

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA -
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Sciences Agronomiques



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

*En Vue De L'obtention Du Diplôme D'ingénieur d'Etat
Spécialité : Sciences agronomique
Option : Technologie alimentaire*

THEME

*EFFET DE TROIS PRODUITS A BASE DE DATTES SUR
QUELQUES GERMES DE LA FLORE INTESTINALE*

Présenté et soutenu publiquement par :

Melle. BENHARZALLAH Houria
Melle. BOUHOUREIRA Soumia

Devant le jury composé de :
17/06/2014

Président	LOUNI S.	(M.A.B)	U.K M Ouargla
Promotrice	LOUNICI S.	(M.A.B)	U.K M Ouargla
Co-Promotrice	BOUCHOUIREB H.	Ingénieur biologie LVRL LAGHOUAT	
Examineur	CHAICH K.	(M.A.A)	U.K M Ouargla
Examineur	CHOUANA T.	(M.A.A)	U.K M Ouargla

Année Universitaire : 2013/2014



Remerciement

Mes profonds remerciements sont adressés au président du jury,

Notre respectable professeur, monsieur LOUNI S, qui a accepté de présider le jury de soutenance.

A Madame LOUNICI.S, maître de conférences à l'université de Ouargla

A Mademoiselle BOUCHOUIREB H.ingénieur en biologie LVRL LAGHOUAT

A Monsieur, CHAICH.K, maître de conférence à l'université de Ouargla

Et Monsieur CHOUANA.T, maître de conférence à l'université de Ouargla

Je tiens à vous remercier de m'honorer par votre présence en temps qu'examineurs et encadreur.

A Dr. LOUNICI M. de l'hôpital de Laghouat et Tout le personnel du LVR Laghouat.

Je vous remercie tous d'apporter votre savoir et sagesse en jugeant mon modeste travail



Liste des figures

<u>Figure -01-</u> : les différents organes de palmier dattier (<i>MUNIER, 1973</i>).....	4
<u>Figure -02-</u> : Palmier portant les régimes des dattes (<i>ABEKHTI, 2008</i>).....	4
<u>Figure -03-</u> : datte entière et coupe longitudinale (<i>ABEKHTI, 2008</i>).....	6
<u>Figure -04-</u> : Quelques variétés de dattes (<i>MUNIER, 1973</i>).....	6
<u>Figure -05-</u> : Stades de maturation de la datte.....	8
<u>Figure -6-</u> : Diagramme d'opération et transformation des dattes. (<i>ESTANOVE, 1990</i>).....	22
<u>Figure -7-</u> : Activités biologiques et pharmacologiques de la datte (<i>BALIGA et al, 2010</i>).....	25
<u>Figure -08-</u> : Appareil digestif et répartition de la Flore intestinale humaine (<i>THOMAS HINDRE, 2004</i>).....	30
<u>Figure -09-</u> : <i>Staphylococcus aureus</i> vue au microscope électronique et colorée artificiellement (<i>CAMILLE, 2007</i>).....	33
<u>Figure -10-</u> : <i>Escherichia coli</i> , vue au microscope électronique à balayage et colorée artificiellement (<i>CAMILLE, 2007</i>).....	34
<u>Figure-11-</u> : <i>Salmonella typhi</i> sur milieu MH.....	34
<u>Figure-12-</u> : <i>Enterococcus faecalis</i> sur milieu MH.....	35
<u>Figure -13-</u> : préparation des géloses inclinées MRS (<i>Originale, 2014</i>).....	46
<u>Figure -14-</u> : La suspension mère et des dilutions décimales.....	48
<u>Figure -15-</u> : Identification des bactéries.....	49
<u>Figure -16-</u> : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	59
<u>Figure -17-</u> : Les surnagants pour établissement de la cinétique de croissance des germes de la flore intestinale.....	61

<u>Figure -18-</u> : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries API 20 E et API 20NE.....	69
<u>Figure -18-</u> : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries API 20 E et API 20NE (suite et fin).....	70
<u>Figure -19-</u> : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries classique....	71
<u>Figure -20-</u> : Cinétique de croissance de <i>Serratia odorifera</i> sur quatre milieux à base de datte.....	80
<u>Figure -21-</u> : Cinétique de croissance de <i>E. coli</i> sur différents milieux à base de datte....	82
<u>Figure -22-</u> : Cinétique de croissance de <i>Salmonella sp</i> sur différents milieux à base de datte.....	83

Liste des tableaux

<u>Tableau -01-</u> : Composition de la date en nutriment essentiels (<i>AL FARSI et al. 2008</i>).....	9
<u>Tableau -02-</u> : Teneur en eau de quelques variétés de dattes algériennes (<i>BELGUEJ, 2002</i>).....	10
<u>Tableau -03-</u> : Teneur moyenne de la date en sucres (<i>AL FARSI et LEE, 2008</i>).....	10
<u>Tableau -04-</u> : Composition moyenne de la date en acides aminés (mg/100 g) (<i>AL FARSI, 2008</i>).....	11
<u>Tableau -05-</u> : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grasse (<i>YAHIAOUI, 1998</i>).....	12
<u>Tableau -06-</u> : Composition minérale la date en mg/100 g (<i>AL FARSI, 2008</i>).....	13
<u>Tableau -07-</u> : Composition vitaminique moyenne de la datte sèche (<i>FAVIER et al, 1993</i>).....	13
<u>Tableau -08-</u> : composition biochimique du noyau de datte (<i>DOWSON et ATEN, 1963</i>).....	14
<u>Tableau -09-</u> : durée de conservation des dattes en fonction de la température.....	16
<u>Tableau -10-</u> : Principales étapes de fabrication de confiture et caramel à partir de dattes.....	20
<u>Tableau -11-</u> : la composition de sirop de dattes (<i>ALKHATEEB, 2008</i>)	24
<u>Tableau-12-</u> : Les bactéries impliquées dans le déséquilibre intestinal (<i>ANADON et al., 1993</i>).....	32
<u>Tableau -13-</u> : Souches de référence utilisées.....	41
<u>Tableau -14-</u> : Liste d'antibiotiques utilisés.....	42
<u>Tableau -15-</u> : Différents produits à base de datte testés.....	58
<u>Tableau 16</u> : Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues.....	63

<u>Tableau 16 :</u> Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite 01).....	64
<u>Tableau 16 :</u> Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite 02).....	65
<u>Tableau 16 :</u> Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite et fin).....	66
<u>Tableau 17 :</u> Résultats de tests Catalase, lactose, coloration Gram, Oxydase et Orientation pour l'identification.....	67
<u>Tableau 18 :</u> Résultats de l'identification par galeries API 20NE et API 20E.....	68
<u>Tableau -19- :</u> résultats de galeries classique (germe 7 et 12).....	71
<u>Tableau -20- :</u> Différents germes isolés et identifiés.....	72
<u>Tableau -21- :</u> Résultats de l'antibiogramme sur certains des germes isolés.....	77
<u>Tableau -22- :</u> Résultats de l'antibiogramme.....	77
<u>Tableau -23- :</u> Résultats de l'antibiogramme sur certains germes de la flore intestinale.....	78
<u>Tableau -24- :</u> Evolution de la densité Optique (D.O.) de la culture de <i>S.odorifera</i> dans des milieux à base de datte en fonction du temps.....	80
<u>Tableau -25- :</u> Variation de la densité Optique (D.O.) de la culture de <i>E.coli</i> dans des milieux à base de datte en fonction du temps.....	81
<u>Tableau -26- :</u> Evolution de la densité Optique (D.O.) de la culture de <i>Salmonella sp.</i> dans des milieux à base de datte en fonction du temps.....	82

SOMMAIRE

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre 1. Les dattes

Le palmier dattier	3
1.1. Etymologie	3
1.2 Répartition géographique du palmier dattier	5
1.2.1. Dans le monde	5
1.2.2. En Algérie	5
2. La datte	5
2.1. Aspects morphologiques	5
2.2. Classification des dattes	7
2.3. Les variétés de datte	7
2.4. Stades de maturation de la datte	7
2.5. Composition bromatologique des dattes	9
2.5.1. Composition de la partie comestible « pulpe »	9
2.5.1.1. Les caractéristiques biochimiques de la datte	9
2.5.1.1.1. L'eau	9
2.5.1.1.2. Les glucides	10
2.5.1.1.3. Les protéines	11
2.5.1.1.4. Les lipides	10
2.5.1.1.5. Les sels minéraux	12
2.5.1.1.6. Les vitamines	13
2.5.2. Les caractéristiques de la partie non comestible de la datte ou « noyau ».....	14

2.6. Technologie de la datte	14
2.6.1. Stockage et conservation de la datte	14
2.6.1.1. Préparation des dattes après récolte	14
2.6.1.2. Traitement et conditionnement des dattes	15
2.6.1.2.1. Stockage	15
2.6.1.2.2. Traitement et conditionnement	16
2.6.2. Valorisation de la datte	18
2.6.2.1. Les pates de dattes ou «<i>Btanas</i>»	18
2.6.2.2. Farine de datte	19
2.6.2.3. Marmelades, crèmes et confitures de dattes	20
2.6.2.4. Miel de datte	20
2.6.2.5. Produits obtenus par fermentation de dattes	21
2.6.2.5.1. Alcool de dattes	21
2.6.2.5.2. Le vinaigre	21
2.6.2.5.2. Le sirop de dattes	21
2.6.2.5.2.1. Fabrication industrielle de sirop de dattes	23
2.6.2.5.2.2. Composition de sirop de dattes	23
2.6.2.5.2.3. Utilisations de sirop de dattes	23
2.7. Les bienfaits de la datte	24
<u>Chapitre 2 . La microflore intestinale : un écosystème complexe.</u>	
1. Généralités	26
2. Définition la flore intestinale	26
2. Composition de la microflore intestinale	27
2.1. Composition de la flore intestinale humaine	28

3. Stabilité apparente de la flore	31
4. Quelques germes de la flore intestinale.....	33
<i>4.1. Staphylococcus aureus.....</i>	<i>33</i>
<i>4.2. Escherichia coli</i>	<i>33</i>
<i>4.3. Salmonella typhi</i>	<i>34</i>
<i>4.4. Entérocooccus faecalis</i>	<i>35</i>
5. Rôles de la flore intestinale humaine	35
5.1. Effets digestifs	36
5.2. Effets nutritionnels	36
5.2.1. Bénéfiques pour l'hôte	36
5.2.2. Défavorable pour l'hôte	37
- 5.3. Protection contre l'infection	37
6. Flore intestinale et infections	37
6.1. Réaction de l'hôte aux bactéries pathogènes intestinales	37
7. Les principales maladies bactériennes du tube digestif	38

Partie Expérimentations et résultats.

Chapitre 1 – Matériels et méthodes.

1. Matériels utilisés	40
1.1. Matériel biologique	40
1.1.1. Matériel végétal et animal	40
1.2. Milieux de culture	43
1.2.1. Milieux d'isolement	43

12.2. Bouillons	43
1.2.3. Tests d'identification	43
2. Méthodes d'analyse	43
2.1. Isolement des bactéries de la flore intestinale	43
2.1.1. Préparation des milieux et bouillons de culture	43
2.1.1.1. Milieux d'isolement.....	43
2.1.1.2. Les différents types de milieux	43
2.1.1.2.1. Gélose au Sang	44
2.1.1.2.2. La gélose lactose de Mc Con Key	44
2.1.1.2.3. Gélose Muller Hinton: (MH)	44
2.1.1.2.4. Gélose Columbia	44
2.1.1.2.5. Chapman	45
2.1.1.2.6. Gélose Hektoen	45
2.1.1.2.7. La gélose MRS (De Man, Rogosa et Sharpe)	45
2.1.2. Préparation des milieux à partir de poudre	46
2.1.2.1. Milieux (bouillon) d'enrichissement	46
2.1.2.1.1. Bouillon cœur-cerveille	46
2.1.2.1.2. Bouillon sélénite de leifson	47
2.2. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.....	47
2.2.1. Ensemencement	48
2.2.2. Repiquage de la culture	49
2.2.3. Identification des bactéries isolées	50
2.2.3.1. Aspects morphologiques	50
2.2.3.1.1. Observations macroscopiques	50
2.2.3.1.2. Observations microscopiques	50
2.2.3.1.2.1. L'observation microscopique	50

2.2.3.1.2.2. La Coloration de Gram	50
2.2.3.1.2. Caractères biochimiques	51
2.2.3.1.2.1. Galeries API.....	51
2.2.3.1.2.2. Galeries classiques	52
2.2.3.2. Préparation de la suspension bactérienne	52
2.2.3.2.1. Ensemencement des milieux géloses (galerie classique)	52
2.2.3.2.2. Milieux liquides	53
2.2.3.2.3. Tests de soutien pour le diagnostic	56
2.2. Effet des produits à base de dattes sur certains des germes isolés.....	57
2.2.1. Préparation des produits testés	57
2.2.2. Méthode de diffusion en gélose	58
2.2.2.1. Antibiogramme	58
2.2.2.2. Méthode de diffusion	59
2.2.2.3. Repiquage des microorganismes pathogènes	60
2.2.2.4. Préparation des inocula microbiens	60
2.2.2.5. Application du test	60
2.2.3. Macro-méthode pour la cinétique de croissance	60

Chapitre 2. Résultats et discussions.

1. Résultats de l'isolement et l'identification des germes de la flore intestinale	62
1.1. Aspects morphologiques	62
1.2. Orientation des bactéries pour identification par galeries API	67
1.3. Identification par galerie classique	70
2. Discussion.....	72
3. Effet des trois produits à base de dattes sur les germes de la flore intestinale.....	77
3.1. Antibiogramme	77

4. Résultats de l'effet des trois produits à base de datte sur certains des germes isolés (méthode des disques).....	79
5. Résultats de la cinétique bactérienne.....	80
5.1. Cinétique de <i>Serratia odorifera</i>.....	80
5.2. Cinétique de <i>Escherichia coli</i>.....	81
5.3. Cinétique de <i>Salmonella sp.</i>.....	82

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

L'homme dans la nature est entouré de micro-organismes, en effet, même à son intérieur, il vit avec ces bactéries en symbiose et ne peut survivre sans elles ou il peut être sujet à une pathologie si cette flore est en déséquilibre.

Le réservoir de bactéries du corps humain, l'appareil digestif, héberge des millions de micro-organismes que nous regroupons sous l'appellation de : Flore intestinale.

Pathogène ou non pathogène, ces bactéries jouent un rôle primordial dans la prévention de maladies.

Cette flore est influencée par l'ambiance humaine et surtout par l'alimentation ; plusieurs aliments semblent avoir un effet bénéfique sur cette flore.

La datte est le fruit du palmier dattier, considéré comme un aliment de grande importance.

L'Algérie avec son riche et diversifié patrimoine en palmiers dattiers, plus de 13 millions de palmiers et 940 cultivars sont recensés (*HANNACHI et al., 1998 ; MADSAEE, 2001*), compte parmi les grands producteurs de datte en occupant le 7^{ème} rang à l'échelle mondiale (*FAO, 2004*). La variété Deglet Nour pour sa haute qualité nutritionnelle et son appréciation à travers le monde est la plus commercialisée à l'échelle nationale et internationale.

Aussi, plusieurs produits à base de dattes, occupent une place sur le marché. Le sirop de dattes appelé communément : *Robb*, fabriqué avec n'importe quelle datte de qualité secondaire, est un produit stable d'une couleur brune. Les dattes sont surtout consommées avec du lait (*KAID, 2007 ; KICHAH, 2008*).

Plusieurs travaux ont étudié l'activité antibactérienne des dattes et dérivés. *RODRIGUEZ et al., (2007)*, attribuent cet effet à la présence de l'acide caféique ; *COWAN (1999)* a rapporté que les différents polyphénols, essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits de dattes envers les microorganismes.

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée de différents composés (**Essawi et Srour, 2000**).

Dans ce contexte, Notre travail comprend deux parties :

- Une première partie qui a pour but, l'isolement et l'identification de certains germes de la flore intestinale à partir de selles de l'homme et des intestins de poulet.
- Une deuxième partie qui vise à étudier l'effet de trois produits à base de dattes à savoir : Les dattes, sirop de dattes et le mélange traditionnel datte/lait, à différentes concentrations, sur certains des germes ainsi isolés.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1
Matériel et méthodes.

Chapitre 1. Les dattes.

Dans un certain nombre de versets coraniques, l'humble dattes sont honorées comme l'un des bienfaits du paradis (CORAN, 55 : 68). Lorsqu'on examine ce fruit, on note qu'il présente un grand nombre de caractéristiques très importantes. L'une des espèces de plantes les plus anciennes, les dattes, est aujourd'hui un aliment de choix, pas seulement pour sa délicieuse saveur mais aussi pour ses propriétés nutritionnelles. Chaque jour de nouveaux bienfaits sont découverts dans la datte et elle est maintenant utilisée à la fois comme aliment santé et comme aliment.

L'Algérie, avec son riche patrimoine en palmiers dattiers (plus de 13 millions de palmiers et 940 cultivars sont recensés), et avec une production totale de dattes évaluée à 440 000 tonnes, compte parmi les grands producteurs de datte en occupant le 7^{ème} rang mondiale (HANACHIET *al.*, 1998).

Le palmier dattier :

1.1. Etymologie :

Le palmier dattier « *Phoenix dactylifera L.* », provient du mot « *Phoenix* » qui signifie dattier chez les phéniciens, et « *Phoenix Dactylifera* » dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (MUNIER, 1973 ; DJERBI, 1994).

Sur le plan botanique, le dattier est une plante dioïque ($2n=36$ chromosomes), monocotylédone arborescente, appartenant à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes (GILLES, 2000 ; SI BENNASSEUR, 2000 ; MAZOYER, 2002). Le palmier dattier, peut atteindre des dimensions de l'ordre de 15-25 m de hauteur au tronc cylindrique, portant une couronne de feuilles (palmes) pennées, finement divisées et longues de 4 à 7 mètres (**Fig. 01**). (Al-SHAHIB et MARSHALL, 2003).

Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, la plus connue est le « *Phoenix Dactylifera* », dont les fruits 'dattes' occupent une place importante dans le commerce international (ESPIARD, 2002)

Le palmier dattier femelle produit entre 5 et 15 régimes de dattes par arbre (**Fig. 02**). Un régime peut peser entre 10 et 15kg (JARADAT et ZAID, 2004). Cela donne en moyenne 100-400 kg de dattes par palmier et par an.

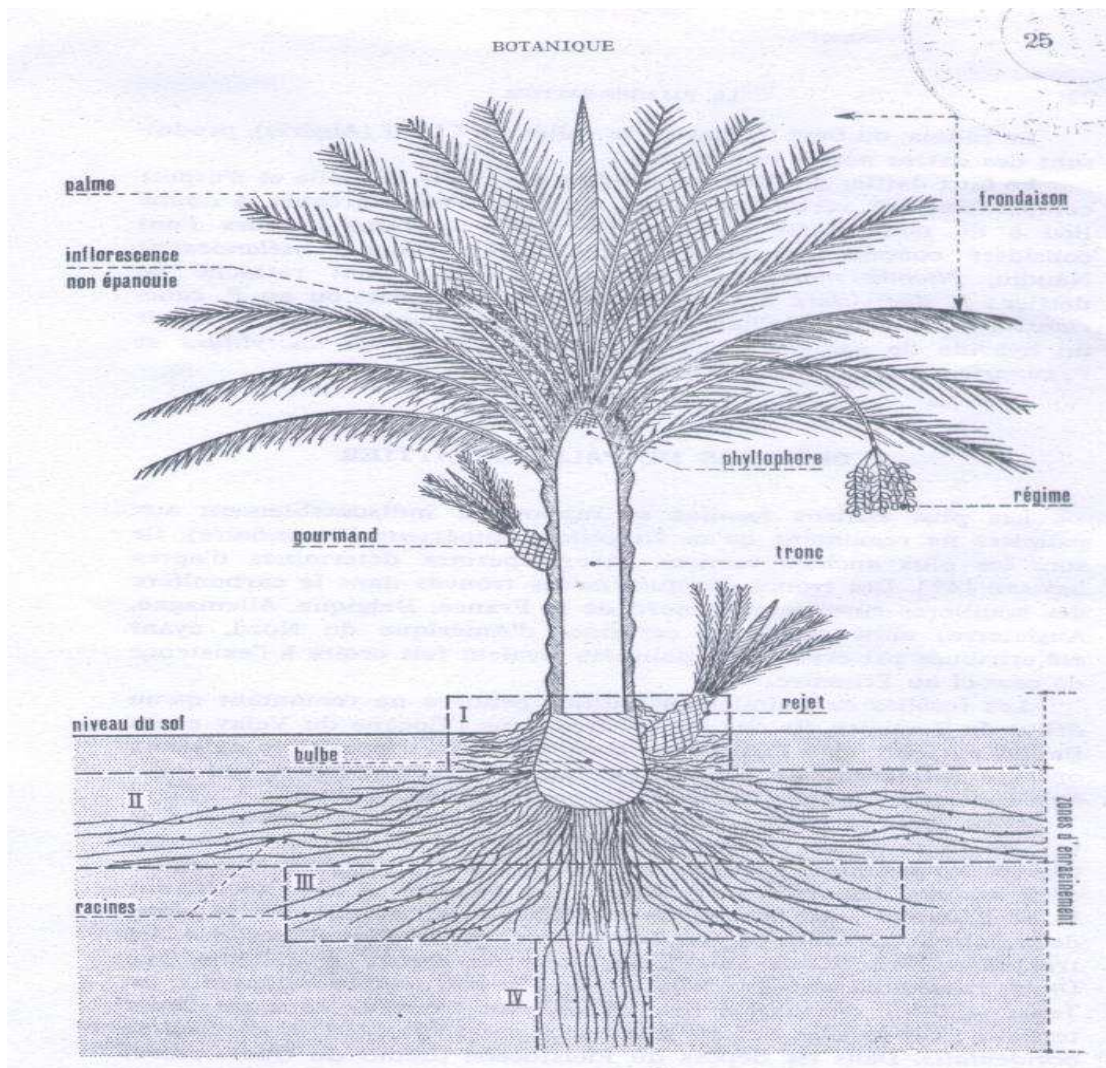


Figure 01 : Les différents organes de palmier dattier (MUNIER, 1973).



Figure 02 : Palmier portant les régimes des dattes (ABEKHTI, 2008).

1.2 Répartition géographique du palmier dattier :

1.2.1. Dans le monde :

Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient. L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (*TOUTAIN, 1996*). Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie (*MATALLAH, 2004*).

1.2.2. En Algérie :

Le premier producteur mondial de dattes est l'Égypte, suivi de l'Iran, et de l'Arabie Saoudite. L'Algérie arrive en 5^{ème} ou 6^{ème} place.

En Algérie la phoeniculture couvre une superficie très importante dans le sud du pays, elle s'étend sur l'ensemble des régions du Sud-Est du pays : région de Ziban, Oued-Righ, Tolga, Ouargla, Oued-souf et dans le Sud-Ouest : région de Touat, Tidikelt, Gourara et Beni Abbasse (*ACOURENE et al., 1997 ; BOUGUEDOURA, 1991*)

Les dattes :

2.1. Aspects morphologiques :

Les dattes, fruit du palmier dattier, est une baie constituée d'une partie dure non comestible « la graine ou noyau » et d'une partie comestible « pulpe ou chair » (*DOWSON et ATEN, 1963 ; RICHARD, 1972 ; MANSOURI, 2005*).

La partie comestible des dattes comporte :

- ✓ L'épicarpe ou peau : une enveloppe fine cellulosique ;
- ✓ Le mésocarpe : plus ou moins charnu et de consistance variable selon la teneur en sucres, présentant une zone périphérique de couleur plus soutenue et de texture compacte, et une zone interne de teinte plus claire et de texture fibreuse ;
- ✓ L'endocarpe : de teinte plus claire ; réduit à une membrane parancheminée entourant la graine. L'ensemble de péricarpe, mésocarpe et l'endocarpe sont confondus sous l'appellation de chair ou pulpe (**Figure 03**). (*MUNIER, 1973 ; ESPIARD, 2002*).



Figure -03- : Dattes entière (à gauche), et sa coupe longitudinale (à droite). (MUNIER, 1973)

Selon les variétés et selon les stades de maturation, les fruits de dattes ont des grandes variations dont la forme, la taille et le poids. Habituellement, sont oblongs bien que certaines variétés puissent atteindre une forme presque ronde. La longueur et la largeur peuvent varier respectivement de 18 et 8 mm à 80 et 32 mm, le poids par fruit peut aller de 7 à 10 g (**Figure04**). (BARREVELD, 1993). La couleur des dattes va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs : ambre, rouge, brun plus au moins foncé (DJERBI, 1994). Les dattes sont généralement de forme allongée, oblongue ou ovoïde, mais on rencontre également des dattes sphériques

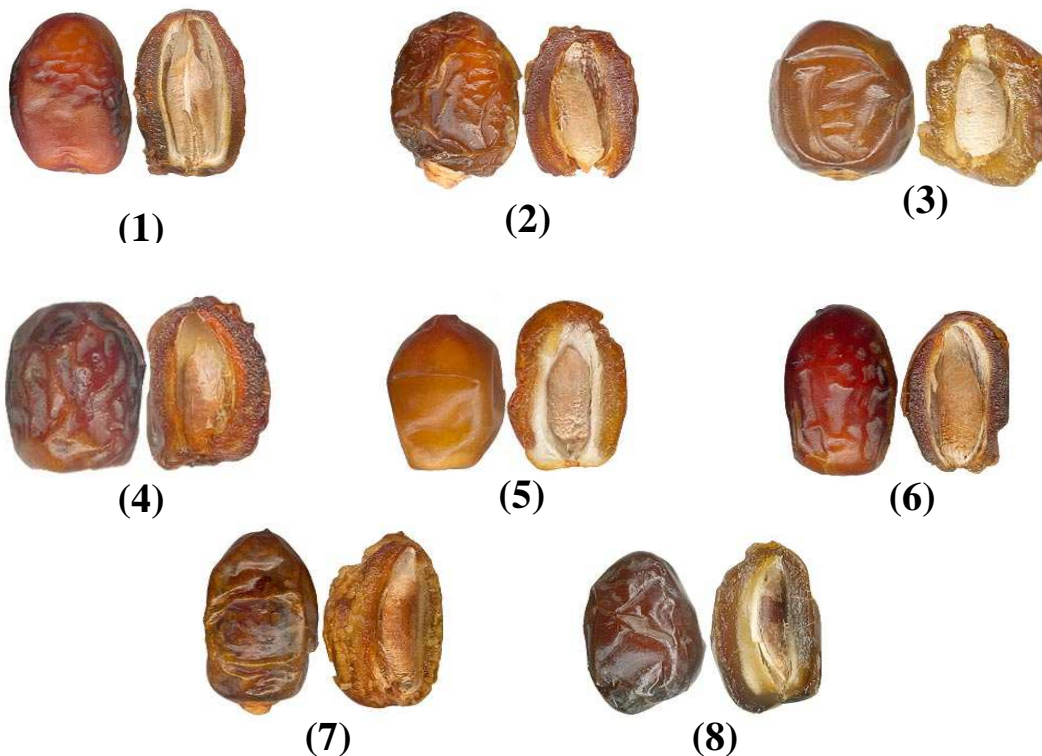


Figure -04- : Quelques variétés de dattes ; 1- Dayri 2- Bere 3- Bihri 4- Aomri 5- Zahidi 6- Hmira 7- Tegazza 8- Medjool. (ABEKHTI, 2008)

2.2. Classification des dattes :

D'après *MATALLAH (1975) et ESPIARD (2002)*, la consistance du mésocarpe de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories :

- ✓ **Dattes molles** le mésocarpe est très humidifié avec peu de saccharose (31% d'eau) ;
- ✓ **Dattes demi-molles** : telle que la Deglet-Nour (18% d'eau) ;
- ✓ **Dattes sèches** à consistance dure (12% d'eau) : Deglet Beida et la Mech Deglet.

2.3. Les variétés de datte :

Les variétés de dattes sont très nombreuses, seulement quelques unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions (*BUELGUEDJ, 1996 ; DJERBI, 1994*). En Algérie, la principale variété cultivée est représentées par :

- ✓ La Deglet-Nour : Variété commerciale par excellence. C'est des dattes demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de dattes du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité les dattes sont d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse ;

2.4. Stades de maturation des dattes :

Pendant sa formation et sa maturation, le fruit passe par un certain nombre de phases, qui se résument en quatre stades appelés par leur dénomination arabe : Kimri, Khalal, Routab et Tamr (*BOOIJ, 1992*). En Algérie, se sont : Loulou, Khlal, Bser, Martouba et Tmer ; cependant, la majorité des auteurs ont adapté la terminologie utilisée en Irak et de nombreux pays arabes (*AL-SHAHIB et al, 2002*).

Les différents stades peuvent être définis comme suit (*DJERBI, 1994*):

- ✓ **Hababouk ou Jadal** : Ce stade vient juste après la pollinisation et dure environ 4 à 5 semaines. A ce stade le fruit prend une forme ronde et est entièrement recouvert par le périanthe et se caractérise par une croissance lente (*AL-SHAHIB et MARSHALL, 2002 ; ABAKHTI, 2008*).
- ✓ **Kimiri ou Bleh** : Le fruit des dattes prend une couleur verte et une texture dure. Il y'a lieu à une augmentation du poids et du taux des sucres ainsi que la teneur en tanins

(THOMPSON, 2003) ; le taux de l'humidité atteint son maximum (85% d'eau). (BARREVELD, 1993).

Ce stade dure 9 à 14 semaines : à la fin de ce stade, tous les facteurs se stabilisent quand le fruit commence à change sa couleur au jaune(ou rouge, selon les variétés) (BARREVELD, 1993).

Les dattes à ce stade peuvent être utilisées pour la préparation de vinaigre et d'épice. (JIWAN, 2006).

- ✓ **Khalal ou Bser** : Au cours de ce stade, la couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune, au rose ou rouge selon les variétés. La chair de dattes devient ferme. Cette phase est marquée par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, de l'acidité, par contre la teneur en eau diminue. Elle dure 3 à 5 semaines ou plus. Le fruit à ce stade est largement consommé immature ou peut être utilisé pour la fabrication de confiture Ce stade continue 3 à 5 semaines ou plus dans certaines variétés (JIWAN, 2006).
- ✓ **Routab** : La couleur passe au foncée ou au noir avec apparition du « doré » et du goût sucré. Certaines variétés deviennent verdâtres comme la khadraoui Ce stade dure 2 à 4 semaines (JIWAN, 2006).
- ✓ **Tamr** : C'est le stade final de la maturation des dattes. Le fruit perd beaucoup d'eau, ce qui donne un rapport sucre/eau élevé. A ce stade les dattes acquièrent leurs dernières caractéristiques à savoir, le goût, la couleur et la consistance, ainsi les dattes sèches présentent une couleur lumineuse et une chaire dure, alors que les dattes molles prennent une couleur noire foncée et une chair molle (ABEKHTI, 2008).

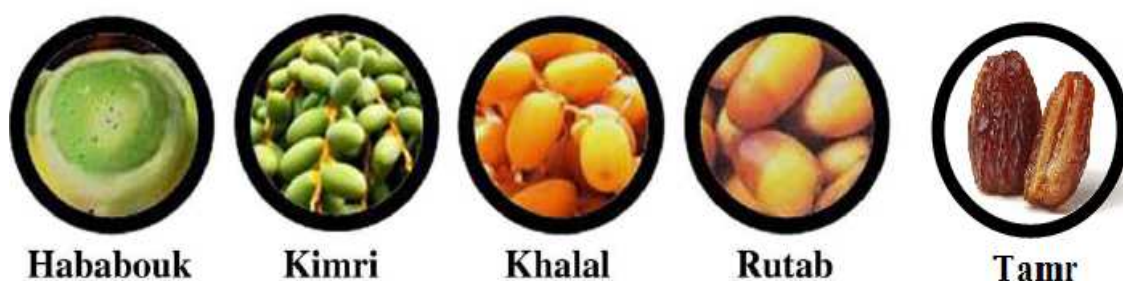


Figure -05- : Stades de maturation de la datte.

2.5. Composition bromatologique des dattes :

Les dattes comporte une partie charnue : la pulpe, et un noyau. Le rapport noyau/pulpe ayant une caractéristique variétale pouvant varier également en fonction des conditions de culture et des facteurs écologiques.

2.5.1. Composition de la partie comestible « pulpe » :

La pulpe des dattes représente une proportion de 80% à 95% du poids total du fruit frais. Elle se distingue par son taux d'humidité et sa forte teneur en sucre (YAHIAOUI, 1998).

2.5.1.1. Les caractéristiques biochimiques des dattes :

Le tableau suivant représente la composition bromatologique approximative des dattes :

Tableau -01- : Composition des dattes en nutriment essentiels (Al FARSI et al. 2008)

Composition	Minimum	Maximum
Eau (g/100 g)	7,2	50,4
Matière grasse (g/100 g)	0,1	1,4
Amidon (g/100 g)	1,0	1,9
Protéines (g/100 g)	1,1	2,6
Fibres (g/100 g)	3,57	10,9
Glucides (g/100 g)	52,6	88,6
Minéraux (mg/100 g)	417,37	1913,2
Vitamines (µg/100 g)	2254,61	20023,2

2.5.1.1.1. L'eau :

Selon les variétés, le stade de maturation et le climat, la teneur en eau des dattes varie entre 8 et plus de 30 % du poids de la chair fraîche avec une moyenne d'environ 19 % (NOUI, 2007). D'après MUNIER (1973), les dattes à consistance molle ont une teneur en humidité supérieure à 30%. Par contre, les dattes sèches ont une teneur en humidité inférieure à 20% et les dattes de consistance molle de 20 à 30%.

Tableau -02- : Teneur en eau de quelques variétés de dattes algériennes (BELGUEJ, 2002).

Variétés	Consistance	Teneur en eau (%)
Ghars	molle	30
Mech-Degla	Sèche	13
Degla-Beida	Sèche	13.30
Deglet Nour	Demi molle	25.50

2.5.1.1.2. Les glucides :

La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété, du stade de développement et du climat. Elle varie entre 60 et 95 % du poids de la pulpe fraîche (SIBOUKEUR, 1997).

Tableau -03- : Teneur moyenne de la date en sucres (AL FARSI et LEE, 2008).

Sucres (g/100g)	Minimum	Maximum
Glucose	17,6	41,4
Fructose	13,6	36,8
Saccharose	0,5	33,9

Les sucres sont les constituants majeurs des dattes. On note la présence majoritaire de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose (AL FARSI et al., 2008). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol (FAVIER et al., 1993; SIBOUKEUR, 1997 ; JIWAN, 2006) Ainsi la quantité de saccharose influence la texture de dattes : D'après AL-HOOTI et al., (1997) et DJIDEL (2007). Les dattes, qui ont des quantités de saccharose négligeables au stade « tamar », sont des dattes molles (sont à sucres invertis : fructose, glucose). Le glucose et le fructose, réducteurs tout les deux, proviennent de l'inversion du saccharose (BARREVELD, 1993).

2.5.1.1.3. Les protéines :

La teneur en protéines varie selon le stade de maturation, les dattes contiennent entre 1 et 3% et contiennent des acides aminés indispensables mais en petites quantités pour couvrir les besoins de l'homme (RAZI *et al.*, 1993 ; DJIDEL, 2007).

Tableau -04- : Composition moyenne des dattes en acides aminés (mg/100 g) (AL FARSI, 2008).

Acides aminés	Minimum	Maximum
Alanine	30	133
Arginine	34	148
Acide aspartique	59	309
Cystéine	13	67
Acide glutamique	100	382
Glycine	42	268
Histidine	0,1	46
Isoleucine	4	55
Leucine	41	242
Lysine	42	154
Méthionine	4	62
Phénylalanine	25	67
Proline	36	148
Serine	29	128
Tryptophan	7	92
Tyrosine	15	156

2.5.1.1.4. Les lipides :

Les dattes renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 7,5 % du poids frais qui se concentre dans l'épicarpe (ACHOUR, 2001 ; DJOUAB, 2007). Cette teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation : elle se situe entre 0.5 % au stade « kimri » et 0.1 % au stade « tamar ». (Al-HOOTI et al., 1997b)

Le tableau suivant donne la composition, en acides gras, de Deglet-Nour.

Tableau -05- : Composition en acides gras des dattes Deglet-Nour, en % de matière grasse (YAHIAOUI, 1998).

Acides gras	Teneur en % de matière grasse
Acide linoléique (C18 : 3)	12,30
Acide linoléique (C18 : 2)	11,47
Acide oléique (C18 : 1)	10,74
Acide stéarique (C18 : 0)	10,47
Acide palmitique (C16 : 0)	7,89
Acide myristique (C14 : 0)	8,66

2.5.1.1.5. Les sels minéraux :

Les dattes sont connu d'être une bonne source de plusieurs minéraux. La teneur en sels minéraux est de l'ordre de 2 à 3% (poids de la matière sèche) et ceci est étroitement lié à la variété, la fertilité de sol ainsi par la quantité de fertilisants chimiques et de engrais appliqué pour les dattiers (CIRRLI, 1977).

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Zibans faite par Açourene2001, montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec. Les dattes est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium.

Le tableau ci-dessous, donne la teneur en éléments minéraux des dattes selon Al Farsi, 2008.

Tableau -06- : Composition minérale les dattes en mg/100 g (AL FARSI, 2008).

Éléments minéraux	Teneur (mg/100 g)	
	Minimum	Maximum
Magnésium (Mg)	31,0	150
Sodium (Na)	1,00	261
Calcium (Ca)	5,00	206
Phosphore (P)	35,0	74
Potassium (K)	345,0	1287
Manganèse (Mn)	0,01	0,4
Fer (Fe)	0,10	1,5
Zinc (Zn)	0,02	0,6
Cuivre (Cu)	0,01	0,8

2.5.1.1.6. Les vitamines :

En général, les dattes ne constituent pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique des dattes se caractérise par des teneurs appréciables des vitamines du groupe B. Ce sont des précurseurs immédiats des coenzymes indispensables à presque toutes les cellules vivantes et jouent un rôle primordial (VILKAS, 1993).

Tableau -07- : Composition vitaminique moyenne de la datte sèche (FAVIER et al, 1993).

Vitamines	Teneur moyenne pour 100g
Vitamine C	2,00 mg
Thiamine (B1)	0,06 mg
Riboflavine (B2)	0,10 mg
Niacine (B3)	1,70 mg
Acide pantothénique (B5)	0,80 mg
Vitamine (B6)	0,15 mg
Folates (B9)	28,00 mg

2.5.2. Les caractéristiques de la partie non comestible de la datte ou « noyau » :

Le noyau de dattes représente 7 à 30% de poids des dattes. Il est constitué d'un albumen protégé par une enveloppe cellulosique (MUNIER, 1973 ; BENHAFID, 1990).

Tableau -08- : Composition biochimique du noyau de dattes : (DOWSON et ATEN, 1963).

Constituants	% du poids du noyau
Eau	6.46
Lipides	8.49
Protéines	5.22
Glucides	78.71
Cendre	1.12

Les minéraux majeurs présents dans les graines des dattes sont : potassium, phosphore, calcium et magnésium (JIWAN, 2006).

D'autres données analytiques sur la composition chimique du noyau de dattes montrent qu'il renferme plusieurs acides gras avec une proportion plus importante d'acide oléique et laurique (DEVSHONY et al., 1992).

2.6. Technologie des dattes :

La technologie des dattes recouvre toutes les opérations qui, de la récolte à la commercialisation, ont pour objet de préserver toutes les qualités des fruits et de transformer ceux qui ne sont pas consommés, ou consommables, à l'état, en divers produits, bruts ou finis, destinés à la consommation humaine ou animale et à l'industrie.

2.6.1. Stockage et conservation des dattes :

2.6.1.1. Préparation des dattes après récolte :

Après récolte, plusieurs types d'opérations peuvent être pratiqués sur les lieux de cueillette :

- Egrenage
- Triage
- Dénoyautage et enlèvement périlanthe

- Séchage – maturation
- Fumigation
- Conservation
- Emballage

Ces opérations, lorsqu'elles sont effectuées, le sont le plus souvent de façon artisanale et à proximité de la palmeraie pour des dattes destinées à l'autoconsommation sur place ou au commerce local.

Quant aux dattes destinées à l'usine, elles doivent être conservées si elles ne sont pas livrées immédiatement, dans des conditions telles que soient évités dans toute la mesure du possible :

- Attaque d'insectes
- Exposition à la poussière et au sable,
- Mélanges de dattes incomplètement mûres, avariées, ou parthénocarpiques, avec les dattes de bonne qualité.

Le transport vers l'usine se fera de préférence dans des sacs ou des cagettes en matière plastique propres.

2.6.1.2. Traitement et conditionnement des dattes :

Les dattes acheminées à l'unité de conditionnement sont généralement stockées à fin de constituer une réserve de sécurité pour permettre le fonctionnement continu de l'unité.

2.6.1.2.1. Stockage :

A l'usine une fois l'arrivage est accepté, les dattes en caisses sont stockées dans les magasins pourvus d'ouvertures grillagées et de dispositifs de ventilation.

Tableau -09- : Durée de conservation des dattes en fonction de la température.

Température (°C)	Durée de Conservation (mois)
26-27	1
15-16	3
4-5	8
2-3	12
17-18	Plus de 12

Ces magasins doivent être maintenus dans un excellent état de propreté et traités régulièrement par les insecticides.

Le stockage des dattes brutes doit être de courte durée, étant donné la nécessité de les trier rapidement pour séparer les bonnes dattes de celles incomplètement mûres et avariées.

2.6.1.2.2. Traitement et conditionnement :

Les méthodes de traitement des dattes sont les suivantes :

➤ **Triage :**

Le triage manuel se fait sur une table ou sur une clayette. Les trieurs sont convenablement installés pour pouvoir travailler dans de bonnes conditions en vue d'avoir un bon rendement.

Le collecteur ou l'industriel qui s'approvisionne en dattes classera trois catégories de récolte :

- Les dattes branchées « qualité Extra ».
- Les dattes en vrac et de bonne qualité.
- Les dattes de seconde qualité.

D'autres paramètres interviennent d'une manière importante pour la transformation ou pour la commercialisation sur le marché local. Ce sont : la couleur, le calibre, le degré de maturité et le taux d'infestation (difficilement décelable).

➤ **Nettoyage :**

Les dattes en provenance de la palmeraie sont souvent souillées par des particules de terre, de sable, de poussière, de débris végétaux et de produits de traitements. Malgré les précautions prises lors des travaux de cueillettes, la nature sirupeuse des dattes fait que ces souillures adhérentes fortement à la peau, donc le nettoyage est nécessaire.

➤ **Désinsectisation :**

Plusieurs insectes attaquent les dattes sur les régimes en palmeraie, au cours des opérations de récolte, de transport et durant le stockage avant d'être traitées et conditionnées.

Il est nécessaire de procéder à une désinsectisation dans l'unité de conditionnement pour détruire les œufs qui se trouvent dans les dattes.

L'opération s'effectue par fumigation en utilisant un gaz toxique (le bromure de méthyle). Elle se pratique dans une enceinte étanche et sous vide afin d'assurer une bonne pénétration à travers les emballages de commercialisation.

➤ **Emballages et entreposages :**

Les dattes sont souvent présentées sur les marchés locaux en vrac ou dans des corbeilles. Les dattes traitées dans les unités de conditionnement sont livrées au commerce en emballage de présentation, barquettes, boîtes, caissettes,...etc.

Ces emballages permettent d'expédier et de commercialiser les dattes dans les pays du monde entier. Afin d'étaler et de régulariser la commercialisation des dattes, les fruits sont conservés dans des entrepôts réfrigérés. Cette opération vise à conserver la qualité du fruit et éviter sa fermentation, son brunissement,...etc.

➤ **Le séchage :**

Le séchage consiste à enlever une partie de l'eau des dattes avec intervention de phénomènes thermiques. Le but est la conservation de longue durée par arrêt :

- Du développement et l'action des micro-organismes ;
- De toutes les réactions de dégradation de nature enzymatique ou non (brunissement, réaction de Maillard).

Tous ces phénomènes exigent une certaine humidité qui a une relation directe avec l'activité de l'eau. Nous pouvons dire que le séchage doit abaisser l'humidité à un niveau

permettant sa conservation prolongée en altérant le moins possible les qualités nutritionnelles et organoleptiques du produit frais.

2.6.2. Valorisation des dattes :

Dans le domaine de la transformation des dattes, les opérations technologiques sont très diverses et pratiquement indénombrables. Ainsi, on peut fractionner la démarche de valorisation des dattes en trois branches :

- 1). Diversification des productions ;
- 2). La transformation – utilisation des sous-produits ;
- 3). Utilisation des déchets.

2.6.2.1. Les pates de dattes ou «*Btanas*» :

Les dattes molles ou ramollies par humidification donnent lieu à la production de pate de dattes (Dattes dont l'aspect externe les rend impropres à la vente).

Les *Btanas* sont faites selon les techniques traditionnelles. Les dattes choisies pour être transformées en *Btana* sont rincées d'abord avec de l'eau froide pour enlever la poussière et éliminer toute matière étrangère ou débris des insectes ou oiseaux. L'opération est effectuée à l'aide des récipients et sas métalliques perforés ; un second rinçage avec l'eau chaude bouillante ; l'étape est refaite plusieurs fois jusqu'au ramollissement des dattes. En suite les dattes se sont amalgamées et laissées reposées pour se ramollir. Ces étapes favorisent la transformation des dattes en pates qui seront par la suite Empilées par couches dans des sacs propres en plastique ou en toile ou plus originellement en peaux vieilles de chèvre et entre chaque couche de pâte ou en établie une légère pression pour mieux répartir les dattes et exclure l'air résiduel, puis on fait un saupoudrage d'un mélange broyé et d'épices séchées : le Basilic (*Ocinum basilicum* L.), le Genévrier (*Juniperus communis* L.), le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.), l'Armoise (*Artemisia vulgaris*) en vue d'apporter une odeur agréable au *BTANA* et renforcer la qualité gustative des dattes.

Lorsque le sac est rempli entièrement, on l'attache hermétiquement, et on le met à exposer au soleil, pendant deux jours en hiver ; ou une demi-journée en été. Le sac est périodiquement retourné pour exposer ses deux faces au soleil. Les sacs sont par la suite mis dans un endroit sec et à l'abri des ravageurs et des insectes (*ABEKHTI, 2008*).

Ces pates sont destinées surtout aux pâtisseries et aux biscuiteries.

2.6.2.2. Farine de datte :

Elle est préparée à partir de dattes sèches ou susceptibles de le devenir après dessiccation (Mech-Degla ; Degla-Beida) (ZERMAN, 2007). Riche en sucre, cette farine peut être utilisée telle qu'elle, en biscuiterie, pâtisserie, aliments pour enfants et yaourts. La préparation de farine de dattes se déroule selon le processus décrit ci-dessous :

➤ **Préparation des dattes :**

Après un nettoyage à sec ou un lavage soigné et rapide, les dattes sont dénoyautées (dénoyauteuses).

➤ **Séchage :**

La chair grossièrement déchiquetée, subi une dessiccation assez poussée à l'aide d'un séchoir à courant d'air (Température inférieure à 70°C) pour atteindre une humidité de moins de 5%.

➤ **Broyage :**

Se fait à froid avec des broyeurs ne produisant aucun échauffement de la matière et dans une atmosphère sèche (matière sucrée et hygroscopique).

➤ **Blutage :**

Identique à celui utilisé en meunerie : Opération de tamisage qui consiste à séparer selon leur grosseur les divers produits après passage de la mouture. Effectué à l'abri de toute humidité, on obtient trois produits :

- Des farines ;
- Des semoules blanches ;
- Des semoules vêtues.

➤ **Finissage :**

Le finissage comprend la séparation des trois produits obtenus par sassage. Les semoules blanches peuvent être directement utilisées ou réduites en farine.

Les semoules vêtues subiront un désagrège suivi d'un blutage donnant à nouveau des farine blanches, des semoules nues et des semoules vêtues qui seront ainsi traités jusqu'à épuisement (MATALLAH, 1970).

2.6.2.3. Marmelades, crèmes et confitures de dattes :

Ces produits sont fabriqués à base de dattes saines pour éviter tout type d'altération, notamment la fermentation. Cette gamme de produit est basée sur l'extraction des sucres par diffusion de ces derniers et des autres composés solubles des dattes. Par mélange et cuisson de pâte et de morceaux de dattes, nous pouvons obtenir des crèmes et des confitures d'excellente qualité (AL-HOOTI *et al.*, 1997a, JIWAN, 2006).

Tableau -10- : Principales étapes de fabrication de confiture et caramel à partir de dattes.

Confiture	Caramel
- Lavage / Dénoyautage	-Préparation d'une patte de datte
- Pelage	-Evaporation et caramélisation
- Blanchiment	-Ajout de colorants et arômes
-Broyage	-Refroidissement/mise en forme
-Ajout ingrédient (sucre, pectine, acide)	-Conditionnement
-Cuisson et concentration	
-Mise en pots	
-Stérilisation	
-Etiquetage	

Mais, on peut produire aussi...Caramel de dattes ; sucre liquide, nectar de dattes,...

2.6.2.4. Miel de datte :

Le miel de dattes n'est pas un sirop plus ou moins concentré, mais l'exsudat des dattes molles, de la variété Rhars en particulier (MUNIER, 1973)

Selon MAATALAH (1970), pour préparer ce produit il faut choisir des variétés molles ou susceptibles de la devenir après trempage, par exemple, le Deglet-Nour et le Rhars.

Après nettoyage et dénoyautage, les dattes est mise à tremper jusqu'au ramollissement complète dans un même volume d'eau distillée et chauffée à 65-75°C. Pour extraire le miel, on presse énergiquement à l'aide d'une presse hydraulique, le miel obtenu à une couleur brune dorée et une viscosité identique à celle du miel d'abeilles. Pour le valoriser, il est possible de l'aromatiser au miel d'abeilles et pour le protéger contre un éventuel brunissement et assurer sa conservation, on peut ajouter 0.3% d'acide ascorbique et 0.2 % d'acide citrique.

2.6.2.5. Produits obtenus par fermentation de dattes :

Les dattes en raison de sa richesse en sucre (environ 50 % de sucres fermentescibles), apparait comme un produit susceptible de donner des produits alcoolisés (vin, alcool) ou des vinaigres.

2.6.2.5.1. Alcool de dattes :

Le jus de dattes, riche en sucres fermentescibles appréciables en éléments nutritifs, permet d'obtenir de hauts rendements en alcool. Selon *BARREVELD (1993)*, cette technique est adaptée en Iraq, 8500 tonnes de dattes (variétés Zahdi) ont permis l'obtention par fermentation de 240 tonnes d'alcool à 94.2 % et de 300 tonnes à 90 %. La production de l'éthanol à partir de déchets de dattes est basée aussi sur la fermentation (*KAIDI et al., 2001*).

2.6.2.5.2. Le vinaigre :

Le vinaigre est un produit dérivé de la fermentation des dattes, la technique consiste à maintenir en fermentation anaérobique un volume en eau/dattes le plus souvent molles (Hamraya ou Deglet-Nour.); dans un récipient : jarre, en plastique ou autre, fermé hermétiquement pendant un certain temps dans un endroit frais et sans aucun déplacement. Les proportions sont généralement 1/3 volume en dattes, 1/3 d'eau et 1/3 d'air. Au bout de 40 jours le vinaigre est récupéré par filtration. Pour une dose d'un volume de 5 litres, il faudra rajouter une cuillère à soupe de sel. Un colorant comme l'extrait de la betterave peut être utilisé (*ILBERT et al., 2005*).

2.6.2.5.2. Le sirop de dattes :

Le sirop de dattes (localement appelé- Robb) est le sous produit de dattes le plus connu. Il est obtenu par l'extraction et concentration de jus de dattes.

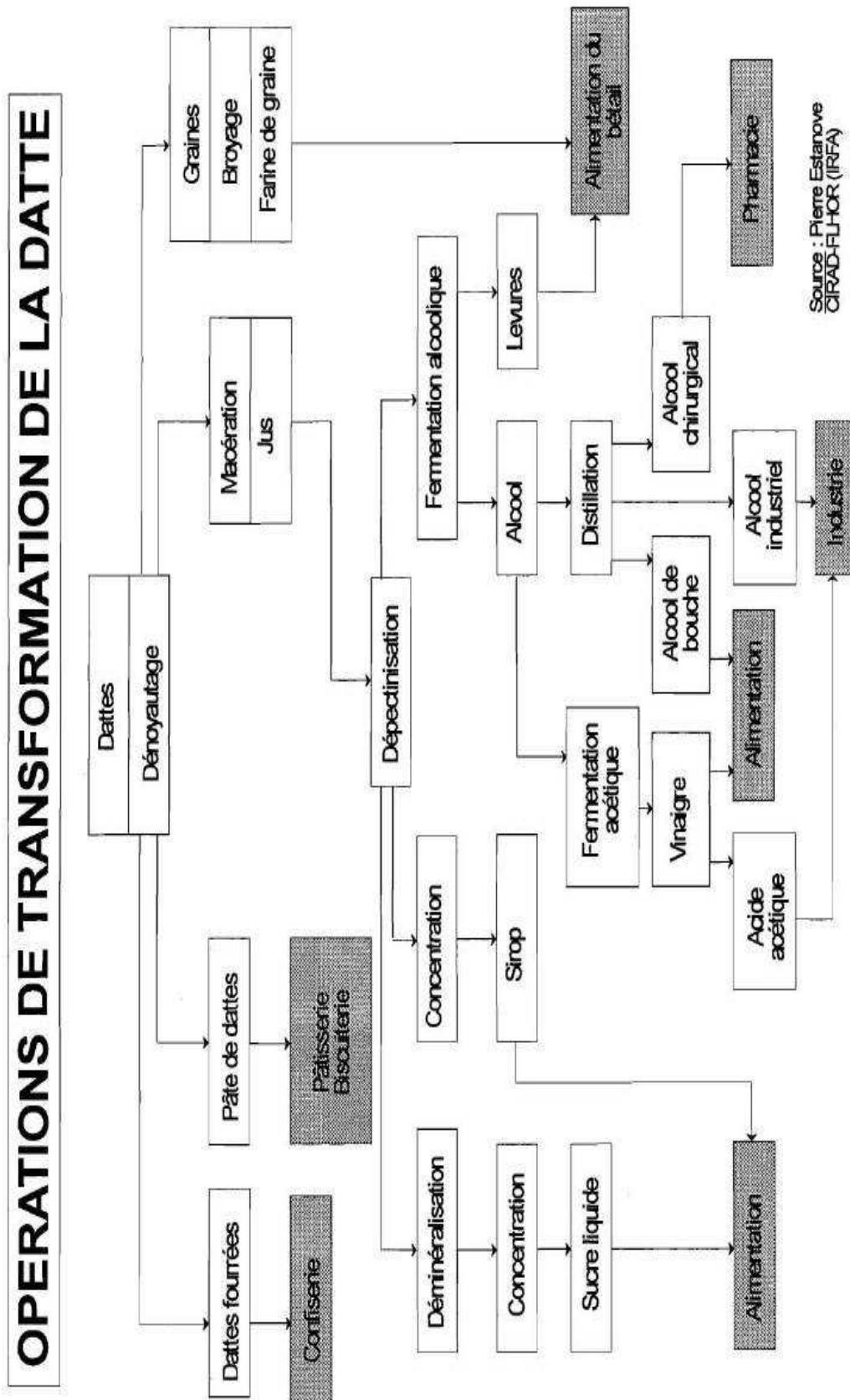


Figure -9- : Diagramme d'opération et transformation des dattes. (ESTANOVE, 1990)

2.6.2.5.2.1. Fabrication industrielle de sirop de dattes :

✓ Extraction de jus :

Selon Al-farsi, 2003, les dattes sont découpées en morceaux de 0.5-1cm d'épaisseur, puis elles sont mélangées à des quantités égales d'eau. Le mélange est remué pendant 20 minutes à 60°C, le jus est extrait par pressage dans un tissu de mousseline.

✓ Traitements de clarification :

Pour améliorer la qualité du jus extrait, différentes méthodes de clarification peuvent être employées dont la filtration qui consiste à l'utilisation d'un filtre-presse.

✓ Concentration :

Le jus clarifié est évaporé à 70 °C sous vide. Le sirop de dattes est à 70 °Brix.

2.6.2.5.2.2. Composition de sirop de dattes :

Le sirop de dattes comporte une qualité très importante des sucres principalement le fructose et le glucose (*AL-HOOTI et al, 2002*).

D'après *ALKHATEEB (2008)*, La composition moyenne de sirop de dattes est représentée dans le tableau 11 ;

2.6.2.5.2.3. Utilisations de sirop de dattes :

Le sirop de dattes est fréquemment utilisé dans les Biscuits et les produits laitiers (boissons, yaourts, desserts, etc.), produits à base de céréales (barres et petit-déjeuner), confiserie, préparation de fruits, glaces, boulangerie, snacks, substituts du saccharose et du miel pour les consommateurs...etc. ou consommé en état.

Tableau -11- : la composition de sirop de dattes (ALKHATEEB, 2008).

Composants	Valeur
Teneur en eau (%)	16
Cendres(%)	6.8
Solides totaux sur le poids sec (%)	84.0
Sucres totaux (%)	79.45
Sucres réducteurs (%)	4.87
Sucre inverti (%)	74.83
Protéines totales (en tant que N) (%)	0.83
Lipides totaux (%)	1.98
Contenu de Vit C (mg/100 g)	0.185
Minéraux (mg/100 g)	
Sodium	13
potassium	202.8
Fer	7.8
Magnésium	143
Calcium	338

2.7. Les bienfaits de la datte :

Depuis l'antiquité, la datte et son noyau ont été utilisés dans la médecine traditionnelle, dans les régions où le palmier dattier fut cultivé (KHARE, 2007). Une recherche menée par TAHRAOUI (2007) a montré que les dattes ont été traditionnellement utilisées pour soigner l'hypertension et le diabète. Il a été prouvé aussi que la consommation de les dattes fortifie le corps, prévient la chute précoce des cheveux, l'apparition des rides et donne à la peau un aspect reluisant.

Autre que sa valeur énergétique élevée grâce à sa richesse en sucres réducteurs facilement assimilables, son profil minéral et vitaminique important, les dattes est dotée de nombreux effets bénéfiques pour la santé, la figure suivante illustre brièvement les plus importants de ces effets :

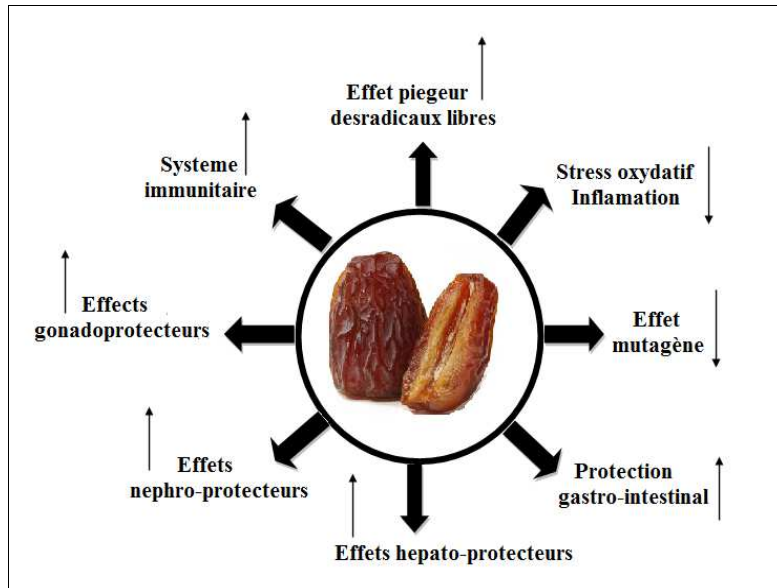


Figure -7- : Activités biologiques et pharmacologiques des dattes (*BALIGA et al, 2010*)

Chapitre 2
La microflore intestinale

Chapitre 2 . La microflore intestinale : un écosystème complexe.

1. Généralités.

De la naissance à leur mort, les animaux ainsi que l'homme vivent en équilibre avec une flore microbienne extrêmement dense et variée qu'ils abritent, pour l'essentiel, dans la cavité de leur tube digestif. La flore microbienne est estimée numériquement 10 fois supérieure au nombre de cellules de l'organisme (SAVAGE, 1977). Elle représente un écosystème très complexe d'au moins 500 espèces dont 30 à 40 espèces dominantes regroupant 99 % de la flore totale (TANNOCK, 1999).

L'approche écologique de cette microflore tient compte de plusieurs écosystèmes microbiens successifs. La composition de cette flore est extrêmement stable chez un individu sain, mais très variable d'un individu à un autre, en fonction notamment des habitudes alimentaires. En effet, la flore microbienne forme avec l'hôte qui l'héberge un écosystème dont l'équilibre dépend de la nature des interactions entre différents composants : d'une part, des composants biotiques comme les microbes établis à demeure ou en transit, cellules du tractus intestinal qui délimitent le biotope et, d'autre part, des composants abiotiques tels que le pH, le degré d'anaérobiose, la disponibilité de substrats, les sites d'adhérence potentiels des micro-organismes à l'épithélium ou au mucus, le transit intestinal et les sécrétions endogènes (salive, sécrétions gastriques, hépatiques et intestinales, cellules issues du renouvellement de la muqueuse). Changer l'un des éléments de cet écosystème risque de déstabiliser l'ensemble de toutes les composantes biotiques et abiotiques interagissant entre elles pour aboutir à un équilibre. Ces mécanismes d'interaction sont très complexes et bien loin d'être élucidés.

2. Définition la flore intestinale :

La flore intestinale compte environ 10^{12} — 10^{14} bactéries soit, suivant l'âge, dix à 20 fois le nombre de cellules de l'organisme. C'est ce qui reflète l'importance de ce « monde microbiologique vivant », ou microbiote, que nous abritons. Il est indispensable à notre santé et sans doute à la survie de notre espèce. Les bactéries présentes chez un individu à l'état normal sont des bactéries commensales ou saprophytes, par opposition aux bactéries pathogènes.

La flore intestinale est encore très peu connue en termes qualitatifs, alors que son importance quantitative et ses nombreux rôles sont assez bien documentés. À l'instar des

puissantes lunettes astronomiques qui explorent l'univers et ses galaxies, la biologie moléculaire moderne appliquée à ces organismes vivants a récemment permis d'identifier de nombreuses espèces microbiennes. Elles n'ont cependant pas toutes révélé de leur nature ou de leurs rôles biologiques. La diversité de la flore intestinale, qui augmente avec l'âge, est en effet beaucoup plus importante.

2. Composition de la microflore intestinale :

La composition de la microflore intestinale varie en fonction de l'espèce animale et de son alimentation (*DRASAR et BARROW, 1985*). La flore normale est définie par la présence constante de certaines espèces dans l'intestin. Chez un individu donné, il existe également des variations quantitatives et qualitatives en fonction de la région intestinale (*DRASAR, 1974*). Si l'on exclut la bouche, directement en contact avec le milieu extérieur, les populations bactériennes présentes dans la lumière du tube digestif augmentent progressivement de l'estomac jusqu'aux selles.

L'estomac contient toujours une flore plus abondante lorsque le pH est élevé comme chez le rat, le veau ou le porc et plus faible lorsque le pH est acide comme chez l'homme. En fait, seuls les micro-organismes à Gram positif aérobies ou anaérobies facultatives acidotolérantes sont capables d'y survivre. Cependant, des bactéries anaérobies strictes résistantes à l'acidité gastrique peuvent s'y implanter, c'est notamment le cas d'*Helicobacter pylori* capable de se loger dans la sous-couche du mucus. La principale flore résidente de l'estomac est composée de streptocoques et de lactobacilles. (*HOLZAPFEL et al., 1998*).

A l'inverse, l'intestin grêle n'est pas un organe où les bactéries peuvent se multiplier chez un sujet sain, et constitue une région de transit. Lorsque les bactéries y prolifèrent, en particulier parce qu'elles possèdent des facteurs leur permettant d'adhérer à la muqueuse, il s'agit toujours d'un phénomène pathologique. En effet, la croissance bactérienne dans l'intestin grêle est limitée par le transit rapide, les bactériocines des cellules de Paneth (*PORTER et al., 2002*) et les sécrétions biliaires et pancréatiques (*SALMINEN et al., 1998*). Les premiers segments de l'intestin grêle comportent une flore très faible, constituée seulement par les bactéries gastriques en transit. Au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'extrémité distale de l'iléon, une augmentation importante de la flore en nombre et en variété a été observée (*GORBACH et al., 1967*). Ainsi des espèces anaérobies facultatives à Gram négatif (entérobactéries) apparaissent à côté des espèces à Gram positif.

Les espèces anaérobies strictes augmentent progressivement le long du tractus digestif. Ainsi, au niveau du côlon, leurs proportions deviennent 100 à 1000 fois plus abondantes que les espèces anaérobies facultatives. Le côlon est le segment le plus peuplé (10^{10} à 10^{12} bactéries/g de contenu). Les bactéries représentent environ 50 % du poids sec des selles (FINEGOLD *et al.*, 1983). Un profil bactérien quantitatif et qualitatif caractérise la flore du côlon de chaque espèce animale. Certains genres bactériens comme les *Bacteroides*, *Eubactérium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Peptostreptococcus* appartiennent communément à la flore dominante de plusieurs espèces animales.

Cependant, le genre *Lactobacillus* rencontré dans la flore dominante des rongeurs et du porc, ne se trouve que très occasionnellement dans la flore dominante de l'homme. Inversement, le genre *Bifidobacterium* appartenant à la flore dominante chez l'homme n'est pas répertorié chez les rongeurs.

La microflore fécale est constituée de l'ensemble de micro-organismes qui provient des différents biotopes du tube digestif. Elle reflète surtout l'équilibre microbien existant dans les régions caeco-coliques. Les fèces constituent ainsi un écosystème bactérien. Du fait de la facilité de prélèvement, l'écosystème fécal est le plus étudié chez l'animal et l'homme (MARTEAU *et al.*, 2001). Il a été constaté que les populations anaérobies strictes et facultatives sont co-dominantes dans le côlon proximal alors que seules les anaérobies strictes sont dominantes dans le côlon distal et les matières fécales. Par conséquent, les études de l'écosystème bactérien fécal renseignent particulièrement sur la microflore présente dans la partie terminale du côlon.

2.1. Composition de la flore intestinale humaine.

La répartition de la flore varie selon les segments du tube digestif. Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles, de la présence de substances antibiotiques et de la vitesse du transit (rapide de la bouche au caecum, plus lent ensuite). Globalement il existe un gradient croissant:

- Dans l'estomac, du fait d'un pH bas, la flore est quasi inexistante (inférieure à 10^3 UFC/g) / (UFC = Unités Formant Colonies) ;
- Dans l'intestin grêle, on observe une variation quantitative (duodénum 10^3 - 10^4 UFC/g, jéjunum 10^4 - 10^6 UFC/g, iléon 10^6 - 10^8 UFC/g) et qualitative : diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies

strictes. Il y a peu de bactéries dans l'intestin grêle où elles ne jouent pratiquement aucun rôle. Les bactéries habituellement présentes dans l'intestin grêle appartiennent aux genres : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, et à quelques espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* à des concentrations faibles jusqu'à l'iléon où elles apparaissent dominées par des espèces anaérobies à Gram négatif appartenant au genre *Bacteroides*.

- Dans le côlon, le transit, très fortement ralenti, est à l'origine d'une stase d'où l'augmentation importante de la population bactérienne (de 10^9 à 10^{11} UFC/g). C'est une véritable chambre de fermentation, siège de très nombreuses biotransformations des aliments non assimilés au niveau du grêle. Le côlon est la seule zone colonisée de façon permanente : la flore microbienne essentiellement anaérobie est dense et active, produisant localement de nombreux métabolites.

Dans le côlon, il faut distinguer 4 types de flore :

- **flore dominante** ($N > 10^9$ UFC/g) exclusivement anaérobie : *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*,
- **flore sous dominante** ($10^6 > N > 10^8$ UFC/g) : différentes espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* (surtout *E.coli*) et les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*,
- **flore résiduelle** ($N < 10^6$ UFC/g) : bactéries en transit ou réprimées par la flore résidente,
- **flore fécale** : facilement accessible pour l'analyse, elle renferme de nombreuses espèces mortes et n'est pas représentative des différentes niches écologiques de l'écosystème microbien digestif (Figure 2). L'analyse de la flore fécale ne donne qu'une vue très limitée de l'écosystème mais permet de retrouver des souches pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'hôte. (THOMAS HINDRE, 2004)

Le microbiote intestinal humain

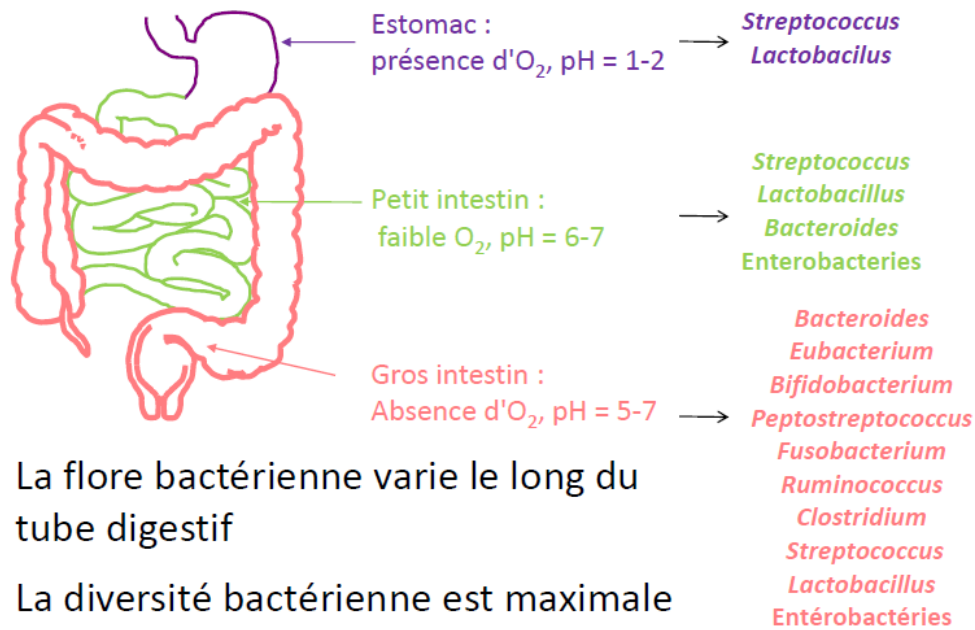


Figure -08- : Appareil digestif et répartition de la Flore intestinale humaine

(THOMAS HINDRE, 2004)

Différents facteurs endogènes associés à l'hôte, aux bactéries et à l'environnement contribuent à maintenir la composition et le bon fonctionnement de la microflore, contrôlant ainsi l'homéostasie intestinale. La physiologie du système digestif de l'hôte, ainsi que les nutriments endogènes et l'habitat colique interviennent donc dans la régulation et la stabilité de la microflore. Parmi ces facteurs endogènes, on retrouve le pH ou le potentiel d'oxydoréduction, les interactions microbiennes, la muqueuse épithéliale intestinale, le péristaltisme, les sécrétions acides et biliopancréatiques, et la production de mucus (HOLZAPEL *et al.*, 1998). Les facteurs exogènes tels que la composition du régime alimentaire et des circonstances environnementales (contamination par des pathogènes, antibiothérapie, chimiothérapie, climat, stress, hygiène...) peuvent également modifier le fonctionnement et la composition de la microflore (MITSUAKA, 1989).

3. Stabilité apparente de la flore :

Avec les techniques classiques de microbiologie, on constate, chez un même individu, une assez bonne stabilité de la flore. On a encore beaucoup à apprendre sur ce sujet et notamment sur l'influence que peuvent avoir différents types d'agressions comme le jeûne alimentaire, la modification brutale de régime, le ralentissement du transit, les modifications du péristaltisme, l'antibiothérapie (à l'origine d'un dysmicrobisme et de diarrhées), avec comme conséquences des modifications des effets physiologiques, métaboliques et immunitaires liées à la microflore digestive de l'hôte (tableau -12-).

Tableau-12- : Les bactéries impliquées dans le déséquilibre intestinal. (ANADON *et al.*,1993)

Bactéries	Espèce	propriété
saprophytes	<i>E.coli (aérobie non pathogène)</i> <i>Lactobacille</i> <i>Bifidobactérie</i>	Se sont les bactéries résidentes, responsables de la santé optimale de l'intestin
Pathogènes	<i>Aeromonas</i> <i>campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Aureus du Staphylocoque</i> <i>Vibrio</i> <i>Yersinia</i>	Modifications dans la composition la flore intestinale accompagnent souvent la maladie diarrhéique aiguë
Impliqués dans les pathologies auto-immunes	<i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Bacilles pyocyaniques</i> <i>Citrobacter</i>	Bactéries qui ne causent pas des troubles aigus dans l'IG mais impliqués dans l'étiologie de plusieurs problèmes chronique ou systémique
Marqueurs d'un déséquilibre intestinal	<i>Enterobacter</i> <i>Streptocoque</i> <i>E.coli hémolytique</i> <i>Hafnia</i> <i>E.coli mucoïde</i>	Des organismes qui sont caractéristiques "déséquilibre de la flore intestinale"
Indice Gram	Gram de la référence : 70-80% Gram- ; 30-20% Gram+	Le pourcentage de Gram- contre le pourcentage de Gram+ est indicateur de l'équilibre de la flore intestinale.

4. Quelques germes de la flore intestinale :

Nous détaillons ici quelques genres de bactéries existants dans la flore intestinale humaine.

4.1. *Staphylococcus aureus* :

S. aureus est l'espèce majeure d'origine humaine, animale (volaille, bovin, ovin, caprin,...), ou environnementale (CAMILLE, 2007).



Figure-09- : *Staphylococcus aureus* vue au microscope électronique et colorée artificiellement (CAMILLE, 2007)

* Pouvoir pathogène :

Ils produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une intoxication. Les symptômes apparaissent brutalement : nausées, douleurs abdominales et surtout vomissements violents et répétés souvent accompagnés de diarrhée. Il n'y a généralement pas de fièvre. Des complications peuvent survenir en fonction de la dose ingérée et de la sensibilité individuelle : déshydratation, prostration, hypotension, état de choc. Le rétablissement intervient dans les 24 à 48 h, sans séquelles. La mortalité est exceptionnelle (AFASSAPS, 2008).

4.2. *Escherichia coli* :

E. coli ou «Colibacille» est l'hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud ; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments. Les souches d'*E. coli* responsables d'infections chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants (CAMILLE, 2007).



Figure-10- : Escherichia coli, vue au microscope électronique à balayage et colorée artificiellement (CAMILLE, 2007)

***Pouvoir pathogène :**

E. coli provoque chez l'enfant des gastro-entérites sévères, les gastro-entérites infantiles (céphalées, fièvre, vomissement, diarrhées) (GUIRAUD, 1998).

L'infection peut conduire à une affection mortelle comme le syndrome hémolytique-urémique. Celui-ci est caractérisé par une défaillance rénale aiguë, une anémie hémolytique et une thrombopénie. Il peut être à l'origine de complications neurologiques (ALLISON, 2005).

4.3. Salmonella typhi :

Salmonella typhi, une bacille gram négatif qui provoque une maladie bactériémie prolongée appelée fièvre typhoïde. Depuis que les humains sont le seul réservoir de *S. typhi*, l'infection est le plus souvent acquise par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par des matières fécales et l'urine des personnes infectées et des porteurs chroniques (HEYMANN, 2004).

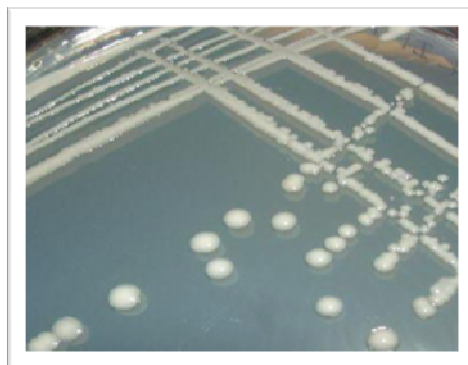


Figure-11- : Salmonella typhi sur milieu MH

4.4. *Entérocooccus faecalis* :

Coque d'aspect ovoïde en courtes chaînes, Gram positives, immobiles en bouillon et acapsulés. Anaérobies facultatifs aérobies tolérants, le plus fréquemment isolée chez l'homme.



Figure-12- : *Enterococcus faecalis* sur milieu MH

*Pouvoir pathogène chez l'homme :

E. faecalis est principalement responsable d'infections urinaires le plus souvent secondaires après explorations urologiques, d'endocardites évoluant sur un mode subaiguë, sur valves natives ou sur prothèses, et survenant après exploration digestives ou urologiques, d'infections intra abdominales (biliaires,...) de suppurations diverses. Le caractère polymicrobien des surinfections à Entérocoques est fréquent (entérobactéries et anaérobies) (ARCHAMBAUD & CLAVE, 2007).

5. Rôles de la flore intestinale humaine :

La relative stabilité de l'écosystème intestinal suggère la présence de mécanismes de régulation et de défense propres à l'hôte ou à la microflore résidente. Ainsi, il apparaît la notion de synergie et de symbiose entre l'hôte et sa microflore. L'utilisation de modèles d'animaux (animaux axéniques inoculés avec des souches bactériennes connues) a permis de réaliser des progrès considérables dans l'étude des fonctions de la flore du tube digestif. (DUCLUZEAU ET RAIBAUD, 1980; RAIBAUD *et al.*, 1980; ROMOND *et al.*, 1990).

5.1. Effets digestifs :

Les populations microbiennes peuvent affecter les fonctions digestives et la physiologie de l'épithélium intestinal par leur activité métabolique (ROBERFROID *et al.*, 1995). En effet, les bactéries intestinales participent à la décomposition de substances non digérées, en particulier les glucides alimentaires (fibres, amidons résistants, sucres non absorbés) (GIBSON *et ROBERFROID*, 1995) et de substances endogènes telles que le mucus. Par exemple, les sucres sont essentiellement transformés en acides organiques et acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) (RUMNEY *et ROWLAND*, 1992). Ces derniers, particulièrement le butyrate, sont absorbés par le côlon et sont utilisés comme source d'énergie par les colonocytes (PRYDE *et al.*, 2002). Le butyrate stimule également la prolifération des cellules épithéliales et favorise l'absorption du Ca²⁺, Mg²⁺ et Fe²⁺ (DELZENNE *et ROBERFROID*, 1994).

5.2. Effets nutritionnels :

5.2.1. Bénéfiques pour l'hôte :

- Production d'acides gras à chaîne courte diminuant la synthèse hépatique du cholestérol; l'un d'eux, l'acide butyrique, est la principale source d'énergie de la muqueuse colique,
- Dégradation des hydrates de carbone non absorbés (amidon, pectine, glycoprotéines) aboutissant à la production d'acides organiques assimilables par l'hôte (acétate, propionate, butyrate) et de gaz (CO₂, H₂),
- Hydrolyse des lipides alimentaires non absorbés grâce aux lipases bactériennes et à la conjugaison des acides biliaires primaires, indispensable pour une bonne absorption des graisses,
- Dégradation de certaines protéines et de certains acides aminés (tryptophane), permettant la récupération de l'azote,
- Apport vitaminique : certaines bactéries anaérobies facultatives (*E.coli*, *E.aerogenes*) sont capables de synthétiser in vitro un large éventail de vitamines (biotine, riboflavine, acide pantothénique, pyridoxine et vitamine K). Des bactéries anaérobies strictes (*C.butyricum*, *Veillonella sp.*) sont capables de synthétiser la vitamine B12, d'une grande utilité pour la croissance locale bactérienne.

Il n'existe pas de données précises sur l'utilisation de ces vitamines par l'hôte, notamment par l'homme.

5.2.2. Défavorable pour l'hôte :

- Métabolisme glucidique : les activités de type β -glucuronidase libèrent à partir des β glucuronides des aglycones à pouvoir cancérigène,
- Métabolisme azoté : la dégradation par la microflore des nitrates et des amines secondaires aboutit à la production de nitrosamines cancérigènes,

5.3. Protection contre l'infection :

Une autre fonction importante exercée par la flore intestinale est la maturation et la stimulation du système immunitaire de l'hôte. Le système immunitaire local associé à la muqueuse digestive ainsi que le système immunitaire général sont fortement stimulés ou parfois inhibés, par certaines bactéries de la flore du tube digestif. Plusieurs études ont montré que la flore intestinale stimule l'activité phagocytaire (*NICAISE et al., 1993*)

Elle s'exerce d'abord par l'effet de barrière exercé par la flore résidente vis-à-vis des bactéries exogènes ("résistance à la colonisation"), par élimination totale de la souche exogène, ou par maintien de la souche exogène en sous-dominance (effet permissif). Les mécanismes expliquant ces phénomènes, mal connus, sont étroitement liés aux souches anaérobies strictes dominantes de la flore résidente.

Les bactéries présentes dans le tube digestif sont des xénobiotiques qui, n'étant pas reconnues par l'hôte, devraient être rejetées. Or, cette masse bactérienne énorme est tolérée et est même responsable d'une stimulation non spécifique du système immunitaire. La seule stase ne permet pas de l'expliquer : il est vraisemblable que les souches bactériennes possèdent des capacités d'adhésion soit aux mucines, soit aux cellules coliques par des systèmes spécifiques (adhésines) ou non spécifiques (liaisons ioniques, liaisons hydrogène).

6. Flore intestinale et infections :

6.1. Réaction de l'hôte aux bactéries pathogènes intestinales :

Un raisonnement anthropocentrique considère traditionnellement la bactérie comme l'agresseur de l'hôte dans le conflit infectieux. Il est tout aussi objectif de constater que c'est la nature de la réaction de l'hôte qui permet d'observer le pouvoir pathogène d'un micro-organisme qui pénètre dans son tube digestif. Sans cette réaction, on ne pourrait d'ailleurs pas définir ce pouvoir pathogène. Les principales modalités de réponse de l'hôte à une bactérie présente dans la lumière intestinale comportent :

- La présence sur les entérocytes de récepteurs permettant la fixation de structures de surface de la bactérie. L'adhésion de la bactérie à la muqueuse autorise sa multiplication *in situ*, sans être entraînée par le transit intestinal. Si cette bactérie élabore une exotoxine, celle-ci est libérée au contact immédiat de l'entérocyte.

Si de surcroît celui-ci offre un récepteur à cette toxine, celle-ci peut exercer son effet néfaste sur le fonctionnement de l'entérocyte et provoquer une diarrhée.

- La phagocytose de la bactérie par une cellule intestinale constitue la première étape d'un processus invasif. Le devenir ultérieur de la bactérie dans l'espace intra **épithélial** dépend de son aptitude à survivre et éventuellement à se multiplier dans les cellules phagocytaires (macrophages). La bactérie parvenue vivante dans le ganglion lymphatique mésentérique a la possibilité de gagner d'autres organes, foie, rate, et la circulation générale.
- Les réponses immunologiques de l'hôte à un antigène bactérien qui a franchi l'épithélium intestinal comportent la production d'immunoglobulines spécifiques et le développement d'une immunité cellulaire. La réaction ultérieure de l'hôte à la présence de la même bactérie dans son tube digestif sera ainsi modifiée et s'exprimera par des réponses immunitaires spécifiques.

Si la bactérie ne suscite aucune de ces réponses de la part de l'hôte, son avenir est strictement intraluminal et ne comporte pas d'événements pathologiques.

7. Les principales maladies bactériennes du tube digestif :

Pratiquement, c'est la reconnaissance d'un dysfonctionnement intestinal, ou d'une atteinte d'autres organes, ou de l'organisme dans son ensemble qui exprime la réaction de l'hôte à la présence d'une bactérie qui sera considérée comme pathogène. On peut classer schématiquement les principales bactéries pathogènes pour l'intestin de l'homme en fonction du mécanisme de leur pathogénicité, c'est-à-dire du mode de réponse de l'hôte à leur présence (DRASAR B.S *et al.*, 1985.).

- Les atteintes non inflammatoires de l'intestin touchent essentiellement le grêle proximal. Elles sont dues à des entérotoxines produites par les bactéries. Le principal symptôme est une diarrhée aqueuse qui peut entraîner une déshydratation. L'exemple type est le choléra. *Vibrio cholerae* adhère aux entérocytes et peut ainsi se multiplier abondamment à la surface du grêle. Un glycolipide de surface des entérocytes, le ganglioside GMI, sert de récepteur à la toxine cholérique qui provoque une hypersécrétion de suc entérique dont l'expression finale est la diarrhée. D'autres bactéries provoquent des symptômes

analogues par des mécanismes comparables : *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli* producteurs d'entérotoxine thermolabile (LT) très voisine de celle de *V. cholerae*, ou thermostable (ST), certaines *Salmonella* spp.

Les atteintes inflammatoires de l'intestin, avec processus invasif de la muqueuse, touchent principalement le côlon et se manifestent par une dysenterie. La présence de leucocytes polynucléaires, de cellules intestinales, d'hématies dans les selles reflète la nature invasive du processus. L'exemple type est représenté par les shigelles. La caractéristique d'une souche virulente de *Shigella*. sp est sa capacité d'envahir les entérocytes du côlon. D'un autre point de vue, cette souche pathogène présente une structure de surface qui suscite la phagocytose par l'entérocyte. Il a été démontré que cette structure était codée par un plasmide (DELZENNE *et al.*, 1994).

D'autres bactéries provoquent des atteintes semblables de la muqueuse colique : *E. coli* entéro-invasifs, *Campylobacter jejuni-coli*, *Salmonella enteritidis*... et aussi *Clostridium difficile* qui sera évoqué à propos des conséquences de l'antibiothérapie.

- Les «fièvres entériques» concernent essentiellement l'iléon terminal, la région des plaques de Peyer. Elles sont dues à des bactéries qui ont la capacité de pénétrer jusqu'au ganglion lymphatique mésentérique et de là dans le foie, la rate et la circulation générale. Le passage de bactéries viables de la lumière du tube digestif dans les lymphatiques mésentériques et dans d'autres organes a été dénommé «translocation». Le rôle qu'il peut jouer dans le développement de l'immunité contre les bactéries intestinales, mais aussi dans la survenue d'infections opportunistes chez les immunodéficients, sera envisagé plus loin. La bactérie par excellence capable de translocation chez l'homme est *Salmonella typhi*. Plus que la multiplication du germe dans des foyers septiques secondaires, c'est le relargage de lipopolysaccharide de *S. typhi* dans l'organisme qui conditionne les manifestations d'intoxication par l'endotoxine caractéristiques de la fièvre typhoïde.

Partie
Expérimentations et résultats

Chapitre 1
Matériel et méthodes.

Chapitre 1 – Matériels et méthodes.

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire Vétérinaire Régionale de Laghouat (L.V.R.L.) et au niveau du complexe « mère-enfant » de la wilaya de Laghouat.

Le présent travail a pour objectif d'isoler, purifier et identifier des bactéries de la flore intestinale humaine et/ou animale et d'évaluer l'effet de trois produits à base de dattes : dattes, sirop de dattes, mélange dattes-lait (boisson), sur ces germes ainsi identifier. Des souches de référence (A.T.C.C.) sont utilisées en parallèle. Le matériel et les méthodes expérimentales utilisés dans ce travail, sont décrits comme suit :

Matériels utilisés.

1.1. Matériel biologique :

1.1.1. Matériel végétal et animal :

- **les dattes** : La seule variété utilisée est : Deglet Nour. Elle est achetée au hasard du commerce : unité de 1Kg emballée dans des boîtes en carton.
- **Le sirop de datte** : utilisé provient d'un fabricant artisanal de la wilaya de Ouargla, fabriqué également à partir de la variété Deglet Nour.
- **La boisson lactée à base de dattes** : était fabriquée à partir des mêmes dattes (Deglet Nour) en mélange avec du lait stérilisé (Candia) : Après dénoyautage et broyage des dattes, ces dernières sont autoclavées à 120°C pendant 15 minutes. L'ajout du lait était fait dans des conditions aseptiques dans des tubes stérilisés.

Le choix de ces produits se justifie par la grande consommation de ces trois produits en Algérie.

- **Poulets** : Au niveau du LVRL, on reçoit des poulets vivants, sur lesquels, sont effectués, à la demande du vétérinaire responsable du suivi de l'élevage des analyses bactériologiques, sérologiques et virologiques. Nous avons utilisé un seul poulet âgé de sept (07) jours et ce pour avoir un maximum de germes.
- **Souches bactériennes** : Les souches bactériennes utilisées au cours de cette étude sont des souches isolées à partir de la flore intestinale humaine ou animale ainsi que les souches de référence mentionnées dans le tableau -13 - :

Tableau -13- : Souches de référence utilisées.

Souche	Référence
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25822
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27855
<i>Salmonella enteritidis</i>	Souche sauvage
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923

- **Les antibiotiques.** Nous avons utilisé des disques d'antibiotiques prêts à l'emploi; il s'agit des antibiotiques suivants (Tableau -14-).

Tableau -14- : Liste d'antibiotiques utilisés.

ATB	
<i>ENTEROBACTERIES</i>	
AMC	Amoxicilline + Ac. Clavulanique
AMP	Ampicilline
AMX	Amoxicilline
CF	Céfalotine
CHL	Chloramphenicol
CS	Colistine
ENR	Enrofloxacin
NA	Acide Nalidixique
NEO	Neomycine
NIT	Furanes
NOR	Norfloxacin
OA	Acide Oxolinique
SXT	Triméthoprim + Sulfam
TCY	Tétracycline
UB	Fluméquine
XNL/ CTX	Ceftiofur/ Cefotaxime
ATB	
<i>PSEUDOMONAS et appa</i>	
AMC	Amoxicilline+Acide Clavulanique
CAZ	Ceftazidime
CS	Colistine
ENR	Enrofloxacin
GEN	Gentamicine

1.2. Milieux de culture :

Plusieurs milieux ont été utilisés :

1.2.1. Milieux d'isolement : Gélose lactosée de Mc Con Key, Gélose Muller Hinton, Gélose Columbia, Chapman, Gélose Hektoen et MRS.

1.2.2. Bouillons : Bouillon cœur-cerveille (BHIB), bouillon selenite de Leifson.

1.2.3. Tests d'identification : Milieu manitole-mobilité-nitrate, Citrates de Simmons, Urée-Indole, Milieu Clarck et Lubs, LDC (lysine décarboxylase), ODC (ornithine décarboxylase), ADH (arginine décarboxylase et dihydrolase), Disques d'oxydase, disques de ONPG.

2. Méthodes d'analyse :

2.1. Isolement des bactéries de la flore intestinale :

La démarche d'isolement et d'identification des germes dans les selles et l'intestin suit plusieurs étapes :

2.1.1. Préparation des milieux et bouillons de culture :

2.1.1.1. Milieux d'isolement

✓ Principe

Les milieux d'isolement utilisés sont soit des milieux de culture sélectifs ou non sélectifs.

Les milieux sont coulés devant la flamme du bec benzen, dans des boîtes de pétri de 90 mm ; ils ne sont jamais coulés à chaud, juste sortis de l'autoclave, pour éviter la condensation d'eau. Pour la même raison il faut retourner les boîtes sur l'autre face juste après la solidification et les laisser à la température du laboratoire jusqu'à total refroidissement (minimum 1h) avant de les mettre au réfrigérateur.

2.1.1.2. Les différents types de milieux :

Pour l'isolement des germes de la flore intestinale, deux types de milieux sont retenus :

- Les milieux non sélectifs qui permettent la culture des germes non exigeants ;
- Les milieux sélectifs qui contiennent des antiseptiques pour inhiber la culture d'autres germes et des substances nutritives essentielles aux germes recherchés.

2.1.1.2.1. Gélose au Sang :

C'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les Streptocoques se développent bien. Il permet, la lecture du caractère hémolytique.

C'est un milieu riche d'autant plus par la présence de sang. (Pour la formule voir annexe : 01)

2.1.1.2.2. La gélose lactose de Mc Con Key :

Utilisée en bactériologie des eaux et des aliments et en coproculture, ce milieu permet l'isolement des bactéries Gram- non exigeants, et la différenciation en colonies lactose+ et lactose-. Il est couramment utilisé dans le repiquage de cultures d'entérobactéries dont le but d'obtenir des colonies pures.

Préparation : Dans le commerce, la gélose Mc Con Key existe sous forme déshydratée, et liquide. Au niveau du laboratoire, nous avons utilisé la forme disponible, liquide contenues dans des flacons prêts à l'emploi. La préparation est simple, elle consiste à chauffer les milieux jusqu'à ce qu'ils deviennent liquide et les couler ensuite dans des boîtes de pétries. (Pour la formule voir annexe : 01).

- ✓ **Lecture :** Colonies roses à rouge brique (lactose+), l'aspect est dû à un précipité d'acides biliaires en milieu acide ; Colonies incolores (lactose -). (VANDEPITTE *et al.*, 1994 ; Le MINOR, 1993b et 1989a)

2.1.1.2.3. Gélose Muller Hinton: (MH) :

L'amidon neutralise les inhibiteurs en quantités infimes apportés par la gélose auxquels sont sensibles les Neisseria pathogènes. Sa formule, son pH, sa concentration en magnésium et en calcium, et l'épaisseur de sa gélose une fois coulée en boîte de Pétri sont adaptés à la pratique de l'antibiogramme ainsi qu'aux tests de sensibilité à diverses substances. (Pour la formule voir annexe : 01).

2.1.1.2.4. Gélose Columbia : Milieu sélectif pour les streptocoques

Principe: Ce milieu contient de l'acide oxolinique, de la colistine, de la néomycine et de la polymyxine B qui permettent l'isolement de streptocoques. Les bactéries à Gram négatif sont totalement inhibées ainsi que presque toutes les bactéries à Gram positif autres que les streptocoques.

2.1.1.2.5. Chapman :

Ce milieu est sélectif pour les bactéries halophiles c'est à dire les staphylocoques ou les microcoques. L'utilisation du mannitol par les bactéries est marquée par une coloration jaune autour des colonies Mannitol + et une coloration rouge autour des colonies Mannitol –, du à l'indicateur de pH du rouge de phénol.

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, **permettant la croissance des germes halophiles**. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif. (Pour la formule voir annexe : 01)

2.1.1.2.6. Gélose Hektoen :

Milieu riche, excellent inhibiteur grâce à sa forte teneur en selles biliaires, il contient trois sucres : lactose, saccharose et salicine, et il convient à la culture d'entérobactéries un peu lente à pousser comme les *Shigella* et potentiellement pathogènes comme les *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli*, *Yersinia entérocolitica*. Les colonies H₂S⁺ présentent un centre noir volumineux.

- ✓ **Préparation :** Sur le marché, il existe des milieux avec et sans additifs. Nous avons utilisé le milieu avec additif prêt à l'emploi. (Pour la formule voir annexe : 01).
- ✓ **Lecture :**
 - Colonies Saumon (au moins l'un des trois sucres fermentés) : *E.coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*, *vibrio cholérae*,
 - Colonies Saumon à centre gris : *Protéus vulgaris*
 - Colonies à centre noir entourés d'un anneau gris vert : *Salmonella*, *Protéus* ; *mirabilis*
 - Colonies vertes : *Shigella*, *Hafnia*, *Providencia*, *Morganella*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas aeruginosa*. (VANDEPITTE et al., 1994 ; Le MINOR 1993 ; 1989 ; Bio Mérieux , 1982, BOURDON et al., 1980, BUSTON et al .,1977).

2.1.1.2.7. La gélose MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) :

Cette gélose est utilisée pour la culture et le dénombrement des *Lactobacillus*. *Gélose préparée à partir de poudre déshydratée*. (Pour la formule voir annexe : 01)

Dans le cas de cette gélose, nous l'avons utilisé sous deux présentations :

En premier elle est coulée dans des boîtes pétrie (après ajout de la suspension contenant les bactéries).

Dans un second cas, nous avons préparé des géloses inclinées : on met environ 10ml de gélose dans chaque tube à essai stérile et on les met en position inclinée sur un support (**figure -13-**). Après solidification, les géloses sont conservées à +4°C.



Figure -13- : préparation des géloses inclinées MRS (Originale, 2014).

2.1.2. Préparation des milieux à partir de poudre :

L'élaboration des milieux se fait à partir des poudres lyophilisées : Au moment de l'emploi, on pèse avec précision une quantité de poudre équivalente à la quantité de milieu dont on a besoin. La poudre dissoute est chauffée et maintenue à ébullition pour permettre la dissolution des cristaux. Les milieux sont ensuite repartis soit dans les tubes soit dans les flacons stériles avant d'être autoclavés (pendant 15 à 20mn à 120-121°C). Les tubes sont stockés sous forme de culot, au moment de l'emploi ils sont fondus ensuite solidifiés pour réaliser les milieux inclinés. Quant aux flacons ils sont fondus au bain-marie bouillant avant l'usage et repartis dans les boîtes de pétri.

2.1.2.1. Milieux (bouillon) d'enrichissement :

2.1.2.1.1. Bouillon cœur-cerveille :

Le Bouillon cœur-cerveille (BHIB.), milieu nutritif utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Il convient aussi pour la mise en évidence de la Staphylocoagulase.

Sa richesse en élément nutritif permet aux bactéries exigeantes d'atteindre rapidement la phase stationnaire de croissance. (Pour la formule voir annexe : 01).

✓ **Préparation :**

Le Bouillon utilisé est prêt à l'emploi, réparti dans des tubes stériles de 5 ml/tube. Il est conservé à + 4°C.

2.1.2.1.2. Bouillon sélénite de leifson :

C'est un bouillon d'enrichissement pour Salmonella commercialisé sous le nom de « bouillon sélénite de Leifson ».

Ce milieu estensemencé avec un produit poly microbien (selles, denrées alimentaire) lorsqu'il y a suspicion de Salmonelles. Contrairement au milieu SS, le bouillon d'enrichissement ne convient pas à l'isolement des Shigelles, ces dernières ne nécessitent pas un enrichissement. (VANDEPITTE *et al.*, 1994 ; Le MINOR, 1993).

✓ **Préparation :**

Le Bouillon utilisé est prêt à l'emploi, réparti dans des tubes stériles de 1/tube. Il est conservé à + 4 c°, il n'est plus utilisable s'il présente un dépôt rouge. (LE MINOR, 1993)

2. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales :

L'isolement de bactéries de la flore intestinale humaine a été fait à partir de deux prélèvements de selles issus de deux enfants en bonne santé (garçon de 5ans et fille de 3ans), recueillis dans des boîtes spéciales (pour examen de coproculture). En effet, il est important de traiter les échantillons le plus rapidement possibles (dans les quatre heures) afin d'obtenir des résultats satisfaisants reflétant la réalité. Sinon, le prélèvement est conservé au réfrigérateur à +4°C et doit être traité dans six à huit heures au maximum (CHERBUT *et al.*, 2003).

La solution mère est préparée dans un tube à essai stérile qui contient au préalable 3ml de BHIB, ou 3 ml d'eau physiologique, auquel on a ajouté une graine de selle (pour chaque prélèvement). Par la suite des dilutions décimales allant à 10^{-7} ont été réalisées.

Tube à essai 10^{-1} : 1ml de solution mère + 9ml de BHIB.

Tube à essai 10^{-2} : 1ml de solution de 10^{-1} + 9ml de BHIB.

Tube à essai 10^{-3} : 1ml de solution de 10^{-2} + 9ml de BHIB.....etc.

Solution mère

(Grain de selle+BHIB)

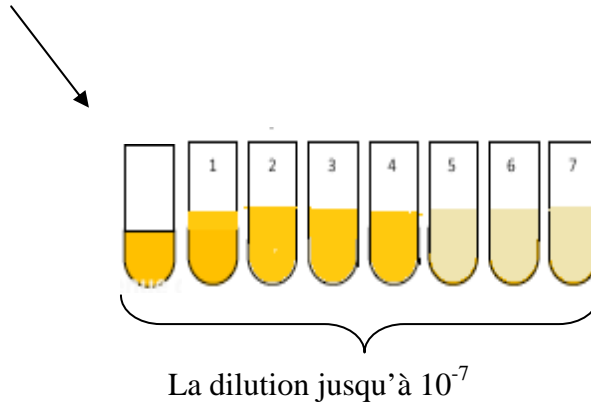


Figure -14- La suspension mère et des dilutions décimales

Ces différentes dilutions sont effectuées dans le BHIB et dans l'eau physiologique.

Pour l'intestin de poulet, on a fait passer directement un écouvillon (contenant environ 3 ml de BHIB, dans les morceaux de l'intestin.

Les tubes des différents dilutions ainsi préparées sont incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

2.2.1. Ensemencement :

Devant la flamme du bec ben zen, On introduit une pipette Pasteur dans le tube contenant les différentes suspensions fécale (toutes les dilutions) et saisir une goûte. Etaler ensuite par des stries horizontales et verticales chaque inoculum sur le milieu de culture gélosé coulé en boîte de pétrie (tout les milieux gélosés). Pour avoir une lecture claire (colonies individualisée) il faut prélever un peu de produit, mais effectuer plusieurs stries de façon à inoculer une grande surface du milieu.

Pour les écouvillons (prélèvement de poulet), l'ensemencement est simple est rapide, les stries se font directement avec la tige cotonnée chargé d'inoculum.

Les boîtes sont incubées en position renversées à 37°C.

✓ Exception pour la recherche de Salmonelles.

Les écouvillons sont d'abord dans le bouillon sélénite avant d'ensemencer les milieux gélosés. La technique est simple : devant la flamme du bec, la tige de l'écouvillon chargé de

matières fécales est introduite en entier dans le tube stérile contenant le bouillon sélénite, le bouchon de l'écouvillon est enlevé pour faciliter la fermeture du tube inoculé. Enfin le tube est mis à l'étuve à 37°C pendant 24h. Le lendemain, sur le tube apparaissait un aspect trouble qui indiquait la pousse de colonies bactériennes. Nous avons alorsensemencé à partir de la suspension contenue dans le tube, une boîte pétrie coulée par un milieu gélosé sélectif pour Salmonelles que nous avons incubé à 37°C pendant 24h.

Puisque dans notre travail, nous cherchons de différents germes isolés de matières fécales ou mucus provenant de l'intestin, pour la première isolation ou ensemencement initiale nous avons opté pour tout les milieux

Le lendemain, sur les boites apparaissait un aspect trouble qui indiquait la pousse de colonies bactériennes. Nous avons alors fais un repiquage.

2.2.2. Repiquage de la culture :

Le repiquage des bactéries est nécessaire pour obtenir une culture de la même bactérie pour l'identification.

A partir des différentes colonies trouvées dans les boites, et selon la souche suspectée (couleur et forme de colonies : exemple les colonies d'*E.coli* apparaissent d'une couleur saumon vers l'orange sur Hektoen, sur Mc Con Key, elles sont roses foncé, rondes), nous avons utilisé les trois milieux : Mc Con Key, Hektoen et milieu MH : Le repiquage se fait par prise de 2 à 3 colonies présentant les mêmes caractéristiques et ensemencement par stries (la méthode d'isolement par épuisement de la semence) dans les milieux cités.

Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

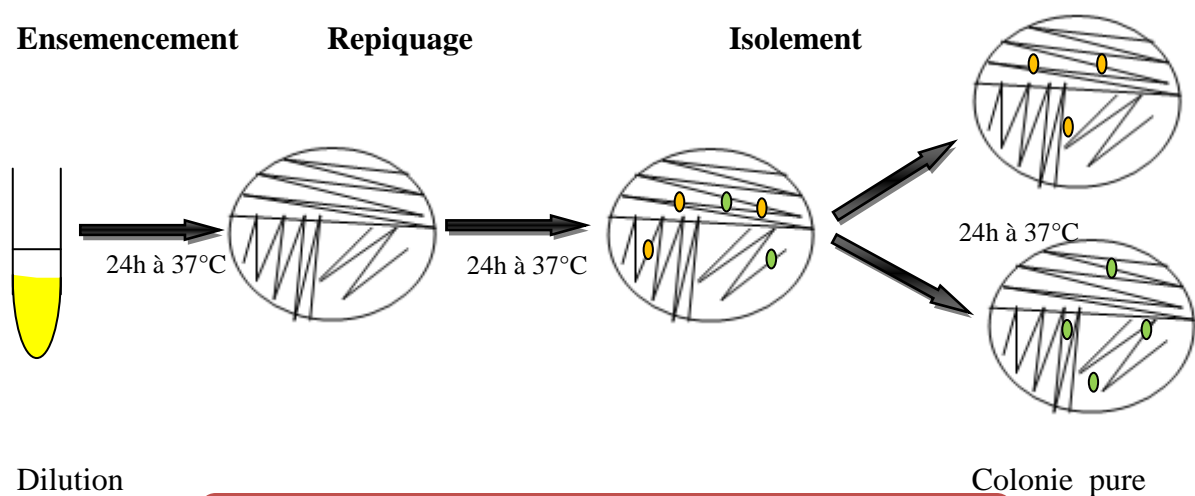


Figure -15- : Identification des bactéries

Pour les bactéries lactiques, L'isolement est réalisé sur milieu MRS, milieu adapté à la recherche spécifique des Lactobacilles : les géloses inclinées ont étéensemencées par piqure centrale puis en stries en surface. Alors que sur les boîtes de Pétries, On a fais des repiquages en stries d'une part, pour les aérobies. Pour les anaérobies facultatifs, nous avons mis 1ml de chaque dilution puis la gélose MRS a été coulée, le mélange se fait par des mouvements en huit (8). L'incubation pour les bactéries lactiques se fait à 37°C pendant 2 à 7 jours.

Nous avons réalisé plusieurs repiquages : 4 repiquages successifs sur le même milieu pour l'obtention de cultures plus pures.

2.2.3. Identification des bactéries isolées :

L'identification est établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimiques

2.2.3.1. Aspects morphologiques :

2.2.3.1.1. Observations macroscopiques :

Pour chaque germe, nous avons notés la forme de colonies et sa couleur, le milieu de culture correspondant.

2.2.3.1.2. Observations microscopiques :

2.2.3.1.2.1. L'observation microscopique : Il y a tout d'abord l'observation microscopique à l'état frais (objectif à immersion x 1000), les bactéries sont vivantes, on peut alors déterminer des caractères tel que la morphologie (bacille ou coque), le groupement et la mobilité.

2.2.3.1.2.2. La Coloration de Gram : C'est la coloration de base en Bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Cette coloration différentielle est basée sur la paroi des bactéries qui peuvent avoir une couche de peptidoglycane mince ou épaisse. Si la bactérie possède une couche de peptidoglycane épaisse elle va fixer le violet de gentiane-lugol et donc avoir une paroi colorée en violet elle est dite de Gram +. Par contre si elle possède une couche de peptidoglycane mince elle va fixer la fuchsine elle sera donc colorée en rose elle est dite Gram -. Les manipulations doivent être faites dans des conditions de stérilisation optimales (atmosphère stérile autour du bec benzène, stérilisation des ustensiles, et lavage des mains) pour éviter toute infection d'autres espèces bactériennes non étudiées.

L'aspect morphologique est étudié chez toutes les bactéries isolées.

2.2.3.1.2. Caractères biochimiques :

2.2.3.1.2.1. Galeries API.

Pour l'identification des souches isolées, nous avons utilisés deux types de galeries API et ce après avoir fais le test oxydase.

✓ **La galerie API 20 E :**

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

Cette galerie comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture (Annexe 01) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique (au niveau de l'hôpital de Laghouat) ou d'un logiciel d'identification (Feuilles de calcul pour l'identification microbienne (JOFFIN ET AL, 2009).

✓ **La galerie API 20 NE :**

C'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non enterobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données (JOFFIN et al, 2009).

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture (Annexe 02) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (JOFFIN et al., 2009).

Pour confirmer le résultat obtenu par certaines galeries API 20NE et API 20 E, nous avons fait recours à des galeries classiques (conventionnelles) qui sont utilisées par les laboratoires de référence, pour l'identification d'une nouvelle souche. (EUZEBY, 2005), et donc nous avons utilisé des milieux stériles contenus dans des tubes à vis prêts à l'emploi. Ils sont de type gélose inclinée ou liquides, au moment de l'utilisation ils ne doivent présenter aucun virage acide ou dépôt.

2.2.3.1.2.2. Galeries classiques :

Pour la réalisation des galeries classique, nous avons utilisé plusieurs géloses et milieux liquides.

2.2.3.2. Préparation de la suspension bactérienne

Pour chaque bactérie, Toujours près de la flamme, à l'aide de l'anse de palatine saisir des colonies bactériennes isolées de taille identiques, bien visibles, introduire immédiatement l'anse dans le tube contenant l'eau physiologique. Agiter au vortex pour obtenir une solution parfaitement homogène.

Cette suspension sera utilisée pour l'ensemencement de tous les milieux d'identification de la galerie biochimique.

Tous les milieux ensemencés sont mis à l'étuve à 37°C pendant 24h.

2.2.3.2.1. Ensemencement des milieux géloses (galerie classique) :

✓ *Milieu « manitole-mobilité-nitrate » :*

✓ *Principe :* Les bactéries mobiles envahissent le milieu « manitole-mobilité » à partir d'une piqûre centrale d'ensemencement. Le nitrate de potassium contenu dans le milieu empêche la formation des bulles de gaz (bactéries gazogènes) par inhibition de l'hydrogène-lyase facilitant ainsi la lecture.

Introduire aseptiquement la pipette pasteur dans le tube contenant la suspension bactérienne, agiter de façon suffisamment de suspension au contact des parois latérales de la pipette, retirer rapidement et piquer dans le tube contenant le milieu par un picage centrale sans toucher le fond .

✓ **Lecture :**

- Mobilité positive : trouble homogène, formant une spirale autour de la piqûre centrale, qui plus la bactérie est mobile plus elle augmente et s'élargit.
- Mobilité négative : la culture bactérienne est limitée à la piqûre centrale. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol. (VANDEPITTE *et al.*, 1994, *Le MINOR* 1993 ; *Bio Mérieux*, 1982, *BOURDON*, 1980)

✓ **Milieu synthétique au citrate de Simmons :**

- ✓ **Principe :** Il s'agit d'un milieu restreint où la seule source de carbone est le citrate et comme source d'azote un sel d'ammonium, seules les bactéries autotrophes sont capables de croître et d'alcaliniser le milieu contrairement aux bactéries auxotrophes exigeantes en facteurs de croissance (*Salmonella typhi*, *Shigella*). Cette alcalinisation est mise en évidence suite à un virage au bleu.

Même technique que pour le milieu précédant, mais on doit d'abord faire un picage dans le culot de la gélose, puis près de la flamme, introduire à nouveau et très rapidement la pipette pour la charger de suspension, et faire ensuite des stries longitudinaux à la surface de la pente de la gélose.

2.2.3.2.2. Milieux liquides :

✓ **Milieu urée-indole :**

- ✓ **Principe :** C'est un milieu synthétique, utilisé pour la recherche de l'uréase, la tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole. En présence de cette enzyme, l'urée est transformée en carbonate d'ammonium selon la réaction suivante :



Il en résulte une alcalinisation du milieu.

Pour la recherche de l'indole, il suffit de rajouter au milieu urée-indole,ensemencé et étuvé pendant 24h à 37°C, quelques gouttes du réactif de Kovacs.

L'indole est obtenu de la dégradation du tryptophane, grâce à une enzyme bactérienne « la tryptophanase ». (VANDEPITTE *et al.*, 1994).

- ✓ **Lecture :** La présence d'une uréase est indiquée par le virage du rouge de phénol d'un jaune orange à rose ou rouge vif.

- Uréase positive entre 1mn et 15mn : *Protéus morganii*, *Yersinia entérocolitica* ;
- Uréase positive entre 30mn et 4 heures : *Protéus mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri* ;
- Uréase positive entre 6 et 24h : *Klebsiella*, *Enterobacter*,
- Indole positif : formation d'un anneau rouge en surface. (*Le MINOR 1993 et 1989*)
- ✓ **Milieu de Clark et Lubs (Voges-Proskauer)**
- ✓ **Principe** : En général, les bactéries attaquent les glucides selon une voie métabolique normale appelée la voie d'Emden-Meyerhof et produisent des métabolites acides, (virage au rouge du rouge de méthyle) cependant certaines bactéries dites Voges-Proskauer positives, empreintent une voie particulière pour la fermentations des hexoses donnant des produits de dégradation peu acide par rapport à la voie normale (virage au jaune du rouge de méthyle). (*Le MINOR, 1993*)

La réaction VP permet de révéler la présence de ces deux composés : en milieu fortement alcalin, ils sont oxydés en di acétyl : $\text{CH}_3\text{-CO-COCH}_3$ qui en présence des peptones produisent un composé de couleur rose, rouge cerise. (*VANDEPITTE et al., 1994, Le MINOR 1993*).

✓ **Enzymes**

- ✓ **Principe** : les Enzymes décarboxylases (LDC, ODC) et décarboxylases et dihydrolase (ADH)

En anaérobiose, et en présence des ces enzymes, les acides aminés (pH acide du milieu, 3,5 à 5, 5) sont transformés en amines (décarboxylation) avec dégagement de gaz oxyde de carbone (CO_2).

Les enzymes utilisés dans les galeries biochimiques réalisées pour l'identification des souches isolées, présentent toutes un intérêt taxonomique. Nous avons :

- LDC (lysine décarboxylase : transforme la lysine en cadavérine)
- ODC (ornithine décarboxylase : transforme l'ornithine en putrescine)
- ADH (arginine décarboxylase et dihydrolase : transforme l'arginine en agmatine et ornithine). (*VANDEPITTE et al., 1994, Le MINOR 1993, 1989*)

Dans le diagnostic, ces enzymes sont un appui considérable pour les informations fournis par les milieux combinés (urée indole, manitol-mobilité-nitrate).

Pour la recherche de ces enzymes, on a utilisé le milieu Moeller. C'est un milieu semi liquide renfermant l'un des aminoacides cités (lysine ou ornithine ou l'arginine) du glucose et l'extrait de levure et du Bromocrésol pourpre comme indicateur de Ph (jaune pH 5,2, violet pourpre Ph 6,8).

La première réaction est la fermentation du glucose par les Entérobactéries, d'où l'intérêt du milieu témoin, milieu moeller dépourvu d'acide-amino (virage au jaune par l'acidification du milieu), cette acidification va entraîner la deuxième réaction, qui est la décarboxylation par activation des enzymes présentes dans le milieu, d'où alcalinisation (virage au violet) (*Le MINOR 1993 et 1989*).

✓ **Lecture :**

- Coloration jaune : absence d'enzymes. ADH-, ODC-, LDC-
- Coloration violet améthyste : présence d'une décarboxylase. ODC+, LDC+
- Coloration violette franche pour l'ADH, se lit ADH+.

✓ **Milieu Urée-tryptophane (test TDA).**

✓ **Principe :**

Ce milieu ne contient pas de source de carbone utilisable, les bactéries ne pourront pas se multiplier. Trois activités enzymatiques peuvent être recherchées à partir de ce milieu dont la TDA **La tryptophane désaminase (TDA)**, après addition de chlorure de Fer III. Le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole-pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron :



Ajouter le **réactif chlorure de Fer III** (1 goutte) dans un aliquote du milieu Urée Tryptophane ensemencé et incubé.

✓ **Lecture :**

En présence d'acide indole-pyruvique il y a formation d'un complexe acide indole-pyruvique/FeIII qui précipite. La lecture est immédiate.

- Obtention d'un **précipité brun foncé** : **TDA +**.
- **Absence** de précipité : **TDA -**.

2.2.3.2..3. Tests de soutien pour le diagnostic :

✓ **Test ONPG. ONPG-hydrolase. β galactosidase**

- ✓ **Principe** : La présence chez une bactérie de l'enzyme intracellulaire (E), la β galactosidase capable de scinder le lactose en glucose et galactose, n'est pas toujours une preuve de la fermentation du lactose par cette même bactérie, en effet il existe des bactéries ONPG+ et lactose-, ces dernières ne possèdent pas une enzyme ; la β galactoside perméase (P) qui assure la pénétration du lactose dans la cellule bactérienne et par conséquence sa fermentation. Dans le test ONPG, c'est donc l'enzyme (E) qui est recherchée, cette enzyme permet de scinder le composé synthétique , incolore, ONPG (orthonitrophényl- β -Dgalactopiranoside) et libérer l'orthonitrophénol soluble qui donne la coloration jaune .

Toutes bactéries possédant une β galactosidase est automatiquement ONPG+, par contre certaines bactéries en sont dépourvues mais sont favorables pour le test ONPG (ONPG+). (Le.MINOR.1993).

Dans un tube stérile contenant une petite quantité de suspension bactérienne, on y dépose (dans le tube) le disque d'ONPG. Cette opération est facile, il suffit de ne saisir un disque d'ONPG avec la pince stérile.

Incuber pour 24h à 37°C.

- ✓ **Lecture** : La lecture se fait après 18 à 24h d'étuve, (la réaction est d'autant plus rapide, qu'il y a plus de bactéries en suspension). La suspension est colorée en jaune. (VANDEPITTE et al. 1994, le.MINOR. 1993 ; 1989)
- ✓ **Test d'oxydase** :
- ✓ **Principe** : Le but de ce test est la recherche d'un système Cytochrome C des bactéries (oxydase positives), pour cela nous avons utilisé les disques d'oxydase (c) conservés à +4° c, il s'agit de feuilles de papier filtre préalablement plongées dans une solution contenant 1% d'antioxydant (acide L (-) ascorbique), ensuite séchées et découpées à

l'emporte pièce pour former des disques conservés au réfrigérateur à +4° c.
(Le MINOR, 1993) ;

Le test d'oxydase est un bon contrôle pour les bactéries appartenant à la famille des Entérobactériacae, car elles sont toutes oxydases négatives, ainsi que pour le genre *Pseudomonas* qui est toujours oxydase positive.

Sur une lame en verre déposer le disque d'oxydase humecté de deux goûte d'eau physiologique ou d'eau distillée. Par la suite étaler à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée une culture bactérienne obtenue à partir de la gélose.

✓ **Lecture :**

- Réaction positive : l'oxalate de N-diméthyl-paraphénylène-diamine est oxydé par le système cytochrome en donnant une couleur violet foncé en 1 à 10 secondes.
- Réaction négative : absence de coloration ou coloration mauve pale en 60 secondes, (Le MINOR, 1993).

✓ **Test de Catalase.**

Sur une lame propre et séchée déposer une goutte eau oxygénée à 10 volumes puis à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien. Observer immédiatement.

✓ **Lecture :**

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : **catalase +**
- Pas de bulles : **catalase –**

2.2. Effet des produits à base de dattes sur certains des germes isolés.

2.2.1. Préparation des produits testés :

Les dattes utilisées (deglet nour) sont broyées finement puis stérilisées à 120°C pendant 15 minutes.

Nous avons opté pour la préparation des 3 produits (dattes, sirop de dattes et mélange datte+lait) à différentes concentrations (tableau -15-).

Tableau -15- : Différents produits à base de datte testés.

Produit	Dattes	Sirop de datte	Lait	Mélange traditionnel (datte/lait)
Désignation des Concentrations	Dp : 100%	Sp : 100%	Lp : Lait (100%)	Mt1 : 1g datte pour 1 ml lait
	Dd1 : 25%	Ds1 : 25%	Dl1 : 25%	Mt2 : 25% dans lait
	Dd2 : 50%	Ds2 : 50%	Dl2 : 50%	Mt3 : 50% dans lait
	Dd3 : 75%	Ds3 : 75%	Dl3 : 75%	/

Toutes les dilutions (mis à part celle du mélange datte/lait) sont effectuées avec de l'eau distillée stérile.

Selon la disponibilité des milieux de culture, nous n'avons choisi que les germes pathogènes (nous avons éliminé les bactéries lactiques). L'étude de l'effet des trois produits à base de dattes sur ces germes a été évaluée par deux méthodes.

2.2.2. Méthode de diffusion en gélose :

2.2.2.1. Antibiogramme :

✓ *Principe* :

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en gélose qui consiste à évaluer simultanément l'activité inhibitrice de plusieurs anti-infectieux représentatifs des principales familles d'antibiotiques, ainsi que nos trois produits aux différentes concentrations sur une souche bactérienne (isolée et identifiée) pure et fraîchement isolée de moins de 24 heures.

A cet effet, des disques d'antibiotiques sont déposés en surface d'une gélose préalablementensemencée avec une dose calibrée d'une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations dans le milieu de culture sont inversement proportionnelles à la distance

du disque. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les disques sont entourés de zones d'inhibition le plus souvent circulaires, correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

Les antibiotiques correspondants que nous avons utilisés pour chaque germes sont regroupés dans les tableau -14-.

2.2.2.2. Méthode de diffusion :

Cette méthode permet la mise en évidence de l'effet antibactérien des composés testés sur les bactéries isolées de la flore intestinale et quelques souches de référence.

Le principe de cette technique est le même que celui du test d'antibiogramme, dont les disques sont chargés d'extrait et déposés à la surface des milieux de cultures solides et ensemencés par les différentes espèces bactériennes dont on dispose. Chaque produit testé commence à diffuser dès son application sur le milieu de culture, et pour favoriser la croissance bactérienne, ces boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures ou plus selon la bactérie (**figure -15-**).

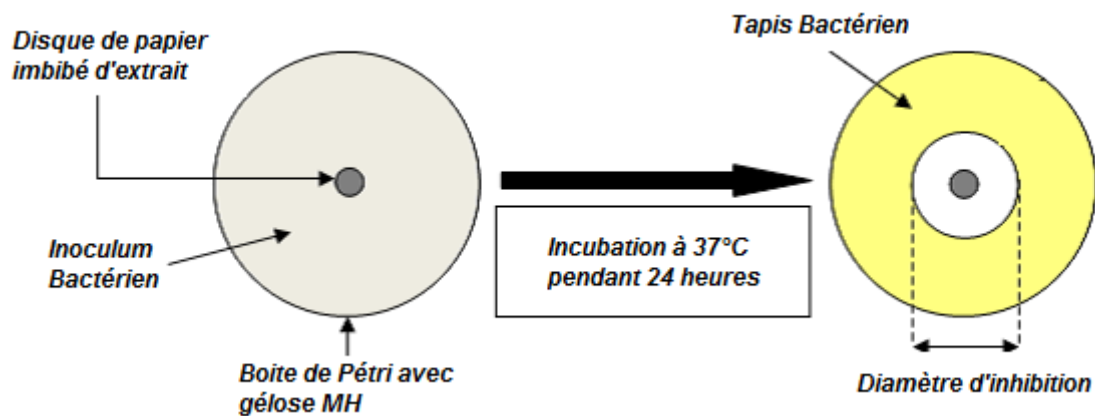


Figure -16- : Principe de la méthode de diffusion par disque.

L'effet des produits à base de datte sur la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une zone appelée « zone inhibition » dépourvue des bactéries. Le même principe est suivi dans notre étude (MADI, 2010).

2.2.2.3. Repiquage des microorganismes pathogènes :

Les bactéries sont ensemencées sur des boîtes de pétri contenant le milieu Muller Hinton (MH) spécifiques et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

2.2.2.4. Préparation des inocula microbiens :

Dans la zone stérile auprès du bec bunsen on inocule une colonie bactérienne depuis les boîtes repiquées à l'aide d'une pipette pasteur dans des tubes contenant de l'eau physiologiques stérile. La concentration (0,5 Mac-Farland) est déterminée avec le densitomètre Mac-Farland.

2.2.2.5. Application du test :

- Dans des boîtes de pétri stérile, le milieu de culture Muller Hinton (MH) est coulé. Laisser pendant 15 min pour se solidifier, sur lequel les microorganismes sont déposées et ensemencées à l'aide d'un écouvillon.
- A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier *WATMAN* (stérilisés au préalable) sont déposés à la surface de la gélose inoculée avec chaque germe au préalable. Un volume de 50µl de l'extrait (datte, lait, mélange datte/lait et sirop des dattes) est déposé sur disques à l'aide d'une micropipette.
- Pour chaque souche pathogène, nous avons déposé 3 disques pour un même extrait ce qui donne 3 essais pour chaque extrait.
- Après 24 h d'incubation à 37°C, nous avons mesuré le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques.
- Ainsi, un antibiogramme pour les souches pathogènes est appliqué en parallèle.

2.2.3. Macro-méthode pour la cinétique de croissance :

Une autre méthode pour l'étude de l'effet antibactérien a été utilisée.

Il s'agit d'une méthode basée sur la lecture de la densité optique (D.O.) au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 650 nanomètre. Cette D.O reflète « la croissance bactérienne ».

Pour cela, nous avons préparé plusieurs tubes :

- La première série contient du BHIB avec le produit à testé à raison de 25%, après centrifugation (dans une centrifugeuse de type *HETTICH 1624*), les surnagants sont récupérés : cette série sert comme blanc.

- La deuxième série, nous avons mis nos produits (dattes à 50%, Sirop de datte 100% et 50% ; datte/lait : 25/75) à raison de 25% dans le BHIB aux quels nous avons ajouté 1ml de culture jeune, pour chaque germe, dans l'eau distillée stérile (0.5 M-ferland).



Figure -17- : Les surnagents pour établissement de la cinétique de croissance des germes de la flore intestinale.

Selon la disponibilité des milieux, nous avons testés les premiers 8 germes isolés de la flore intestinale et identifiés ainsi que quatre autres souches à savoir : *E. coli* ; *P. aerogenosa* ; *B. cereus* et *S. enteritidis* (voir tableau -13-).

La cinétique de croissance bactérienne a été établie par mesure de la densité optique à 650 nm dans un spectrophotomètre UV-visible de type (*Stat-Fax 4500*) de chaque culture toute les 6h et ce pendant 24h.

Chapitre 2
Résultat et discussions

Chapitre 2. Résultats et discussions.

1. Résultats de l'isolement et l'identification des germes de la flore intestinale.

Après ensemencement dans les différents milieux, nous avons observés que les dilutions réalisées avec du BHIB ont présentées plus de germes comparativement aux dilutions faites avec de l'eau physiologique.

Après ensemencement sur les différentes géloses usées, un deuxième repiquage a été réalisé pour avoir des cultures pures à partir des quelles nous avons réalisé un frottis pour l'observation microscopique de la forme et la réalisation de la coloration de Gram.

1.1. Aspects morphologiques :

Dans les conditions favorables à la croissance des différentes bactéries et après une incubation de 24h pour bactéries et de 2 à 5 jours pour d'autres (bactéries lactiques cultivés sur MRS) à 37°C, les résultats obtenus de la culture des trois prélèvements sur les différentes géloses utilisées se traduisent par l'apparition de colonies dont la taille, la forme, la couleur sont regroupés dans le tableau 15.

En effet la coloration des colonies nous donnent deux caractères biochimiques facilement et rapidement identifiables, se sont :

- **Le caractère lactose :** Les colonies colorées sont lactose positif, les colonies incolores sont lactose négatif.
- **Le caractère H_2S :** Les colonies présentant une coloration noire ou un centre noir.

La Coloration de Gram réalisée à partir des colonies apparues, montre la présence de bactéries Gram négatif et Gram positif.

Les différentes bactéries se présentent sous la forme de bacille ou de coques ou incurvées (Tableau 15).

Il est à noté que nous avons attribué un chiffre (de 1 à 11) pour chaque germe isolé ; la provenance de chaque germe peut être résumé comme suit :

- **Prélèvement 1 :** Selles d'un enfant âgé de 5 ans : Germes 1, 2, 3 et 4 ;
- **Prélèvement 2 :** Selles d'un enfant âgé de 3 ans : Germes 5, 6, 7, 8, 9 et 10.
- **Prélèvement 3 :** Intestin de poulet âgé de 7 jours : Germe 11.

Tableau 16 : Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues.


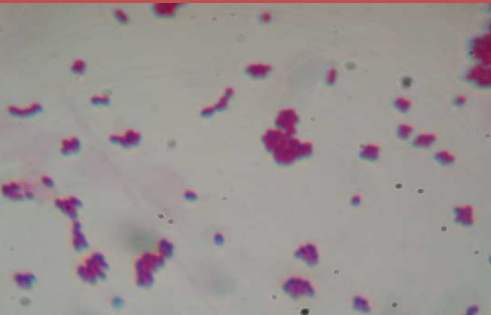
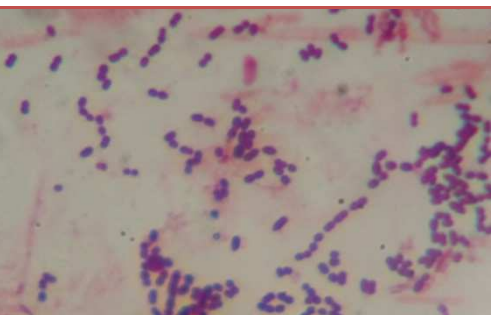
Prélèvement	Germes	Milieux de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Observation au microscope 100 G
1	1	<ul style="list-style-type: none"> • Mac Conkey • Hektoen • MH 	<ul style="list-style-type: none"> • colonies de pigment vert 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille Gram négatif • groupe homogène 	
	2	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen • MH 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies jaune saumon • Lactose+ • H2S- 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille Gram négatif • regroupées en chaîne 	
	3	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose au sang, • Mac Conkey • Hektoen 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies jaunes 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilles • Gram négatif 	

Tableau 16 : Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite 01).


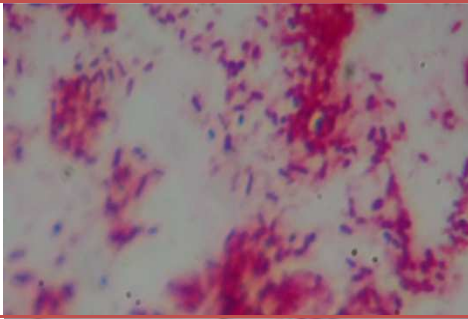

Prélèvement	Germes	Milieux de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Observation au microscope G100
1	4	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen • Gélose au sang 	<ul style="list-style-type: none"> • les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. • les colonies sont jaunes 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille, incurvé • Gram négatif 	
2	5	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies verte à centre noir Les colonies mesurent 1,5 à 3 mm • Lactose – • H₂S+ 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille, immobile. • Gram négatif groupe homogène 	
	6	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen • Gélose au sang • MH 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies brillantes, étalées sur <i>gélose au sang</i>, non hémolytiques, non pigmentées • les colonies sont jaunes sur l'autre milieu 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille incurvé (en vergule). • Gram négatif 	

Tableau16 : Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite 02).

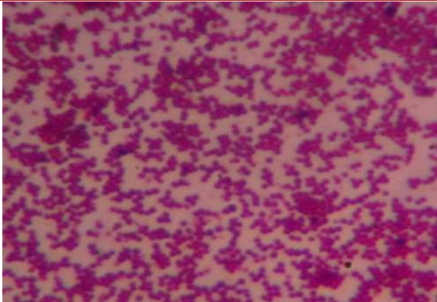

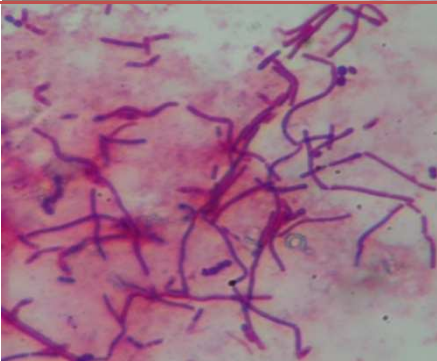
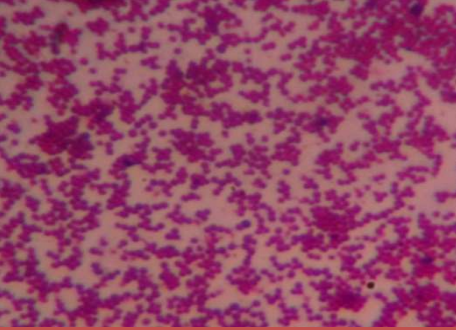
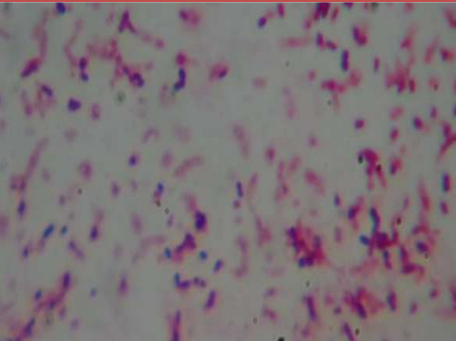
Prélèvement	Germes	Milieux de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Observation au microscope G100
2	7	<ul style="list-style-type: none"> Gélose au sang 	<ul style="list-style-type: none"> formes rectilignes, rondes à bords réguliers Lactose+ 	<ul style="list-style-type: none"> Bacille regroupées en chaine, mobile Gram négatif 	
	8	<ul style="list-style-type: none"> MacConkey Hektoen MH 	Colonies à pigment vert,	<ul style="list-style-type: none"> Bacille Gram négatif 	
	9	<ul style="list-style-type: none"> Gélose MRS 	<ul style="list-style-type: none"> Colonies identique, rondes de couleur blanche crème 	<ul style="list-style-type: none"> Bacille regroupées en chaine Gram positif 	

Tableau 16 : Caractéristiques morphologiques des différentes colonies (germes) obtenues (Suite et fin).

Prélèvement	Germes	Milieux de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Observation au microscope G100
2	10	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose au sang • MH 	<ul style="list-style-type: none"> • coloration bipolaire, rondes, lisses 	<ul style="list-style-type: none"> • Coccobacilles en groupe homogène immobiles • Gram négatif 	
	11	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen • MH 	<ul style="list-style-type: none"> • Lactose- 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilles • Gram négatif 	/
3	12	<ul style="list-style-type: none"> • Hektoen 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies jaune saumon • Lactose+ • H₂S- 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacille • Gram négatif 	

1.2. Orientation des bactéries pour identification par galeries API.

Après plusieurs purifications « repiquages » sur les milieux sélectifs correspondants à chaque germe, les résultats des tests d'identification (basés sur l'oxydase) en vue de l'orientation vers les galeries API 20 E ou API 20NE sont regroupés dans le tableau 17.

En effet toute bactérie Oxydase + a été identifiée par une galerie API 20 NE tandis que chaque bactérie Oxydase négative a été identifiée par une galerie API 20 E.

Pour les bactéries lactiques, nous avons réalisé les tests Oxydase et Catalase seulement.

Tableau 17 : Résultats de tests Catalase, lactose, coloration Gram, Oxydase et Orientation pour l'identification.

1	1	-	+	+	API20NE	-
	2	-	-	+	API20E	+
	3	-	+	+	API20NE	-
	4	-	-	+	API20E	v
2	5	-	-	+	API20E	-
	6	-	+	+	API20NE	+
	7	-	+	+	API10E (galerie classique)	+
	8	-	+	-	API20NE	-
	9	+	+	-	/	/
	10	-	-	+	API20NE	-
	11	-	-	+	API20E	+
3	12	-	-	+	API20E	+

Suite à cette orientation, les différents germes isolés ont fait l'objet d'une identification avec les galeries API, les résultats sont regroupés dans le tableau 18 et illustrés par la **Figure 18**.

Tableau -18- : Résultats de l'identification par galeries API 20NE et API 20E.

API20NE	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLUa	ARAA	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADLa	MLTa	CITa	PACa	OX						
<i>Photobacterium damsela</i> (1)	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+					
<i>Pasteurella pneumotropica</i> (10)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+					
<i>Vibrio</i> (6)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+					
<i>Aeromonas</i> (3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
API20E	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB	McC	OF/O	OF/F
<i>Serratia odorifera</i> (2)	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	?	+	+	?	?
<i>Kluyvera spp</i> (11)	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	?	+	+	?	?
<i>Escherichia coli</i> (12)	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	?	?	?	?	?	?
<i>Enterobacter sp</i> (4)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	?	+	+	?	?
<i>Salmonella spp</i> (5)	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	?	?	?	?	?	?



Germe 1 : *photobactérium damsela* sur API 20NE



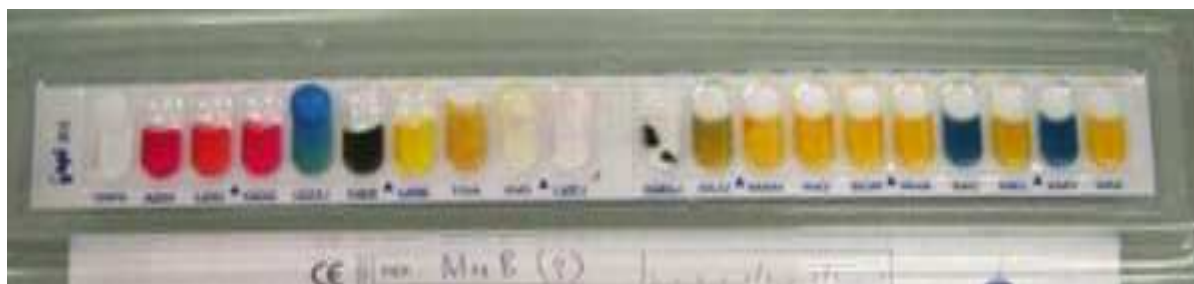
Germe 2: *Serratia odorifera* sur API 20E



Germe 3 : *Aeromonas* sur API 20NE



Germe 4 : *Enterobacter sp* sur API 20E



Germe 5 : *Salmonella spp* sur API 20E

Figure 18 : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries API 20 E et API 20NE.



Germe 6 : *Vibrio* sur API 20 NE



Germe 10 : *Pasteurella pneumotropica* sur API 20 NE



Germe 11 : *Kluyvera spp* sur API 20 E



Germe 12 : *Escherichia coli* sur API 20 E

Figure 18 : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries API 20 E et API 20NE (suite et fin).

1.3. Identification par galerie classique.

Suite à une hésitation, nous avons opté pour une vérification par galerie classique des germes 5.7.8. et 9; Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 18 et illustrés par la Figure 19.

Tableau 19 : résultats de galeries classique (germe 5 et 7).

Germe	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
<i>Plesiomonas shigelloides</i> (<i>Proteus</i>) Germe7)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Salmonella sp</i> (germe 5)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-



Avant incubation



Après incubation (24h à 37°C).

Figure 19 : Résultats de l'identification des germes isolés par les galeries classique.

Il en ressort de toutes ces étapes d'isolement et d'identification morphologique et biochimiques, que nous avons pu isoler les germes présentés dans le tableau 20 à partir de la flore fécale de l'homme (excepté le germe 12 qui provient du poulet).

Tableau 20 : Différents germes isolés et identifiés.

	Germe 1	<i>Photobacterium damsela</i>
Prélèvement 1 : Origine humaine	Germe 2	<i>Serratia odorifera</i>
	Germe 3	<i>Aeromonas sp</i>
	Germe 4	<i>Enterobacter sakazakii</i>
	Germe 5	<i>Salmonella sp</i>
	Germe 6	<i>Vibrio vulnificus</i>
	Germe 7	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
	Prélèvement 2 : d'origine humaine	Germe 8
Germe 9		<i>Lactobacillus</i>
Germe 10		<i>Pasteurella pneumotropica</i>
Germe 11		<i>Kluyvera spp</i>
Prélèvement 3 : Poulet	Germe 12	<i>Escherichia coli</i>

Discussions :

Photobacterium damsela, que nous avons isolé à partir des selles de l'enfant âgé de 5 ans (P1), appartient avec : *Aeromonas sp* (P1), *Plesiomonas shigelloides* (P2) et *Vibrio vulnificus* (P2), à la famille des Vibrionaceae. Tous ces germes sont d'origine humaine.

Les *Photobacterium* n'ont jamais été isolés chez l'homme en situation pathogène (ARCHAMBAUD et CLAVE, 2003) ; il s'agit donc d'un germe qui peut être présent dans l'intestin de l'homme sans être responsable de pathologies –à faible dose-.

Les *Aeromonas* peuvent infecter l'Homme occasionnellement après contact avec eau contaminée, ou ingestion de produits contaminés. Ils provoquent des gastro-entérites pouvant être très sévères. Contamination hydrique et alimentaire.

Chez l'Homme, *Plesiomonas* a été retrouvée dans les selles de sujets diarrhéiques, surtout en zones tropicales. Ce germe est responsable de gastro-entérite, diarrhées du

voyageur : diarrhée aqueuse ou dysentérioriforme rarement fatale. Ils sont liés à l'ingestion de poissons ou de crustacés (ARCHAMBAUD *et al.*, 2009)

On trouve des *Vibrio vulnificu* dans les selles surtout en cas de diarrhées, mais on ne les recherche pas souvent. Il est cependant recommandé, quand une demande de "coproculture" précise que la diarrhée fait suite à l'ingestion de fruits de mer, poissons crus, de rechercher de diverses bactéries halophiles, comme les *Vibrio parahaemolyticus* et les *Aeromonas*. La consommation de produits contaminés provoque des infections sévères : dans les 48 heures à 7 jours suivant la contamination, l'évolution est rapide, favorisée par une pathologie sous-jacente (pathologies hépatiques): leur point de départ est digestif (60%) (KLONTZ *et al.*, 1988 ; LEE *et al.*, 1997).

Vibrio vulnificu peut être responsable de Gastroentérites, et infections sévères (septicémies et infections de plaies). Gastroentérites seraient rares et peu graves, mais probablement sous-estimées.

Pseudomonas sp, de la famille des Pseudomonaceae peuvent être isolés de la flore intestinale humaine ou animale. Il provoque des entérites aiguës après ingestion d'aliments (ou de l'eau) contaminés. Responsable d'atteintes nosocomiales surtout (

Présents dans l'environnement, les *Enterobacter* sont également des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont des pathogènes opportunistes responsables, en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies et de méningites (BRENNER, 1981 ; CARBONNELLE *et al.*, 1987 ; LE MINOR *et* VERON, 1989).

Nous avons trouvé *Enterobacter sakazakii* chez l'enfant âgé de 5 ans, c'est un agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés, ces infections étant beaucoup plus souvent identifiées chez les prématurés que chez les adultes (HAWKINS *et al.*, 1991).

Les personnes les plus à risques sont les nourrissons de moins de 4-5 semaines (LAI, 2001).

Les Salmonelles sont pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*Salmonella typhi*), soit exclusivement pour l'animal (*Salmonella abortus ovis*). Chez l'homme, elles sont responsables de la fièvre typhoïde et de gastro-entérites voir même être mortelle (RABSCH *et al.*, 2001; CRUMP *et* MINTZ, 2010; GRAHAM, 2010).

L'intestin des animaux constitue le réservoir le plus important en salmonelle (DOYLE et CLIVER, 1990). La présence de *Salmonella sp* dans l'intestin de poulet indique un cas pathogène (PILET et al., 1979 ; BRENNER, 1981 ; CARBONNELLE et al., 1987). L'œuf et ooproduits sont les aliments les plus incriminés avec un taux de 47.5% dans le cas de toxoinfection à salmonelles (HAEGHEBAERT et al., 1997).

Le germe 12, présent dans l'intestin de poulet : *Escherichia coli*, comme on l'a trouvé, est une bacille mobile ou immobile, Gram négatif, de la famille des Enterobacteriaceae, elle se multiplie à une température optimale de 37°C (BAKHOUMI, 2004).

Bactérie témoin de la contamination fécale : présente en très grande quantité dans le contenu intestinal. Sa présence dans nos trois prélèvements est normale. C'est l'espèce aérobique la plus représentée (80%) dans le tube digestif (BAKHOUMI, 2004 ; TENAILLON et al., 2010).

La présence de *E. coli* provoque chez l'enfant des gastro-entérites sévères, les gastro-entérites infantiles (céphalées, fièvre, vomissement, diarrhées) (GUIRAUD, 1998). L'infection peut conduire à une affection mortelle ou peut être à l'origine de complications neurologiques (ALLISON, 2005).

E. coli ou «Colibacille» est l'hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud ; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments. Les souches d'*E. coli* responsables d'infections chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobique des adultes et des enfants (CAMILLE, 2007).

Il existe différent pathotype de *E. coli* responsable d'infections intestinale :

- ETEC : *Enterotoxinogen Escherichia coli*, responsable de la « diarrhée des voyageurs » ou « turista » et des syndromes épidémiques dans les pays tiers-monde.
- EIEC : Entero-invasive *Escherichia coli*, encore appelé : *E. coli Shigella-like*, responsable de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale.
- EHEC : *Enterohaemorrhagic Escherichia coli*, responsable de diarrhées sanglantes liée à la production de toxines.
- EPEC : Enteropathogen *Escherichia coli*, responsable de gastro-entérites infantiles (58 : MEHLMAN et al., 1976 ; Pilet et al., 1979 ; 49 : LECLERC, 1993).

Kluyvera spp, Parmi les entérobactéries rares ; ce germe a été isolé à partir de la matière fécale humaine (P2) ; Cette bactérie considérée comme commensale de l'homme semble rare chez l'animal (CASSEL-BERAUD *et al.*, 1989).

La présence de *serratia odorifera* ne peut être liée à une maladie, en effet sa présence est normale dans les selle : elle contamine le pain, les légumes et est donc d'origine alimentaire ; on la trouve normalement dans le tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratia*).

Des cas d'infections à *Serratia odorifera* ont été décrits chez des individus souffrant de pancréatites, d'infections urinaires ou de diverses maladies chroniques.

Jusqu'à récemment, *Serratia* était considéré comme un pathogène surtout nosocomial (ENGEL *et al.*, 2009 ; LAUPLAND *et al.*, 2008). En 2007, une étude effectuée au Canada a montré que dans des infections par des espèces de *Serratia* : Le taux d'isolement de *Serratia odorifera* est de 1 %.

Pasteurella pneumotropica colonise les muqueuses du tractus respiratoire supérieur et du tube digestif des animaux (mammifères, oiseaux) mais rarement de l'homme. C'est un parasite obligatoire, le mode de transmission habituel se fait par simple contact, la survie dans le milieu extérieur est possible mais limitée (DELMAS, 2013). *Pasteurella*, est l'une des bactéries qui sont pathogènes des animaux mais, sont très exceptionnellement, transmissibles à l'homme (GUIRAUD *et al.*, 2003).

Les *lactobacillus* participent à la constitution des flores Commensales: ils se retrouvent dans la bouche, le tube digestif et toutes les parties de l'appareil digestif. Les *lactobacillus* sont considérés comme des bactéries non pathogènes.

Il est à noter que lors de notre recherche, nous n'avons pas comme but de dénombrer les différents germes isolés ; après identification, nous avons mis le point sur l'existence de ces germes (bien que plusieurs autres germes sont normalement présents : exigences de croissances variables aux conditions de croissance de ces germes). La présence d'un germe qualifié de pathogène, n'indique pas que le sujet à partir du quel nous avons obtenue le prélèvement est malade. La pathogénie est liée à la dose du germe présent. CASSEL-BERAUD *et al.*, (1989) et lors d'une de 88 coprocultures ont mis en évidence- l'extrême richesse de cette flore en espèces diverses d'entérobactéries qui sont, pour certaines, impliquées en pathologie humaine *Salmonella* et rares *Kluyvera*.

3. Effet des trois produits à base de dattes sur les germes de la flore intestinale.

3.1. Antibiogramme :

Les résultats de l'étude de l'effet d'antibiotiques sur les certains germes isolés sont représentés dans les tableaux 22 et 23.

Tableau -21- : Germes correspondants aux signes dans les tableaux des résultats de l'antibiogramme.

Signe	Germe correspondant
ATB ₂ /P ₁	<i>Serratia odorifera</i>
ATB ₃ /P ₁	<i>Klyvera spp</i>
ATB ₆ /P ₃	<i>Escherichia coli</i>
ATB ₇ /P ₂	<i>Salmonella sp</i>
ATB ₉ /P ₂	<i>Aeromonas sp</i>
ATB ₁ /P ₁	<i>Photobactérium damsela</i>
ATB ₄ /P ₁	<i>Vibrio vulnificus</i>
ATB ₁₀ /P ₂	<i>Pasteurelle pneumotropica</i>

Tableau 22 : Résultats de l'antibiogramme sur certains des germes isolés

ATB		VALEURS	∅	int	∅	int	∅	int
<i>PSEUDOMONAS et appa</i>		CRITIQUES	ATB ₁ /P ₁		ATB ₄ /P ₁		ATB ₁₀ /P ₂	
AMC	Amoxicilline+Acide Clavulanique	19-25	/	R	/	R	/	R
CAZ	Ceftazidime	16-22	26	S	30	S	24	S
CS	Colistine	≥21	/		/		/	
ENR	Enrofloxacine	15-21	18	S	22	S	17	S
GEN	Gentamicine	21-27	19	/	19	/	17	R

Tableau -23- : Résultats de l'antibiogramme sur certains germes de la flore intestinale.

ATB		Valeurs Critiques	∅	int	∅	int	∅	int	∅	int	∅	int
ENTEROBACTERIES			ATB ₂ /P ₁		ATB ₃ /P ₁		ATB ₆ /P ₃		ATB ₇ /P ₂		ATB ₉ /P ₂	
AMC	Amoxicilline + Ac. Clavulan	18-24	19	S/R	20	S	22	S	21	S	/	R
AMP	Ampicilline	16-22	13	R	11	R	23	S	12	R	/	R
AMX	Amoxicilline	≥21	20	I	19	R	27	S	23	S	/	R
CF	Céfalotine	15-21	16	S	16	S	25	S	19	S	/	R
CHL	Chloramphenicol	21-27	28	S	28	S	33	S	29	S	31	S
CS	Colistine	11-17	/	/	/	/	/	/	/	/		
ENR	Enrofloxacin	32-40	/	R	31	S	/	R	25	R	/	R
NA	Acide Nalidixique	22-28	/	R	27	S	/	R	23	S	/	R
NEO	Neomycine	17-25	17	S	20	S	23	S	21	S	/	R
NIT	Furanes	20-25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
NOR	Norfloxacin	28-35	/	R	33	S	/	R	23	R	30	S
OA	Acide Oxolinique	≥21	/	R	27	S	14	R	26	S	/	R
SXT	Triméthoprime + Sulfam	23-29	/	R	31	S	35	S	27	S	/	R
TCY	Tétracycline	18-25	/	R	/	R	/	R	19	S	/	R
UB	Fluméquine	≥25	/	R	28	S	/	R	30	S	/	S
XNL/ CTX	Ceftiofur/ Cefotaxime	26-31/29-35	25	S	29	S	39	S	32	S	33	S

Le tableau -21- montre que *Photobactérium damsela* (ATB₁/P₁), *Vibrio vulnificus* (ATB₄/P₁) et *Pasteurella pneumotropica* (ATB₁₀/P₁) sont tous résistants à l'Amoxicilline+Acide Clavulanique. Ce dernier germe l'est aussi pour la Gentamicine.

On remarque, à partir du tableau -21- que *Serratia odorifera* (ATB₂/P₁) semble être résistante à l'Ampicilline, Enrofloxacin, Acide Nalidixique, Norfloxacin, Acide Oxolinique, Triméthoprime + Sulfam, tétracycline et fluméquine. *Aeromonas sp.*, est sensible seulement aux Chloramphenicol, Norfloxacin, Fluméquine et Ceftiofur/ Cefotaxime. Les deux autres entérobactéries testées *E. coli*, *Salmonella sp.* Et *Kluyvera sp.* Sont sensibles à plus e la moitié des antibiotiques utilisés.

DELMAS (2013), note que Les *Pasteurella* sont naturellement sensibles aux β -lactamines aux cyclines, fluoroquinolones, triméthoprime-sulfaméthoxazole. La plupart des souches du genre *Serratia* résistent à la céfalotine et aux polymyxines ainsi *Serratia spp.* est sensible à la colistine, alors que *Kluyvera cryocrescens* résistent à l'ampicilline (BELLAOUI et al., 2009).

4. Résultats de l'effet des trois produits à base de datte sur certains des germes isolés (méthode des disques).

Après une incubation à 37°C et pendant 24h des boites ensemencées avec les germes choisis tableau 20, Nous avons opté pour la mesure du diamètre d'inhibition, mais aucun des produits à base de datte n'a présenté une inhibition. Au contraire, certains disques présentaient à leur contour une multiplication de germes.

Les macérés aqueux (datte, sirop de datte et datte/lait) aux diverses concentrations n'ont donné aucune zone d'inhibition avec les souches testées en dépit de leur teneurs considérables en composés phénoliques et même en fructose supposé avoir un effet antibactérien (voir partie bibliographique).

Il est évident que ces extraits sont très riches en sucres y compris le glucose qui est le substrat de choix pour les divers microorganismes ce qui est peut être à l'origine de la multiplication bactérienne massive autour des disques.

Par contre l'examen mené sur le lait seul a montré une inhibition de la souche de référence *S.aureus* avec des diamètres de 16, 18 et 17.5 mm pour les concentrations de 25, 75 et 100% respectivement.

Le galactose, contenu dans le lait, à faible concentration semble être inhibiteur (MOLSKNESS *et al.*, 1973 ; BISSET *et* ANDERSON, 1974).

Woodard *et al.* (1970) et Giuiland *et* Speck (1972), ont décrit une stimulation de la production d'acide qui exerce cette inhibition par l'hydrolyse du lactose.

5. Résultats de la cinétique bactérienne.

Pour cette étude, nous n'avons retenus que trois germes : G1 : *Serratia odorifera* ; G2 : *Escherichia coli* *et* G3 : *Salmonella sp.*

5.1. Cinétique de *Serratia odorifera*.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau -24- *et* illustrés par la figure -20-.

Tableau -24- : Evolution de la densité Optique (D.O.) de la culture de *S.odorifera* dans des milieux à base de datte en fonction du temps.

D.O.	3h	6h	12h	18h	24h
Datte / Lait (25% de datte)	0.222	0.370	0.742	0.628	0.530
Sirop de datte (100%)	0.393	0.547	0.591	0.382	0.484
Sirop de datte (50%)	0.105	0.985	0.902	0.301	0.460
Datte/eau (50%)	0.733	1.302	1.099	0.33	1.200

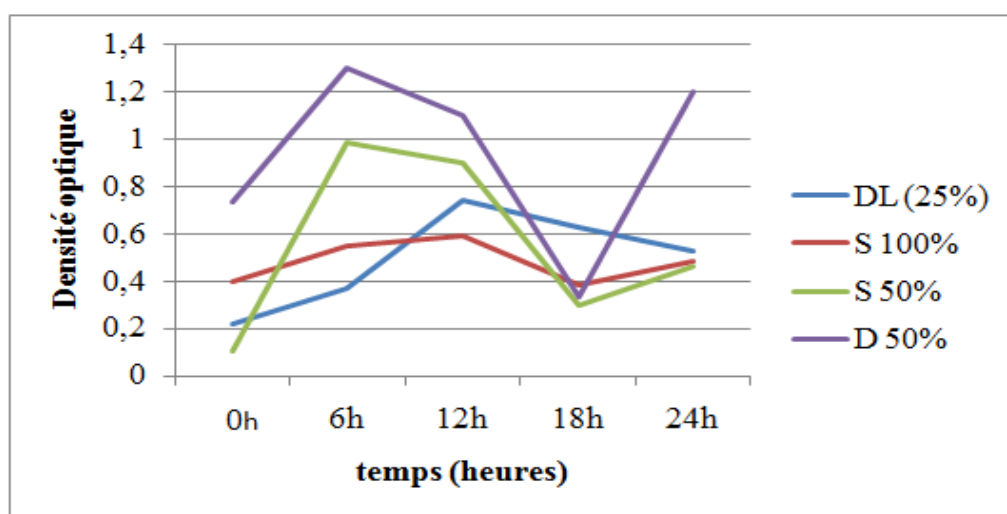


Figure -20- : Cinétique de croissance de *Serratia odorifera* sur quatre milieux à base de datte.

Après analyse de la **Figure -20-** et le **tableau -24-** ; on constate que la croissance de *S.odorifera*, semble être stimulée par les dattes (50%) et les sirops de datte à 50%.

D'une densité de 0.105 après 6h, cette dernière augmente rapidement et mesure 0,985 après 6h.

De là, nous pouvons constater que l'effet inhibiteur est plus marqué dans le sirop de datte à 100% et le mélange datte/lait (25%).

En effet, on observe dans ces cinétiques que la phase exponentielle (de 0h à 6h) et la phase de déclin (6h à 18h) sont bien observées. Après 18h, un pic de croissance est observé ce qui peut être due à une contamination.

Ces observations nous mènent à dire que plus il y'a du sucre dans le milieu, plus l'inhibition est forte. Le galactose, contenu dans le lait, à faible concentration semble être inhibiteur (*MOLSKNESS et al.*, 1973 ; *BISSET et ANDERSON*, 1974).

Une diminution de la densité est observée après 18heures d'incubation. Elle est due à une mort de bactéries ; ainsi après 18h une légère augmentation de la densité est observée : Il s'agit peut-être du cannibalisme qui ne dure que quelques heures plus tard (les bactéries vivantes se nourrissent des bactéries mortes ou présence de cellules mortes dans le milieu

5.2. Cinétique de *Escherichia coli*.

Le tableau -25- et la figure -21- donne les résultats de la cinétique de croissance de *E. coli*.

Tableau -25- : Variation de la densité Optique (D.O.) de la culture de *E.coli* dans des milieux à base de datte en fonction du temps.

D.O.	3h	6h	12h	18h	24h
Datte / Lait (25% de datte)	0.518	0.500	0.436	0.404	0.500
Sirop de datte (100%)	0.163	0.378	0.878	0.194	0.965
Sirop de datte (50%)	0.038	0.790	0.962	0.381	1.328
Datte/eau (50%)	0.466	1.02	1.023	0.869	1.488

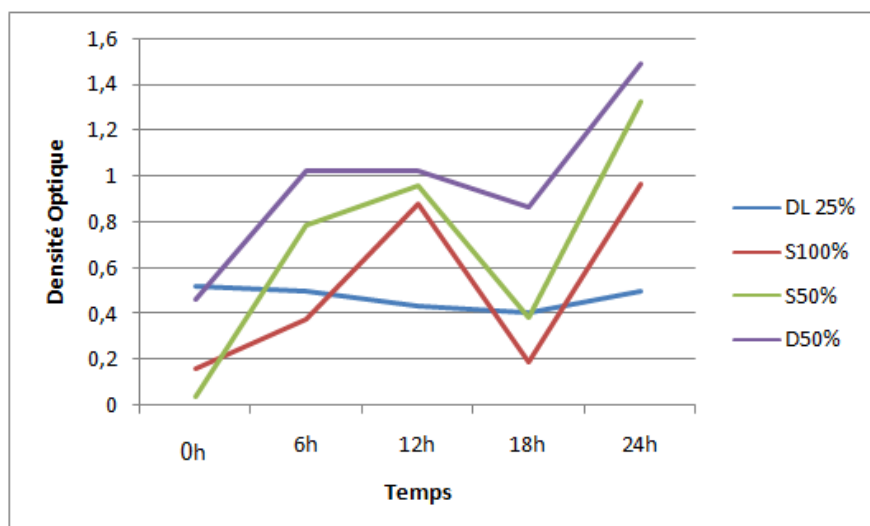


Figure -21- : Cinétique de croissance de *E. coli* sur différents milieux à base de datte.

E. coli, présente une très légère diminution de la densité optique lors de sa culture sur un milieu avec datte/lait (25%). Sur tous les autres milieux, ce germe semble être bien développé.

5.3. Cinétique de *Salmonella sp.*

Les résultats sont rapportés par le tableau -25-et la figure -22-.

Tableau -26- : Evolution de la densité Optique (D.O.) de la culture de *Salmonella sp.* dans des milieux à base de datte en fonction du temps.

D.O.	3h	6h	12h	18h	24h
Datte / Lait (25% de datte)	0.510	0.494	0.373	0.360	0.500
Sirop de datte (100%)	0.271	0.448	0.464	0.303	1.088
Sirop de datte (50%)	0.860	0.948	0.813	0.261	0.938
Datte/eau (50%)	0.440	0.966	0.622	0.498	0.666

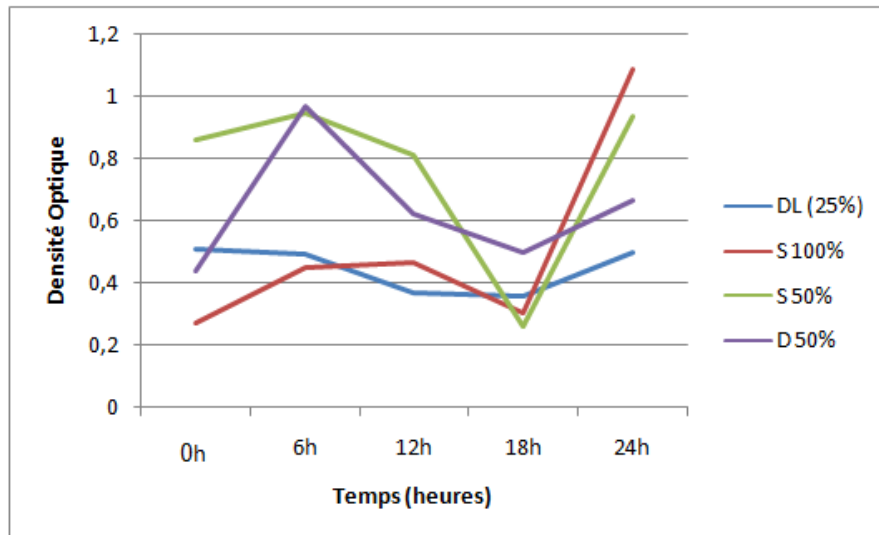


Figure -22- : Cinétique de croissance de *Salmonella sp* sur différents milieux à base de datte.

Comme ses précédents, ce germe se retrouve très bien et se prolifère sur nos milieux testés à base de datte. Même remarque que pour le germe précédent, une légère inhibition s'observe dans le milieu datte/lait à 25%.

La composition des dattes semble favoriser la croissance de ces trois germes, *Serratia odorifera* est très légèrement inhibée par le sirop de datte à 100%, cela peut être due à la libération d'un composé lors de la fabrication de sirop (décoction de dattes).

L'effet inhibiteur a été obtenu avec l'extrait acétone-eau de sirop de datte tunisienne "Deglet-Nour" avec les souches de *S. aureus* ATCC 6538 et *P. aeruginosa* ATCC9027, alors qu'aucun effet n'a été obtenu avec la souche *Escherichia coli* ATCC 8739 (DHAOUADI et al., 2011).

COWAN (1999) a rapporté que les différents polyphénols, essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits de dattes envers les microorganismes.

L'activité antibactérienne du sirop de datte (*robb*) est due à la présence de l'acide caféique, RODRIGUEZ et al., (2007). La variation de la composition chimique des extraits explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne.

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie, ou addition) de différents composés (**Essawi et Srour, 2000**). D'autres études attribuent l'activité antibactérienne aux acides gras saturés contenus dans la variété *Deglet-Nour*.

D'après DAAS AMIOUR *et al.*, 2014, les extraits de polyphénols de trois variétés de dattes se sont révélés actifs sur les germes suivants : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* et *Bacillus spp.*

De son côté, *CHAIRA et al.* (2007) montrent que l'extrait acétonique a un effet bactéricide. Cette divergence dans les résultats peut s'expliquer probablement par le type de solvant utilisé (nous n'avons utilisé que l'eau).

Les polyphénols contenus dans les dattes se caractérisent par des propriétés antimicrobiennes, hypolipidémiques (*VISIOLI, 1999 ; MULINACCI et al., 2001*).

Conclusion

Conclusion.

Dans ce travail, des germes de la flore intestinale ont été isolés à partir des enfants en bas âge vue que nous cherchons à étudier l'effet de certains aliments sur la flore intestinale.

Le travail mené, reflète l'importance et la variabilité de la microflore intestinale, nous n'avons utilisé qu'une seule température d'incubation ; après plusieurs repiquages pour purifier les bactéries ; une identification des aspects morphologiques ; biochimiques par galeries API 20E, galerie API20NE et galerie classique a été faite.

Les résultats obtenus montrent que : *Serratia odorifera*, *Aeromonas sp*, *Vibrio vulnificus*, *Lactobacillus*, *Photobacterium damsela*, *Kluyvera spp*, *Salmonella sp*, *Enterobacter sakazakii*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pasteurella pneumotropica* et *Pseudomonas* ont été isolés à partir des selles humaines.

E. coli a été isolé à partir de l'intestin de poulet.

L'étude de l'effet des dattes ; sirop de datte et le mélange datte/lait sur certains de ces germes isolés nous a conduit à dire que les dattes et sirop de datte n'exercent pas un effet inhibiteur. Au contraire, on observe une augmentation de la croissance.

Le mélange datte/lait a présenté par contre un effet inhibiteur qui peut être attribué au lait.

Référence bibliographique

Références bibliographique

1. **A. BRISABOIS, V. LAFARGE, A. BROUILLAUD, M.-L. DE BUYSER, C. COLLETTE, B. GARIN-BASTUJI & M.-F. THOREL**; Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe : ; *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1), 452-471.
2. **ABEKHTI, (2008)** ; *Évaluation de la méthode traditionnelle de conservation de dattes « Btana » et contribution à l'identification de sa microflore dominante. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biologie Center universitaire de Bechar.*
3. **ACOURENE S., TAMA M., (1997).** *Caractérisation physico-chimique des principaux cultivars de dattes de la région de Zibans. Recherche agronomique (INRAA), 1, 59-66.*
4. **AÇOURENE, S., BUELGUEDJ, M., TAMA, M. ET TALEB, B., (2001),** *Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Zibans. Recherche Agronomique, N° 8. Ed. INRAA, 19-39.*
5. **AIT BELGNAOUI AFIFA (11 DECEMBRE 2006)** ; *Influence d'un traitement probiotique (Lactobacillus farciminis) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique ; these, Docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse ; Qualité et Sécurité des Aliments ; Ecole doctorale : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries.*
6. **AL FARSI, M. A. ET LEE, C. Y., (2008),** *Nutritional and functional properties of dates: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, V. 48, 877–887.*
algérienne. 225 p..
7. **AL-HOOTI S.N., SIDHU J.S., AL-SAQER J.M., AL-THMAN A., (2002)** ; *Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase cellulase enzyme treatment, Food Chem. 79 215–220.*
8. **AL-HOOTI S.N., SIDHU J.S., AL-SAQER J.M., AL-AMIRI H., ET QABAZARD H, 1997A.** *Processing quality of important date cultivars grown in the United Arab Emirates for jam, butter and dates-in-syrup. Adv Food Sci 19(1/2):35–40.*

9. **AL-HOOTI S.N., SIDHU J.S., ET QABAZARD H. 1997B.** *Physicochemical characteristics of five date fruit cultivars grown in the United Arab Emirates. Plant Foods Hum. Nutr. 50:101–113.*
10. **ALKHATEEB A., (2008);** *Comparison effects of sucrose and date palm syrup on somatic embryogenesis of date palm (Phoenix dactylifera L). American journal of biotechnology and biochemistry, King Faisal University, kingdom of Saudi Arabia 4 (1): 19-23.*
11. **ALLISON, H. (2005) ;** *Aide-mémoire: portrait sur Eschdderichia coli.* Rome.
12. **AL-SHAHIB, W., ET MARSHAL, R. J., (2003),** *The fruit of the date palm: it's possible use as the best food for the future. International Journal of the Food Science and Nutrition, 54, 247–259. Australie. .*
13. **AL-SHAHIB, W., MARSHALL, R.J., (2002),** *Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm Phoenix dactylifera L. International Journal of Food Science and Technology, V. 37, 719-721.*
14. **APPERLOO-RENKEMA H.Z., JAGT T.G., TONK R.H., VAN DER WAAIJ D. (1993);** *Healthy individuals possess circulating antibodies against their indigenous faecal microflora as well as against allogenous faecal microflora: an immunomorphometrical study. Epidemiol Infect,111:273-85.*
15. **ANONYME (1999).** High Fructose Syrup. International Starch Institute Science Park Arhus Denmaek, 2 p.
16. **ARCHAMBAUD MARYSE ET CLAVE DANIELLE, (2003) ;** [Fiche technique Bactériologie 033](#) **Laboratoire de Bactériologie CHU Ranguel** EN.FTBAC. 10-10-11.01 Emis le 10 Juillet 2003 Page 2 sur 2.
17. **ARCHAMBAUD MARYSE, DANIELLE CLAVE, DR CATHERINE DELMAS., (2009) ;** [Fiche technique Bactériologie 053 / 091](#) **Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse** EN.FTBAC. 27-08-11.01 Emis avril 2009 Page 3 sur 3.
18. **BALIGA, M.S., (2010),** A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (Phoenix dactylifera L.), Food Research International, 10.1016.
19. **BANDEIRA A., HEUSSER C, TONEGAWA S, COUTINHO A. (1990);** *Localization of gamma/delta T cells to the epithelial epithelium is independent of normal microbial colonization. J Exp Med 172: 239-244.*
20. **BARREVELD W.H.,(1993);** *Date palm products, Bull. Serv. FAO, 101, Roma, Italy.*

21. **BELLAOUI (N.), BELABBES (H.), LAHSOUNE (M.), EL MDAGRHRI (N.), (2009) ; Bactériémies à *Kluyvera* : à propos d'une épidémie dans un CHU au Maroc.** MEDECINE ET MALADIES INFECTIEUSES, vol. 39, n° 2, 2009/02, pages 133-135, 10 réf., ISSN 0399-077X, FRA
22. **BELGUEDJ M., (1996) ;** *Caractéristiques des cultivars de dattiers du Nord-Est du Sahara Algérien.*
23. **BERG R.D. AND SAVAGE D.C. (1975);** *Immune responses of specific pathogen-free and gnotobiotic mice to antigens of indigenous and nonindigenous microorganisms.* *Infect Immun*; 11: 320-9.
24. **BIO MERIEUX. (1982) ;** Produits et Réactifs de Labot, Bactériologie virologie culture cellulaire 1982 Marcy l'étoile 69260 Charbomnières-les Brains/France.
25. **BOOIJ, I., PIOMBO, G., RISTERUCCI, J.M., COUPE, M., THOMAS, D., ET FERRY M., (1992),** *Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (Phoenix dactylifera L.)* *Fruits*, V. 47, n°6, 667-678.
26. **BOUGUEDOURA, N., (1991),** *Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier. Etude in situ et in vitro du développement morphogénétiques des appareils végétatifs et reproducteurs, Thèse de doctorat, U.S.T.H.B., Alger, 201 p.*
27. **BOURDON J.L, MARCHAL N. (1980) ;** *identification biochimique des bactéries, galeries d'orientation Techniques bactériologiques , p : 135.*
28. **BRANDTZAEG P., HALSTENSEN T.S., KETT K., KRAJCI P., KVALE D., ROGNUM T.O., SCOTT H., SOLLID L.M. (1989);** *Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes.* *Gastroenterology*;97:1562-84.
29. **BRENNER, D. J. (1981) ;** *Characterization of biochemically atypical Vibrio cholerae strains and designation of a new pathogenic species, Vibrio mimicus.* *J. Clin. Microbiol.*, 1981, 14: 631-639.
- BUELGUEDJ, M., (1996).** *Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-Est du Sahara algérien, datte. Mémoire d'Ingénieur. Département d'agronomie. Batna, 42 p.*
30. **BUSTON A, FRASER G. (1977) ;** *PhD, in veterinary microbiology, Royal (Dick) School of veterinary Studies) Escherichia p: 93, Salmonella p: 103, Protéus, Klebsiella and Shigella p: 117 Distribution in nature, (1): bactério- mycology, University of Edinburgh.*

31. **BUTTIAUX, BEERENS ET TACQUET, (1974)** ; Bergey's manual of determinative bacteriology. la 8e édition de 1974 additionné de 10 p.
32. **CAMILLE, DELARRAS. (2007)**. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire* (Tec & Doc ed.). Paris: Lavoisier, 476.
33. **CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G., VARGUES R. (1987)** ;Bactériologie médicale. Techniques usuelles SIMEP SA, Paris, 1987 : 87-98 ; 121-136 .
34. **CASSEL-BERAUD A.M., FONTENILLE D. ET RABETAFIKA L (1989)**, Arch. Inst. Pasteur Madagascar, ,56,1,233-239 étude bactérienne, virale et parasitaire d'une population de chauves-souris *chaerophon pumila* a ahjiro, Madagascar.
35. **CHERBUT CHRISTINE ; (2003)** ; *Rapport du groupe de travail « Alimentation infantile et modification de la flore intestinale »* ; Agence française de sécurité sanitaire des aliments,. 40 pages
36. **CRUMP J. A., MINTZ E. D. (2010)**; Global trends in typhoid and paratyphoid fever. Clin. Infect. Dis. 50, 241–246.
37. **D. HEMME, L. VASSAL, Hélène FOYEN et J. AUCLAIR** ; *Institut National de la Recherche Agronomique 78350 Jouy-en-Josas (France)*
38. **DE MAN J.C., ROGOSA M. ET SHARPE M.E.(1960)**; *A medium FOR THE CULTIVATION OF LACTOBACILLI*. J. Appl. Bacterial. 23: 130-135.
39. **DELMAS C., 2013. FICHE TECHNIQUE : *Pasteurella multocida*** ,Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie 3 P.
40. **DELZENNE N. M, AND ROBERFROID MB; (1994)**; *Physiological effects of nondigestible oligosaccharides*. Lebensm Wiss Technol 27: 1-6.
41. **DEVSHONY, S., ETESHOLA, E. ET SHANI, A., (1992)**, *Characteristics and some potential applications of date palm (Poenix Dactylifera L.) seeds and seed oil*, Journal of the American Oil chemists' Society, V. 69, 595-597.
42. **DJERBI, M., (1994)**, *Précis de phoéniculture*. FAO, 192 p.
43. **DJIDEL, A., (2007)**, *Production de l'acide lactique par lactobacillus casei sibsp. Sur jus de datte : cinétique et optimisation en cultures discontinues, semi-continues et continues*, Thèse de Doctora, Université de Nancy, 246 p.
44. **DJOUAB, A., (2007)**, *Essai de formulation d'une margarine allégée à base d'un extrait de dates Mech-degla*. Thèse de Magister, spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès, 102 p.

45. **DOW SON W.H. et ATEN A. (1963).** *Fonctionnaire technique (petites industries agricoles) Sous-Division du génie Rural. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, édition FAO, Rome, 334 p.*
46. **DOYLE M.P. & CLIVER D.O. (1990);** *Salmonella. In Foodborne diseases. Academic Press Inc., 11, 185-204.*
47. **DRASAR B.S. (1974);** *Some factors associated with geographical variations in the intestinal microflora. Soc Appl Bacteriol Symp Ser;3:187-96.*
48. **DRASAR B.S. AND BARROW P. (1985);** *Intestinal microecology. Van Nostrand reinhold, Workingham.*
49. **DUCLUZEAU R. AND RAIBAUD P. (1980) ;***Interest in gnotoxenic systems for the study of host-microbial flora of the digestive tract]. Reprod Nutr Dev; 20:1667-78.*
50. **DUCLUZEAU R. AND RAIBAUD P. (1979) ;** *Écologie microbienne du tube digestif : ces microbes qui nous protègent. Ducluzeau R et Raibaud P (Eds). Masson, Paris. 95p.*
51. **ENGEL, H. J., COLLIGNON, P. J., WHITING, P. T., & KENNEDY, K. J. (2009).** *Serratia sp. bacteremia in Canberra, Australia : a population-based study over 10 years. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 28(7), 821-824.*
52. **ESPIARD, E., (2002),** *Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc-Lavoisier, 360 .p*
53. **ESTANOVE P.,(1990) ;** *Note technique : valorisation de la datte. Options Méditerranéennes, Sér. A /n °11, - Les systèmes agricoles oasiens, p.317.*
54. **EUZEBY J.P. (2003) ;** *Définitions d'une espèce bactérienne les Entérobactériacea, Pseudomonas, Les différentes approches taxonomiques Créé le 15 octobre 2002, Dernière mise à jour le 27 décembre 2003 <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/genomospecies.html>.*
55. **FAGARASAN S., HONJO T. (2003);***Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences. Nat Rev Immunol;3:63-72.*
56. **FARSI, M. A. ET LEE, C. Y., (2008),** *Nutritional and functional properties of dates: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, V. 48, 877–887.*
57. **FAVIER, J.C., IRELAND, R.J., LAUSSUCQ, C. ET FEINBERG, M., (1993),** *Répertoire général des aliments.,Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. ORSTOM Edition, Lavoisier, INRA Editions, 27-28.*

- 58. FINEGOLD S., SUTTLER V. AND MATHISON G.. (1983)** ; *Normal indigenous intestinal microflora. In: Hentges DJ, ed. Human intestinal microflora in health and disease. Academic Press, New-York..*
- 59. GIBSON G.R. AND ROBERFROID M.B. (1995)**; *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr;125:1401-12.*
- 60. GILLES, P. (2000)**, *Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS, 110 p.*
- 61. GORBACH S.I, PLAUT A.G, NAHAS L., WEINSTEIN L., SPANKNEBEL G., LEVITAN R. (1967)**; *Studies of intestinal microflora. II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora. Gastroenterology; 53:856-67.*
- 62. GRAHAM S. M. (2010)**; *Nontyphoidal salmonellosis in Africa. Curr. Opin. Infect. Dis. 23, 409-414.*
- 63. GUIRAUD J.-P. (2003)** ; *Microbiologie alimentaire. Dunod – RIA., 696.*
- 64. HAEGHEBAERT S., DELAROCQUE-ASTAGNEAU E., VAILLANT V. & LE QUERREC F. (1997)** ; *Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1995. Bull. épidémiol., hebd.,(n° spécial, février), 28-30.*
- 65. HANACHI, S., KHITRI, D., BENKHALIFA, A. ET BRAC DE PERRIERE, R.A., (1998)**, *Inventaire variétal de la palmeraie algérienne 225 p.*
- 66. HAWKINS RE, LISSNER CR, SANFORD JP. (1991)**; *Enterobacter sakazakii bacteremia in an adult. South Med J. 1991 Jun; 84(6): 793-5.*
- 67. HOLZAPFEL W.H., HABERER P., SNEL J., SCHILLINGER U. AND HUIS INT VELD J.H. (1998)**; *Overview of gut flora and probiotics. Int J Food Microbiol;41:85-101.*
- 68. ILBERT HELENE ET COLLABORATEURS (2005)** ; *Produits du terroir méditerranéen: Conditions d'émergence, d'efficacité et modes de gouvernance (PTM: CEE et MG) .Rapport final juin 2005.*
- 69. JARADAT A.A ET ZAID A, (2004)** ; *Quality traits of date palm fruits in a center of origin and center of diversity food, agriculture and environment Vol.2 (1): 208-217.*
- 70. JIWAN S.S, (2006)**; *Date Fruits Production and Processing. Handbook of fruits and fruit processing. Edited by Y. H. Hui, 2006, p. 391-407.*
- 71. JOFFIN J-NOËL, (2009)** ; *Feuilles de calcul pour l'identification microbienne Réalisées par CAVALLA, Michel à partir du travail des observations de Jean CAU. Formule de validation remarquable par Didier HIROU.Mise à jour des bases de données : 08-déc 07.*

- 72. KAID K, (2007).**Caractéristiques biochimiques de rob prepare à partir de deux varieties”Mech Degla” et “Ghars”. Mémoire d’Ingénieur. Département d’agronomie. Batna, 39 p.
- 73. KAIDI F., ET TOUZI A., (2001) ;** *Production de Bioalcool à Partir des Déchets de Dattes. Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse, p. 75-78.*
- 74. KHARE, C. P. (2007),** *Indian medicinal plants: An illustrated dictionary : Springer Reference,*
- 75. KICHAH D, (2008) ;** Effet de l’appertisation sur les caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du rob de
- 76. KLONTZ KC, LIEB S, SCHREIBER M, JANOWSKI HT;(1988);** Syndromes of *Vibrio vulnificus* infections : clinical and epidemiologic features in Florida cases, 1981-1987. *Ann Intern Med* 1988 : 109 ; 318-23.
- 77. LAI KK. (2001 MAR) ;** *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. Case reports and a review of the literature. *Medicine (Baltimore).*; 80(2): 113-22.
- 78. LAUPLAND, K. B., PARKINS, M. D., GREGSON, D. B., CHURCH, D. L., ROSS, T., & PITOUT, J. D. (2008).** Population-based laboratory surveillance for *Serratia* species isolates in a large Canadian health region. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 27(2), 89-95. doi : 10.1007/s10096-007-0400-7.
- 79. LE MINOR L, RICHARD. C. (1993) ;***Méthodes de laboratoire pour l’identification des Entérobactéries ; Institut pasteur, publication 1993.*
- 80. LE MINOR L. (1989). ;** *Salmonella.* In *Bactériologie médicale* (L. Le Minor & M. Véron, édit.). Flammarion, Paris, 411-425.
- 81. LE. MINOR . 1989a ;***famille des Entérobactéacéae*
- 82. LECLERC H. (1993).** - Les *Escherichia coli* responsables de diarrhées. *Arch. fr. Pédiatr.*, **50**, 57-67.
- 83. LEE CC. TONG KL, HOWE HS, LAM MS.(1997);** *Vibrio vulnificus* infections : Case reports and Literature Review. *Ann Acad Med Singapore*, 1997 ; 26 : 705-12
- 84. MA/DSAEE, (2001).**Statistiques agricoles : *Superficies et productions.* Ministère de l’agriculture et du développement rural. Série A, pp 5-6.

85. **MAATALAH S., (1970)**; *Contribution a la valorisation de la datte Algérienne. Thèse d'ingénieur en agronomie, institue national d'agronomie, El-Harrach.*
86. **MADI, A. (2010).** *Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. (Thèse de Magister), Université Mentouri Constantine, Faculté des sciences. 116.*
87. **MARTEAU P., POCHART P., DORE J., BERA-MAILLET C., BERNALIER A., CORTHER G. 2001A;** *Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. Appl Environ Microbiol;67 :4939-42.*
88. **MATALLAH M.A.A., (2004)** ; *Contribution à l'étude de la conservation des dates variété Deglet-Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption, Mémoire d'Ingénieur, INA. El-Harrach, 79 p.*
89. **MATSUNAGA T. AND RAHMAN A. (1998);** *What brought the adaptive immune system to vertebrates?—The jaw hypothesis and the seahorse. Immunol Rev;166:177-86.*
90. **MAZOYER, M., (2002),** *Larousse agricole, le monde agricole au XXI ème siècle, Ed. MATHILDE MAJOREL, 224 p.*
91. **MCDONAUGH F.E. & HARGROVE R.E. (1968).** - Heat resistance of *Salmonella* in dried milk. *J. Dairy Sci., 51 (10), 1587-1591.*
92. **MEHLMAN I.J., FISMBEIN M., GORBACH S.L., SANDERS A.C., EIDE E.L. & OLSON J.C. (1976).** - Pathogenicity of *Escherichia coli* recovered from food. *J. Assoc. off. anal. Chem., 59 (1), 67-80.*
93. **MITSUAKA T. (1989);** *Microbes in Intestine. Dans: Ed. Yakult Honsha Co., Tokyo, J.*
94. **MUNIER P., (1973)** ; *Le palmier Dattier, p. 31-32-141.*
95. **MUNIER, P., (1973),** *Le palmier dattier, Ed. MAISONNEUVE, Paris, 221 p.*
96. **NICAISE P., GLEIZES A., FORESTIER F., QUENO A.M., LABARRE C. (1993);** *Influence of intestinal bacterial flora on cytokine (IL-1; IL-6; TNF-alpha) production by mouse peritoneal macrophages. Eur Cytokine Netw;4: 133-138.*
97. **NICAISE P., GLEIZES A., SANDRE C., KERGOT R., LEBREC H., FORESTIER F., LABARRE C. (1999);** *The intestinal microflora regulates cytokine production positively in spleen-derived macrophages but negatively in bone marrow-derived macrophages. Eur Cytokine Netw;10:365-72.*

98. **NOUI, Y., (2007)** ;*Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès, , 62 p.*
99. **PILET CH, J.L.BOURDON, TOMA. B, MARCHAL. N, BALBASTRE. C. (1979)** ;*Les bacilles Gram- : les entérobactériaceae p : 109,117, 141, 142, 121, 161, Bactériologie médicale et vétérinaire – systématique bactérienne- 2eme édition 1979.*
100. **PORTER E.M., BEVINS C.L., GHOSH D.,GANZ T. (2002)***The multifaceted Paneth cell. Cell Mol Life Sci;59:156-70*
101. **POWRIE F., LEACH M.W., MAUZE S., MENON S., CADDLE L.B., COFFMAN R.L. (1994)**; *Inhibition of Th1 responses prevents inflammatory bowel disease in scid mice reconstituted with CD45RBhi CD4+ T cells. Immunity;1:553-62.*
102. **PRYDE S.E., DUNCAN S.H., HOLD G.L., STEWART C.S., FLINT H.J. (2002)**; *The microbiology of butyrate formation in the human colon. FEMS Microbiol Letters; 217: 133-139.*
103. **RABSCH W., TSCHAPE H., BAUMLER A. J. (2001)**; *Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems.Microbes Infect. 3, 237–247*10.1016/S1286-4579(01)01375-2.
104. **RAIBAUD P., DUCLUZEAU R., DUBOS F., HUDAULT S., BEWA H., MULLER M.C. (1980)**; *Implantation of bacteria from the digestive tract of man and various animals into gnotobiotic mice. Am J Clin Nutr;33:2440-7.*
105. **RICHARD, R., (1972)**, *Le précis de la phéniciculture, F.A.O, Tunis, 192 p.*
106. **ROBERFROID M.B., BORNET F., BOULEY C., CUMMINGS J.H.(1995)**; *Colonic microflora: nutrition and health. Summary and conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] workshop held in Barcelona, Spain. Nutr Rev;53:127-30.*
107. **ROMOND M.B., HAMZE M., ROMOND C., BOURLIOUX P. (1990)**; *Host-Bifidobacterium interactions in the axenic mouse: partial characterization of bifidogenic factors in the intestinal contents. Can J Microbiol 36:286-91.*
108. **RUMNEY C.J .AND ROWLAND I.R. (1992)**; *In vivo and in vitro models of the human colonic flora. Crit Rev Food Sci Nutr, 31:299-331.*
109. **SALMINEN S;, BOULEY C;, BOUTRON-RUAULT M.C., CUMMINGS J.H., FRANCK A., GIBSON G.R., ISOLAURI E., MOREAU M.C., ROBERFROID M.B. AND ROWLAND I; (1998)**; *Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Br J Nutr 80 Suppl 1:S147-71.*

110. **SAVAGE D.C;** (1977); *Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Rev Microbiol, 31:107-33.*
111. **SHROFF K.E., MESLIN. CEBRA J.J.** (1995); *Commensal enteric bacteria engender a self-limiting humoral mucosal immune response while permanently colonizing the gut. Infect Immun 63:3904-13.*
112. **SI BENNASSEUR A.,** (2000) ; *Référentiel pour la conduite technique de palmier dattier (phoenix dactylifera L), p.102.*
113. **SIBOUKEUR, O.,** (1997), *Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger, 106 p.*
114. **STROBER W.** (1998) ; *Interactions between epithelial cells and immune cells in the intestine. Ann N Y Acad Sci 859:37-45.*
115. **TAHRAOUI, A., EL-HILALY, J., ISRAILI, Z. H., ET LYOUSSI, B.,** (2007), *Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in southeastern Morocco (Errachidia province). Journal of Ethnopharmacology, V. 110, 105–117.*
116. **TANNOCK G.W.** 1999;*Analysis of the intestinal microflora: a renaissance. Antonie Van Leeuwenhoek 76:265-78.*
117. **TENAILLON, O., SKURNIK, D., PICARD, B., AND DENAMUR, E.** (2010) *The population genetics of commensal Escherichia coli. Nature Reviews: Microbiology, 8(3), 207–217.*
118. **THOMAS HINDRE LE MICROBIOTE INTESTINAL HUMAIN(2004) ;** *Laboratoire Adaptation et Pathogénie des micro organismes thomas.hindre@ujf-grenoble.fr; Dossier Enseignant « A Table » Cap Sciences 2004.*
119. **THOMPSON A.K.,** (2003); *Fruit and Vegetables Harvesting, Handling and Storage. Edited by Blackwell Publishing Ltd, 2003, p. 210-212.*
120. **TOUTAIN, G.,** (1996), *Rapport synthèse de l'atelier "Techniques culturelles du palmier dattier". In Options méditerranéennes, série, n° 28, Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens, Ed. IAM, Zaragoza, Spain, 201-205.*
121. **VANDEPITTE1. J, K. ENGBAER2, P.PIOT3, C.C.HEUK4.** (1994) *Bactériologie clinique: techniques de base pour le laboratoire Prélèvements de matière fécale, écouvillonnage, préparation de suspension de matière fécale, ensemencement des boîtes de gélose. p : 37 : Organisation mondiale de la santé : 1Belgique, 2Danemark, 3Belgique, 4 Suisse.*

122. **VILKAS, M., (1993),** *Vitamines. Ed. Hermann, 158 p.*
123. **YAHIAOUI, K., (1998),** *Caractérisation physico-chimique et l'évolution du brunissement de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger , 103 p.*

Annexe

Annexe 1 : Composition des milieux et bouillons de culture.

Milieu de culture MAC CONKEY

Composition	Gramme/litre
Peptone	20,0
Lactose	10,0
Sels biliaires n°3	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,001
Agar	15,0

pH 7,1±0,2

Milieu de culture HEKTOEN

Composition	Gramme/litre
Protéose peptone	12,0
Extrait de levure en poudre	3,0
Lactose	12,0
Saccharose	12,0
Salicine	2,0
Sels biliaires n°3	9,0
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Citrate ammoniacal ferrique	1,5
Fuchsine acide	0,1
Bleu de Bromothymol	0,065
Agar	14,0

pH 7,5±0,2

Milieu de culture MH (Muller Hinton)

Composition	Gramme/litre
Infusion de viande de bœuf	300,0
Hydrolysate de caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	17,0

Milieu de culture CHAPMAN

Composition	Gramme/litre
Peptones	11,0
Extrait de viande	1,0
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10,0
Rouge de phénol	0,025
Agar	15

Milieu de culture MRS (GELOSE)

Composition	Gramme/litre
Peptone	10,0
Extrait de viande de bœuf	8,0
Extrait de levure	4,0
Glucose	20,0
Tween 80	0,5ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0
Acétate de sodium 3 H ₂ O	5,0
Citrate d'ammonium	2,0
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,2
Sulfate de manganèse 4 H ₂ O	0,05

pH 6,2±0,2

Milieu de culture MRS (BOUILLON) (De Man, Rogasa, Sharpe)

Composition	Gramme/litre
Peptone	10,0
Extrait de viande de bœuf	8,0
Extrait de levure	4,0
Glucose	20,0
Tween 80	1,0ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0
Acétate de sodium 3 H ₂ O	5,0
Citrate d'ammonium	2,0
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,2
Sulfate de manganèse 4 H ₂ O	0,05

pH 6,2±0,2

Milieu de culture BOUILLON CŒUR-CERVELLE

Composition	Gramme/litre
Infusion cœur-cervele	25
NaNO ₃	10

pH = 7,2

Milieu de culture GELOSE AU SANG

Gélose columbia + 0.5 mL sang de mouton défibriné

Annexe 2 : Coloration de Gram

Principe

C'est la coloration de base en Bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Elle est l'un des caractères essentiels de la classification des bactéries.

Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

- La différence de composition chimique de bactéries
- La différence de perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool.

Technique

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et

consistent à :

- fixer le frottis
- (recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute
- (violet de gentiane)
- rejeter le colorant puis laver à l'eau
- recouvrir la préparation de lugol, laisser agir une minute
- rejeter le lugol puis laver à l'eau
- décolorer à l'alcool 95°
- rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée,
- laisser agir quelques secondes
- rejeter la fuchsine, laver abondamment, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres.

Résultat

A la coloration de Gram, on voit des bacilles ou diplobacilles à Gram négatif colorées en rose.

Annexe 3 : Test de catalase

Principe

La catalase est une enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.

Technique

A partir des colonies prélevées avec soin sur la gélose, nous avons réalisé un frottis sur lequel on dépose quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène.

Résultats

La présence de catalase se matérialise par une production de bulles. Les *entérobactéries* sont toutes des catalases positives, à l'exception de *Shigella dysenteriae*.

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont, en général, catalase positive telles que *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*.

Annexe 04 : Réaction des oxydases.

Principe

Cette réaction est recherchée sur des cultures en milieu gélosé exempt de sucres fermentescibles ou de sang. Les bactéries possédant des oxydases en présence de sucres donnent des métabolites qui se combinent avec le réactif utilisé pour donner une coloration variable selon la bactérie.

Technique

La réaction des oxydases se fait à l'aide de disques de commerce prêts à l'emploi, imprégnés d'eau distillée sur lequel on dépose une colonie.

Résultats

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violet à l'endroit où on a déposé la colonie, soit immédiatement, soit quelques secondes après.

En fonction du délai d'apparition de la coloration, on a :

- Entérobactéries (test négatif)
- *Pseudomonas aeruginosa* (test positif après 20 à 30 secondes)

Annexe 05 : Table de lecture pour Galerie API 20^E.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
				Zn / 5 min	
				rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptOPhane)	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β -glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl- β D- galactopyranoside	0,22	β -galactosidase (Para-NitroPhényl- β D- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIpique)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CiTrate)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhényACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

Résumé.

La composition de la microflore intestinale varie en fonction de l'espèce animale et de son alimentation. La flore normale est définie par la présence constante de certaines espèces dans l'intestin.

Dans ce travail, 12 germes de la flore intestinale humaine et animale ont été isolés dont 11 à partir des selles de deux enfants âgés de 5 et 3 ans et un seul germe a été isolé à partir de l'intestin de poulet : *Serratia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Lactobacillus*, *Photobacterium*, *Kluyvera*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* et *E.coli* représentent les germes isolés et identifiés.

L'effet de trois produits à base de dattes sur certains de ces germes choisis d'une façon aléatoire (*Pasteurella*, *pneumotropica*, *Photobacterium damsela*, *Vibrio vulnificus*, *Serratia odorifera*, *Kluyvera* sp. *E.coli* et *Salmonella* sp) a été étudié. Les produits testés sont à base de Dglet-Nour, à savoir dattes en état, sirop de dattes et le mélange traditionnel Dattes/lait à des concentrations de 25%, 50%, 75% et 100%.

Les résultats obtenus montrent qu'aucun produit n'a présenté une inhibition vis-à-vis des bactéries testées. Par contre Ces produits semblent stimuler la croissance des germes étudiés.

Mots clés : flore intestinale, identification, dattes, sirop de dattes, effet sur les germes.

. Summary

The composition of the intestinal microflora varies depending on the animal species and its power supply. The normal flora is defined by the constant presence of particular species in the intestine.

In this study, 12 seeds of human and animal intestinal flora were isolated including 11 from the stools of two children aged 5 and 3 years and a single organism was isolated from chicken intestine: *Serratia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Lactobacillus*, *Photobacterium*, *Kluyvera*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* and *E. coli* are isolated and identified germs.

The effect of three products based on date on some of these germs selected in a random manner (*Pasteurella*, *pneumotropica*, *damsela* *Photobacterium*, *Vibrio vulnificus*, *Serratia odorifera*, *Kluyvera* sp. *E. coli* and *Salmonella* sp) was studied. The tested products are based Dglet-Nour, that date in status, date syrup and traditional mixture Dattes / milk at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%.

The results obtained show that no product inhibition presented vis-à-vis bacteria tested. By cons These products appear to stimulate the growth of organisms studied.

Keywords: intestinal flora, identification, date, date syrup, effect on germs.

ملخص

تكوين الأمعاء الدقيقة يختلف تبعاً للأنواع الحيوانية نمط تغذيتها. يتم تعريف الفلورا الطبيعية من خلال وجود ثابت لبعض الأنواع البكتيرية في الأمعاء. في هذه الدراسة، تم عزل 12 كائن بكتيري معوي للإنسان من البراز لطفلين تتراوح أعمارهم بين 5 و 3 سنوات وتم عزل كائن واحد من أمعاء الدجاج: *Serratia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Lactobacillus*, *Photobacterium*, *Kluyvera*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *E.coli* و *Pseudomonas* وتمثل البكتيريا المعزولة والمعرفة. تأثير ثلاثة منتجات على أساس التمر على بعض هذه الكائنات البكتيرية التي تم اختيارها بشكل عشوائي (*Pasteurella*, *pneumotropica*, *Photobacterium damsela*, *Vibrio vulnificus*, *Serratia odorifera*, *Kluyvera* sp. *E.coli* et *Salmonella* sp)

المنتجات التي تم اختبارها استناداً على دقلة نور وهي التمر، شراب التمر والخليط التقليدي تمر/ حليب ذات التراكيز، 25%، 50%، 75% و 100%. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أنه لا يوجد تثبيط المنتجات اتجاه البكتيريا المختبرة بالمقابل نجد هذه المنتجات تحفز نمو البكتيريا المدروسة.

الكلمات الرئيسية: الفلورا المعوية، المعرفة، تمر، شراب التمر، تأثير على الكائنات البكتيرية.