pour traiter les infections bactériennes. Bien que les premiers résultats de la thérapie par les phages aient été prometteurs, leur utilisation a été éclipsée par la découverte de la pénicilline en 1928 et la production massive d'antibiotiques. Cependant, face à l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques, due à des mutations ou à l'acquisition de gènes de résistance, l'intérêt pour la phagothérapie a récemment ressurgi.

La phagothérapie présente plusieurs avantages. Premièrement, les bactériophages ciblent spécifiquement les bactéries sans affecter les cellules humaines ou le microbiote environnant, ce qui les rend sûrs, bien qu'ils puissent déclencher une réponse immunitaire. Deuxièmement, les phages ont la capacité de s'auto-amplifier et de provoquer la lyse des bactéries hôtes, bien que ce processus s'arrête en l'absence de bactéries cibles. Troisièmement, la spécificité des phages réduit le risque d'émergence de résistance bactérienne, et ils sont moins susceptibles que les antibiotiques traditionnels de provoquer une résistance croisée. De plus, certains phages possèdent des dépolymérasées de polysaccharides capables de dégrader les biofilms.

La thérapie par les phages n'est pas nouvelle, avec des publications datant de plus d'un siècle rapportant des résultats favorables. Le concept de synergie phage-antibiotique (PAS) a été exploré pour la première fois par COMEAU, qui a observé une augmentation significative de la taille des plaques de phages en présence de doses sublétale de certains antibiotiques, comme les β -lactamines et les quinolones. Cette augmentation de la taille des plaques indique une production accrue de phages, entraînant une inhibition de la croissance bactérienne et/ou leur lyse. Ce phénomène a été observé non seulement avec des phages *d'e.coli* et de *Y. Pseudotuberculosis*, mais aussi avec des phages spécifiques de *P. Aeruginosa*, *S. Aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcusfaecalis*, et *Burkholderiacepacia* (B. Imane, 2023).

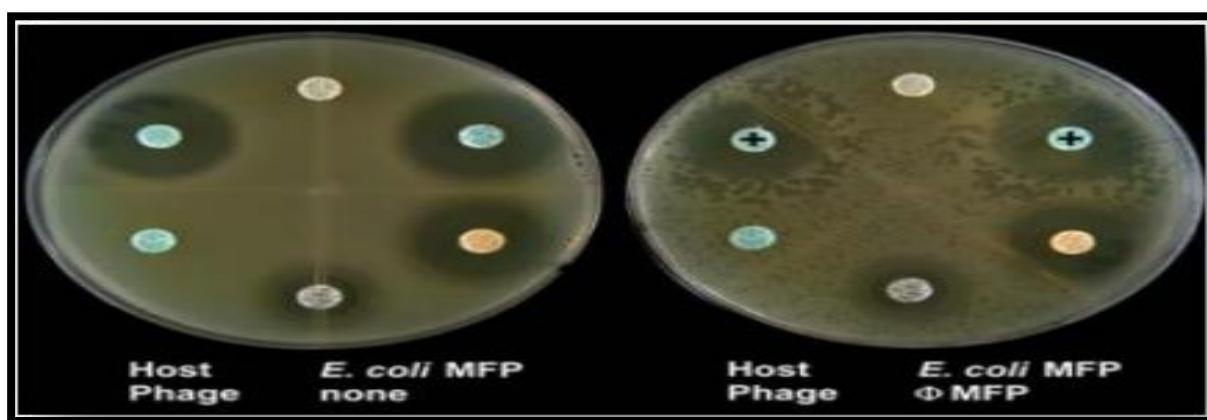


Figure 8 : l'effet PAS du phage wmp sur *E. Coli* MFP sur des plaques de gélose LB (Luria-Bertani) (B. Imane, 2023).

Certains champignons et bactéries, comme les actinomycètes, produisent des antibiotiques pour éliminer les bactéries concurrentes qui se disputent les mêmes ressources.

Les bactériophages profitent de ces bactéries affaiblies par les antibiotiques pour les infecter plus efficacement et se propager plus rapidement. Ce phénomène illustre une forme de mutualisme entre les phages et les producteurs d'antibiotiques, visant à éliminer les compétiteurs bactériens. Grâce à la spécificité des phages, les traitements combinant antibiotiques et phages pourraient permettre une élimination plus ciblée et efficace des bactéries pathogènes, tout en réduisant l'impact sur les bactéries commensales bénéfiques (B. Imane, 2023).

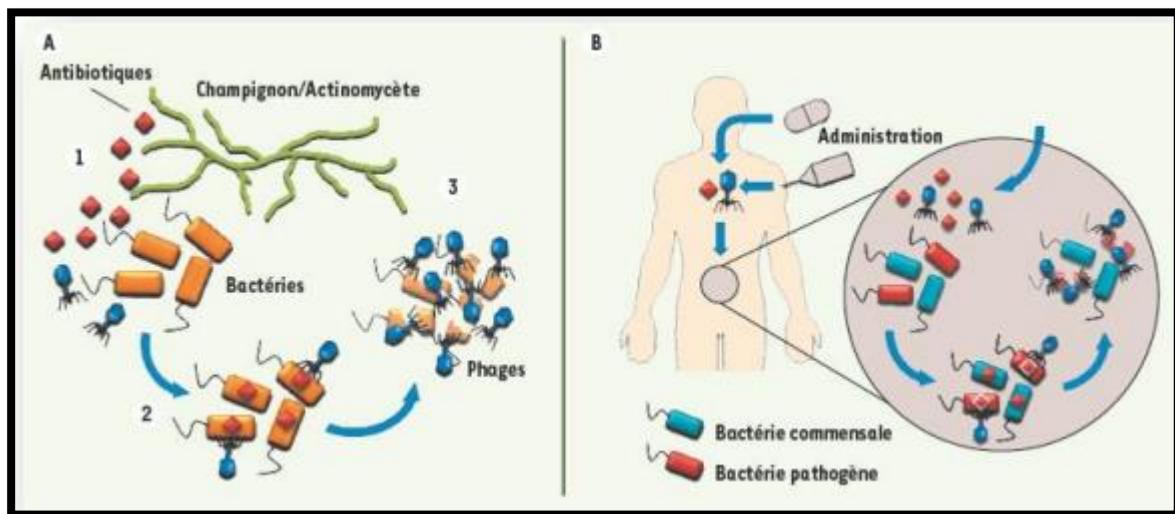


Figure 9 : le phénomène de « synergie phages-antibiotiques » (PAS) dans l'environnement (A) et en phagothérapie (B) (B. Imane, 2023).

4.5.2. Les peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont des composés organiques présents dans tous les règnes de la vie, y compris les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. En plus de cibler les membranes microbiennes chargées négativement, les AMP peuvent également attaquer des composants intracellulaires tels que les ribosomes, certaines protéines spécifiques et les acides nucléiques. Ils possèdent un large spectre d'activité contre divers agents pathogènes. Ces peptides, qui sont des oligopeptides de défense de l'hôte chargés positivement, interagissent avec la membrane cellulaire bactérienne, provoquant ainsi la lyse cellulaire, ce qui en fait une alternative prometteuse pour combattre les pathogènes. Contrairement aux antibiotiques traditionnels, les AMP endommagent physiquement les cellules bactériennes par des interactions électrostatiques, rendant difficile le développement de résistances. De nombreux peptides antimicrobiens, qu'ils soient naturels ou issus de la bio-ingénierie, ont démontré leur efficacité antimicrobienne, anti-biofilm, anti-inflammatoire et cicatrisante, avec une cytotoxicité minimale, tant *in vitro* qu'*in vivo*. Par exemple, l'histatine 5, un peptide salivaire humain cationique riche en histidine, montre une forte activité anti-biofilm *in vitro* et une puissante activité bactéricide ($\geq 70\%$) contre les bactéries pathogènes.

De même, le peptide cationique de novo WLBU-2 et l'ampnaturel LL-37 ont montré une inhibition du biofilm de 90 % à une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1/3X, surpassant des antibiotiques comme la tobramycine, la ciprofloxacine, la ceftazidime et la vancomycine à une CMI de 1X. En outre, une formulation hydrogel contenant K11, un peptide hybride de mélittine, de cecropine A1 et de magainin-2, a démontré des propriétés de cicatrisation des plaies dans un modèle d'excision murine infecté par *A. Baumannii*, suggérant son potentiel en tant qu'agent thérapeutique topique anti-infectieux. (B. Imane, 2023).

4.5.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances naturelles constituées de métabolites secondaires extraits de différentes parties des plantes, telles que les fleurs, les graines, les bourgeons, les brindilles, les feuilles, les écorces, les herbes et les racines. Elles sont considérées comme une ressource précieuse pour combattre les bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Parmi les composants chimiques les plus courants des huiles essentielles, on trouve les flavanols, les flavonoïdes, les phénols, les terpénoïdes, les polyphénols, les tanins, les quinones, les flavones, les coumarines, les alcaloïdes, les lectines et les polypeptides. Ces composants possèdent diverses activités biologiques potentielles, notamment des propriétés antioxydantes, insecticides, antiseptiques, antiallergiques, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Les huiles essentielles ont un large spectre d'action contre de nombreux pathogènes bactériens, car elles peuvent pénétrer facilement dans la composante lipidique de la membrane cellulaire bactérienne et perturber la structure de la paroi cellulaire. La combinaison des huiles essentielles et des lipides entraîne une perte d'intégrité et de contenu cellulaire, conduisant à la mort cellulaire. Certains composants des huiles essentielles, comme les isomères terpène-4-ol terpénoïl, inhibent la respiration cellulaire et rendent la membrane cellulaire inefficace en tant que barrière perméable. Les composants bioactifs présents dans diverses huiles essentielles jouent un rôle important et unique. Par exemple, les huiles essentielles de cannelle et de poivre noir endommagent les membranes cellulaires et inhibent *E. Coli* et *S. Aureus*. L'huile essentielle extraite des feuilles de *Psidiumguajava* (goyave), connue sous le nom de PGLEO, a été étudiée pour son potentiel dans le traitement des infections buccales et du cancer de la bouche. Il a été démontré que le PGLEO possède une action antibactérienne potentielle contre *Streptococcus mutans* et *Candida albicans* dans des études *in vitro* et *in silico*, ce qui en fait une ressource précieuse pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques pour les maladies bucco-dentaires. L'huile essentielle de cannelle (CEO), un métabolite secondaire dérivé de la cannelle séchée, a été examinée pour ses propriétés antibactériennes contre *Salmonella Enteritidis*. Les résultats montrent que la CEO réduit le métabolisme bactérien de *S. Enteritidis* en inhibant l'ATP, l'ATPase et le cycle de l'acide tricarboxylique (B. Imane, 2023).

4.5.4. Les nanoparticules

Les nanomatériaux sont des substances dont la taille se situe à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire entre 1 et 100 nanomètres, ou dont l'unité élémentaire dans l'espace tridimensionnel se trouve dans cette gamme. Les nanoparticules (NP) ont démontré des propriétés antibactériennes à large spectre, efficaces contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Par exemple, il a été rapporté que les nanoparticules de

zno inhibent *Staphylococcus aureus*, tandis que les nanoparticules d'argent (Ag) sont reconnues pour leur activité antimicrobienne contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, les mécanismes antibactériens spécifiques des NP ne sont pas encore entièrement compris, et bien qu'elles ne puissent pas être systématiquement considérées comme des agents antibactériens, elles présentent souvent des effets variés.

Les nanoparticules ont également prouvé leur efficacité contre les biofilms et les spores bactériennes. Les biofilms bactériens facilitent la conjugaison de plasmides contenant des gènes de résistance aux antibiotiques, et la matrice du biofilm protège les cellules bactériennes des traitements antibiotiques, ce qui les rend extrêmement tolérants et résistants. Actuellement, les surfaces et revêtements nano-structurés, qu'ils soient organiques ou inorganiques, sont parmi les solutions les plus prisées pour prévenir la formation de biofilms. Par exemple, les nanostructures de polyuréthane peuvent empêcher la formation de biofilms de *Staphylococcus epidermidis*, *S. Aureus*, *E. Coli*, et *P. Mirabilis* en interférant avec l'adhésion des cellules bactériennes à la topographie de la surface nanostructurée (B. Imane, 2023).

4.5.5. Les plantes médicinales

L'utilisation des plantes médicinales pour combattre les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques suscite un intérêt croissant en raison de leur potentiel thérapeutique. De nombreuses recherches ont démontré que certaines plantes médicinales possèdent des propriétés antibactériennes et peuvent être efficaces contre des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (B. Imane, 2023).

4.6. Avantages et limites de l'utilisation du rat Wistar dans la recherche

Les rats Wistar sont une souche albinos largement utilisée dans la recherche biomédicale et biologique. Ils ont été développés à partir de croisements consanguins au Wistar Institute à partir de 1906 pour servir de modèle animal dans divers domaines scientifiques.

4.6.1. Avantage

Polyvalence et Adaptabilité : Les rats Wistar sont utilisés dans de nombreux domaines de recherche, tels que l'oncologie, la pharmacologie, la nutrition, le métabolisme, la physiologie, la tératologie, la toxicologie, et les maladies infectieuses.

Similitudes Physiologiques avec l'Homme : Les systèmes biologiques des rats sont proches de ceux des humains, ce qui permet des extrapolations utiles pour la recherche médicale. Tous les gènes connus pour être associés à des maladies chez l'homme ont un équivalent chez le rat.

Facilité d'Élevage et de Manipulation : Les rats Wistar sont faciles à élever et à manipuler, ce qui les rend idéaux pour des études nécessitant une grande quantité d'animaux.

Technologies d'Édition Génomique : Grâce à des technologies comme CRISPR, il est désormais possible de réaliser des modifications génétiques sur les rats, ce qui élargit leur utilité dans la recherche (Janvier-Labs., 2019).

4.6.2. Limite

Consanguinité : Bien que certains textes indiquent que les rats Wistar sont non consanguins¹, d'autres soulignent qu'ils ont été développés par croisements consanguins, ce qui peut limiter leur diversité génétique.

Comportement et Besoins Environnementaux : Les rats ont des besoins comportementaux et environnementaux complexes qui doivent être pris en compte pour éviter des comportements anormaux ou des problèmes de santé.

Problèmes de Santé Spécifiques : Les rats Wistar peuvent être sujets à des problèmes de santé comme les tumeurs mammaires ou l'insuffisance rénale chronique, ce qui nécessite une surveillance médicale régulière.

Évaluation et Soulagement de la Douleur : l'évaluation et le soulagement de la douleur chez les rats peuvent être difficiles, ce qui nécessite une attention particulière dans la conception des études.

Limitations Techniques : Bien que les rats soient plus grands que les souris, leur petite taille par rapport aux humains peut toujours poser des défis pour certaines interventions chirurgicales ou techniques d'imagerie (Janvier-Labs., 2019).



Figure 10 : Rat wistar (Janvier-Labs., 2019).

Chapitre 02

Les antibiotiques

1.1. Définition

Les antibiotiques se distinguent parmi les médicaments comme étant étroitement liés à la révolution médicale du xxesiècle. Souvent appelés « traitements miraculeux », ils ont renforcé l'idée que la science pouvait surmonter toutes les maladies. Le terme antibiotique vient du grec, avec "anti" signifiant contre et "biôtikos" relatif à la vie. Ces substances chimiques, qu'elles soient naturelles ou synthétiques, ciblent spécifiquement les micro-organismes tels que les bactéries et les protozoaires. Lorsqu'elles détruisent ces micro-organismes, elles sont qualifiées de bactéricides. Si elles se contentent d'enrayer leur multiplication, elles sont dites bactériostatiques. Les médicaments contenant des antibiotiques visent donc à inhiber ou éliminer les micro-organismes de manière ciblée, mais ils n'ont aucun effet sur les virus. (vidal, 2009).

Les antibiotiques ont indéniablement contribué à réduire la mortalité due aux maladies infectieuses. Cependant, l'excès de prescriptions inappropriées soulève des préoccupations importantes en matière de santé publique. Cela inclut non seulement un aspect économique lié aux dépenses pharmaceutiques, mais surtout un enjeu écologique, avec l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques, nécessitant ainsi la recherche de nouvelles molécules (pharmacomedicale, 2023)



Figure 11 : l'amoxicilline, spiramycine, antibiotiques (lamontagne, 2023).

1.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés en plusieurs familles, chacune ayant des caractéristiques distinctes influençant leur utilisation en médecine. Les **bêta-lactamines**, incluant les pénicillines et céphalosporines, inhibent la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, traitant efficacement des infections respiratoires, urinaires, et cutanées. Les **macrolides**, comme l'érythromycine, inhibent la synthèse protéique et sont utilisés pour les infections respiratoires et certaines infections sexuellement transmissibles. Les **aminosides**, tels que la gentamicine, sont efficaces contre les bactéries Gram-négatives et administrés par voie intraveineuse pour traiter des infections sévères comme les septicémies. Les **cyclines**, telles que les tétracyclines, sont des antibiotiques à large spectre inhibant la synthèse protéique, utilisés pour des infections variées, y compris l'acné. Les **quinolones**, comme la ciprofloxacine, inhibent la réplication de l'ADN bactérien, traitant les infections urinaires, respiratoires, et gastro-intestinales. Chaque famille a un spectre d'activité spécifique, des mécanismes d'action distincts, et des indications thérapeutiques particulières, avec des voies d'administration variées et des effets indésirables potentiels, tels que des réactions allergiques et des troubles gastro-intestinaux (S. Noura et s, 2019).

1.2.1. Classification par Mécanisme d'Action

1.2.1.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi cellulaire

a. Pénicilline

Tableau 3 : Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes représentés sur le tableau suivant (sofia.medicalistes, 2024).

Sous groupes	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Pénicilline G et ses dérivés	Parentérales : - Benzyl Pénicilline (péni G) - BenzylPénicillinepro caine - Bénéthaminebenzylp énicilline - Benzathine- benzyl pénicilline	Cocci Gram + : <i>Streptocoques</i> (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles. Cocci Gram- : <i>Neisseria</i> (surtout le méningocoque). Bacilles Gram+: <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Bacillus</i>	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique,

	Orales : - Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V) – Clométocilline	<i>anthracis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> , Anaérobies.....	carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui Aboutissent à la lyse bactérienne.
Pénicillines M (antistaphylococciques)	- Méthicilline Oxacilline Isoxazolyl-pénicillines) Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline.....	- Staphylocoque producteur de pénicillinase. : Staphylocoque MRSA-(sensibles à l'Oxacilline)	
Aminopénicillines(pénicillines à large spectre)	- Ampicilline Dérivés de l'ampicilline : Bacampicilline,Méta mpicillinPivampicilline, Pivampicilline - Amoxicilline, Epicilline	-Entérobactéries sauf : <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> et <i>Protéus</i> indole+ . - <i>Neisseriaméningitidis</i> , <i>Ha emophilus influenzae</i> b sensible (pénicillinase-) - Inactifs sur <i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i> <i>Streptococcus A, C, G</i>	
Carboxy-pénicillines	- Carbénicilline, Ticarcilline	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>). -Bacilles à Gram- résistants à l'ampicilline. - Entérobactéries productrices de céphalosporinases : <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> indole+.	
Acyl-amino-pénicillines (Uréido-pénicillines)	- Azlocilline Mezlocilline Pipéracilline	Entérobactéries productrices de céphalosporinases. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i>	
Amidino-pénicillines	- Mécillinam Pivmécillinam	Actifs uniquement sur les bacilles à Gram-, Pas d'action sur les Cocci à Gram+	

Pénicillines sulfones : inhibiteurs de β lactamases utilisées en association avec une β lactamine	Ampicilline+SulbactamPipéracilline+Tazobactam	Bactéries à Gram-fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	
---	---	---	--

b. Carbapénèmes

Tableau 4: l'antibiotique, le spectre d'activité et le mode d'action des carbapénèmes (sofia.medicalistes, 2024).

Groupe	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Carbapénèmes	Imipénème, MéropénèmeErtapénème, Faropenem	Bactéries à Gram- y compris Pseudomonas aeruginosa	Le mode d'action de cet antibiotique est identique au mode d'action des autres β lactamines

1.2.1.2. Inhibiteurs de la synthèse protéique

A. Aminosides

Les hétérosides naturels mentionnés sont des antibiotiques qui se composent de glycosides liés à un aminocyclitol, et ils agissent rapidement pour tuer les bactéries. Il existe de nombreuses molécules naturelles et semi-synthétiques dans cette catégorie. Ces antibiotiques sont classés en trois groupes principaux : streptamine, 2-désoxystreptamine et streptidine. Chacune de ces classes a des caractéristiques spécifiques qui influencent leur utilisation et leur efficacité contre différentes bactéries (M.Amina et B, 2016).

b. Macrolides

Il existe deux catégories de macrolides : les macrolides vrais et les macrolides Apparentés. Les macrolides vrais sont classés par leur nombre d'atome de carbone au niveau de leur noyau :

- 14 atomes de carbone : érythromycine, roxithromycine, clarithromycine.
 - 15 atomes de carbone : azithromycine.
 - 16 atomes de carbone : josamycine, midécamycine, spiramycine.
- Les macrolides apparentés se répartissent en trois catégories :
- Les streptogramines ou synergistines : pristinamycine.
 - Les lincosamides : clindamycine, lincomycine.
 - Les kétolides : téthromycine(Brain J.werth, 2024).

1.2.1.3. Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

a. Quinolones

Les quinolones sont des molécules obtenues par synthèse chimique, qui dérivent d'acides carboxyliques hétérocycliques diversement substitués. Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4. Les fluoroquinolones, ainsi appelées car contenant un atome de fluor en position 6, dérivent de la quinoléine (Brain J. werth, 2024).

1.2.1.4. Inhibiteurs de la voie métabolique

a. Sulfamides

Les sulfamides, découverts en 1935, sont les premiers agents antimicrobiens de synthèse. Leur structure moléculaire est similaire à celle de l'acide paraaminobenzoïque (PABA), un substrat naturel que les bactéries utilisent pour synthétiser la vitamine B9 (acide folique). Bien qu'ils aient joué un rôle crucial en chimiothérapie antimicrobienne, leur utilisation est aujourd'hui limitée en raison du risque d'allergies et de l'augmentation des résistances, tant chromosomiques que plasmidiques. Ces résistances affectent une large part du spectre des sulfamides, avec des taux de résistance allant de 25 à 40 % pour les entérobactéries communautaires et de 20 à 40 % pour *S. Aureus*, ainsi que pour le TMP.

b. Triméthoprime

Le TMP, un antibiotique synthétisé en 1956 par Hitchings et Bushby, appartient à la famille chimique des diamino-pyrimidines, tout comme la pyriméthamine, l'azathioprine et le méthotrexate. Sa structure chimique est la 2,4-diamino-5-[(3',4',5'-triméthoxyphényle) méthyl] pyrimidine..

Les effets indésirables les plus courants du TMP incluent des nausées, des vomissements et des douleurs gastriques. Le TMP peut également provoquer des troubles généraux qui ne sont généralement pas graves, ainsi que des hyponatrémies et des hyperkaliémies. Des réactions cutanées, telles que des démangeaisons et des éruptions maculopapuleuses, ont été observées chez 3 à 7 % des patients, généralement entre 7 et 14 jours après le début du traitement. Dans de rares cas, des réactions cutanées sévères ont été signalées, notamment l'érythème polymorphe, la nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell), le syndrome de Stevens-Johnson et l'érythème pigmenté fixe (W.Valentin, 2017).

1.2.2. Classification par Spectre d'Activité

1.2.2.1. Antibiotiques à large spectre

➤ Amoxicilline

L'amoxicilline est l'un des antibiotiques les plus fréquemment utilisés pour traiter les infections pendant la grossesse, malgré un spectre d'action limité et une résistance croissante. Cette pénicilline du groupe A est particulièrement avantageuse car elle est sûre à utiliser pendant la grossesse et peut traverser la barrière placentaire. L'amoxicilline fait partie des antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne et agit sur les bactéries en croissance. Elle est efficace contre les bactéries à Gram positif, similaires à la pénicilline G,

ainsi que contre certains bacilles à Gram négatif et les leptospires. Cependant, elle est susceptible d'être dégradée par les bêta-lactamases, des enzymes produites par certaines bactéries (W.Valentin, 2017).

1.2.2.2. Antibiotiques à spectre étroit

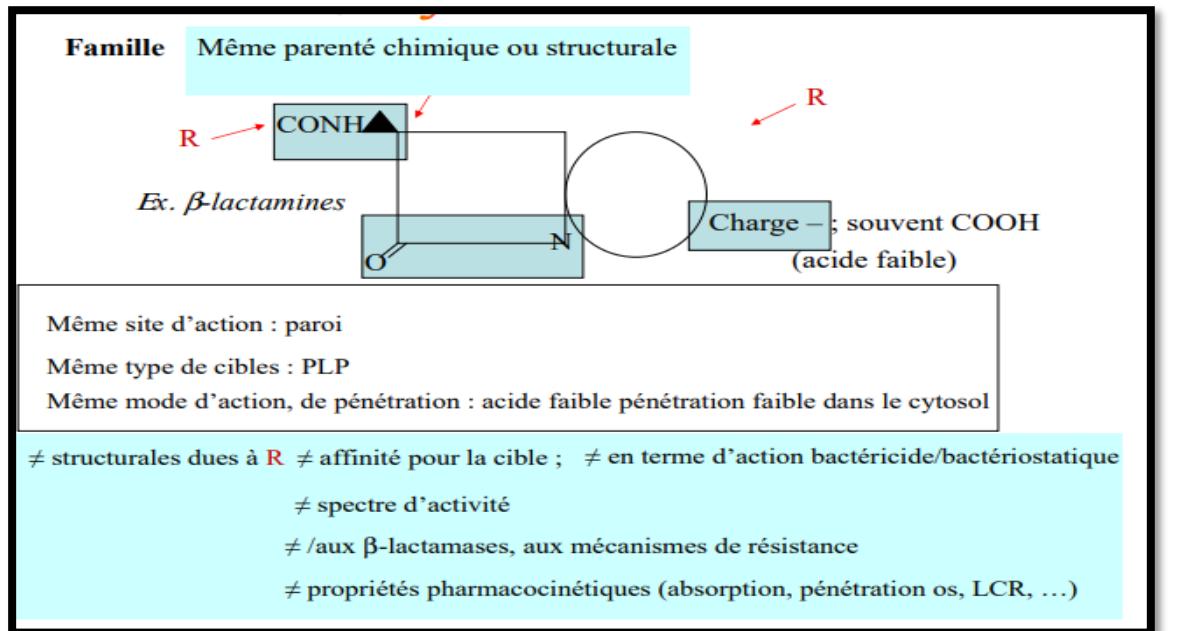
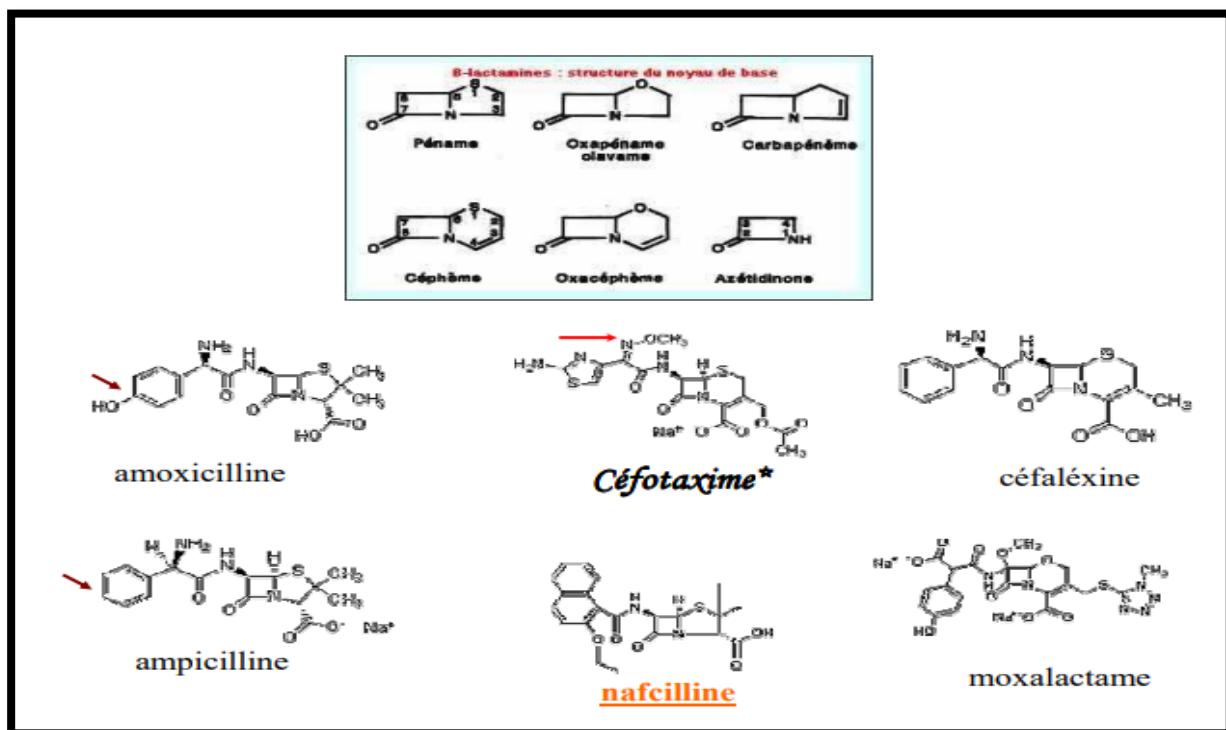
➤ Vancomycine

La vancomycine est un antibiotique glycopeptidique efficace contre les staphylocoques, les streptocoques et d'autres bactéries Gram-positives. Elle est le traitement de choix pour les infections causées par des staphylocoques résistants à la méthicilline, *Corynebacterium jeikeium*, et des souches multirésistantes de *Streptococcus pneumoniae*. La vancomycine est également une alternative pour traiter les infections graves à staphylocoques et streptocoques, y compris l'endocardite, lorsque les allergies empêchent l'utilisation de pénicillines et de céphalosporines. Elle est bactéricide pour la plupart des souches de staphylocoques et de streptocoques non entérocoques. Bien que des souches résistantes de staphylocoques et d'entérocoques à la vancomycine aient été signalées, la résistance bactérienne n'est pas encore un problème clinique majeur malgré son utilisation répandue. Avec une surveillance régulière des concentrations sériques et en évitant des taux de perfusion rapides, la vancomycine est rarement associée à une toxicité grave. (Wilhelm MP, 1991).



Figure 12: Vancomycine pour Injection (advacarepharma, 2024).

1.2.4. Classification par Structure Chimique :

**Figure 13 :** Classification selon la structure (sofia.medicalistes, 2024).**Figure 14 :** structure des différents antibiotiques (sofia.medicalistes, 2024).

1.3. Mécanismes d'action des antibiotiques

Il existe plus de 10 000 molécules antibiotiques connues, dont la majorité sont des produits naturels synthétisés par des procaryotes, des champignons, des plantes supérieures, des animaux ou des lichens. Les antibiotiques agissent en bloquant sélectivement une étape

cruciale pour la survie ou la multiplication des micro-organismes. Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est généralement spécifique aux bactéries et n'a pas d'équivalent chez les eucaryotes, notamment chez l'humain. Ainsi, l'antibiotique idéal tue ou inhibe la multiplication des bactéries sans affecter les cellules du patient. Les antibiotiques peuvent être classés en grandes familles selon leur mécanisme d'action, qui sont décrites ci-après(S. Noura et s, 2019).

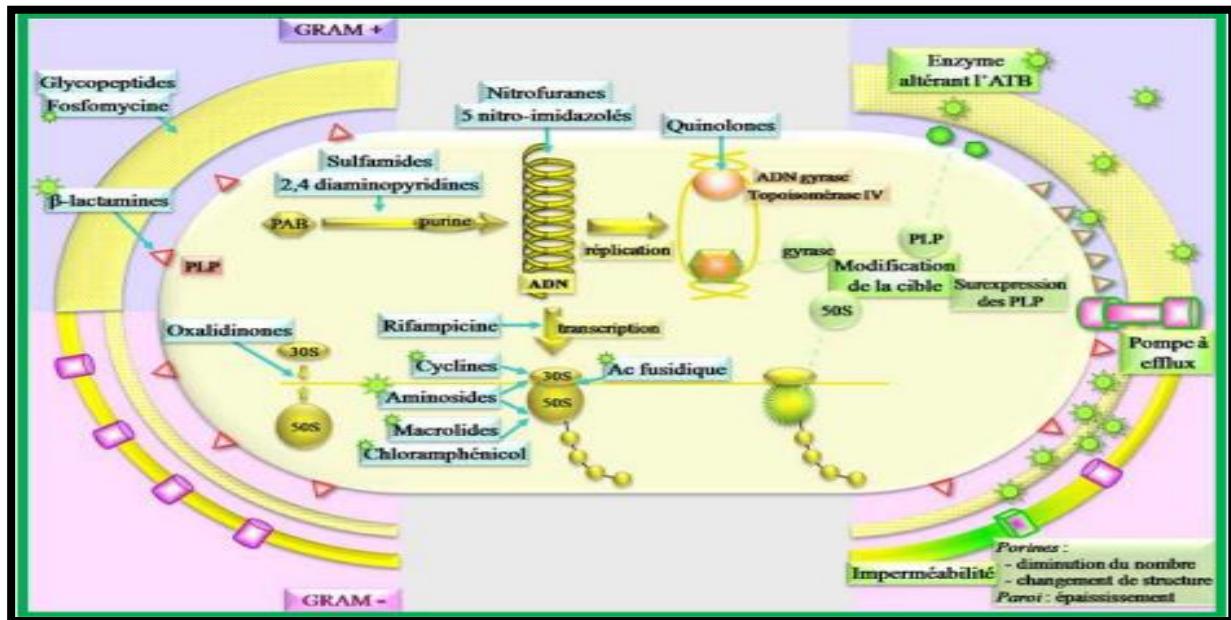


Figure 15 : Action des antibiotiques et résistance (S. Noura et s, 2019).

Pour échapper à l'effet létal des antibiotiques, les bactéries ont développé divers mécanismes biochimiques de résistance, accompagnés d'une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les propager. L'évolution vers la résistance bactérienne aux antibiotiques a marqué la fin du xxesiècle, avec l'apparition de bactéries multirésistantes et totorésistantes. Cependant, cette évolution varie considérablement selon les espèces bactériennes et les antibiotiques concernés. L'étude de la résistance bactérienne a conduit à d'importantes découvertes sur l'organisation et le contrôle de l'expression de l'information génétique des bactéries. Pour les thérapeutes, cette connaissance est aujourd'hui essentielle pour optimiser l'utilisation des antibiotiques (M. Archambaud, 2009).

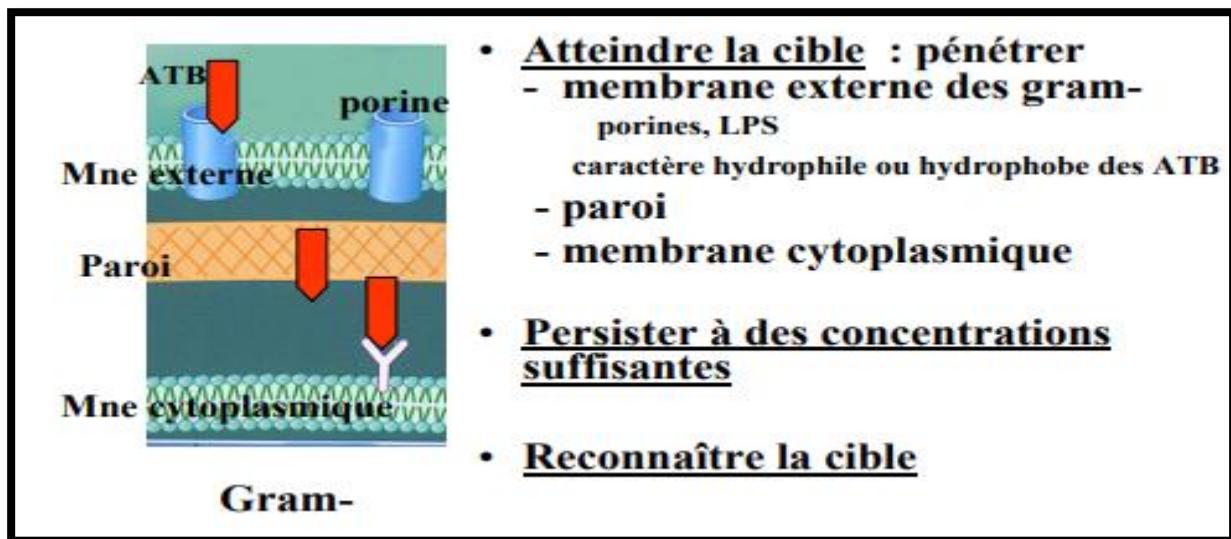


Figure 16 : Conditions d'activité des ATB (M. Archambaud, 2009).

Les antibiotiques agissent par divers mécanismes pour combattre les infections bactériennes. Premièrement, certains, comme la pénicilline et les céphalosporines, inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, provoquant la lyse et la mort des bactéries, surtout les Gram-positives. Deuxièmement, des antibiotiques tels que les tétracyclines, les macrolides et les aminoglycosides ciblent les ribosomes bactériens, bloquant la synthèse protéique nécessaire à la croissance bactérienne. Chaque classe agit sur une partie différente du ribosome, influençant leur spectre d'activité. Troisièmement, les quinolones et les rifamycines perturbent la réplication de l'ADN et la transcription de l'ARN en inhibant des enzymes clés comme les topoisomérasées. Enfin, les sulfamides et le triméthoprime interfèrent avec des voies métaboliques essentielles, telles que la synthèse de l'acide folique, indispensable à la production de nucléotides. (medecindirect, 2024).

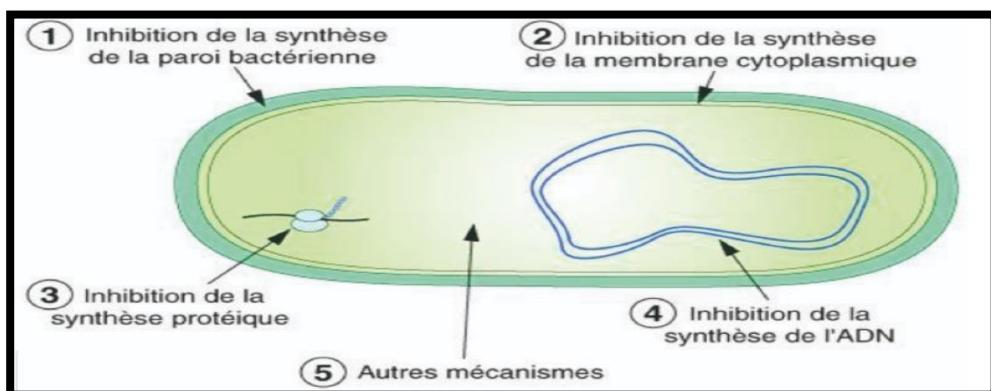


Figure 17 : Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques (Pascale Lesseur, 2024).

1.5. Utilisation des antibiotiques en recherche et en médecine

Les antibiotiques sont employés pour traiter une vaste gamme d'infections bactériennes, telles que :

- Infections des voies respiratoires : comme la pneumonie, la bronchite et la sinusite.
- Infections des voies urinaires : telles que la cystite et la pyélonéphrite.
- Infections cutanées: y compris la cellulite, les abcès et l'impétigo.
- Infections gastro-intestinales : comme la salmonellose, la shigellose et les infections à Clostridium difficile.
- Maladies sexuellement transmissibles : telles que la gonorrhée, la syphilis et la chlamydia.
- Infections systémiques : comme la septicémie, l'endocardite et la méningite.

Dans le domaine agricole, les antibiotiques sont utilisés pour prévenir et traiter les maladies chez les animaux d'élevage, ainsi que pour favoriser leur croissance. Les lapins, les porcs et les volailles sont parmi les animaux les plus traités avec des antibiotiques. Cependant, certaines règles doivent être respectées concernant leur utilisation :

- Ne pas utiliser d'antibiotiques pour traiter une infection virale.
- Choisir l'antibiotique en fonction de la bactérie identifiée.
- Suivre scrupuleusement la prescription médicale.

Les antibiotiques doivent être utilisés uniquement sur prescription médicale et conformément aux instructions fournies. Il est crucial de respecter la durée du traitement, même si les symptômes s'améliorent rapidement, car un arrêt prématuré peut conduire à une résistance bactérienne (medecindirect, 2024).

1.5.1. Déséquilibre du microbiote : La dysbiose

1.5.1.1. Définition

La dysbiose se caractérise par une altération de la composition et de l'activité métabolique du microbiote. Bien que le microbiote ait une capacité de résilience, celle-ci peut être dépassée par des stress intenses et prolongés, entraînant ainsi une dysbiose. L'apparition de la dysbiose est influencée par divers facteurs, tels que l'alimentation, le mode de vie et la prise d'antibiotiques. Il est bien établi qu'il existe une corrélation entre la dysbiose intestinale et le développement de nombreuses maladies. Certaines recherches indiquent que la présence de certaines espèces bactériennes spécifiques peut avoir un effet pathogène, rendant l'organisme plus vulnérable. En revanche, d'autres espèces, comme *Faecalibacterium prausnitzii*, semblent avoir des effets bénéfiques, notamment grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires (Charles BURDET, 2018).

1.5.1.2. Impact des antibiotiques sur la dysbiose

Les antibiotiques peuvent perturber l'équilibre bactérien en réduisant la diversité microbienne, modifiant l'abondance de certains groupes de microbes et favorisant la croissance de bactéries résistantes. L'utilisation d'antibiotiques courants est souvent liée à une diminution des microbes bénéfiques, comme les espèces de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus*. Ces altérations peuvent affaiblir la barrière intestinale, un élément crucial du système immunitaire, rendant l'organisme plus vulnérable aux infections et autre déséquilibre (cdhf.ca ,2023).

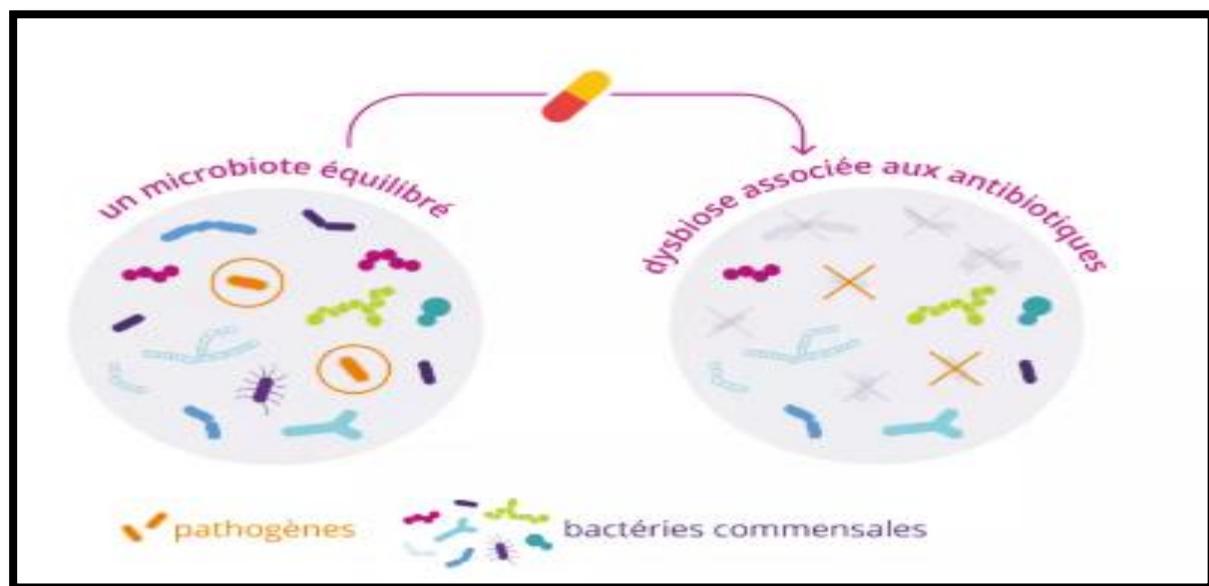


Figure 18 : les bactéries et les antibiotiques (biocodexmicrobiotainstitute, 2023).

Les antibiotiques perturbent l'équilibre du microbiote intestinal en éliminant certaines bactéries, ce qui permet à d'autres pathogènes de prendre leur place et de se multiplier. Cela peut entraîner une diarrhée associée aux antibiotiques, qui affecte entre 5 et 35 % des personnes traitées et se résout généralement spontanément en quelques jours. Cependant, certaines diarrhées peuvent être plus graves, voire potentiellement mortelles, notamment lorsqu'elles sont causées par la bactérie *Clostridioides difficile*(biocodexmicrobiotainstitute, 2023).

1.5.2. Effets indésirables cliniques des antibiotiques : l'exemple de la colite à *Clostridium difficile*

Clostridium difficile est une bactérie à Gram positif, anaérobie et sporulée, connue pour ses souches pathogènes qui produisent deux toxines responsables de la désorganisation du cytosquelette de l'épithélium intestinal et de l'inflammation du tissu conjonctif sous-épithelial. Les infections à *Clostridium difficile* peuvent se manifester par un large éventail de symptômes, allant de la diarrhée légère à des troubles digestifs sévères, accompagnés de signes systémiques et de complications potentiellement mortelles, telles que la colite pseudomembraneuse, le mégacôlon toxique ou le choc septique.

La transmission de cette infection se fait par des spores résistantes à la chaleur, aux acides et aux antibiotiques, ce qui les rend particulièrement difficiles à éliminer. Ces spores sont omniprésentes, trouvées dans les infrastructures sanitaires, la chaîne alimentaire et, à des niveaux plus faibles, dans l'environnement, facilitant ainsi les transmissions nosocomiales et communautaires, ainsi que les récurrences infectieuses.

La colonisation par *Clostridium difficile* est généralement empêchée par l'effet de barrière naturelle du microbiote intestinal. Cependant, lorsque cet équilibre est perturbé, par exemple par l'utilisation d'antibiotiques, le risque d'infection augmente considérablement (Charles BURDET, 2018).

1.5.2.1. Épidémiologie de l'infection à *Clostridium difficile*

L'infection à *Clostridium difficile* est actuellement la principale cause de diarrhée associée aux soins en Europe et aux États-Unis. Au cours des 15 dernières années, on a observé une augmentation de l'incidence de cette infection ainsi que de la morbi-mortalité qui lui est associée, entraînant également une hausse des ré-hospitalisations et des coûts pour les systèmes de santé. Des cas d'endémicité et des épidémies ont été signalés dans le monde entier, y compris en Europe, en Amérique, en Asie et dans le Pacifique Ouest. En raison de la morbi-mortalité et des coûts engendrés, le Centers for Disease Control américain considère l'infection à *Clostridium difficile* comme une menace immédiate pour les systèmes de santé. Le poids médico-économique de cette infection est considérable. Par exemple, une étude allemande a montré que la durée de séjour hospitalier lors d'un premier épisode infectieux est 33 % plus longue qu'en l'absence d'infection. Ce fardeau est encore plus prononcé lors des épisodes de récurrence, où la durée de séjour hospitalier des patients est presque multipliée par quatre par rapport à ceux qui ne présentent pas d'infection (Charles BURDET, 2018).

1.5.2.2. Facteurs de risque d'infection à *Clostridium difficile*

Les principaux facteurs de risque d'infection à *Clostridium difficile* incluent l'utilisation d'antibiotiques, un âge supérieur à 65 ans, l'hospitalisation, des antécédents d'infection à *Clostridium difficile*, la présence de néoplasies ou d'insuffisance rénale chronique, ainsi que la prise de traitements immunosuppresseurs (Charles BURDET, 2018).

1.5.3. Perturbation du microbiote intestinal : le rôle des antibiotiques

Au cours de la dernière décennie, les avancées spectaculaires des techniques indépendantes de la culture, comme le séquençage de nouvelle génération, ont révélé que la majorité des flores commensales est composée d'espèces bactériennes auparavant inconnues car non cultivables avec les méthodes traditionnelles. Cela a permis une meilleure compréhension des modifications du microbiote intestinal induites par les antibiotiques. Dans une étude menée par Dethlefsen et al. Sur des sujets sains traités par ciprofloxacin pendant 5 jours, il a été observé que l'administration d'antibiotiques entraînait une réduction rapide de la diversité bactérienne et une modification de la composition du microbiote intestinal. Bien que le microbiote montre une certaine résilience, le retour à l'état pré-thérapeutique n'est pas complet. Une diminution de la diversité bactérienne a été constatée à long terme, ainsi qu'une réduction de la résistance à la colonisation après des traitements antibiotiques répétés. Certains résultats suggèrent que les bactéries anaérobies jouent un rôle dans la résistance à la colonisation (Charles BURDET, 2018).

Les effets indésirables intestinaux liés à la prise d'antibiotiques sont naturellement associés à la perturbation du microbiote intestinal. Les patients atteints d'une infection à *Clostridium difficile* présentent une diversité bactérienne intestinale réduite et un microbiote différent de celui des patients non infectés. Une analyse par séquençage métagénomique non ciblé a montré que les selles des patients infectés par *Clostridium difficile* étaient appauvries en germes commensaux protecteurs, tels que *Bacteroides*, *Alistipes*, *Lachnospira*, et *Barnesiella*, et enrichies en pathogènes opportunistes. De plus, chez les sujets traités par antibiotiques mais non infectés, une diminution significative de l'abondance de souches commensales comme *Alistipes* a été observée, sans réduction de la richesse bactérienne. Enfin, une dysbiose intestinale persistante a été associée à des infections récurrentes à *Clostridium difficile* (Charles BURDET, 2018).

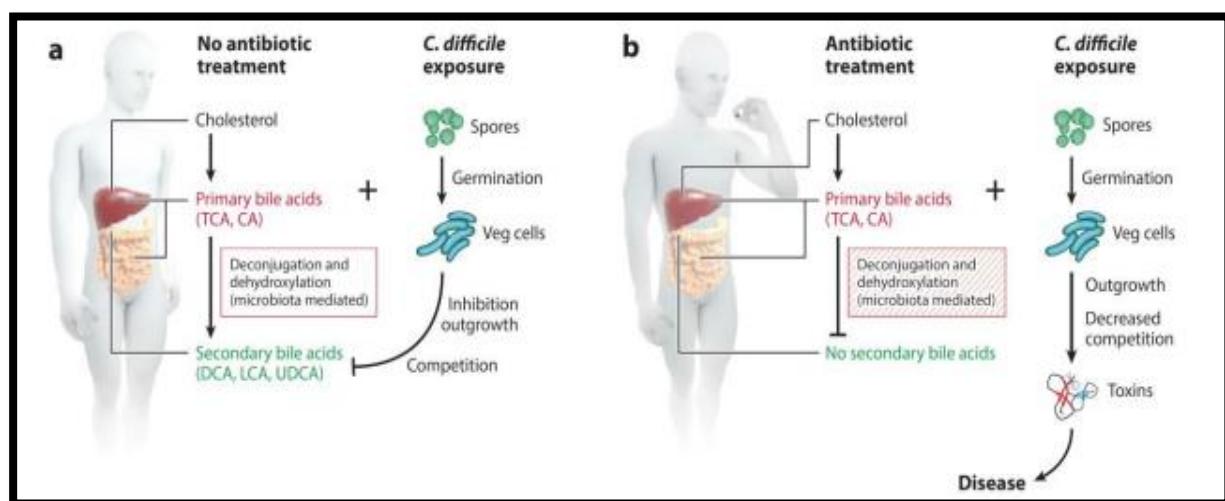


Figure 19 : Mécanismes physiopathologiques expliquant le développement de l'infection à *Clostridium difficile* suite à l'administration d'antibiotiques

1.6. Conséquences à long terme sur la santé intestinale

L'exposition aux antibiotiques durant la petite enfance est liée à un risque accru de diverses conditions telles que les infections, l'asthme, l'obésité, les maladies inflammatoires de l'intestin et les troubles neurodéveloppementaux tout au long de la vie. Ces effets sont principalement dus à la capacité des antibiotiques à perturber le microbiome intestinal, ce qui peut entraîner une augmentation de la perméabilité intestinale, une inflammation accrue, une diminution des niveaux d'acides gras à chaîne courte, et une altération du développement des cellules immunitaires. Chez les adultes, les antibiotiques peuvent également avoir un impact durable sur le microbiome intestinal. Des recherches récentes ont montré que chez des adultes en bonne santé, la diversité du microbiome intestinal est perturbée dès le lendemain de la fin du traitement antibiotique, et ces changements peuvent persister jusqu'à six mois. Le microbiome intestinal de ces individus sous traitement antibiotique temporaire peut ressembler à celui d'un patient en unité de soins intensifs. De plus, le microbiome intestinal de certaines personnes sous antibiotiques peut servir de réservoir de gènes de résistance, potentiellement transmissibles à d'autres. Les antibiotiques peuvent ainsi amener le microbiome intestinal à un nouvel état stable, avec des implications que nous commençons seulement à comprendre (gutmicrobiotaforhealth, 2024).

Chapitre 3

Impact des antibiotiques

1. Impact sur la flore intestinal

Les antibiotiques peuvent perturber la composition du microbiote et altérer son fonctionnement. Des études ont montré qu'une prise d'antibiotiques chez une personne en bonne santé peut modifier le microbiote intestinal. Heureusement, grâce à la résilience, un retour progressif à l'état antérieur est possible, bien que cela puisse prendre de 6 mois à 2 ans après le traitement. Ce phénomène est particulièrement crucial pendant la petite enfance, lorsque le microbiote intestinal est encore en développement. La résilience permet de maintenir une certaine stabilité du microbiote malgré divers stress. Cela est bénéfique lorsque le microbiote est sain, mais si le microbiote devient pathologique, ce nouvel état peut devenir la "référence", rendant le microbiote résistant aux influences extérieures (Rim BENCHERIF, 2023).

La prise d'antibiotiques est l'une des principales causes de dysbiose intestinale, car ces médicaments entraînent une destruction massive des bactéries et une réduction de la diversité bactérienne. Pour rappel, la flore microbienne intestinale est composée d'environ 4×10^{13} bactéries réparties en 800 à 1 000 espèces. Après une antibiothérapie, de nombreuses espèces bactériennes commensales sont éliminées. L'ampleur de la dysbiose dépend du spectre d'action de l'antibiotique, de la concentration de la molécule dans l'intestin, ainsi que des susceptibilités individuelles. Les nourrissons, les enfants de moins de 3 ans et les personnes âgées sont particulièrement vulnérables aux dysbioses post-antibiotiques. Un microbiote altéré ne peut plus remplir correctement ses fonctions, qu'elles soient métaboliques ou protectrices contre les micro-organismes pathogènes. Par exemple, l'absorption des acides gras à chaîne courte diminue, et la digestion des carbohydrates non absorbables est réduite, ce qui peut entraîner une hypersécrétion osmotique et des selles liquides. De plus, l'épithélium intestinal devient moins résistant à la colonisation par des germes pathogènes tels que *Clostridium difficile*, *Candida*, et les salmonelles. La restauration du microbiote après une antibiothérapie peut prendre plusieurs mois et reste souvent incomplète (dentaire365, 2022).

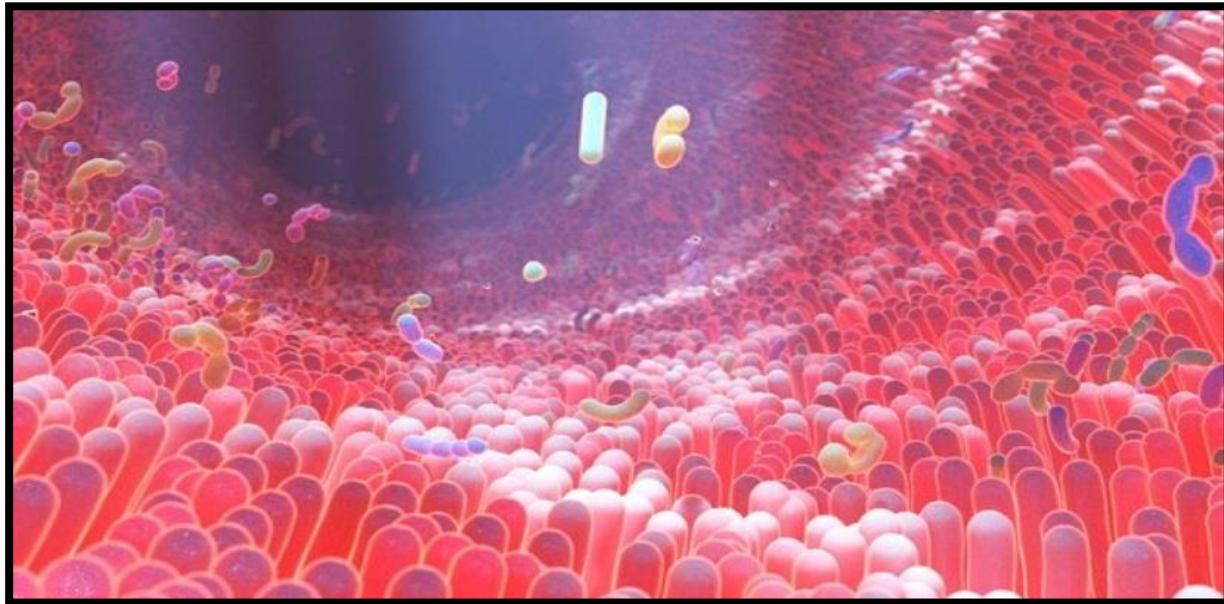


Figure 20 : microbiote intestinal (dentaire365, 2022).

Les antibiotiques peuvent impacter la flore intestinale et être liés à plusieurs maladies, notamment :

1.1. Troubles gastro-intestinaux

La gastro-entérite est une inflammation de la muqueuse de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin. Elle est le plus souvent causée par une infection par un micro-organisme, mais l'ingestion de toxines chimiques, de médicaments ou de drogues peut également en être la cause.

La gastro-entérite est généralement provoquée par une infection. Les symptômes courants incluent la diarrhée, les nausées, les vomissements et les douleurs abdominales. Le diagnostic repose souvent sur l'historique de contact récent avec des aliments ou de l'eau contaminés, ou avec des personnes infectées par certains micro-organismes, ainsi que sur l'utilisation récente d'antibiotiques, et parfois des tests de laboratoire. Les antibiotiques ne sont prescrits que pour traiter une gastro-entérite causée par des parasites ou certaines bactéries. Pour prévenir une infection, il est essentiel de se laver soigneusement les mains après être allé aux toilettes ou après avoir été en contact avec des matières fécales, et d'éviter les aliments insuffisamment cuits. La gastro-entérite se manifeste généralement par une diarrhée, qui peut être accompagnée d'une perte d'appétit, de nausées, de vomissements, de crampes et d'une gêne abdominale. Bien que cette affection ne soit généralement pas grave chez un adulte en bonne santé, elle peut entraîner une déshydratation et un déséquilibre électrolytique potentiellement mortels chez les personnes très malades ou faibles, ainsi que chez les très jeunes ou très âgées. Aux États-Unis, environ 48 millions de personnes contractent chaque année une gastro-entérite due à des aliments contaminés, et environ 3 000 en meurent. À l'échelle mondiale, environ 1,6 million de personnes meurent chaque année de gastro-entérite infectieuse (parjonathanGotfried, 2023).

1.2. Maladies métaboliques

Le terme "maladie métabolique" désigne un ensemble de pathologies, qu'elles soient acquises ou héréditaires, qui perturbent le fonctionnement normal du métabolisme. Cela inclut

la décomposition des aliments pour les transformer en énergie, ainsi que la dégradation ou l'élimination des déchets de l'organisme. Lorsque ce processus est altéré, cela peut endommager les vaisseaux sanguins. Parmi les maladies métaboliques les plus courantes, on trouve le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle et les maladies cardiovasculaires [56].

Seul un médecin est en mesure de réaliser un examen complet et de poser un diagnostic précis en tenant compte de vos antécédents médicaux, ainsi qu'en effectuant des analyses physiques et sanguines. Cependant, avant d'atteindre le stade de la maladie métabolique, il est possible de détecter le syndrome métabolique grâce à un bilan de santé. Pour déterminer si vous êtes concerné, il est important d'évaluer le nombre de symptômes que vous présentez. Si vous avez au moins trois des facteurs de risque suivants, il est probable que vous soyez atteint du syndrome métabolique :

1. Hypertension artérielle, avec une pression supérieure à 130/85 mmhg.
2. Taux de sucre sanguin élevé, supérieur à 5,6 mmol/L.
3. Risque accru de formation de caillots sanguins.
4. Obésité ou excès de poids autour de la taille, avec un tour de taille supérieur à 102 cm pour les hommes et 89 cm pour les femmes.
5. Faible taux de « bon » cholestérol (HDL), inférieur à 1,03 mmol/L pour les hommes et 1,29 mmol/L pour les femmes.
6. Taux élevé de triglycérides, supérieur à 1,7 mmol/L.
7. Présence de thrombose veineuse.
8. Inflammation des tissus.

Il est essentiel de consulter un professionnel de santé pour une évaluation complète et un suivi approprié (clinalliance, 2023).

1.3. L'inflammation

La réaction inflammatoire est une réponse physiologique du corps à une agression, qu'elle soit due à une allergie, une infection, une blessure, ou d'autres causes. Elle implique un réseau complexe de médiateurs chimiques et de cellules, dont l'implication varie selon l'agent causal, le site de l'inflammation, et les caractéristiques individuelles de la personne affectée. L'objectif principal de cette réaction est de reconnaître, détruire, et éliminer les substances étrangères au corps. Lorsqu'elle est visible, l'inflammation se manifeste généralement par quatre signes cliniques classiques : rougeur, douleur, tuméfaction (ou gonflement), et une augmentation de la chaleur locale. Ces signes sont le résultat de l'augmentation du flux sanguin et de la perméabilité vasculaire, ainsi que de l'accumulation de cellules immunitaires dans la zone affectée (ABDALI Rachida, 2021).



Figure 21: Présentation d'une inflammation ABDALI Rachida, 2021).

2. Impact sur le cerveau

2.1. Troubles anxieux

En 2019, 301 millions de personnes souffraient de troubles anxieux, dont 58 millions d'enfants et d'adolescents. Ces troubles se manifestent par une peur et une inquiétude excessives, accompagnées de comportements perturbateurs. Les symptômes peuvent être suffisamment graves pour causer une détresse significative ou des dysfonctionnements majeurs. Il existe divers types de troubles anxieux, tels que le trouble d'anxiété généralisée, qui se caractérise par une inquiétude excessive, le trouble panique, qui se manifeste par des crises de panique, le trouble d'anxiété sociale, qui implique une peur et une inquiétude excessives dans des contextes sociaux, et le trouble d'anxiété de séparation, qui se traduit par une peur ou une anxiété à l'idée d'être séparé de personnes avec lesquelles on a un lien affectif fort. Des traitements psychologiques efficaces sont disponibles, et selon l'âge et la gravité du trouble, des traitements médicamenteux peuvent également être envisagés (who.int, 2022).

2.2. Schizophrénie

La schizophrénie affecte environ 24 millions de personnes dans le monde, soit environ une personne sur 300. Les individus atteints de cette maladie ont une espérance de vie réduite de 10 à 20 ans par rapport à la population générale. Cette condition se manifeste par une altération significative de la perception et du comportement, avec des symptômes tels que des idées délirantes récurrentes, des hallucinations, une pensée désorganisée, un comportement très désorganisé ou une agitation extrême. Les personnes atteintes peuvent également rencontrer des difficultés cognitives persistantes. Heureusement, il existe des traitements efficaces, incluant des médicaments, la psychoéducation, des interventions familiales et la réadaptation psychosociale (who.int, 2022).

2.3. Le stress

Lorsque le cerveau détecte une menace, qu'elle soit concrète ou abstraite, il déclenche une alerte via le système nerveux, un réseau complexe qui transmet des signaux électriques à travers le corps. Ce système nerveux régule à la fois les fonctions somatiques, qui sont conscientes, et les fonctions automatiques, qui ne le sont pas.

Le système nerveux autonome est responsable des fonctions automatiques, comme le rythme cardiaque et les contractions digestives, sans nécessiter notre attention consciente. Il connecte le cerveau aux principaux organes et se divise en deux sous-systèmes opposés :

1. Le système orthosympathique, qui prépare le corps à réagir face à une menace, agissant comme un accélérateur.

2. Le système parasympathique, qui indique au corps qu'il peut se détendre, jouant le rôle de frein.

En situation de calme, ces deux systèmes fonctionnent en harmonie, maintenant un équilibre. Cependant, en cas de stress, le système orthosympathique prend le dessus, et les glandes surrénales libèrent des hormones de stress comme l'adrénaline et le cortisol. Cela entraîne une accélération du rythme cardiaque, une libération de sucre par le foie pour fournir de l'énergie, une respiration plus rapide, et une préparation des muscles à l'action.

Une fois la situation de stress passée, le corps retourne à son état normal, éliminant les hormones de stress libérées. Toutefois, le cerveau réagit de la même manière face à des menaces physiques ou abstraites, mobilisant les mêmes ressources. Dans certaines situations, où l'on ne peut ni fuir ni combattre, cette énergie reste dans le corps, se transformant en agitation.

Concernant le stress, il est normal d'en ressentir à certains moments. Certaines personnes y sont plus sensibles que d'autres, et les sources de stress varient d'un individu à l'autre. Le stress à court terme peut être bénéfique, car il nous aide à nous adapter et à faire face aux défis, nous motivant à atteindre nos objectifs. Ce "bon stress" n'est pas dangereux tant qu'il est gérable et n'affecte pas profondément notre vie quotidienne. En revanche, le stress à long terme peut avoir des effets néfastes sur notre santé physique et mentale (livi.fr, 2020)

2.4. La dépression

Étant donné la fréquence des maladies dépressives, il est crucial de connaître les traitements disponibles et les aides proposées, non seulement pour les médecins de toutes spécialités, mais aussi pour le grand public. La dépression affecte environ 15 à 20 % de la population, touchant deux fois plus de femmes (20 %) que d'hommes (10 %). Cette disparité entre les sexes s'explique en partie par le fait que les symptômes de la dépression chez les hommes sont souvent mal identifiés. La prévalence de la dépression signifie également que chacun d'entre nous connaît probablement au moins une personne dépressive parmi sa famille, ses proches ou ses amis. Malheureusement, cette maladie est encore trop souvent ignorée ou non diagnostiquée. Cette sous-estimation est due à l'utilisation incorrecte du terme « dépression » dans le langage courant, où il est souvent confondu avec un simple trouble passager de l'humeur (Dr Martin E, 2017).

La dépression peut se manifester à tout âge, de l'enfance à la vieillesse. Dans environ 15 à 20% des cas, surtout sans traitement adéquat, elle peut devenir chronique. Un second épisode survient dans 50 à 75% des cas, et chaque nouvel épisode augmente le risque de récidive, soulignant l'importance d'un traitement rigoureux à chaque occurrence. La dépression est l'une des cinq maladies les plus courantes dans le monde, associée à un taux de mortalité élevé et à un handicap significatif, ainsi qu'à des problèmes psychosociaux chroniques. Sa prévalence devrait continuer à croître jusqu'en 2030. Selon l'oms, la dépression pourrait devenir, dans les pays industrialisés, la maladie nécessitant le plus de ressources financières après les maladies cardiaques (Dr Martin E, 2017).

En 2008, en Allemagne, les coûts totaux associés à la dépression, englobant à la fois les coûts directs comme les frais de traitement et les coûts indirects tels que ceux liés à l'incapacité de travail, ont atteint 22 milliards d'euros, selon l'Institut économique RWI. En Suisse, en 2009, la dépression a engendré des coûts estimés entre 8 et 10 milliards de francs

pour l'économie suisse, d'après l'Institut de médecine sociale et préventive de l'Université de Zurich. Ces chiffres illustrent l'impact économique significatif de la dépression, soulignant l'importance de stratégies efficaces de prévention et de traitement pour atténuer ces coûts (Dr Martin E, 2017).

2.5. L'anxiété

L'anxiété est une réaction naturelle qui se transforme en pathologie lorsqu'elle apparaît sans raison apparente. Dans ce cas, on parle de troubles anxieux, qui peuvent perturber la vie quotidienne. L'anxiété peut se manifester sous diverses formes, telles que l'anxiété généralisée, les phobies, les attaques de panique ou les troubles obsessionnels compulsifs (TOC). Les troubles anxieux se manifestent de multiples façons, influencées par l'histoire familiale et personnelle du patient, son héritage génétique, son imagination, ou les facteurs déclencheurs des premiers épisodes d'anxiété (vidal.fr, 2021).

II. Matériels et Méthodes

1. Lieu de l'étude

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences et technologies de l'Université de Saïda Dr. Moulay Tahar.

1.1. Les milieux de culture

Les milieux utilisés étaient, sous forme de bouillon, de gélose solide ou semi-solide ces milieux sont les suivants :

- ✓ Milieu GN : est un milieu d'isolement non-sélectif pour le dénombrement de la flore mésophile totale.
- ✓ Milieu MRS : pour l'isolement des bactéries lactiques.
- ✓ Milieu LB : pour la croissance des entérobactéries.
- ✓ Milieu Chapman : milieu sélectif des bactéries halophiles dont les staphylocoques.
- ✓ Milieu VRBL : pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

2. *Expérimentation In vitro pour les souches probiotiques*

2.1. Sélection et revivification des souches probiotiques

Dans cette étude, deux souches de *Lactobacillus* à potentiel probiotique ont été sélectionnées. Il s'agit de souches isolées et étudiées dans des travaux antérieurs par Amara S de 2012 à 2020 : *Lactobacillus plantarum SNC10*, isolée à partir de lait de chameau de Naâma (Algérie), *Lactobacillus plantarum JUMIII4*, issue de lait de jument de Saïda (Algérie). Les deux souches ont été revivifiées dans 20mL de milieu MRS liquide, puis incubées à 37 °C pendant 72 heures. Après incubation, chaque souche a été ensemencée par la méthode en stries sur gélose MRS, et incubée de nouveau à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Une fois des colonies bien distinctes obtenues, l'aspect macroscopique de chaque souche a été observé puis confirmé par la réalisation de frottis pour l'examen microscopique, permettant ainsi de vérifier les caractéristiques morphologiques propres à chaque souche (Amara *et al.*, 2019).

2.2. Vérification du potentiel probiotique des souches sélectionnées

2.2.1. Activité hémolytique

L'étude de l'activité hémolytique a été étudiée selon la méthode réalisée par (Amara *et al.*, 2019). Le caractère hémolytique a été recherché par l'ensemencement des lactobacilles en stries à la surface de la gélose Columbia au sang. Après incubation pendant une période de 24h à 30°C, le type d'hémolyse a été examiné.

Les zones d'hémolyse se manifestent comme suit : α-hémolyse (zone avec reflets verdâtres), β-hémolyse (zones claires autour des colonies) ou γ-hémolyse (le milieu n'est pas modifié). (Maragkoudakis *et al.*, 2006)

2.2.2. Activité lipolytique

L'activité est recherchée sur milieu MRS solide tamponné à pH 7 (tampon phosphate Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, 0.1M) contenant des concentrations de 1% (P/V) de Tween 80 comme unique source lipidique. Le milieu est opacifié par le carbonate de calcium (CaCO₃) à 0.5% (P/V) afin de bien visualiser l'éventuelle présence d'une activité lipolytique.

Les bactéries lactiques sont ensemencées par touches à partir de cultures de 18h à la surface du milieu MRS enrichi. Une heure de séchage à température ambiante est nécessaire avant l'incubation des boîtes à 30°C pendant 48h. La lipolyse est exprimée par l'apparition de zones opaques autour des colonies de lactobacilles dont les diamètres seront mesurés au terme de l'incubation (Amara *et al.*, 2019).

2.2.3. Activité protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des lactobacilles, la gélose MRS additionnée de lait écrémé à 10% a été coulée, solidifiée et séchée puis les bactéries lactiques sont ensemencées par touches à partir d'une culture jeune 18h. Après une incubation à 37° C

pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des colonies. Les halos les plus larges indiquent que les souches ont une activité protéolytique plus importante.(Sadi et al, 2017)

2.2.4. Résistance à acidité

La méthode utilisée consiste à soumettre les lactobacilles à différents pHs allant de pH1 à pH6. Les séries de bouillon MRS ont été ajustées aux différents pHs en utilisant une solution de HCl 1M. Chaque tube est ensemencé avec 1% d'une culture de lactobacilles (DO_{600nm}≈1). La croissance est estimée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600nm après 24h d'incubation à 37°C. (Amara et al, 2019)

2.2.5. Résistance aux sels biliaires

La tolérance des lactobacilles est recherchée à des concentrations croissantes en sels biliaires (0.25%, 0.5% ,1.0%, 2.0%, 5.0% et 10%). De la bile de mouton a été stérilisée à l'aide d'un filtre millipore (Millipore, MILLEX-GV, 0.22µm, SLGV0130S, Perkin Elmer, Boston, MA) puis additionnée stérilement au bouillon MRS. Chaque tube a été ensemencé avec 1% d'une pré-culture de lactobacilles (DO_{600nm}≈1). La croissance bactérienne est mesurée après 24h d'incubation à 37°C par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600nm.(Amara et al, 2019).

2.2.6. Résistance aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été évaluée selon la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur milieu gélosé, selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Bonnet et al., 2013). Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture jeune de 18-24h dans du MRS liquide. Les disques d'antibiotique ; Erythromycin60µg, Rifampin30µg, Gentamicin200µg, PenicillinG 100UI, amoxicilin30µg, vancomycin 5µgsont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface du milieu MRS ensemencé préalablement par la culture bactérienne par la méthode d'écouvillonnage. Après incubation à 37°C pendant 24h les zones d'inhibition observées autour des disques sont mesurées et les résultats sont exprimés en sensible (S) ou résistante (R) selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. (Bonnet et al, 2013).

2.2.7. Etude de l'activité inhibitrice des lactobacilles vis-à-vis despathogènes

L'objectif de ce test est d'évaluer l'effet inhibiteur des bactéries lactiques sur des bactéries pathogènes. Pour cela, des pré-cultures de toutes les souches, à la fois inhibitrices et indicatrices, sont préparées. Les lactobacilles sont cultivés dans un bouillon MRS, tandis que les bactéries pathogènes sont cultivées dans un bouillon LB enrichi à 4% d'extrait de levure pour promouvoir la croissance de l'ensemble des microorganismes.

Les lactobacilles sont ensemencés par touches à partir de cultures fraîches sur une gélose LB enrichie solide. Après un temps de séchage de 2 heures à température ambiante, les plaques sont incubées pendant 24 heures à 30°C. Les colonies obtenues sont ensuite recouvertes de 10 ml de gélose LB semi-solide, ensemencée à 1 % (V/V) avec une culture fraîche de la souche pathogène indicatrice. L'effet antagoniste des bactéries lactiques se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour de leurs colonies, dont la taille est mesurée après une incubation de 24 heures à 37°C. (Amara, 2019).

3. Etude *In vivo* chez les rats wistar

Les tests *in vitro* nous ont permis de confirmer le potentiel probiotique des deux souches utilisées, notamment en termes de résistance et d'activités biochimiques, tout en nous assurant de l'absence de toxicité et d'effets secondaires indésirables sur l'organisme. En nous basant sur les résultats d'antagonisme et d'activité liporéductrice, nous avons pu réaliser deux études expérimentales distinctes sur des rats Wistar. Le diagramme ci-dessous (Figure 1) illustre les principales étapes de ce processus.

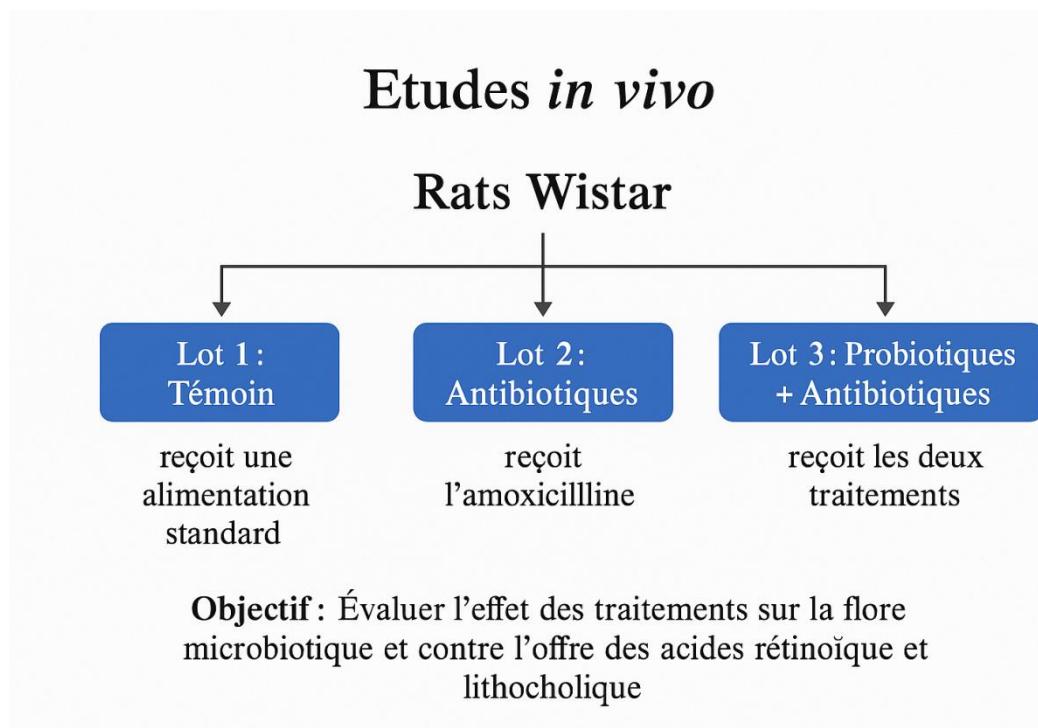


Figure 22:Diagramme récapitulatif des étapes de l'expérimentation *in vivo*.

3.1. Habitat et nourriture

L'expérimentation *in vivo* a été réalisée au sein de l'animalerie de AinHdjar, du département des sciences biologiques, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Dr Moulay Tahar Saïda. Les rats, mâles et femelles, âgés de deux mois et demi et sevrés, ont été répartis en trois groupes, chaque groupe représente 06 rats :

- Groupe 1 (témoin négatif) : reçoit 140 g d'alimentation standard.
- Groupe 2 : reçoit 140 g d'alimentation standard ainsi que l'antibiotique amoxicilline administré par gavage quotidien pendant 7 jours.
- Groupe 3 : reçoit 140 g d'alimentation standard et l'antibiotique par gavage pendant 3 jours, puis, des souches probiotiques sont administrées par gavage pendant 14 jours.



Figure 23 : habitat des rats

3.2. Préparation des souches

Les deux souches probiotiques ont été inoculées dans 10 ml de bouillon MRS, puis incubées à 30°C pendant 24 heures. Ensuite, la culture a été transférée dans un flacon de 200 ml et incubée à nouveau pendant 24 heures. À partir de cette préculture, 5 ml de chaque souche ont été prélevés, centrifugés, puis le surnageant (bouillon MRS) a été éliminé. Le culot a été ressuspended dans 1 ml d'eau physiologique (0,9 %), vortexé, puis administré aux rats par gavage.



Figure 24 : Gavage des rats

3.3. Paramètres pondéraux et dosage d'antibiotique, probiotiques.

Le poids de tous les animaux est noté chaque jour pour tous les lots, par calcule avec la quantité d'antibiotique par la loi suivante :

Nous avons préparé la solution mère à partir de 9 ml de l'eau physiologie par 1g d'amoxicilline de concentration de 100mg

La concentration des souches sont 0,5 ml pour chaque souche et chaque rat.

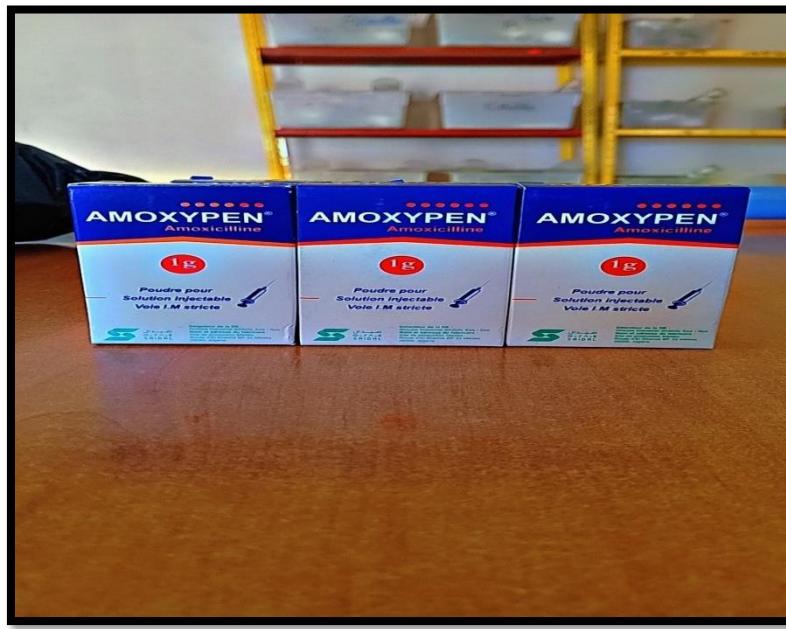


Figure 25 : Antibiotique (Amoxicilline).

3.4. Paramètres microbiologiques

La qualité microbiologique des selles des rats a été évaluée à T0, avant l'ajout des probiotiques, puis chaque semaine tout au long de l'expérimentation afin de suivre l'évolution des genres bactériens présents dans leur intestin. Pour ce faire, de la matière fécale a été prélevée à différents endroits de chaque cage, puis broyé à raison de 10% dans de l'eau physiologique stérile. Une série de dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-6} a été réalisée pour chaque échantillon. Ensuite, 1 ml de chaque dilution a été prélevé pour ensemencer divers milieux de culture. Le dénombrement des différents genres bactériens a été effectué selon la méthode de Zaconni et al. (1999). Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 unités formant colonies (UFC) ont été prises en compte (FooksetGibson, 2002).

Les différents genres microbiens recherchés ainsi que leurs milieux de culture sont présentés dans le tableau 1

Tableau 5:Flores bactériennes recherchées et milieux de culture utilisés.

Genres	Milieu de culture	Temperature d'incubation
Flore mésophile totale	GN	37°C
Lactobacilles	MRS	30°C

Staphylocoques	Chapman	37°C
Entérobactéries	VRBL	37°C

4. L'étude neurocomportementale

Durant la période d'exposition plusieurs paramètres neurocomportementaux ont été évalués y compris : l'activité locomotrice, la paralysie des membres postérieurs, la coordination motrice, le niveau d'anxiété et de dépression, les capacités d'apprentissage et de mémorisation à travers des divers dispositifs (Open Field, Dark and light, Forced Swimming Test) respectivement, les cages d'hébergements des rats ont été placées une demi-heure préalablement au test dans la salle d'expérimentation permettent par la suite l'adaptation de ces rongeurs à cet nouvel environnement, de plus tout les dispositifs ont été nettoyés après chaque passage de l'animal à tester par une solution d'éthanol de façon à masquer tout indice olfactif perturbateur, ce qui consiste le test de Barnes aussi un bruit blanc a été mise en place pour éliminer tout parasites.

L'ensemble des tests ont été filmés et enregistrés permettant ultérieurement l'analyse des différentes variables comportementales (SafirKhadidja, ReggadNawel, 2019).

4.1. Open Field Test

Le test de l'Open Field(OF), initialement a été décrit et développé par Hall(1934,1938) il est régulièrement employé dans de nombreuses études comme un test mesurant l'activité locomotrice et exploratoire et comme un révélateur de réactivité émotionnelle chez les rongeurs, on considère que ce dernier préfère les espaces confinés, clos et peu éclairés et ils ont une tendance à éviter cet environnement stressant .

Ce dispositif est une enceinte ouverte rectangulaire en bois ($L \times l \times H = 90 \times 70 \times 60$) fortement éclairée avec un fond sombre éparsillé par des lignes délimitant des carreaux (10x10cm) ou le rat était initialement placé dans l'un des quatre coins de l'open-field, la tête orientée vers le coin (SafirKhadidja, ReggadNawel, 2019).

L'activité locomotrice	La réactivité émotionnelle et exploratoire
L'activité locomotrice horizontale=le nombre total de carreaux traversés pendant la durée du test	Le temps de latence ; le moment mis par ce rongeur pour sortir des quatre carreaux formant le coin.
L'activité locomotrice verticale=le nombre total de redressements.	Le nombre total de visites au centre.

	Le nombre total de toilettages.
	Le nombre total de défécations.

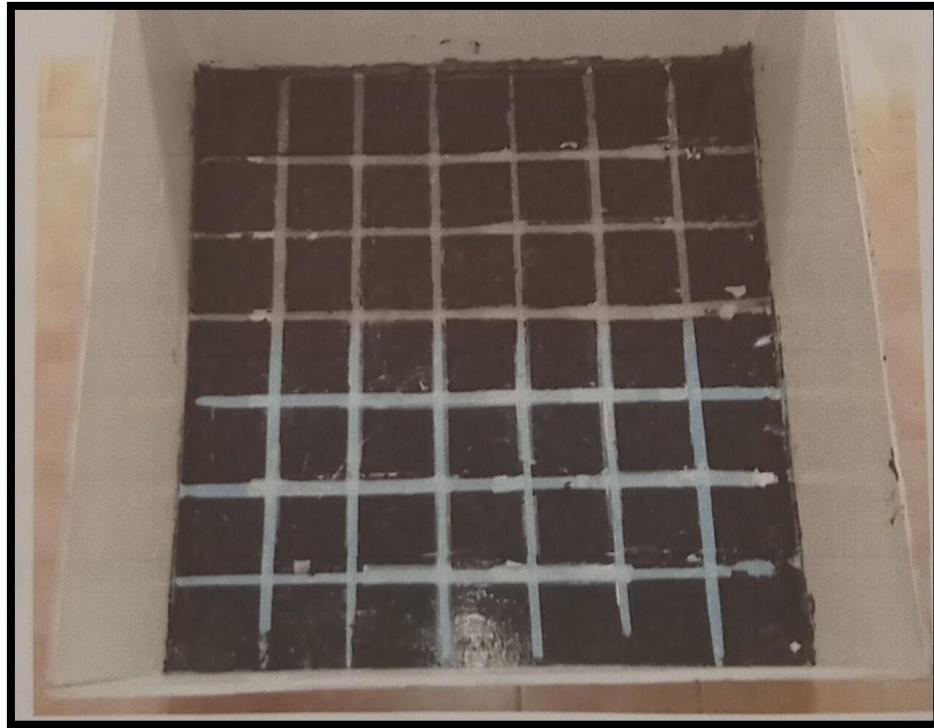


Figure 26 : Le dispositif de l'Open Field.

4.2. Dark and Light

Selon (**Crawley et Goodwin, 1980 ;Belzung et coll, 1989**) ce test est couramment utilisé dans les études comportementales ou il s'appuie sur les propriétés aversives du rongeur vis à vis de la lumière afin d'évaluer son état d'anxiété.

Ce dispositif est constitué d'une boîte à double compartiments qui sont égaux ($L=22\text{cm}$; $I=16\text{cm}$; $H=23\text{cm}$) séparés par une petite ouverte de 6cm de haut et de 5cm de large, l'un des deux est noir l'autre est blanc fortement éclairée.

Chaque sujet a été déposé dans le coin de la paroi opposé à l'orifice centrale au niveau du compartiment sombre et il est autorisé à explorer ce nouvel environnement pendant 3min (SafirKhadidja, ReggadNawel, 2019).



Figure 27 : Le test Dark and Light.

4.3. ForcedSwimmingTest

Ce test permet d'évaluer l'état de résignation qui est un comportement dépressif chez le rongeur, il se traduit par une immobilité importante selon son premier fondateur (**Porsolt, 1977**).

Le dispositif expérimental est un cylindre en plexiglas transparent de 20,7 cm de diamètre et de 39cm de hauteur remplie en $\frac{3}{4}$ d'eau à une température de 22 °C dans lequel les rats sont soumis successivement à cette épreuve de nage forcée pendant 3 minutes, les paramètres à mesurer sont :

- Le temps de mobilité ou l'animal nage activement avec ses quatre pattes.
- Le temps d'immobilité durant laquelle l'animal flotte seulement (des mouvements à faible amplitude) ce qui reflète un désespoir comportemental (SafirKhadidja, ReggadNawel, 2019).



Figure 28 : Le dispositif du test la nage forcée.

5. Sacrifice et prélèvement du tube digestif

Au terme des 21 jours expérimentaux, les animaux sont maintenus à jeun pendant 12h en vue de leur sacrifice. Les rats sont ensuite anesthésiés par inhalation de chloroforme avant leur sacrifice.

Les tubes digestifs sont soigneusement prélevés et rincés dans de l'eau physiologique à 9% de NaCl. Après séchage, les organes sont pesés puis examinés à l'œil nu pour détecter d'éventuelles anomalies morphologiques (Amara, 2020).

Les tubes digestifs sont conservés pour le dénombrement des différentes flores au niveau du côlon.

Le colon est broyé à raison de 10% (P/V) dans de l'eau physiologique (9% de NaCl). Les dénombrements sont réalisés comme précédemment décrits (voir dénombrement de la flore fécale).



Figure 29 : Anesthésie des rats dans une jarre par inhalation de chloroforme.

III. Résultats et discussion

1. Résultats de l'expérimentation In vitro

1.1. *Lactobacillus plantarum SNC10 Gx100*

Les observations microscopiques ont révélé que les isolats lactiques, dont *Lactobacillus plantarum*, se présentent principalement sous forme de bacilles Gram-positifs, en chaînes ou isolés, ce qui est conforme à la morphologie typique de cette espèce. Ces bactéries sont catalase et oxydase négatives, ce qui confirme leur appartenance aux lactobacilles.

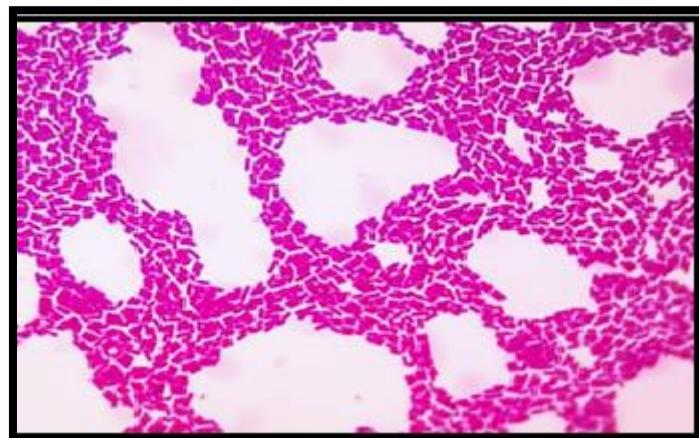


Figure 30 : Observation microscopique de *Lactobacillus plantarum SNC10 Gx100*

1.2. *Lactobacillus plantarum JUMII4 Gx100*

Cette souche présente les caractéristiques typiques de *Lactobacillus plantarum* : bacilles Gram-positifs, souvent en chaînes ou isolés, catalase et oxydase négatives, confirmant son identification et son appartenance au groupe des lactobacilles.

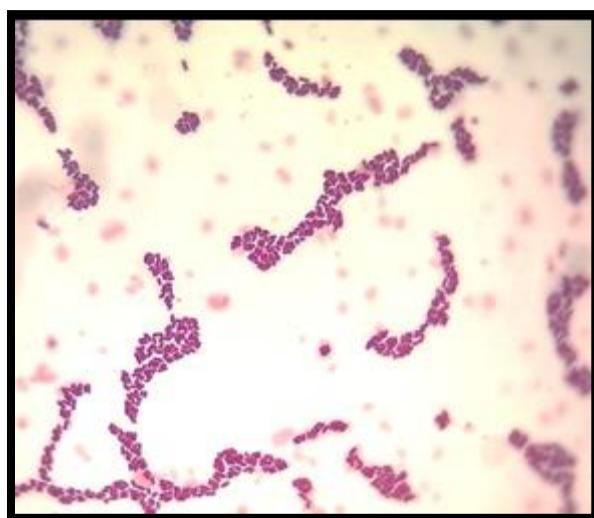


Figure 31 : Observation microscopique de *Lactobacillus plantarum JUMII4 Gx100*

Lactobacillus plantarum JUMII4 cultivé sur gélose MRS a montré une croissance optimale à une température comprise entre 30 et 37°C, avec une formation de colonies rondes, lisses, blanches à crème, caractéristiques des lactobacilles. La croissance a été favorisée par un pH acidifié autour de 6, conforme à la composition sélective du milieu MRS.

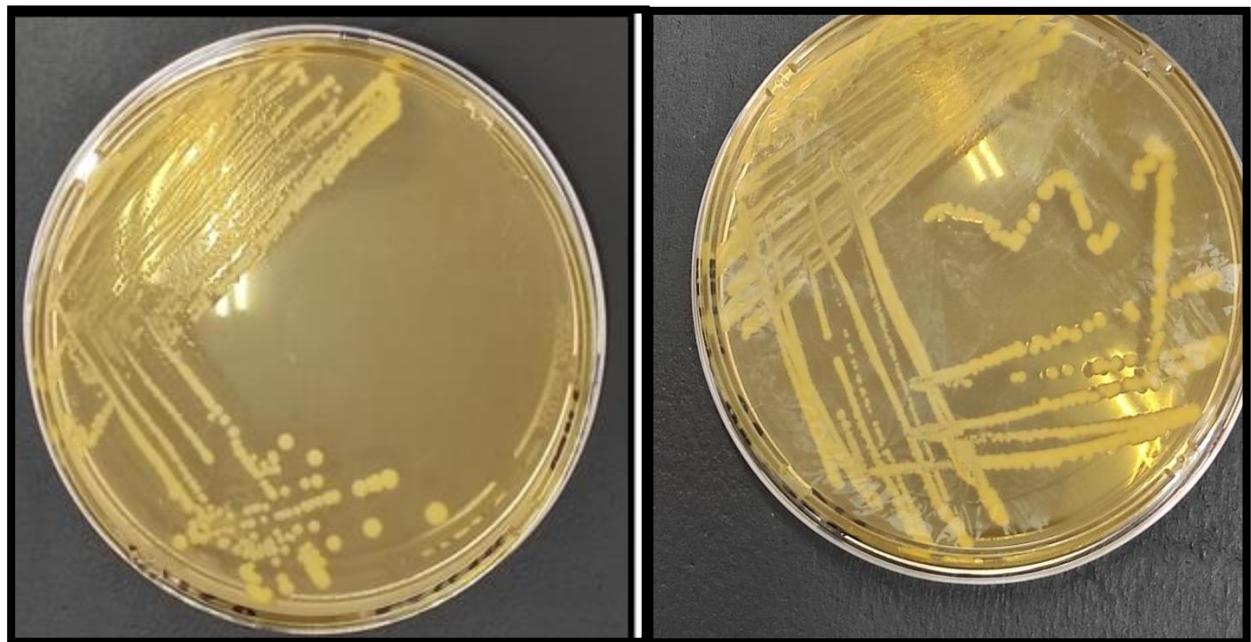


Figure 32:Ensemencement en stries à partir d'inoculum MRS liquide de *Lactobacillus*

1.3. Pouvoir hémolytique



Figure 33:Résultats de l'activité hémolytique de *Lactobacillus plantarum* SNC10et *Lactobacillus plantarum* JUMII4

Absence de zones hémolytiques dans les deux souches de *Lactobacillus plantarum* SNC10et *Lactobacillus plantarum* JUMII4, Cela indique que les deux souches ne dégradent pas le sang.

1.4. Antibiogramme des bactéries lactiques

Ce test consiste à rechercher la résistance des souches lactiques vis-à-vis de 6 antibiotiques.

Tableau6:Antibiogramme des lactobacilles.

ATB Souches	Amoxicilline $S \geq 19 \leq R$	Pénicilline $S \geq 26 \leq R$	Vancomycine $S \geq 12 \leq R$	Erythromycine $S \geq 22 \leq R$	Rifampin $S \geq 21 \leq R$	Gentamicin $S \geq 17 \leq R$
<i>JUMII4</i>	Résistance	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible
<i>SNC10</i>	Résistance	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible
<i>JUMII4+ SNC10</i>	Résistance	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible

R : diamètre de la zone d'inhibition $\leq 26\text{mm}$

S : diamètre de la zone d'inhibition $\geq 26\text{mm}$

La classification des souches comme « sensible » ou « résistante » a été faite selon les diamètres d'inhibition mesurés et les critères de (Charteris et al, 1998). Les petites zones d'inhibition pour la pénicilline et la vancomycine indiquent une résistance chez toutes les souches testées..

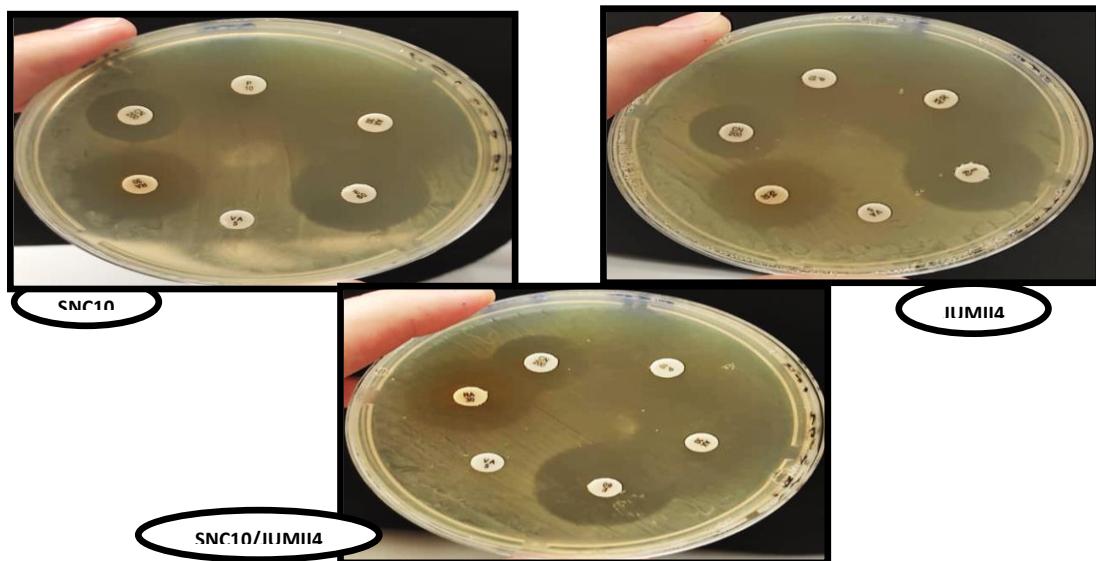


Figure 38 : Résultats de l'antibiogramme de *Lactobacillus plantarum* SNC10 et *Lactobacillus plantarum* JUMII4

Profil antibiotique réalisé sur les souches de *Lactobacillus plantarum* SNC10 et JUMII4 montrant des zones d'inhibition autour des disques imprégnés d'antibiotiques. Cependant, le diamètre de ces zones est inférieur ou égal à 2,5 cm, indiquant une sensibilité diminuée aux antibiotiques testés. Une légère différence a également été observée entre les deux souches : la souche JUMII4 semblait avoir des zones d'inhibition légèrement plus grandes que la souche SNC10, ce qui peut indiquer une sensibilité légèrement plus élevée. Dans le quadrant partagé SNC10/JUMII4, les zones restent comparables à celles observées individuellement.

Les résultats indiquent que les souches SNC10 et JUMII4 de *Lactobacillus plantarum* possèdent une résistance naturelle ou acquise à l'amoxicilline, à la pénicilline et à la vancomycine, ce qui est courant chez certaines souches de lactobacilles, qui sont souvent intrinsèquement résistantes à des familles telles que les aminoglycosides ou les glycopeptides. Cette résistance peut être un avantage lorsqu'elle est utilisée comme probiotique, car elle ne peut pas être éliminée par un traitement antibiotique concomitant. Cependant, la prudence est de mise, car certaines résistances peuvent être transférables, ce qui présente un risque potentiel dans les contextes cliniques ou alimentaires. Il est donc nécessaire de déterminer si ces résistances sont de nature chromosomique (non transférables) ou plasmidique (potentiellement transférables) (Danielsenet et al, 2003).

1.5. la résistance aux sels biliaires



Figure 34:Résultats de la résistance aux sels biliaires de *Lactobacillus plantarum* JUMII4 et *Lactobacillus plantarum* SNC10

Les tubes à essai montrent une croissance bactérienne visible sous forme de turbidité dans le milieu à différentes concentrations de sels biliaires (5 %, 10 %, etc.). La croissance varie en fonction de la concentration et éventuellement de la souche utilisée. Certaines concentrations élevées semblent inhiber la croissance, suggérant une tolérance limite aux sels biliaires.

Les résultats obtenus indiquent que les souches de *Lactobacillus plantarum* testées (*JUMII4* et *SNC10*) présentent une résistance variable aux sels biliaires. Cette capacité est essentielle à leur survie dans le système digestif, où les sels biliaires créent une pression importante. Une augmentation marquée à 5 % des sels biliaires indique une bonne tolérance, tandis qu'une inhibition partielle ou complète à 10 % indique une résistance. Ces données nous permettent de sélectionner les souches les plus prometteuses en tant que probiotiques, capables de survivre aux affections intestinales.

Tableau 7 : Croissance des souches *Lactobacillus plantarum* en présence de différentes concentrations de sels biliaires.

	0.25%	0.50%	1%	2%	5%	10%
NSC10	2.336	1.994	1.757	1.647	2.201	2.233
JUMIII4	2.410	1.919	1.723	1.587	2.005	2.295

Pour la croissance des souches dans le tableau on observe une bonne viabilité même en présence de fortes concentrations de sels biliaires, ce qui reflète leur tolérance à ces conditions stressantes.

À faible concentration (0,25 %), les deux souches montrent une croissance optimale, avec des valeurs de densité optique de 2,336 pour *NSC10* et 2,410 pour *JUMII4*. Lorsque la concentration en sels biliaires augmente, une diminution progressive de la croissance est observée jusqu'à 2 %, indiquant un effet inhibiteur des sels biliaires sur la croissance bactérienne. Cependant, à 5 % et 10 %, la croissance des souches augmente de nouveau, ce qui pourrait s'expliquer par une adaptation physiologique ou l'activation de mécanismes de résistance aux sels biliaires.

La souche *JUMII4* montre globalement une meilleure tolérance aux fortes concentrations de sels biliaires (avec une valeur maximale de 2,295 à 10 %) comparée à la souche *NSC10* (2,233 à 10 %), ce qui pourrait indiquer un potentiel probiotique plus élevé pour cette souche dans des conditions intestinales simulées.

Ces résultats suggèrent que les deux souches testées présentent une bonne résistance aux sels biliaires, une caractéristique essentielle pour les probiotiques destinés à survivre dans le tractus gastro-intestinal.

1.6. La résistance à l'acidité

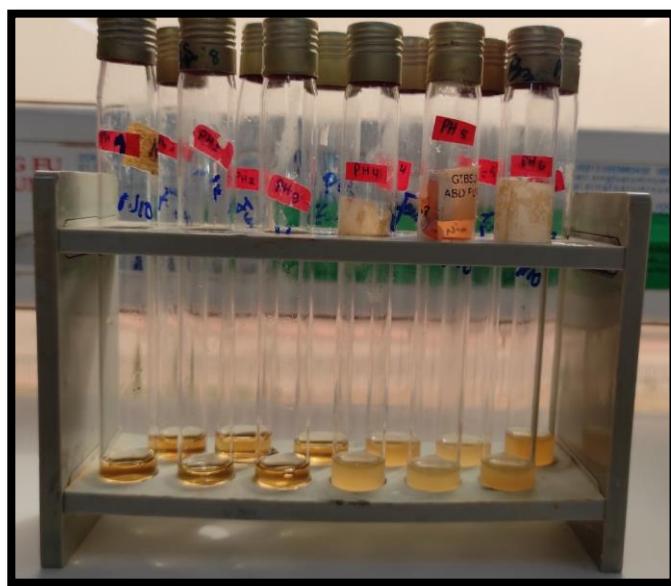


Figure 35:Résultats de la résistance à l'acidité de *Lactobacillus plantarum JUMII4* et *Lactobacillus plantarum SNC10*

La résistance à l'acidité est une propriété essentielle pour les souches probiotiques destinées à survivre dans le tractus gastro-intestinal, notamment au niveau de l'estomac où le pH est très bas. Les résultats illustrés à la figure 7 montrent une comparaison de la résistance à l'acidité entre deux souches de *Lactobacillus plantarum* : *JUMII4* et *SNC10*.

Les milieux de culture après incubation à pH acide montrent une croissance variable selon les souches. Cette croissance est visible par la turbidité dans les tubes à essai. On observe que la souche *Lactobacillus plantarum JUMII4* présente une meilleure croissance dans un milieu acide par rapport à la souche SNC10, indiquant ainsi une meilleure tolérance à l'acidité.

Ces résultats suggèrent que la souche *JUMII4* possède des mécanismes de résistance plus efficaces, comme une régulation du pH intracellulaire, la production de protéines de stress acide, ou encore une membrane cellulaire plus résistante aux conditions acides. Cette caractéristique confère à *JUMII4* un avantage certain pour une utilisation comme probiotique, car elle pourrait survivre plus efficacement au passage gastrique.

Tableau 8: Croissance des souches *Lactobacillus plantarum* dans un milieu MRS à différents pH exprimés en densité optiques

	pH1	pH2	pH3	pH4	pH5	pH6
NSC10	0.050	0.074	0.163	2.435	2.726	2.833
JUMII4	0.060	0.081	0.196	2.474	2.678	2.690

Le tableau révèle que la souche *Lactobacillus plantarum JUMII4* présente une croissance légèrement supérieure à celle de la souche *NSC10* à tous les niveaux de pH testés, la différence étant particulièrement notable dans les milieux acides (pH 1 à pH 4).

Résultats de l'activité lipolytique

Après 24h et 48h d'incubation :

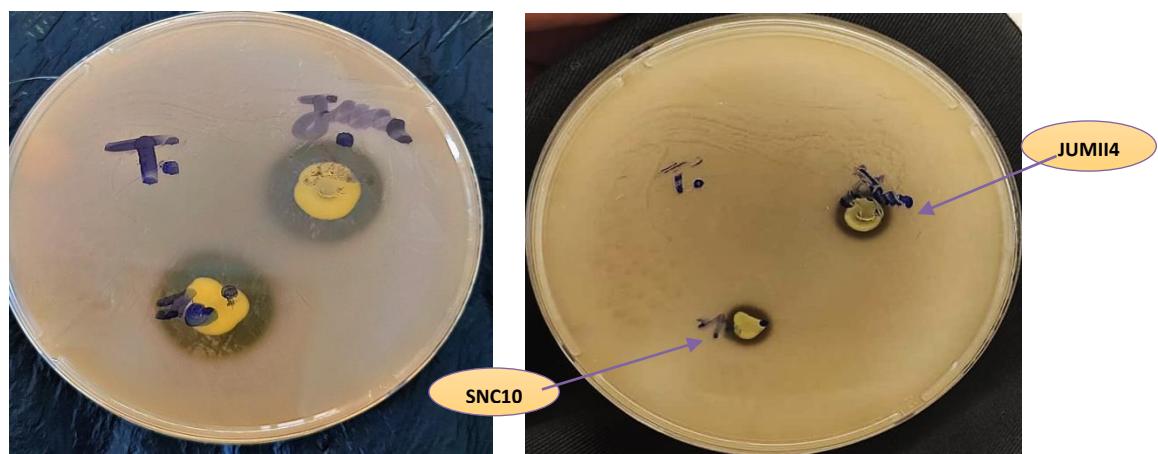


Figure 36: Résultats de l'activité lipolytique de *Lactobacillus plantarum JUMII4* et *Lactobacillus plantarum SNC10*

Les deux souches, *Lactobacillus plantarum JUMII4* et *SNC10*, présentent une activité lipolytique, comme en témoigne la formation de zones de clairance autour des trous. Cependant, la zone de clairance associée à la souche *JUMII4* est légèrement plus grande que celle observée dans *SNC10*, indiquant une activité lipolytique plus intense dans *JUMII4*. Cela peut refléter la capacité accrue de cette race à décomposer les graisses.

1.7. Résultats de l'activité protéolytique

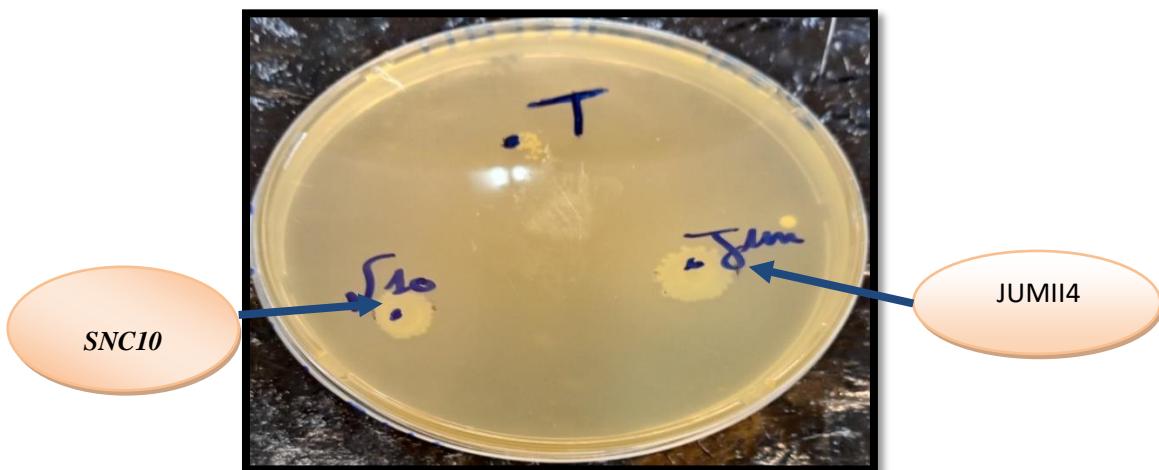


Figure 37:Résultats de l'activité protéolytique de *Lactobacillus plantarum* JUMII4 et *Lactobacillus plantarum* SNC10

Les résultats sur l'activité protéolytique des souches de *Lactobacillus plantarum* JUMII4 et SNC10 révèlent la formation de zones de clarification autour des trous, indiquant une dégradation des protéines. La souche JUMII4 présente une zone de clairance légèrement plus grande que la souche SNC10, indiquant une activité protéolytique plus prononcée. Cela reflète une capacité enzymatique supérieure de JUMII4 à dégrader les protéines.

1.8. Résultats de l'activité antagonisme

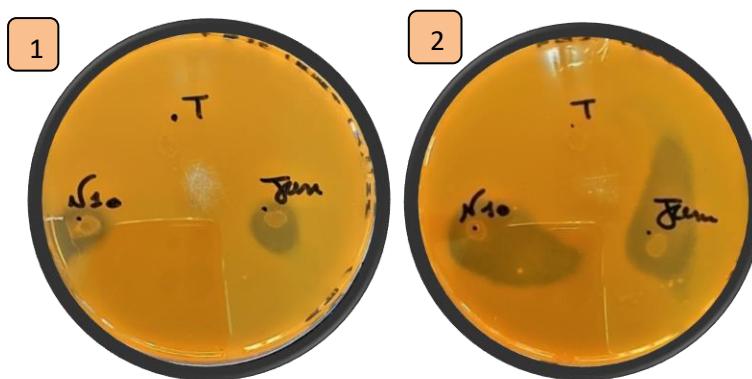


Figure 38 : Résultats d'activité antagonisme inhiber par des souches pathogènes

1 : *Bacillus subtilis* (BS), 2 : *Klebsiella pneumoniae* (KP).

Les boîtes de Pétri illustrent la croissance des pathogènes (indiqués par T) ainsi que la présence des deux souches testées NSC10 et JUMII4. Des zones d'inhibition entourent ces souches, révélant une activité antagoniste contre les bactéries pathogènes.

Analyse par souche pathogène:

Bacillus subtilis (BS): La souche *JUMII4* génère une zone d'inhibition plus étendue que *NSC10*, témoignant d'une activité antimicrobienne supérieure de *JUMII4* contre BS.

Klebsiella pneumoniae (KP): La zone claire autour de *JUMII4* est plus importante que celle autour de *NSC10*, indiquant une meilleure inhibition de KP par *JUMII4*.

La souche *JUMII4* démontre une activité antagoniste supérieure à celle de *NSC10* contre toutes les souches pathogènes testées. Cela met en évidence son potentiel antimicrobien élevé, pouvant être exploité dans des applications thérapeutiques ou biotechnologiques.

• Discussion

Les résultats des tests *in vitro* effectués sur les souches *NSC10* et *JUMII4* mettent en évidence des propriétés favorables à leur utilisation comme probiotiques chez les rats Wistar.

L'antibiogramme révèle une sensibilité modérée à certains antibiotiques, garantissant ainsi une sécurité microbiologique et limitant le risque de transfert de gènes de résistance.

Concernant l'activité enzymatique, *JUMII4* présente une activité protéolytique et lipolytique plus prononcée, ce qui suggère une meilleure capacité à dégrader les protéines et lipides alimentaires, facilitant la digestion et la libération de composés bénéfiques tels que peptides bioactifs et acides gras libres.

Les deux souches montrent une bonne aptitude à acidifier leur environnement, contribuant à maintenir un pH intestinal bas favorable à la santé intestinale en inhibant les bactéries pathogènes et en renforçant la barrière microbienne.

Les tests d'activité antagoniste confirment une inhibition significative de pathogènes comme *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, et *B. cereus*, avec une supériorité nette de *JUMII4*, probablement liée à la production de composés antimicrobiens (bactériocines, acides organiques).

Les deux souches résistent bien aux sels biliaires, un critère essentiel pour leur survie dans le tractus gastro-intestinal et leur implantation dans l'intestin.

L'absence d'activité hémolytique (gamma-hémolyse) confirme leur innocuité vis-à-vis des cellules hôtes, un point crucial puisque toute hémolyse alpha ou bêta constituerait un facteur de virulence incompatible avec un usage probiotique.

Les souches *NSC10* et *JUMII4* possèdent un profil probiotique *in vitro* prometteur, alliant sécurité, tolérance gastro-intestinale, activité enzymatique bénéfique et effet antimicrobien. La souche *JUMII4* se distingue par ses performances supérieures sur plusieurs critères, justifiant une évaluation *in vivo* chez les rats Wistar afin de confirmer son efficacité et sa sécurité.

Ces résultats encouragent l'utilisation de *Lactobacillus plantarum NSC10 Gx100* dans des applications biotechnologiques, notamment comme probiotique dans les produits alimentaires fonctionnels, mais aussi dans la formulation de fermentations pour améliorer la qualité sensorielle et la durée de conservation des produits fermentés.

La production de ces composés antimicrobiens renforce également la sécurité microbiologique des aliments fermentés dans lesquels cette souche pourrait être utilisée, tout en contribuant à la modulation positive de la flore intestinale chez l'hôte.

- Suite aux résultats des différents tests réalisés *in vitro* il apparaît que 2 souches présentent des aptitudes probiotiques intéressantes pour une application *in vivo*:

La souche *Lactobacillus plantarum NSC10* montre de bonnes performances dans l'ensemble des tests, elles se sont distinguées par leur pouvoir inhibiteur contre les pathogènes principalement dû à leur bonne acidification. Leur potentiel probiotique a fait l'objet de l'étude *in vivo* (Chaves et al., 2017).

La souche *Lactobacillus planatrum JUMII4* qui sélectionnée pour leur pouvoir liporéducteur et leur tolérance aux conditions hostiles du tube digestif. L'étude *in vivo* a permis de tester ces souches (Chaves et al., 2017).

Les souches ayant montré les meilleurs résultats à partir des deux premières études *in vivo* ont été combinés pour observer leur comportement probiotique dans l'étude *in vivo* (Chaves et al., 2017).

2. Résultats de l'étude *In vivo*

2.1. Le poids

L'évolution du poids corporel des animaux est suivie pour les sept lots durant les 21 jours de l'étude.

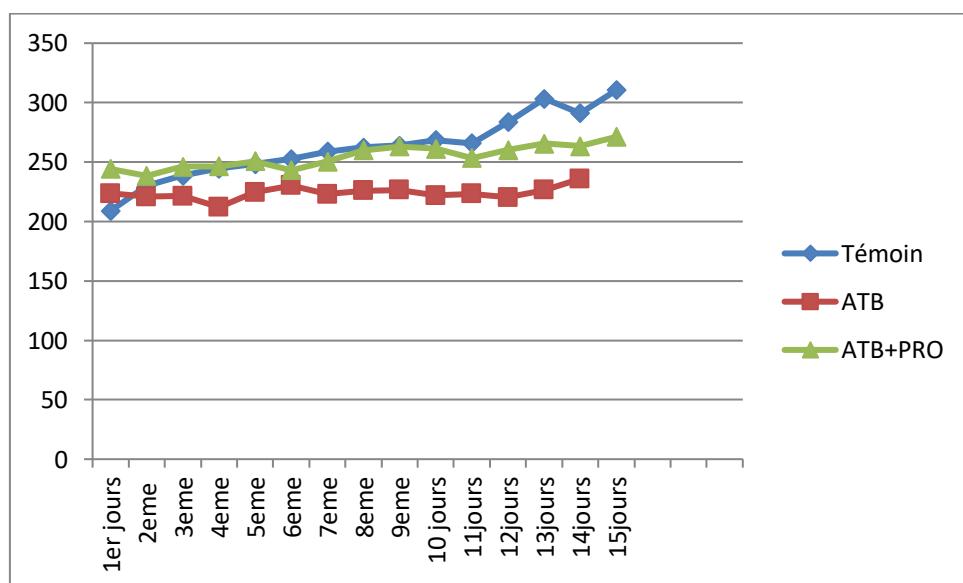


Figure 39: le poids des rats durant le temps d'étude

T : Lot Témoin

ATB : Lot Antibiotique

ATB+PRO : Lot antibiotique+probiotique

Nous avons observé les éléments suivants :

- Le groupe témoin a montré une prise de poids progressive et régulière au fil des jours.
- Le groupe ATB a montré une stagnation, voire une légère diminution, du poids, notamment entre le 4e et le 13e jour.
- Le groupe ATB+PRO a montré une courbe de prise de poids similaire à celle du groupe témoin, avec une progression continue, quoique plus modérée.

Les résultats indiquent que l'administration d'antibiotiques seuls (groupe ATB) a un effet négatif sur la prise de poids des rats, ce qui pourrait être attribué à une perturbation de la flore intestinale engendrant l'apparition de diarrhées affectant ainsi l'absorption des nutriments. En revanche, l'ajout de probiotiques (groupe ATB+PRO) semble compenser cet effet, maintenant une croissance pondérale comparable à celle du groupe témoin. Cela suggère un rôle protecteur et restaurateur des probiotiques sur le microbiote intestinal après une antibiothérapie. Ces résultats soutiennent l'idée que les probiotiques peuvent atténuer les effets secondaires des antibiotiques sur la santé métabolique.

La différence en gallons par minute indique que le supplément probiotique contribue efficacement à la stabilisation du poids des animaux. La prise de poids moyenne des lots supplémentés avec les probiotiques est remarquablement proche de celle des lots nourris uniquement avec une alimentation standard (Amara, 2020).

2.2. Paramètres microbiologiques

Les flores fécales dénombrées étaient la flore mésophile totale, les entérobactéries, les bactéries lactiques et le staphylocoque (GN, VRBL, MRS, Chapman).

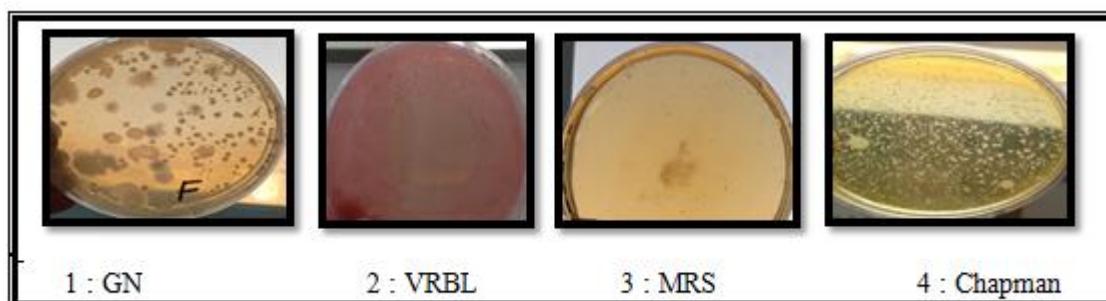


Figure 40: Milieux utilisés pour le dénombrement de la flore fécale.

2.2.1. La flore totale

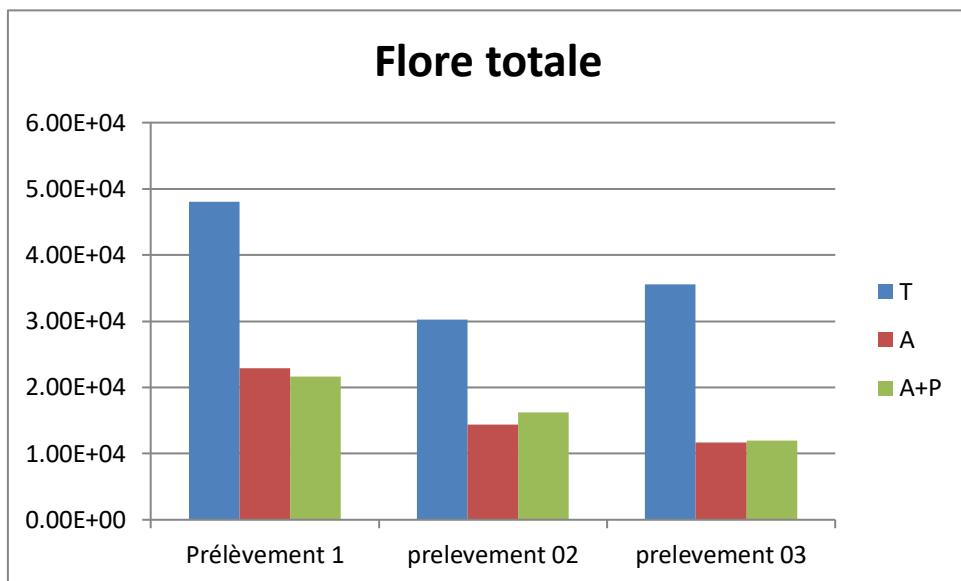


Figure 41 : Evolution de la flore totale

Le graphique montre l'évolution de la flore microbienne totale (exprimée en UFC/ml) à travers trois prélèvements successifs. On observe que dans tous les prélèvements, le groupe témoin (T) présente les charges microbien... les plus élevées. Le premier prélèvement (Prélèvement 1) affiche une concentration particulièrement importante, surtout chez le groupe T, suivi par les groupes A (antibiotiques seuls) et A+P (antibiotiques + probiotiques), qui montrent des valeurs plus faibles mais assez proches l'une de l'autre. Au second prélèvement, une diminution globale est notée, notamment chez les groupes A et A+P, traduisant une baisse de l'activité microbienne. Au troisième prélèvement, une légère remontée est observée dans le groupe T, tandis que les groupes traités conservent des niveaux faibles et stables, ce qui pourrait refléter une action prolongée des antibiotiques et un effet limité des probiotiques à ce stade.

2.2.2. Les entérobactéries

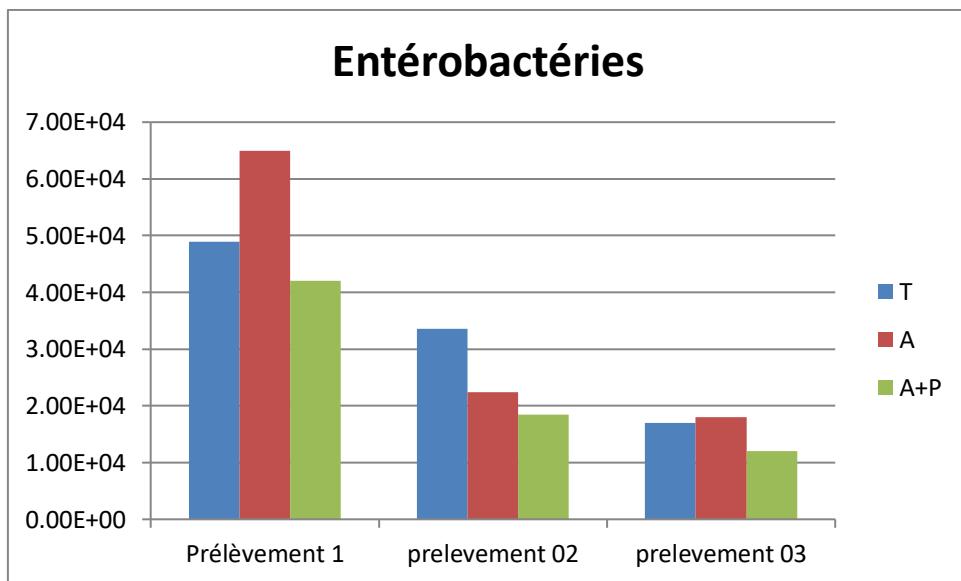


Figure 42 : Evolution de la charge des entérobactéries

Le graphique montre l'évolution de la charge en entérobactéries (exprimée en UFC/ml) pour trois groupes (T : témoin, A : antibiotiques, A+P : antibiotiques + probiotiques) à travers trois prélèvements. Lors du premier prélèvement, le groupe traité par antibiotiques (A) présente la charge bactérienne la plus élevée, suivi du témoin (T) puis du groupe A+P. Cette situation suggère une forte présence d'entérobactéries avant ou en début de traitement. Au second prélèvement, on observe une baisse notable dans tous les groupes, avec un déclin plus marqué chez les groupes A et A+P. Au troisième prélèvement, les charges continuent de diminuer, atteignant leur niveau le plus bas, en particulier dans le groupe A+P, ce qui indique un effet combiné des antibiotiques et probiotiques plus marqué sur la réduction des entérobactéries.

2.2.3. Evolution des bactéries lactiques

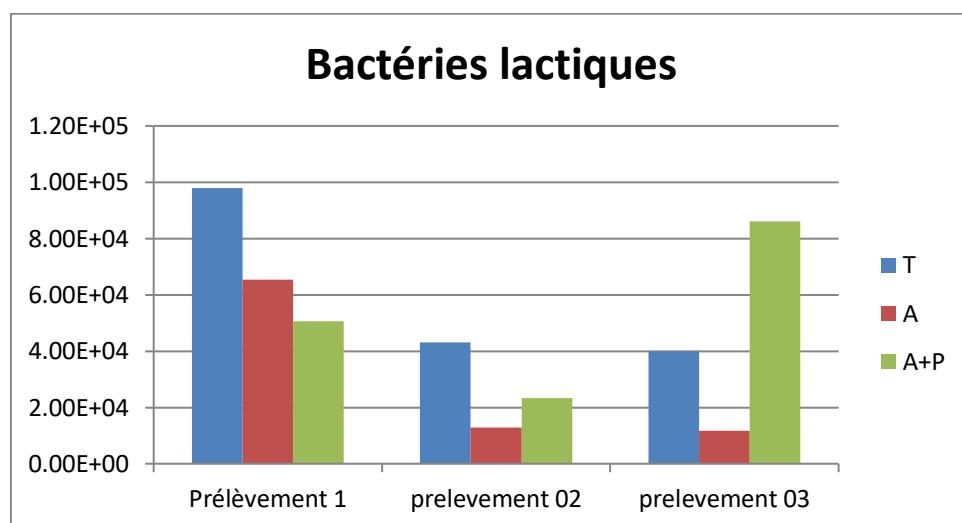


Figure 43 : Evolution des bactéries lactiques

Au cours de l'expérience, l'évolution des bactéries lactiques montre des variations notables selon les traitements appliqués. Lors du premier prélèvement, le lot témoin (T) présente la concentration la plus élevée en bactéries lactiques, suivie du lot antibiotique (A) et enfin du lot combiné antibiotiques + probiotiques (A+P), ce qui reflète l'effet immédiat suppressif des antibiotiques. Au deuxième prélèvement, une diminution générale est observée dans les trois lots, avec une chute marquée dans le lot A, tandis que le lot A+P montre une légère augmentation par rapport au lot A, suggérant un début d'effet restaurateur des probiotiques. Enfin, au troisième prélèvement, une forte augmentation des bactéries lactiques est enregistrée dans le lot A+P, dépassant même les niveaux du lot témoin, ce qui confirme l'effet bénéfique des probiotiques sur la reconstitution de la flore lactique après traitement antibiotique. Le lot A reste à un niveau très bas, soulignant l'impact prolongé des antibiotiques en l'absence de probiotiques.

2.2.4. Evolution de la charge des staphylocoques

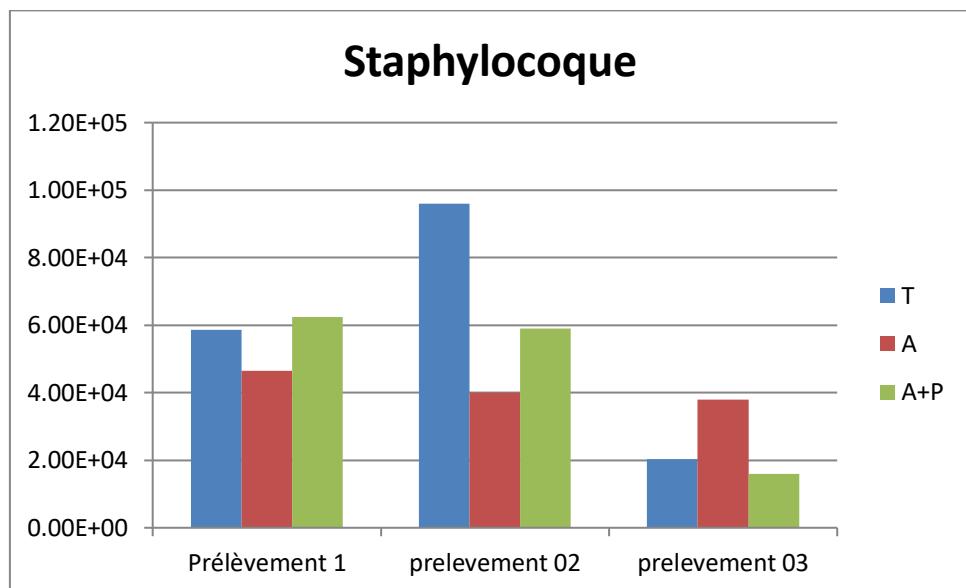


Figure 44 : Evolution de la charge des staphylocoques

L'analyse de l'évolution de la charge des staphylocoques révèle une nette différence entre les groupes. Lors du prélèvement 1, les niveaux sont relativement proches entre les trois groupes, avec une charge légèrement plus élevée dans le lot A+P. Cependant, au prélèvement 2, une augmentation importante est observée dans le lot témoin (T), tandis que le lot A présente une légère diminution, et le lot A+P reste stable. Cette tendance suggère que les staphylocoques se développent librement dans le lot témoin, alors que les antibiotiques (lot A) limitent partiellement leur prolifération. Le lot combiné (A+P) maintient une charge intermédiaire. Enfin, au prélèvement 3, une forte diminution est constatée dans les lots traités (A et A+P), avec des valeurs nettement inférieures à celles du témoin, ce qui indique une efficacité progressive des traitements, en particulier du traitement combiné, dans la réduction de la population de staphylocoques au fil du temps.

Discussion

L'analyse des quatre graphiques montre clairement l'impact différentiel des traitements (antibiotiques et probiotiques) sur la flore intestinale, en se basant sur les variations des charges microbiennes dans les différents prélèvements.

Les résultats démontrent que si les antibiotiques seuls réduisent efficacement les bactéries pathogènes, ils affectent également les flores bénéfiques. L'ajout de probiotiques permet non seulement de restaurer la flore bénéfique (notamment les lactobacilles) mais contribue aussi à un meilleur contrôle des bactéries pathogènes (staphylocoques et entérobactéries), favorisant un rééquilibrage global du microbiote intestinal (Cani, P. D, 2018).

Les bactéries bénéfiques dans l'intestin grêle augmentent progressivement grâce à l'implantation de lactobacilles et d'entérobactéries. Il est important de rappeler que la numération microbienne reste faible par rapport au groupe témoin, ce qui explique les effets

des bactéries consommées sur les autres groupes de micro-organismes qui composent le microbiote intestinal (Cani, P. D, 2018).

2.3. Les tests neurocomportementaux

2.3.1. Test Dark and light

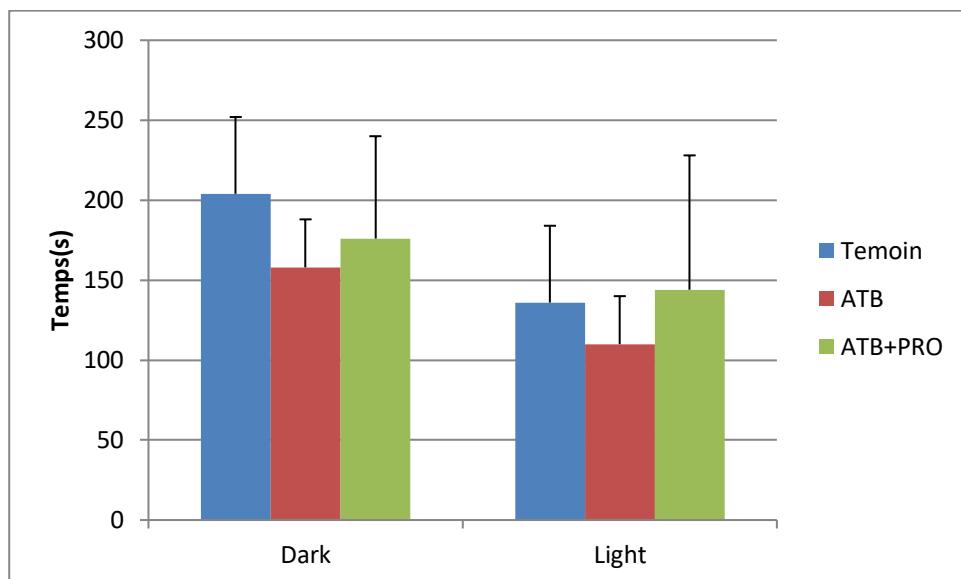
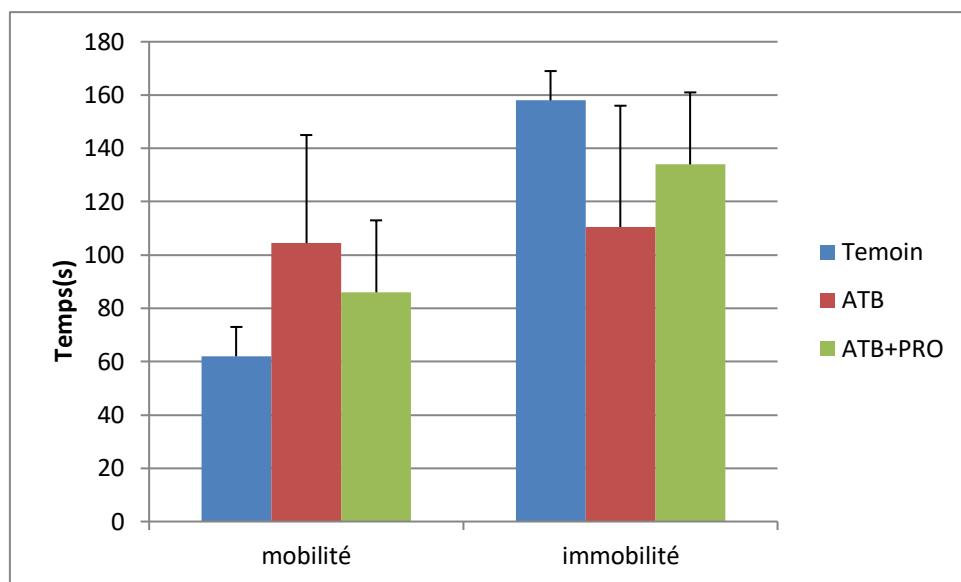


Figure 45 : Test dark and light pour déférents rats

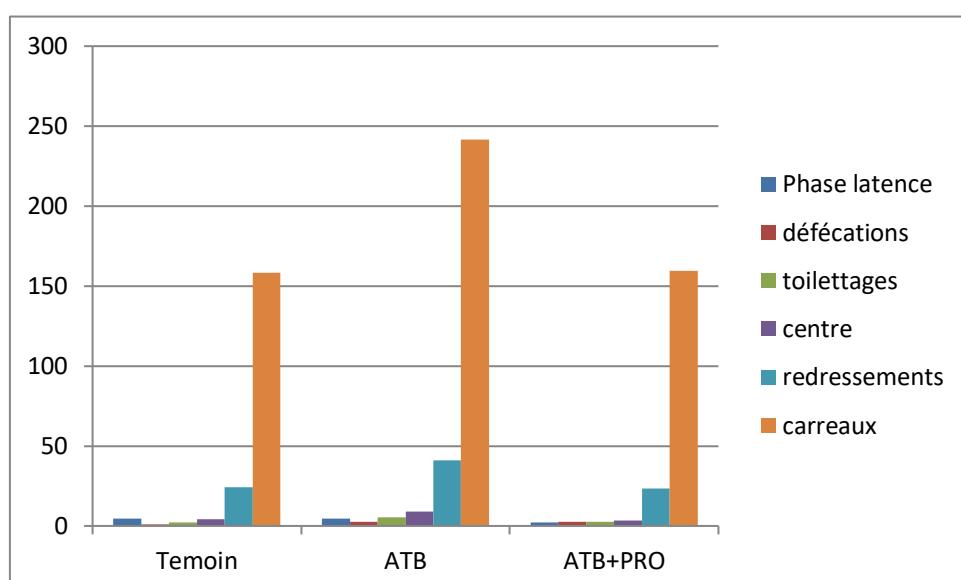
Le graphique présente le temps moyen passé par les rats dans les zones sombre ("Dark") et claire ("Light") au cours du test neurocomportemental. On observe que les rats du groupe témoin passent plus de temps dans la zone sombre (environ 200 secondes) par rapport aux groupes traités par antibiotiques (environ 160 secondes) et par antibiotiques suivis de probiotiques (environ 170 secondes). Dans la zone claire, le temps passé est plus faible chez le groupe ATB (environ 110 secondes), tandis qu'il augmente légèrement chez le groupe ATB+PRO (environ 150 secondes), dépassant même le groupe témoin (environ 130 secondes). Ces résultats suggèrent une modification du comportement exploratoire chez les rats traités, et une variabilité individuelle importante est également notée, comme en témoignent les barres d'erreur.

2.3.2. Test nage forcée

**Figure 46 :** Test nage forcée pour déférants rats

Le graphique présente les temps moyens de mobilité et d'immobilité enregistrés chez les rats des trois groupes (Témoin, ATB et ATB+PRO) lors du test de nage forcée. On observe que le groupe témoin présente un temps de mobilité faible (environ 70 secondes) et un temps d'immobilité élevé (environ 150 secondes). À l'inverse, les rats du groupe ATB montrent une mobilité plus élevée (environ 110 secondes) et une immobilité réduite (environ 120 secondes), ce qui pourrait indiquer une réponse comportementale altérée par le traitement antibiotique. Quant au groupe ATB+PRO, il montre un temps de mobilité intermédiaire (environ 90 secondes) et une immobilité légèrement inférieure au témoin (environ 135 secondes), suggérant un effet partiellement protecteur des probiotiques. Les barres d'erreur indiquent une variabilité interindividuelle modérée.

2.3.3. Test de l'Open Field

**Figure 47 :** Test de l'Open Field pour déférants rats

1. Phase de latence :

Les rats du groupe ATB présentent une phase de latence plus élevée que les autres groupes, ce qui suggère une anxiété accrue ou une réduction de la motivation exploratoire.

Le groupe ATB+PRO montre une latence réduite, proche du témoin.

2. Défécations :

Le groupe ATB a le plus grand nombre de défécations, ce qui est un indice fort d'anxiété.

Le groupe ATB+PRO présente un nombre de défécations plus faible, similaire au témoin.

3. Toilettages, redressements et exploration du centre :

Ces paramètres sont très faibles pour tous les groupes, mais particulièrement réduits chez le groupe ATB, indiquant un comportement passif et un niveau de stress élevé.

L'introduction des probiotiques (ATB+PRO) améliore légèrement ces comportements.

4. Carreaux parcourus :

Les rats traités aux antibiotiques (ATB) ont exploré le plus grand nombre de carreaux, mais cela peut être interprété soit comme une agitation, soit comme un comportement de fuite.

Le groupe ATB+PRO a parcouru moins de carreaux qu'ATB mais plus que le témoin, suggérant une activité plus équilibrée.

Discussion

Les résultats obtenus à partir des différents tests neurocomportementaux (test Dark and Light, test de la nage forcée, et test de l'Open Field) mettent en évidence l'impact des antibiotiques (ATB) sur le comportement des rats, ainsi que l'effet correcteur potentiel des probiotiques lorsqu'ils sont administrés en association (ATB+PRO). Dans le test Dark and Light, les rats témoins ont passé plus de temps dans la zone sombre, traduisant un comportement anxieux naturel. En revanche, les rats traités par ATB ont montré une réduction du temps passé dans cette zone, suggérant une altération de l'anxiété ou une modification de la perception environnementale. L'ajout de probiotiques semble atténuer cet effet, avec des résultats intermédiaires. Dans le test de nage forcée, les rats témoins ont présenté un temps d'immobilité élevé, signe de comportement dépressif. Les rats traités aux antibiotiques ont montré une augmentation du temps de mobilité et une diminution de l'immobilité, traduisant une amélioration apparente des signes dépressifs. Cependant, cette hyperactivité peut aussi refléter une forme d'agitation. Le groupe ATB+PRO présente des valeurs intermédiaires, ce qui pourrait indiquer un effet stabilisateur des probiotiques. Enfin, dans le test de l'Open Field, les rats traités aux antibiotiques ont présenté des niveaux plus élevés de défécation, de phase de latence et de déplacements (carreaux), traduisant une anxiété plus marquée et une activité motrice excessive. L'administration de probiotiques dans le groupe ATB+PRO a permis de moduler ces effets, en rapprochant les résultats de ceux du groupe témoin. Ainsi, ces observations suggèrent que les antibiotiques perturbent l'équilibre comportemental, probablement via une altération du microbiote intestinal, et que les

probiotiques ont un rôle protecteur et régulateur, en agissant potentiellement sur l'axe intestin-cerveau.

Les antibiotiques peuvent provoquer des effets secondaires sur le cerveau, notamment des troubles de l'humeur tels que la dépression et l'anxiété. Ces effets peuvent être liés à une perturbation du microbiote intestinal et à des modifications du lien cerveau-intestin (Orban, 2018), par contre ; Les probiotiques semblent prometteurs pour réduire les symptômes de dépression et d'anxiété, en particulier chez les personnes souffrant de troubles légers à modérés. Ils pourraient contribuer à améliorer le bien-être mental en modulant l'axe intestin-cerveau et en réduisant l'inflammation (Julienvenesson, 2023).

2.4. La dissection des rats

Tableau 9 : la moyenne de tube digestif pour certains rats de chaque lot

Rats	A	A+P	T
Tube digestif	10.5	13	11

Le tableau 11 présente la moyenne de la longueur du tube digestif chez les rats de chaque lot. On observe que le lot P (traité aux probiotiques) affiche la valeur la plus élevée (, suivi par A et T.

Ces résultats suggèrent que la consommation de probiotiques (notamment dans le groupe P) a favorisé le développement ou le maintien de l'intégrité du tube digestif l'adhésion des probiotiques à la muqueuse intestinale contribue à l'augmentation du poids du colon et à l'augmentation du poids de la matière fécale qui est contenu dans le conlon. En revanche, les antibiotiques, notamment dans le lot A, semblent avoir un effet négatif, avec une réduction notable de la longueur moyenne du tube digestif, probablement en lien avec un déséquilibre de la flore intestinale causé par ces agents.

Le groupe témoin (T) ayant une valeur intermédiaire (11), il sert de référence pour montrer que les probiotiques peuvent avoir un effet bénéfique ($P > T$), tandis que les antibiotiques, selon la dose ou la durée (cas de A2), peuvent réduire la santé digestive ($A < T$).



Figure 48 : Comparaison de colon des lots A, P, T

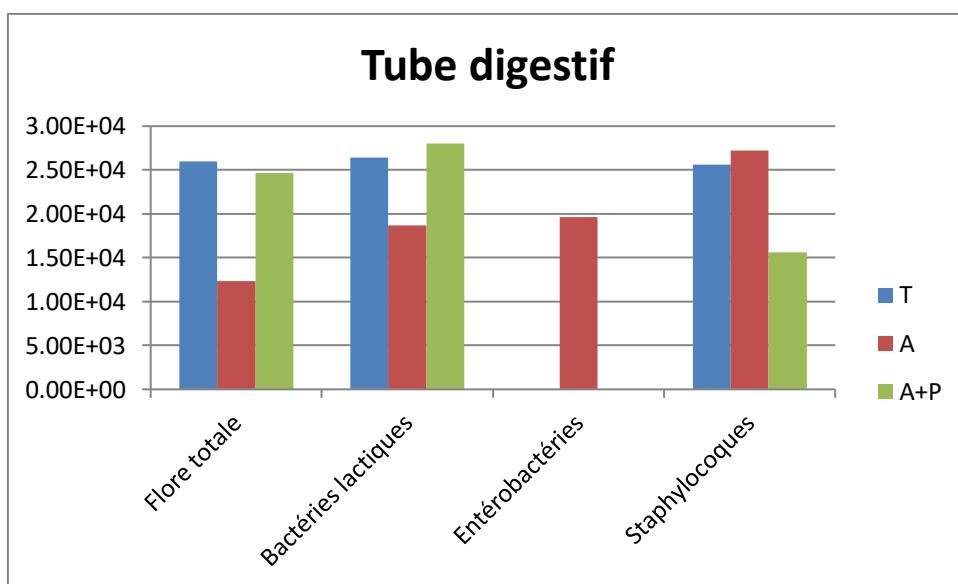


Figure 49 : ensemble des bactéries dans le tube digestif des rats

L'observation macroscopique des colons révèle que les rats du lot témoin (T) présentent un colon de taille et d'aspect normal. En revanche, les colons des rats traités aux antibiotiques (A1, A2) apparaissent visiblement plus courts et altérés, ce qui indique une atteinte digestive. À l'inverse, les colons des groupes ayant reçu des probiotiques (P1, P2) montrent une morphologie relativement conservée, proche de celle du témoin. Les analyses microbiologiques confirment ces observations : la flore lactique est nettement réduite chez le groupe A, alors qu'elle est plus abondante dans le groupe P, avec une tendance à augmenter au fil des prélèvements. La flore totale suit la même évolution. Concernant les staphylocoques, leurs taux restent modérés dans tous les groupes, tandis que les entérobactéries sont détectées exclusivement chez les rats traités aux antibiotiques, ce qui suggère un déséquilibre important du microbiote intestinal.

Discussion

Les résultats obtenus démontrent que l'administration d'antibiotiques perturbe fortement l'équilibre du microbiote intestinal, en réduisant significativement la flore bénéfique (lactique et totale) et en favorisant l'émergence de bactéries opportunistes comme les entérobactéries. Cette dysbiose se manifeste également par des altérations visibles du colon. À l'inverse, l'administration de probiotiques semble non seulement préserver l'intégrité du microbiote mais également favoriser la recolonisation bénéfique après l'arrêt du traitement. L'augmentation progressive des bactéries lactiques chez le groupe P au fil des prélèvements indique une persistance de l'effet probiotique, traduisant leur capacité à s'implanter durablement dans l'écosystème intestinal. Ces résultats confirment ainsi l'efficacité des probiotiques non seulement comme agents protecteurs, mais aussi comme modulateurs du microbiote après une antibiothérapie. (Cani, P. D, 2018).

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence les effets profonds de la consommation d'antibiotiques sur la flore intestinale des rats Wistar et les répercussions comportementales associées, notamment en lien avec des manifestations de type dépressif et anxieux. Les analyses ont montré qu'un traitement antibiotique seul entraîne une altération marquée du microbiote intestinal, caractérisée par une diminution de la flore totale, une réduction drastique des bactéries lactiques, et une baisse pondérale significative. Ces perturbations s'accompagnent de comportements traduisant une anxiété accrue et un état dépressif, confirmés par les tests de nage forcée, d'exploration (open field) et de lumière-obscurité (Julienvenesson, 2023).

En revanche, l'introduction de probiotiques (notamment les souches *Lactobacillus plantarum SNC10 et JUMII4*) a démontré un effet modulateur significatif. En traitement simultané ou différé avec l'antibiotique, les probiotiques ont favorisé une restauration partielle de la flore intestinale, une meilleure prise de poids, et une amélioration des indicateurs comportementaux liés à l'anxiété et à la dépression. Parmi les deux souches testées, JUMII4 s'est distinguée par ses meilleures capacités de résistance aux conditions digestives hostiles (acidité, sels biliaires), ses activités enzymatiques supérieures, ainsi que son potentiel antimicrobien élevé (Cani, P. D, 2018).

Les résultats soutiennent l'hypothèse d'un lien fonctionnel entre microbiote intestinal et comportements neuropsychologiques via l'axe intestin-cerveau. La dysbiose induite par les antibiotiques semble altérer cet équilibre, tandis que les probiotiques agissent comme des régulateurs bénéfiques de la santé intestinale et mentale. Ainsi, les probiotiques peuvent être envisagés comme une approche complémentaire prometteuse dans la prévention ou l'atténuation des troubles émotionnels induits par des altérations du microbiote, en particulier dans des contextes de traitements antibiotiques prolongés (Julienvenesson, 2023).

En conclusion, cette recherche souligne non seulement les effets délétères des antibiotiques sur la flore intestinale et le comportement, mais aussi l'intérêt thérapeutique potentiel des probiotiques. Des investigations supplémentaires, notamment cliniques, seront nécessaires pour confirmer ces résultats et en explorer les applications chez l'homme.

Annexes

Annexe01
(Poids en g)

1. (Témoin)

Rats/poids	T1	T2	T3	T4	T5	T6	MOYENNE
1er jours	173	203	225	217	214	222	209
2eme	193	224	248	236	238	240	229,833333
3eme	210	241	215	254	257	254	238,5
4eme	215	239	260	252	252	249	244,5
5eme	213	246	261	257	260	253	248,333333
6eme	218	253	265	261	265	253	252,5
7eme	224	258	271	267	272	261	258,833333
8eme	229	261	276	265	274	268	262,166667
9eme	234	263	276	261	279	270	263,833333
10jours	250	266	276	267	281	271	268,5

2. (Antibiotiques)

Rats/jours	A1	A2	A3	A4	A5	A6	Moyenne
1er jours	223	279	195	197	240	207	223,5
2eme	181	283	196	201	247	217	220,833333
3eme	181	274	201	202	247	223	221,333333
4eme	170	267	195	197	236	207	212
5eme	181	278	211	205	247	226	224,666667
6eme	189	281	219	213	252	227	230,166667
7eme	188	268	213	215	246	207	222,833333
8eme	192	276	219	213	246	209	225,833333
9eme	236	245	255	195	221	207	226,5
10jours	263	207	273	181	201	206	221,833333
11jours	192	268	216	216	241	207	223,333333
12jours	265	211	237	191	201	216	220,166667
13jours	195	277	219	220	242	205	226,333333
14jours	203	277	227	226	270	212	235,833333

3. (Antibiotiques +probiotiques)

RATS/JOURS	P1	P2	P3	P4	P5	P6	Moyenne
1er jours	264	257	245	242	221	236	244,166667
2eme	267	247	233	235	221	227	238,333333
3eme	276	255	240	239	232	235	246,166667

4eme	280	257	237	237	231	237	246,5
5eme	286	262	242	241	239	234	250,666667
6eme	274	252	237	236	232	228	243,166667
7eme	286	260	238	240	245	234	250,5
8eme	297	273	247	248	249	245	259,833333
9eme	297	277	253	250	254	248	263,166667
10 jours	295	249	240	259	250	275	261,333333
11jours	287	242	235	245	243	268	253,333333
12jours	295	274	247	243	261	241	260,166667
13jours	310	250	247	260	249	277	265,5
14jours	302	270	250	250	266	242	263,333333
15jours	314	287	253	253	274	246	271,166667
16jours	254	248	274	311	255	290	272
17jours	233	263	279	268	281	271	265,833333
18jours	318	286	263	261	286	251	277,5

Annexe02***Milieux de culture*****1. MilieuMRS**

- Peptone 10,0g
- Extraitdeviande 8,0g
- Extraitdelevure 4,0g
- Glucose 20,0g
- Acétatedesodiumtrihydraté 5,0g
- Citrated'ammonium 2,0g
- Tween80 1,0ml
- Hydrogénophosphatedepotassium(K₂HPO₄) 2,0g
- Sulfatedemagnésium(MgSO₄) 0,2g
- Sulfatedemanganèse(MnSO₄) 0,05g
- Agar-Agar(gélose) 18 g
- Eaudistillée 1000ml
pH=6,2

Stérilisationparautoclavageà120c°pendant20 min

2. MilieuLB

Pourunlitredemilieu

- Peptone 10 g
 - Extraitdelevures 5 g
 - NaCl 10 g
- Autoclavageà120°C/20 min.

3. MilieuChapman

Pourunlitredemilieu

- Peptone 10g
 - Extraitdeviande 1g
 - Chloruredesodium 75g
 - Mannitol 10g
 - Rougedephénol 0.025g
 - Agar 15g
- pH7.4

Autoclave120°C, 20min

4. Gélosenutritif(GN)

Pour un litredemilieu

- Extraitdeviande 1,0g/l
- Extraitdelevure 2,5g/l
- Peptone 5,0g/l
- Chloruredesodium 5,0g/l

- Agar..... 15,0g/l
PH:7,0

Préparation 28g par litre (stérilisation à l'autoclave).

Annexe 03

I. Concentration d'ATB (Lot E)

Rats/concentration ATB	A1	A2	A3	A4	A5	A6
1er jours	0.111ml	0.134ml	0.097ml	0.098ml	0.12ml	0.103ml
2eme	0.18ml	0.28ml	0.19ml	0.2ml	0.24ml	0.21ml
3eme	0.18ml	0.27ml	0.20ml	0.20ml	0.24ml	0.22ml
4eme	0.17ml	0.26ml	0.19ml	0.19ml	0.23ml	0.2ml
5eme	0.18ml	0.27ml	0.21ml	0.20ml	0.24ml	0.22ml
6eme	0.18ml	0.28ml	0.21ml	0.21ml	0.25ml	0.22ml
7eme	0.18ml	0.26ml	0.21ml	0.21ml	0.24ml	0.20ml

La dose administrée*poids

Concentration de solution mère

Concentration d'ATB (lot F)

Rats/concentration ATB	P1	P2	P3	P4	P5	P6
1er jours	0.128ml	0.24ml	0.122ml	0.118ml	0.12ml	0.11ml
2eme	0.133ml	0.123ml	0.116ml	0.117ml	0.110ml	0.113mls
3eme	0.27ml	0.25ml	0.24ml	0.23ml	0.23ml	0.23ml
4eme	0.28ml	0.25ml	0.23ml	0.23ml	0.23ml	0.23ml
5eme	0.28ml	0.26ml	0.24ml	0.24ml	0.23ml	0.23ml
6eme	0.27ml	0.25ml	0.23ml	0.236ml	0.23ml	0.22ml
7eme	0.28ml	0.26ml	0.23ml	0.24ml	0.24ml	0.23ml

Annexe 04*(Dénombrement de la flore fécale à la fin de l'expérience in vivo (UFC/ml))*

GN	Prélèvement 1	prelevement 02	prelevement 03
T0	4,80E+04	3,02E+04	3,56E+04
T7J	2,29E+04	1,44E+04	1,17E+04
T15J	2,16E+04	1,62E+04	1,20E+04

MRS	Prélèvement 1	prelevement 02	prelevement 03
T0	9,80E+04	4,30E+04	4,00E+04
T7J	6,54E+04	1,28E+04	1,18E+04
T15J	2,56E+04	2,32E+04	8,60E+04

VRBL	Prélèvement 1	prelevement 02	prelevement 03
T0	1,26E+04	2,50E+04	1,70E+04
T7J	2,24E+04	1,40E+04	1,80E+04
T15J	1,12E+04	9,40E+04	1,87E+04

Chapman	Prélèvement 1	prelevement 02	prelevement 03
T0	2,04E+04	1,13E+04	9,60E+04
T7J	8,80E+04	6,50E+04	4,00E+04
T15J	1,60E+04	6,25E+04	5,90E+04

Ufc/ml=nombre de colonies par biotexl/v.l/d (**Guiraud, 2003**).

V : etant le volume d'ensemencement.

D : la dilution prise en compte.

Annexe 05*(Tests neurocomportementaux)***1. Test Dark and light**

Rats	Dark	Light
T1	2min36s	2min64s
T2	3min72s	1min28s
T3	3min8s	1min20s
T4	2min8s	2min20s
T5	1min52s	3min48s
T6	4min	1min

2. Test de l'Open Field

Rats	Phase latence	défécations	toilettages	centre	redressements	Carreaux
T3	1s	01	02	04	28	134
T4	8s	01	02	04	20	183
A3	5s	00	04	10	38	216
A4	4s	05	07	08	44	267
P3	3s	02	03	04	12	145
P4	1s	03	02	03	35	174

3. Test nage forcée

Rats	mobilité	Immobilité
T5	1min13s	1min87s
T6	51s	2min49s
A5	1min04s	1min96s
A6	2min25s	1min05s
P5	59s	2min41s
P6	1min53s	1min47s

T : rats de lot témoin.**A : rats de lot d'antibiotique****P: rats de lot mélange (antibiotique+probiotique)**

En calcule par la moyenne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A)

- **ABDALI Rachida, BELHADJ Manel.***Etude in vitro et in vivo des effets secondaires et de la toxicité d'un anti-inflammatoire sur des rats Wistar.*, Université Ibn Khaldoun – Tiaret –, 2020-2021.
- **advacarepharma**, 2024
[;https://www.advacarepharma.com/fr/medicaments/vancomycine-pour-injection](https://www.advacarepharma.com/fr/medicaments/vancomycine-pour-injection)
- **All issues**, Volume 32 / No 11 (Novembre 2016), *Med Sci (Paris)*, 32 11 (2016) 952-960, *Le microbiote*.
- **Ambre, C. AUDRAC.***INDIVIDUALISATION ET OPTIMISATION DU TRAITEMENT PARENTÉRAL À L'AMPICILLINE CHEZ LE CHIEN PAR APPROCHE DE PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATIONS.*, Faculté de Médecine de Créteil (UPEC), le 20 octobre 2023, pages 26–27.
- **Amara, S.** (2020). *Effets probiotiques de bactéries lactiques isolés de diverses sources naturelles.*<https://dspace.univ-oran1.dz/handle/123456789/510>
- **Amara, S., Zadi-Karam, H., &Karam, N.-E.** (2019). *Selection of Lactobacillus strains newly isolated from Algerian camel and mare fermented milk for their in vitro probiotic and lipolyticpotentials.**African Journal of Biotechnology*, 18(30), 882-894.
<https://doi.org/10.5897/AJB2019.16844>
- **Andy De Santis.***Qu'est-ce que la dysbiose et comment la traiter ?, 02/05/2024.*
- **axe-intestin-cerveau**, 2020 ; <https://microbiome-foundation.org/axe-intestin-cerveau/>

B)

- **BELMARES KHADIDJA, GHRAIRIA HANNENE.***Intérêts des probiotiques dans certains pathologies inflammatoires.*, Université 8 Mai 1945 Guelma, JUIN-2022.
- **Benoît PILMIS.***Impact des Antibiotiques sur le microbiote digestif et l'émergence de bactéries multirésistantes.*, Université Paris-Saclay INRAE, le 11 Octobre 2021.
- **Biocodexmicrobiotainstitute.**<https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/fr/antibiotiques-quels-impacts-sur-le-microbiote-intestinal>
- **B. Imane, H. Hadile.***Antibiorésistance et alternatives aux antibiotiques conventionnels.*, Université Mentouri Frères Constantine, Le 22/06/2023.
- **Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., Drugeon, H., Dubreuil, L., Jarlier, V., &Jehl, F.** (2013). *Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations*, 19, 133-142.
- **Brain J. Werth, PharmD.***University of Washington School of Pharmacy*, vérifié/révisémai 2024, pénicillines.

C)

- **cdhf.ca, 2023** ;<https://cdhf.ca/fr/dysbiose-et-antibiotiques-les-probiotiques-a-base-de-levure-peuvent-jaider/#:~:text=La%20dysbiose%20peut%20être%20déclenchée,des%20ballonnements%20et%20des%20diarrhées.>
- **Charles BURDET.***Impact d'une antibiothérapie sur le microbioteintestinal.*, Ecole Doctorale Pierre Louis de Santé Publique à Paris, 12 juin 2018.
- **Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., & Collins, J.K.** (1998). *Antibioticsusceptibility of potentiallyprobiotic Lactobacillus species.*

Références bibliographiques

- **clinalliance, 2023** ; <https://www.clinalliance.fr/infos-conseils/systeme-digestif-metabolique-endocrinien/quelles-sont-les-maladies-metaboliques/#:~:text=La%20maladie%20m%C3%A9tabolique%20est%20un,d%C3%A9chets%20hors%20de%20l%27organisme>
- **cliniscience, 2023** ; [https://www.clinisciences.com/achat/cat-sondes-pour-l-hybridation-in-situ-4558.html#:~:text=L%27hybridation%20in%20situ%20\(HIS,la%20cible%20appel%C3%A9e%20sonde.](https://www.clinisciences.com/achat/cat-sondes-pour-l-hybridation-in-situ-4558.html#:~:text=L%27hybridation%20in%20situ%20(HIS,la%20cible%20appel%C3%A9e%20sonde.)
- **Chaves BD, Brashears MM, Nightingale KK (2017).** Applications and safety considerations of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in animal and human health. *Journal of Applied Microbiology* 123(1):18- 28.
- **Cani, P. D. (2018).** Microbiota intestinale et santé : entre bactéries et inflammation. Médecine/Sciences, 34(1), 61-68. <https://doi.org/10.1051/medsci/20183401017>

D)

- **dentaire365, 2022** ; <https://www.dentaire365.fr/nouveautes-produits/les-effets-des-antibiotiques-sur-le-microbiote-intestinal-et-comment-les-prevenir/>
- **Dr Adrien DEREIX.** Médecin généraliste et Directeur médical ELSAN Prévention, Centre vaccination Paris République, le 06/03/2025.
- **Dr Martin E, 2017** ; https://depression.ch/content/2-was-sind-depressionen/1-symptome-und-diagnose/brintellix_patienten_broschuere_depression_f.pdf
- **Danielsen, M., & Wind, A. (2003).** Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00244-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00244-1)

E)

- **eufic, 2023** ; <https://www.eufic.org/fr/une-vie-saine/article/quel-role-joue-la-flore-intestinale-pour-notre-sante>
- **El Aidy, S., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2015).** Gut microbiota: the conductor in the orchestra of immune–neuroendocrine communication. *Clinical Therapeutics*, 37(5), 954–967.

F)

- **Ferial BOUKHALFI.** *Contribution à l'évaluation de quelques caractères probiotiques et technologiques du bifidobactéries isolées à partir des selles de nourrissons et lait maternel*, Université Mohamed Khider de Biskra, 2019–2020.
- **focus-microbiote-intestinal, 1990** ; <https://www frm.org/fr/maladies/recherches-autres-maladies/microbiote-intestinal/focus-microbiote-intestinal>

Références bibliographiques

- **Francisco Guarner, Aamir G. Khan.** *Probiotiques et Prébiotiques*, World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, Octobre 2011.
- **Foster, J. A., & Neufeld, K. A. M. (2013).** Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36(5), 305–312.
- **Fooks LJ, Gibson GR (2002).** Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition* 88:S39-S49.

G)

- **GASPÉRINI Jérôme.** *L'interrelation entre le microbiote intestinal et le microbiote cutané : l'équilibre ou le déséquilibre de ces écosystèmes et leur impact sur la physiopathologie cutanée*, le 2 décembre 2022.
- **Guiraud J.-P. (2003).** *Microbiologie alimentaire*. Dunod-RIA, 696.
- **gutmicrobiotaforhealth, 2024** ; <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/fr/les-effets-des-antibiotiques-sur-le-microbiome-intestinal-comment-se-retablir-apres-ce-type-de-traitement/>
- **GHRAIRIA HANNENE, BELMARES KHADIDJA.** *Intérêts des probiotiques dans certains pathologies inflammatoires*, Université 8 Mai 1945 Guelma, JUIN-2022.

H)

- **health-library, 2023** ; <https://www.apollohospitals.com/fr/health-library/gut-health-why-it-matters-to-your-overall-health/>
- **Hassani Zahira.** (2017). *Contribution de l'étude des propriétés probiotiques des cultures mixtes des bactéries lactiques sur les paramètres biochimiques et microbiologique des rats wistar.*

I)

- **Inserm, 2021** ; <https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale/#:~:text=Par%20exemple%2C%20un%20traitement%20antibiotique,mais%20des%20différences%20peuvent%20subsister.>

J)

- **Janvier-Labs.** (2019). *Zoom sur les rats WISTAR dans vos études de recherche.* Consulté le 5 mars 2019.
- **Julienvenesson, 2023.** *Quels sont les effets des probiotiques sur le cerveau.*

Références bibliographiques

K)

- **Kaplun, 2019** ; <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/fr/diversite-du-microbiote-intestinal-que-pouvons-nous-faire-pour-le-preserver/>

L)

- **lamontagne, 2023** ; https://www.lamontagne.fr/tulle-19000/actualites/pourquoi-avoir moins-recours-aux-antibiotiques-aujourd-hui-c-est-mieux-guerir-demain_14409211/
- **L. Maroua, S. Manele.** *Effet des contaminants chimiques alimentaires sur le microbiote intestinal humain*, Université 1 Mentouri Constantine, 2020–2021.
- **livi.fr, 2020** ;<https://www.livi.fr/sante/maladie-mentale/stress/#quest-ce-que-le-stress>

M)

- **Maria T. Vazquez-Pertejo, MD, FACP, Wellington Regional Medical Center ; Larry M. Bush, MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University, janv. 2023.**
- **Marion OPATOWSKI.** *Thèse*, Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, CESP, Villejuif, France, 4/11/2020.
- **M. Archambaud.** *Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse*, Mars 2009.
- **M. Ismahane - B. Maroua.** *Mécanisme moléculaire de la résistance bactérienne aux antibiotiques cas de Staphylococcus aureus*, Université 8 MAI 1945 GUELMA, 2021.
- **M. Amina, B. Lina.** *Étude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques de souches isolées du milieu hospitalier*, Université des Frères Mentouri Constantine, 21/06/2016.
- **Microbiote et immunité, 2023** ; <https://www.copmed.fr/fr/content/143-microbiote-et-immunit%C3%A9?srsltid=AfmB0oo5k4018azN93n7IgxYqqbJYstvkAw0GXYx9ndgnHFz2h2hjqKv>

P)

- **Par Pascale Lesseur.** Pharmacien, Paris, *Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance*, Publié le 07/04/2014.
- **Par Jonathan Gotfried, MD.** Lewis Katz School of Medicine at Temple University, Le Manuel MSD, Vérifié/Révisé juin 2023 | Modifié sept. 2023
- **pharmacomedicale, 2023** ; <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antibiotiques-les-points-essentiels>
- **Pierre Orban, 2018.** *Étude sur l'impact des antibiotiques et des antimycosiques sur la dépression, l'anxiété et la psychose*, 0485-319170.

R)

- **Rim BENCHERIF.***Représentaions des patients de l'impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal et plus généralement sur leur santé*, Université de BORDEAUX U.F.R DES SCIENCES MEDICALES, le 22 avril 1991 & le 20/06/2023.

S)

- **S. Noura, S. Mohamed.***Étude pharmacologique des antibiotiques chez l'espèce animale*, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, 2018/2019.
- **Sadi, F., Bouras, A. D., Ghomari, F. N., Hallouz, F., & Noui, A.** (2017). *Phénotypage de lactobacillus autochtones isolés du lait de vache et de chèvre*. Journal of Fundamental and Applied Sciences. <https://doi.org/10.4314/jfas.v9i1.21>
- **SafirKhadidja, ReggadNawel (2019).***Évaluation de l'effet neurotoxique de l'acrylamide chez des souris Mus musculus*, Université Dr.MoulayTaher Saida.
- **Séquençage de Sanger, 2020 :** <https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/documents-dinformation/sequencage-de-sanger>
- **sofia.medicalistes, 2024 :** https://sofia.medicalistes.fr/spip/IMG/pdf/classification_et_mode_d_action_des_antibiotiques.pdf
- **Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes,L.C., Finaly, B.B.(2010).**Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*,90(3), 859-904.

V)

- **vidal, 2009 :** <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/antibiotiques-c-est-quoi.html>
- **vidal.fr, 2021 :** <https://www.vidal.fr/maladies/psychisme/anxiete.html>
- **W. Valentin.***Triméthoprime et infections urinaires*, Université de Rouen UFR de Médecine et de Pharmacie, 2017.
- **Wilhelm MP.***Vancomycin*. Mayo Clin Proc. 1991 Nov;66(11):1165-70. doi: 10.1016/s0025-6196(12)65799-1. PMID: 1943250.

W)

- **who.int, 2022 :**<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
- **wiki.aurea, 2023 :**https://wiki.aurea.eu/index.php/La_technique_PCR

Divers Sites Commerciaux (non classés par auteur)

Références bibliographiques

- **advacarepharma, 2024** ;<https://www.advacarepharma.com/fr/medicaments/vancomycine-pour-injection>
- **3npharmadistri, 2023** ; <https://www.3npharmadistri.com/product/penicillin-g-5mega/>
- **ameli, 2025** ; <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/covid-19/tests-de-depistage-du-covid-19/les-tests-antigeniques-du-covid-19>
- **medecindirect, 2024** ;<https://www.medecindirect.fr/traitements/antibiotiques>
- **Biocodexmicrobiotainstitute** ;
<https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/fr/antibiotiques-quels-impacts-sur-le-microbiote-intestinal>
- **<https://www.biophenix.com/quest-ce-que-la-flore-intestinale-solutions/>**