République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent

Institut des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

- **BELFATMI Sihem Fatima**
- **SOUIDI Fatima Zohra**

Contribution à la caractérisation de la flore du lait maternel et des selles des nouveau-nés d'un échantillon de la population de l'Ouest Algérien.

Encadrant

Mme MOGHTIT Fatima Zohra

Maitre de conférences « B » à C.U.B.B.A.T

Soutenu le 21 Juin 2018

Devant le jury composé de :

Président :	Mr. BAKLI Mahfoud	(MCB)	C.U.B.B.A.T
Examinateur :	Mme .ILIAS Faiza	(MCB)	C.U.B.B.A.T
Encadrant :	Mme MOGHTIT Fatima Zohra	(MCB)	C.U.B.B.A.T
Co-encadrant :	Mme MEZOUARI Soumia	Docteur	C.U.B.B.A.T

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'examiner ce mémoire et de l'enrichir par leurs suggestions.

Nos remerciements les plus respectueux vont à ***Monsieur BAKLIMahfoud****qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury. Veuillez trouver ici Monsieur le témoignage de notre reconnaissance et notre respect le plus profond.*

Nous remercions également ***Madame ILIAS Faiza*** *pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail et de siéger parmi cet honorable jury. Veuillez accepter ce travail, en preuve de notre grand respect et de toutes nos profondes reconnaissances.*

*Nous remercions notre encadreur****Madame MOGHTIT Fatima Zohra****pour ses encouragements et ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Merci madame pour votre aide, votre disponibilité et votre compréhension.*

Nos remerciements s'étendent également à notre co-encadreur ***Madame MEZOUARI Soumaia*** *pour ses explications qui nous ont éclairé le chemin de ce travail. Pour tout ce que vous nous avez donné on vous remercie sincèrement.*

Nos remerciements les plus sincères vont également aux mères qui ont accepté de participer à cette étude, et le staff hospitalier qui a contribué à la réalisation de cette étude. Plus particulièrement à l'équipe de service de bactériologie au niveau de laboratoire de l'hôpital Dr Benzerdjeb surtout ***Mademoiselle Lamia*** *« Merci beaucoup pour vos conseils ».Sans oublier de remercier monsieur le directeur de l'hôpital BENZERDJEB* ***Monsieur YAAGOUBI.M*** *pour son accueil ce qui nous a permis de réaliser la partie pratique.*

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos études.

A toutes et tous, un grand merci !

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers grands parents qui auraient été fière de ma réussite. (Allah yahfadhomalna Inchallah).

A mes très chers parents qui ont été toujours à mes côtés pour leur générosité et leurs sacrifices et me donner le courage pour terminer mes études. Merci beaucoup et je vous aime beaucoup (Allah ykhalikom lya Inchallah).

A ma chère sœur Amina et mes chers frères Mohamed & Fethi (Allah yahfadkom w ykhalikom lya).

A ma petite fille que j'aime Ritedj.

A mes oncles et mes tantes, mes cousins et mes cousines. A toute la famille «SOUIDI».

A tous mes amies sans exception surtout : Soumia, Chahrazed, Oum keltoum, Soumia & Cherifa.

A Dr Mrah & l'infermière Imene « merci beaucoup pour votre aide »

A tous, du fond de mon cœur je vous dédie tous ceux qui me sont chères.

Fatima Zohra

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents :

A ma chère maman …

Que j'adore beaucoup

Et à mon cher papa…

Que j'aime tant,

Sans vous, je ne serai jamais arrivée là où j'en suis.

A mes chers frères Mohammed, Djamel et Samir

A mes chères sœurs Hafida et Mamiya

Qui m'ont toujours soutenu

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fuit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

A mon adorable encadreur : Mme Moghtit Fatima.

A toutes mes chères amies sans exception.

A toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Et à tous ceux que j'aime.

Sihem Fatima.

Résumé

Le lait maternel contient tous les éléments nécessaires pour assurer la croissance et le développement du nourrisson C'est une source potentielle de bactéries qui favorise le bon développement des bactéries de la flore intestinale, intervenant dans la protection contre les maladies et augmentant l'efficacité du système digestif.

Dans ce contexte cette étude consiste à isoler et caractériser la flore du lait maternel et des selles des nourrissons dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Des informations concernant l'âge, le poids, le sexe et le mode d'accouchement ont été recueillis.

Il ressort des résultats une distribution homogène des souches bactériennes entre les échantillons du lait maternel et des selles de nourrissons. Le mode d'accouchement peut jouer un rôle dans la formation du microbiote intestinal.

En somme, les résultats de cette étude préliminaire montrent que le lait maternel contient une diversité bactérienne qui peut jouer un rôle important dans l'établissement du microbiote intestinal chez les nourrissons allaités. D'autres facteurs peuvent aussi influencer ce processus.

Mots clés: microbiote intestinal-lait maternel-selles de nourrissons-bactéries lactiques

Abstract

Human breast milk contains all of the essential elements that are important for growth and development of baby. It is a potential source of bacteria that promotes the establishment of the good flora of infants implicated on the protection from infections and illness.

For this, we characterized bacteria from breast milk and infant feces of the northwest Algerian population. Information on age, weight, sex and mode of delivery were collected.

The results show a homogeneous distribution, between samples of breast milk and infant feces.Comparing the intestinal flora of vagin ally delivered infants and those born by cesarean section a difference of distribution was found for the genus *staphylococcus*.

In conclusion, the results of this preliminary study show that breast milk contains a diversity of bacteria that can play an important role in the infant gut colonization. Other factors may also influence this process.

Keywords: Intestinal microbiote- Human breast milk-Infant feces-Lactic bacteria

الملخص:

يحتوي حليب الثدي على جميع العناصر اللازمة لنمو وتطور الرضيع. وهو مصدر محتمل للبكتيريا التي تشجع على التطور السليم للبكتيريا التي توجد في الفلورا المعوية، وتتدخل في الوقاية من الأمراض وتزيد من فعالية الجهاز الهضمي. في هذا السياق، تتكون هذه الدراسة من عزل ووصف فلورا حليب الأم وبراز الأطفال في عينة من سكان غرب الجزائر. تم جمع معلومات عن العمر والوزن والجنس وطريقة الولادة. تظهر النتائج توزيع متجانس من السلالات البكتيرية بين عينات حليب الثدي وبراز الأطفال. قد تلعب طريقة الولادة دورًا في تكوين ميكروبات الأمعاء. باختصار، تظهر نتائج هذه الدراسة الأولية أن حليب الثدي يحتوي على التنوع البكتيري الذي يمكن أن يلعب دورا هاما في إنشاء ميكروبات الأمعاء عند الرضع الذين يرضعون رضاعة طبيعية. عوامل أخرى قد تؤثر أيضا على هذه العملية.

الكلمات المفتاحية :براز الاطفال –مكروبات الامعاء –بكتيريا حمض اللاكتيك -الرضاعة الطبيعية

Table des matières

Liste des figures……..I

Liste des tableaux….....II

Liste des annexes……III

Liste des abréviations……IV

INRODUCTION…….....2

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le microbiote intestinal……...4

I.1.Définition……...4

I.2. Le développement de la flore intestinale chez le nouveau-né…….5

I.2.1. La période prénatale…….5

I.2.2. la période postnatale……....5

I.3. Les facteurs influençant la flore microbienne digestive……...6

I.3.1. Les facteurs génétiques……....7

I.3.2. L'environnement et les conditions d'hygiène…….....7

I.3.3. Le terme de naissance……..7

I.3.4. Le mode d'accouchement……....8

I.3.5. L'antibiothérapie……..8

I.3.6. Le mode d'alimentation……...8

I.4. Les fonctions du microbiote intestinal……..9

II. L'allaitement maternel……...9

II.1. Définition…….9

II.2. Données épidémiologiques……....10

II.3. Le lait maternel……..11

II.4. La composition du lait maternel……....11

II.5. Les facteurs bioactifs du lait maternel…….....13

II.6. La flore du lait maternel……....13

III. Les bactéries lactiques……....15

III.1. Généralités……....15

III.2. Habitat……..16

III.3. Taxonomie des bactéries lactiques……...16

III.4. Rôles et intérêts des bactéries lactiques……...18

III.4.1. Le domaine agroalimentaire……..19

III.4.2. Le domaine médical……..20

MATERIEL ET METHODE

I. Echantillonnage…….22

II. Isolement et purification des souches bactériennes……..22

II.1. Milieux de culture……..23

II.2. Dénombrement des bactéries lactiques……..23

II.3. Purification……....24

III. Caractérisation phénotypiques des souches bactériennes……...24

III.1. Etude morphologique……....24

III.1.1. Caractérisation macroscopique…….25

III.1.2. Caractérisation microscopique……..25

III.2. Etude biochimique : Test catalase…….…….....25

RESULTATS ET DISCUSSION

I.Résultats…….……..…….....27
I.1. Dénombrement de bactéries lactiques……...……27

I.2. Isolement et identification des souches bactériennes……..……..28

I.3. Caractérisation phénotypiques des souches bactériennes…….....28

I.3.1. Etude morphologique…….....29

I.2.1.1.1. Caractérisation macroscopique……..……..29

I.2.1.1.2. Caractérisation microscopique……..29

I.2.2.2. Etude biochimique :Test catalase ……30

I.3. Comparaison de la distribution des genres bactériens étudiés dans le lait maternel et les selles des nouveau-nés…….31

I.4. Influence de la voie d'accouchement sur la prévalence des genres bactériens étudiés dans le lait maternel et les selles des nouveau-nés……31

II-Discussion……..…31

CONCLUSION ET PERSPECTIVES……..35

ANNEXES……...……37

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES….....44

Liste des figures

Figure 1 : Colonisation naturelle de l'intestin d'un nouveau-né au cours des dix premiers jours de vie……...6

Figure 2 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et les genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S…….....18

Figure 3 : Schéma illustrant le dénombrement des bactéries en milieu solide……....24

Figure 4 : Des colonies isolées sur milieu gélose MRS…….....27

Figure 5 : Aspect macroscopique d'une colonie purifié sur gélose MRS……....29

Figure 6 : Aspect microscopique des lactobacilles et des Lactococcus……...30

Figure7 :Résultat du testcatalase positive……..……....30

Liste des tableaux

Tableau I : Comparaison entre la composition du lait maternel et du lait de vache……..…..12

Tableau II:Résultats de dénombrement des colonies isolées à partir de lait maternel……...27

Tableau III:Résultats de dénombrement des colonies isolées à partir des selles de nourrissons……..…...28

Tableau IV:caractéristiques microscopiques et l'étude biochimique des isolats……...……31

Liste des annexes

Annexe I : Questionnaire…….....38

Annexe II : Les résultats de la description de la population d'études …….39

Annexe III : Composition des milieux de culture (pour 1L d'eau distillée) et produits chimiques (MRS & M17) et Produits chimiques……..40

Annexe IV : Coloration de Gram…….41

Annexe V : Appareillage……..42

Liste des abréviations

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

UNICEF: Nations Children's Emergency Fund

IgA: Immunoglobuline

CFU : Colony Forming Units ou UFC : Unité Formant Colonies

ADN :Acide Désoxyribonucléique

G+C : Guanine / Cytosine

GRAS: Generally Regarded As Safe

ARN: Acide Ribonucléique

PFGE : Pulsed-field Gel Electrophoresis

Rep-PCR :la réaction de polymérisation en chaine utilisant des éléments répétés

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

EPS : Exopolysaccharides

MRS : milieu de Man Rogosa Sharp

M17 : Milieu est utilisé pour dénombrer les Streptocoques lactiques

Introduction

Souvent on associe le mot bactérie aux maladies et aux épidémies qui ont de tous temps marqué l'histoire des sociétés humaines. Et pourtant, ces petites microorganismes ne sont pas toujours nos ennemies, la plupart sont nécessaires à la protection et au fonctionnement de l'organisme.

Notre tube digestif est peuplé par plusieurs centaines d'espèces bactériennes, formant une communauté écologique complexe, désignée sous le nom de flore ou microbiote intestinal (Berg,1996) . C'est la flore la plus importante de l'organisme et son rôle est d'autant moins négligeable car elle exerce non seulement des fonctions métaboliques essentielles à la digestion mais aussi forme une barrière en s'opposant à l'implantation des genres pathogènes.

L'équilibre de cet écosystème intestinal est fragile, de nombreuses causes peuvent entraver le bon déroulement de la digestion et entraîner une dysbiose et une hyperperméabilité intestinale. Un déséquilibre au niveau de l'intestin et de sa flore, a des conséquences fonctionnelles importantes et est impliqué dans de nombreuses pathologies digestives.

Chaque être humain a son propre microbiote. Cependant, l'établissement et la composition du microbiote restent mystérieux malgré de nombreuses études qui donnent des pistes sur l'identité des bactéries présentes et leurs fonctions.

L'implantation du microbiote intestinal à la naissance et sa maturation dans les premières années de vie est une étape cruciale qui conduit à la formation d'une flore intestinale spécifique à l'hôte. Le processus de colonisation microbienne est dynamique, il est influencé par plusieurs facteurs internes et externes qui auront probablement un effet sur la composition du microbiote ainsi que sur la santé de l'individu durant toute sa vie (Hillier et al., 1988).

Ces dernières années, de nombreux chercheurs se sont penchés sur le thème du microbiote et les facteurs influençant son implantation. Car, en ayant des connaissances sur le microbiote à l'état sain, les scientifiques pourront établir de nouvelles méthodes thérapeutiques pour les maladies associées au déséquilibre de la flore intestinale. Ainsi, les microbiotes maternels notamment vaginal et fécal sont les premières sources de bactéries. L'alimentation est aussi un apport quotidien et répété de microorganismes, notamment le lait maternel (M. Olivares, Diaz-Ropero, Martin, Rodriguez, & Xaus, 2006).

Dans cet esprit, nous avons mené cette étude pour déterminer l'impact de différents facteurs l'allaitement maternel, l'âge, le sexe, le poids sur la composition de la flore intestinale des nourrissons dans un échantillon de la population d'Ouest Algérien.

Notre étude consiste à comparer les communautés bactériennes du lait maternel et des selles des nourrissons de la population Algérienne. Pour cela, nous avons isolé des souches bactériennes à partir du lait maternel de 10 femmes et des selles de leurs nourrissons. Ensuite, une caractérisation phénotypique de ses souches a été réalisée.

Revue Bibliographique

I.Le microbiote intestinal

I.1.Définition

Le mot microbiote (du grec *mikros* : petit et *bios* : vie) désigne les espèces microscopiques qui prédominent et/ou sont durablement adaptées à la surface et à l'intérieur d'un organisme vivant. Microbiote dérive de l'anglais microbiota et remplace aujourd'hui les termes désuets de flore microbienne ou de microflore.Le microbiote intestinal est un écosystème complexe qui comprend l'ensemble des êtres unicellulaires hébergés dans le tube digestif, principalement des bactéries mais aussi des virus, des champignons et des archées (Hillier et al., 1988). Après la colonisation du tube digestif de la naissance à l'âge de 2 ans environ, le microbiote intestinal est propre à chaque individu et stable dans le temps. Par ailleurs, il existe un phénomène de résilience, c'est-à-dire le retour à l'équilibre après un événement perturbateur (comme la prise d'antibiotiques par exemple). Si la composition en termes d'espèces est propre à chaque individu, les caractéristiques sont très conservées en termes de composition au niveau des phyla et grands groupes phylogénétiques.

Le microbiote intestinal est composé de 10^{14} micro-organismes réparti en 160 espèces bactériennes chez un individu donné parmi le millier d'espèces qui ont pu être identifiées dans différentes cohortes humaines. Ces bactéries sont réparties en 4 phyla bactériens : firmicutes, bacteroidetes, actinobacteria, et proteobacteria. Les firmicutes et les bacteroidetes constituent les deux phyla dominants du microbiote avec une représentativité respective de60–75 % et 30–40 % (Hooper & Gordon, 2001; Landman & Quevrain, 2016). Cette microflore représente 10 à 20 fois le nombre total de cellules du corps humain (Berg, 1996; Suau et al., 1999) ce qui correspond à environ 2 à 4 millions de gènes si l'on considère le génome global. Les produits de ces gènes confèrent des capacités métaboliques non codées par le propre génome de l'hôte (Hooper, Midtvedt, & Gordon, 2002). La flore digestive possède de très nombreuses fonctions utiles à l'hôte. Elle participe à un certain nombre d'activités fonctionnelles et interfère avec la digestion et l'absorption de certains nutriments. Ce qui fait qu'elle est considérée par certains comme un « organe » caché (Beaugerie & Sokol, 2014).

I.2. Le développement de la flore intestinale chez le nouveau-né

I.2.1. La période prénatale

Auparavant, les chercheurs considéraient que le placenta est stérile au cours d'une grossesse normale et que le fœtus vit dans un état axénique physiologique. Où la présence de bactéries dans les cultures cliniques est un diagnostic pour une infection intra-utérine et un risque important d'accouchement prématuré (Hillier et al., 1988).

Peu d'études ont examiné le microbiote utérin chez les femmes saines ayant des naissances à terme. En effet, la présence de bactéries a été détectée, dans le liquide amniotique et les membranes fœtales de bébés indemnes de toute inflammation. Ces études ont révélé une communauté complexe à faible abondance dominée par les phylas *Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Bacteroidetes* et *Fusobacteria* (Aagaard et al., 2014; Steel et al., 2005).

Il a été constaté que microbiome placentaire ressemble le plus au microbiome oral que celui du vagin et des selles. Cela implique que l'origine des bactéries placentaire n'est probablement pas ascendante ni issue d'une contamination fécale ou vaginale mais plutôt de la cavité orale par propagation hématogène (Aagaard et al., 2014).

I.2.2. la période postnatale

Après la naissance, le bébé est exposé chaque jour à de nombreuses espèces bactériennes, que ce soit dans son environnement ou dans son alimentation (Campeotto et al., 2007). Dès les premières heures de vie, une flore bactérienne dite "normale", physiologique ou saprophyte s'installe : le Streptocoque alpha-hémolytique prédomine au niveau de la gorge ; le Staphylocoque blanc au niveau de la peau, du rhinopharynx et de l'ombilic (Guediche, 1990).

La flore bactérienne digestive est cependant plus complexe ; elle atteint à partir de la 48eheure de vie des taux de 10^8 à 10^{10} micro-organismes par gramme de fèces, chiffres proches de ceux observés chez l'adulte. Les premiers colonisateurs de l'intestin sont les bactéries anaérobies facultatives (telles que: *Escherichia coli, Streptoccocus sp, Staphylococcus sp,Enterococcus sp* et *Lactobacillus sp*). Ces bactéries consomment l'oxygène de la lumière intestinale afin de créer les conditions les plus favorables pour le développement

des bactéries anaérobies strictes (Scholtens, Oozeer, Martin, Amor, & Knol, 2012; Vael & Desager, 2009)**(Figure 1)**.

Après une semaine de vie, les genres anaérobies strictes, tels que : les Bifidobactéries, les Bactéroides et *Clostridium* sont détectés dans les selles des nourrissons. Une flore complexe et stable, proche de celle de l'adulte, semble obtenue entre l'âge de 2 à 4 ans. Le processus de colonisation microbienne est dynamique et conduit à la formation d'un microbiote intestinal spécifique à l'hôte (Scholtens et al., 2012; Yoshioka, Iseki, & Fujita, 1983).

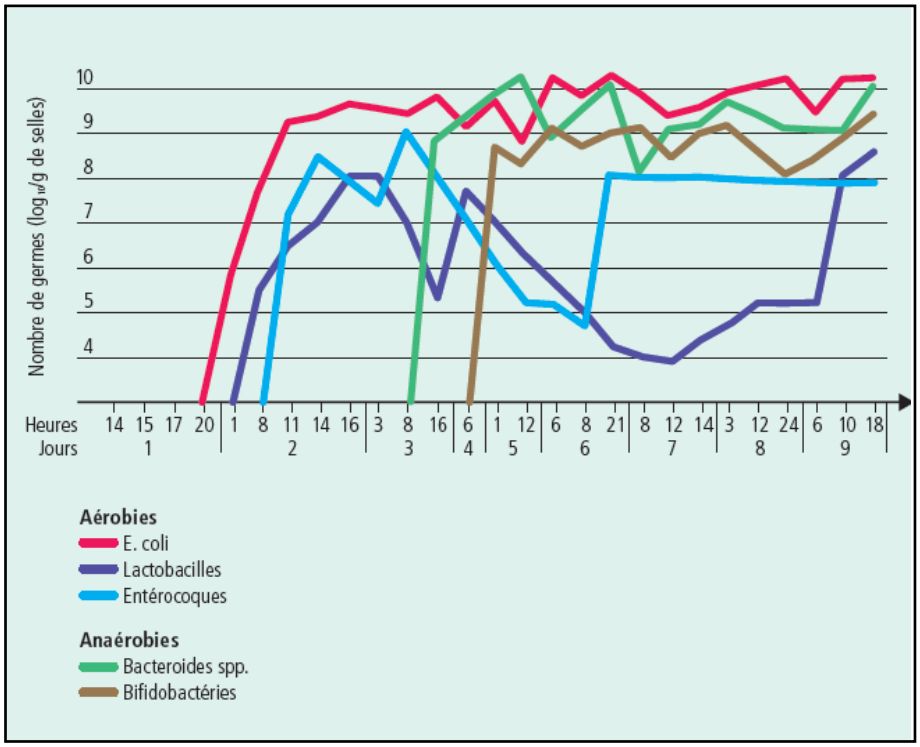


Figure1 : Colonisation naturelle de l'intestin d'un nouveau-né au cours des dix premiers jours de vie.(Hoogkamp-Korstanje, Lindner, Marcelis, den Daas-Slagt, & de Vos, 1979)

I.3. Les facteurs influençant la flore microbienne digestive

De nombreux éléments vont influencer cette cinétique d'implantation et la composition de la flore intestinale du nouveau-né parmi lesquels les facteurs génétiques, l'environnement, l'âge gestationnel, le mode d'accouchement, l'antibiothérapie et le type d'alimentation.

I.3.1. Les facteurs génétiques

La composition du microbiote serait déterminée dès le départ par notre génétique. L'existence d'un effet des caractères génétiques de l'hôte sur la composition de son microbiote a été très tôt suggérée grâce à l'observation des jumeaux qui avaient une flore cultivable très semblable. Ainsi, l'impact des caractéristiques génétiques semble important, la composition de la flore étant plus similaire entre des jumeaux monozygotes (c'est à dire qui proviennent de la division d'un œuf fécondé unique) vivants dans les mêmes conditions et dans le même environnement, qu'entre des personnes partageant le même style de vie mais non apparentées ou génétiquement moins proches (fratrie, parent et enfant, couple). Le génotype déterminerait la susceptibilité de l'individu face à certaines familles de bactéries et favoriserait leur colonisation ou pas, mais il ne peut pas à lui seul conditionner les modifications de la composition de la flore (Rofes, 2014; Stewart, Chadwick, & Murray, 2005).

I.3.2. L'environnement et les conditions d'hygiène

L'environnement peut influencer la colonisation intestinale. Dans les pays industrialisés, les nourrissons naissent et grandissent avec des normes hygiéniques élevées, alors que les nourrissons nés et élevés dans les pays en développement rencontrent des expositions bactériennes plus élevées, ce qui peut avoir des conséquences pour le processus de colonisation intestinale. Il est bien admis que la colonisation par des espèces commensales habituelles, comme *Escherichia coli*, est souvent retardée dans les pays industrialisés comparée aux pays en développement (Nowrouzian et al., 2003).

I.3.3. Le terme de naissance

Chez les nouveau-nés prématurés, deux observations ont pu être mises en évidence. D'une part, un retard de colonisation important par rapport aux enfants arrivés à terme ainsi qu'un nombre réduit d'espèces bactériennes. Si la flore aérobie colonise assez rapidement le prématuré, la flore anaérobie (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*) est retardée. Ce retard

d'implantation peut s'expliquer par le fait que ces enfants sont souvent nés par césarienne, rapidement séparés de leurs mères, placés dans un environnement de soins intensifs très aseptisé et fréquemment soumis à une antibiothérapie à large spectre (Campeotto et al., 2007).

I.3.4. Le mode d'accouchement

Une étude du département de biologie de Puerto Rico a montré que de la composition du méconium prélevé dans les premières 24 heures était déjà très différent entre un nouveau-né accouché par césarienne ou par voie basse. Les enfants nés par voie basse présentaient une flore proche de la flore vaginale de leurs mères (*Lactobacillus*, *Prevotella*) alors que les enfants nés par césarienne présentaient une communauté bactérienne proche de celle de la peau (*Staphylococcus, Corynebacterium et Propionibacterium*) (Dominguez-Bello et al., 2010). Chez le nouveau-né âgé d'un mois, la différence de composition est toujours importante, l'accouchement par césarienne est associé à une plus faible colonisation par des bifidobactéries et *Bacteroides fragilis* et à une plus forte colonisation par des *Clostridiumdifficile* (Biasucci et al., 2010; Penders et al., 2006).

I.3.5. L'antibiothérapie

L'administration orale d'antibiotiques (principalement l'amoxicilline) mais aussi d'antifongiques (le miconazole) à l'enfant pendant le premier mois de vie a montré une diminution du nombre de *Bifidobacterium* et de *Bacteroides fragilis*(Penders et al., 2006). De plus, l'antibiothérapie chez la femme *per partum* (surtout pour la prévention du risque d'infection néonatale par le Streptocoque du groupe B) a montré une augmentation des infections néo natales par des bactéries résistantes à l'antibiotique (Stoll et al., 2002).

Au cours de l'allaitement, les antibiotiques sont administrés pour traiter une infection maternelle. Le choix des antibiotiques va se porter sur des molécules qui s'é1iminent peu dans le lait et qui sont peu susceptibles d'entrainer des effets indésirables pour le nouveau-né. La plupart des antibiotiques passent dans le lait. Le plus souvent, les quantités auxquelles l'enfant est exposé sont faibles et le traitement antibiotique ne constitue pas une contre-indication à l'allaitement.

I.3.6. Le mode d'alimentation

Le mode d'alimentation du bébé joue aussi un rôle important dans l'établissement de la flore digestive. Le lait maternel contient des oligosaccharides bifidogènes qui vont

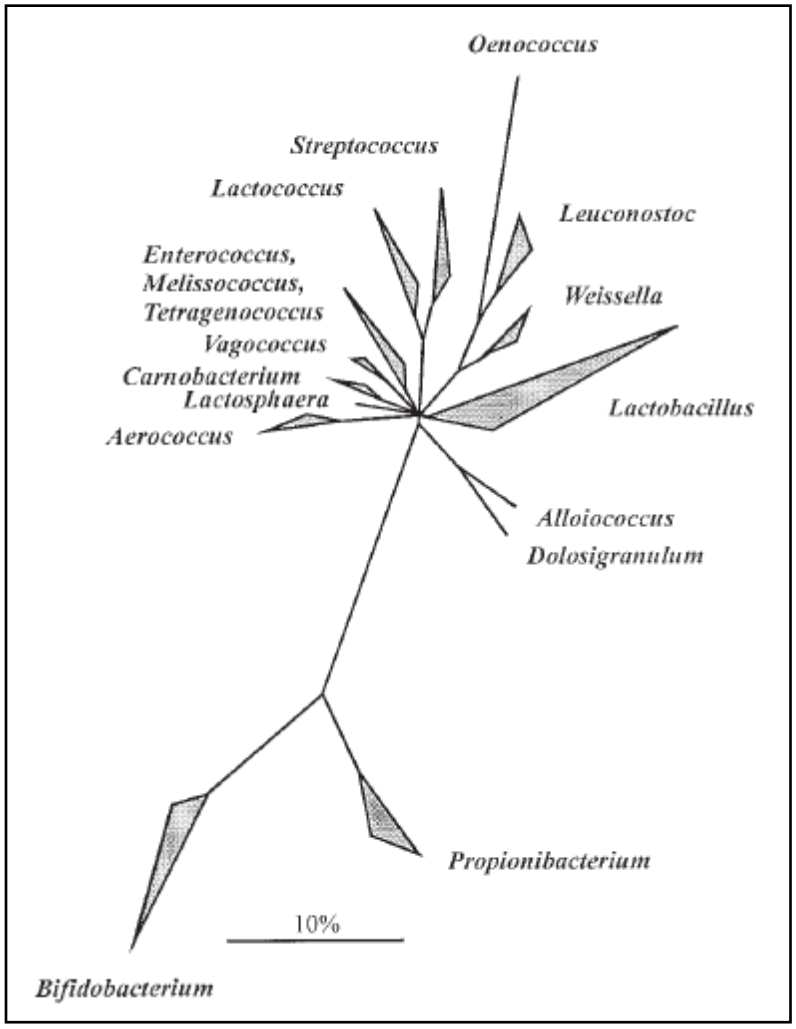


Figure 2 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et les genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S.(Stiles & Holzapfel, 1997)

III.4. Rôles et intérêts des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes utilisés par l'homme depuis fort longtemps, en raison de leurs propriétés métaboliques. Elles sont utilisées pour fermenter les aliments et ainsi, mieux les conserver. Réputées inoffensives pour l'homme, leur usage s'est largement répandu dans l'industrie agroalimentaire. Certaines souches ont même été envisagées pour le traitement de maladies humaines. En effet, le développement de nouvelles technologies de biologie cellulaire ouvre une perspective d'utilisation de ces bactéries comme agents biothérapeutiques (Mofredj, Bahloul, & Chanut, 2007).

III.4.1. Le domaine agroalimentaire

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation d'une grande variété de matières premières d'origines animale ou végétale, conduisant ainsi à de nouveaux produits comme les produits laitiers (laits fermentés, les fromages, les yaourts), la charcuterie (jambon, saucissons), les légumes fermentés (olives, cornichons, choucroute), les boissons alcooliques fermentées et le pain au levain (Axelsson, 2004). Le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (Leveau & BOUIX, 1993).

Le principal atout des bactéries lactiques réside donc dans leur capacité à acidifier les produits alimentaires. L'acide lactique, qui est le produit principal du métabolisme fermentaire, joue un rôle majeur dans la conservation des aliments puisqu'il inhibe fortement la croissance des bactéries pathogènes à bas pH. Outre la diminution du pH par la production des acides organiques, les bactéries lactiques produisent d'autres molécules antimicrobiennes comme le peroxyde d'oxygènes, le dioxyde de carbone (produit par les bactéries lactiques hétérofermentaires) et les bactériocines (Stiles, 1996). Ces derniers sont définis comme des molécules de nature protéique ayant une activité bactéricide à spectre étroit dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice qui possède un mécanisme de protection spécifique. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (Dortu & Thonart, 2009).

Pour les laits fermentés, l'acidification provoque la coagulation du lait et l'augmentation du caillé. De plus, la production d'exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important dans l'amélioration de la texture et la viscosité des produits laitiers (tels que les yaourts) (Duboc & Mollet, 2001).

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, …etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois & Larpent, 1996).

III.4.2. Le domaine médical

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff (Marteau et al., 1990). Selon lui, les lactobacilles pouvaient réduire la putréfaction intestinale, en modifiant la microflore intestinale, et ainsi prolonger la vie (Drouault & Corthier, 2001).

Depuis, un grand nombre d'études sur l'effet potentiel des bactéries lactiques sur la santé ont été publiées. Plus récemment, des études de type pharmaceutique ont été menées à grande échelle dans plusieurs laboratoires afin de démontrer l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé (Elmer, Surawicz, & McFarland, 1996; Hitchins & McDonough, 1989; Vanderhoof & Young, 1998). Seul un petit nombre de bactéries lactiques dont les genres bactériens sont *Lb. acidophilus, Lb. rhamnosus, Lb. plantarum, E. faecium* ainsi que les bifidobactéries a été ainsi étudié.

Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs (Drouault & Corthier, 2001).

Les bactéries lactiques pour lesquelles ces effets sont décrits sont appelées probiotiques. Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants, qui après ingestion, exercent des effets bénéfiques sur la santé allant au-delà des vertus nutritives inhérentes de l'aliment (Fuller, 1989; Schaafsma, 1996).

Matériel et méthodes

I. Echantillonnage

L'étude que nous avons entreprise s'est porté sur des échantillons de lait cru maternel de 10 femmes et des échantillons de selles de leurs nourrissons respectifs allaités exclusivement au lait maternel (moins de 6 mois). Le recrutement s'est fait entre Mars et Mai 2018 et a eu lieu au service bactériologie au niveau de l'hôpital Dr Benzardjeb.

Les sujets sont d'origines algériennes.06 de ces nourrissons sont nés par voie basse, tandis que 04 ont été accouchés par césarienne. Ainsi que 05 sont de sexe féminin et 05 masculins. Ils sont tous nés à terme et n'ont pas été sous antibiothérapie. Tous les participants étaient en bonne santé et sans aucun problème prénatal. Aprés l'accouchement, toutes les mamans ont été sous antibiotique pendant une semaine (Amoxicilline ou Céfazoline).

L'échantillonnage a été effectué dans des conditions stériles. Les échantillons de lait ont été recueillis dans des tubes stériles par expression manuelle en utilisant des gants stériles. Auparavant, le sein de la maman avait été nettoyé à l'eau stérile puis essuyés avec une gaze stérile contenant un gel antiseptique. Les premiers jets ont été éliminés puis le lait a été recueilli dans des tubes stériles. Les échantillons de matières fécales ont été prélevés avec des écouvillons stériles. Les échantillons ont été conservés à 4°C jusqu'à leur livraison au laboratoire et immédiatement traités.

Les mères ont été soumises à un questionnaire retraçant les informations personnelles et les données utiles à notre étude. Sur chaque questionnaire était mentionné le numéro du dossier et le lieu du prélèvement. Celui-ci était accompagné d'un formulaire de consentement éclairé signé par les mères participant à cette étude **(Annexe I)**. Tous les échantillons ont été étiquetés soigneusement portant la numérotation d'enregistrement. Les mères ont été désignés par la mention «M» et les nourissons par la mention «N», suivie d'un numéro correspondant. Toutes les précautions visant le respect de l'anonymat et la confidentialité des informations ont été rigoureusement respectées. Les résultats de la description de la population d'études sont présentés dans **l'Annexe II.**

II. Isolement et purification des souches bactériennes

L'isolement et la purification des souches ainsi que les tests morphologiques ont été réalisés au service de bactériologie dans l'hôpital BENZARJEB. Les souches ont été cultivées sur le milieu MRS (Man-Rogosa-Sharpe, Oxoid)et le milieu M17. Les boites de Pétri gélosé ont été incubées à 37°C en condition d'anaérobie pendant 48-72 heures.

II.1. Milieux de culture

II.1.1. Milieu MRS (de Man-Rogosa-Sharpe)

Le milieu MRS (De MAN, ROGOSA, & ELISABETH SHARPE, 1960) est utilisé pour la culture et l'isolement des bactéries lactiques, en particulier les lactobacilles **(Annexe III)**. Utilisé sous forme liquide ou solide par l'ajout 1% (m/v) de l'agar-agar.

II.1.2. Milieu M 17 :

La gélose M 17 est utilisée pour le dénombrement des streptocoques lactiques (particulièrement Lactococcus Lactis) dans les produits laitiers (**Terzaghi et Sandine, 1975**).

II.2. Dénombrement des bactéries lactiques

Le dénombrement des bactéries lactiques a été effectué sur le milieu MRS. La solution mère a été préparée en prélevant 1 ml (lait cru) ou 1 g (matières fécales) de chaque échantillon qui a été ajouté à 9 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette solution mère, des dilutions sériées allant de 10^{-1} à 10^{-7} ont été effectuées pour le lait cru et à 10^{-10} pour les selles. 0,1 ml a été prélevé de chaque dilution choisie et étalé dans 3 boites de Pétri du milieu MRS. Ensuite, les boites étaient incubées à 37°C en condition d'aérobie pendant 48-72 heures **(figure 3)**. Les colonies ont été comptées pour chaque dilution pour déterminer le nombre d'UFC/ml pour le lait cru et d'UFC/g pour les selles en utilisant la formule suivante :

UFC/ml = nombre de colonies x 1/Ve x 1/D

UFC : Unités formant colonies

Ve : le volume d'ensemencement

D : la dilution prise en compte.

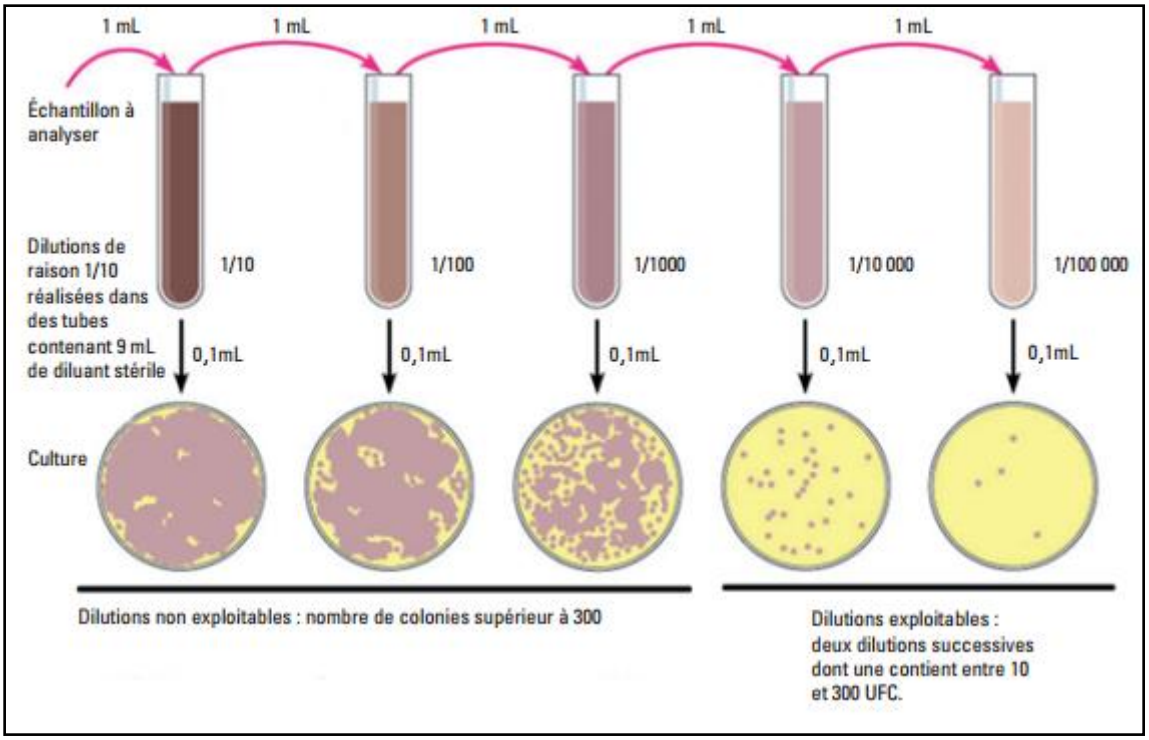


Figure 3 : Schéma illustrant le dénombrement des bactéries en milieu solide.

Tiré du site : (http://microbeonline.com/pour-plate-method-principle-procedure-uses-dis-advantages/)Mise à jour du : 16/10/2016.

II.3. Purification

Les colonies isolées sont repiquées sur milieu solide pour la purification. La pureté des souches est vérifiée par l'observation macroscopique ; l'aspect des colonies (forme, couleur, taille) et l'aspect caractéristique de la culture des bactéries lactiques en milieu liquide. Mais la pureté des cellules doit être impérativement contrôlée par observation microscopique ; la forme des cellules qui doit être identique dans toute la lame ainsi que le Gram.

III. Caractérisation phénotypiques des souches bactériennes

III.1. Etude morphologique

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué pour identification des bactéries. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic.

III.1.1. Caractérisation macroscopique

Ce test permet en première étape de voir la morphologie des colonies obtenues sur gélose (taille, couleur, forme et l'aspect).

III.1.2. Caractérisation microscopique

Un frottis destiné à la coloration de Gram est préparé à partir d'une colonie bien isolée. Une fois réalisé, il est observé au microscope optique **(Annexe IV)**.

La coloration de Gram permet de classer les bactéries en deux grandes catégories : les bactéries Gram positif qui garde leur coloration violette après décoloration par l'alcool et les bactéries Gram négatif décolorées par l'alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses. Ceci permet aussi, la mise en évidence de la morphologie des cellules et le mode de regroupement (Coico, 2001). Les bactéries lactiques fixent le violet de gentiane, elles sont Gram positif et donc donne une couleur violette.

III.2. Etude biochimique : Test catalase

La catalase est mise en évidence en émulsionnant la colonie bactérienne à tester sur une lame, dans l'eau oxygénée (H_2O_2) à 10 volumes. La présence d'une catalase, enzyme capable de dégrader l'eau oxygénée, se manifeste par l'apparition des bulles d'oxygène abondantes dans l'émulsion (Stiles & Holzapfel, 1997). La réaction biochimique réalisée est la suivante :

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow[\text{Catalase}]{} 2\,H_2O + O_2$$

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Dénombrement de bactéries lactiques

Le dénombrement des bactéries lactiques est obtenu sur le milieu MRS**.** Les valeurs moyennes du comptage oscillent selon la nature de l'échantillon, avec une différence significative : de 2.10^2 à $9{,}2.10^5$ UFC/ml pour les échantillons de lait maternel et de 6.10^2 à $35.\ 10^5$ UFC/g pour les échantillons de matières fécales des nourrissons.

Figure 4 : Des colonies isolées sur milieu gélose MRS.

Tableau II : Résultats de dénombrement des colonies isolées à partir de lait maternel.

Echantillons	**E_1**	**E_2**	**E_3**	**E_4**	**E_5**	**E_6**	**E_7**	**E_8**	**E_9**	**E_{10}**
10^{-1} UFC/ml	$9.\ 10^2$	$5.\ 10^4$	$2.\ 10^2$	8.10^5	$8{,}2.10^2$	7.10^2	$9{,}2.10^5$	/	4.10^3	$3{,}3.10^2$
10^{-2} UFC/ml	ABS	$5{,}5.10^4$	ABS	$7{,}4.10^4$	ABS	ABS	8.10^4		$3{,}1.10^2$	ABS
10^3UFC/ml	ABS	$1{,}3.10^4$	ABS	5.10^3	ABS	ABS	$6{,}7.10^3$		ABS	ABS

/ :Indénombrable ABS :Absence

Tableau III: Résultats de dénombrement des colonies isolées à partir des selles de nourrissons.

Echantillons	**E_1**	**E_2**	**E_3**	**E_4**	**E_5**	**E_6**	**E_7**	**E_8**	**E_9**	**E_{10}**
10^{-1} UFC/ml	2.10^3	78.10^4	105.10^3	/	10^4	230.10^4	/	/	35.10^5	/
10^{-2} UFC/ml	14.10^2	25.10^3	32.10^3		2.10^3	47.10^3			23.10^4	
10^{-3} UFC/ml	ABS	9.10^3	6.10^2		53.10^2	127.10^2			279.10^2	

/ :Indénombrable

I.2. Isolement et identification des souches bactériennes

I.2.1. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes

Des colonies de morphologies différentes ont été isolées à partir des échantillons de lait maternel et des selles de nourrissons et ont été examinées au microscope optique pour déterminer la morphologie cellulaire ainsi que la réaction à la coloration de gram. Les tests de l'activité catalase et oxydase ont été réalisés par la suite.

A partir des résultats obtenus nous avons sélectionné et purifié 20 souches différentes(9 à partir des échantillons de lait maternel et 10 à partir des échantillons des selles de nourrissons).

I.2.1.1. Etude morphologique

I.2.1.1.1. Caractérisation macroscopique

Après 48h à 72h d'incubation, la croissance bactérienne est visible à l'œil nu, et représentée sous forme de colonies bactériennes à la surface des milieux gélosés.

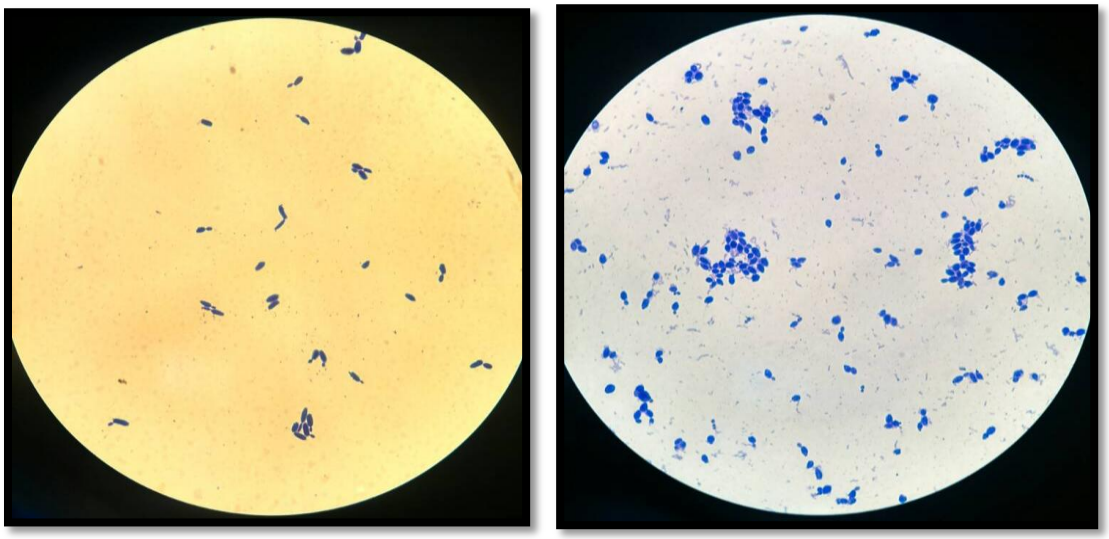
Sur le milieu MRS, les colonies isolées mesurent environ 1,3 mm et avec une surface lisse, elles sont de couleurblanchâtre, de formes rondes parfois bombéesavec un contour régulier ou non (**figure 5**). Il y a aussi l'aspect de colonies de forme irréguliers gluantes et d'une couleur crème.

Sur la gélose M17 nous avons obtenudes colonies lenticulaires de couleur jauneclair, des colonies rendes parfois bombées de couleur blanchâtre soit de taille variable de 1,2 mm et avec une surface lisse, parmi lesquelles on trouve des colonies a conteur régulier ou non.

Figure 5: Aspect macroscopique d'une colonie purifié sur gélose MRS.

I.2.1.1.2. Caractérisation microscopique

Après la coloration de Gram, l'observation microscopique montre que les souches étudiées étaient des bactéries Gram positif avec deux formes de cellules Cocci et bâtonnets (**figure 6**).



Lactobacillus **Lactococcus (*Staphylococcus*)**

Figure 6 : Aspect microscopique des lactobacillus et des Lactococcus.

I.2.2. Etude biochimique:Test catalase

A partir des souches étudiées, 20 souches (10 du lait maternel et 10 des selles de nourrissons) ont réagi au contact de l'eau oxygénée par effervescence du au dégagement du O_2 (Figure 06) ; elles sont catalase positive. Les souches restantes (7 du lait maternel et 7 des selles de nourrissons) qui n'ont donné aucune réaction ; elles sont catalase négative **(Tableau IV)**.

Figure 7 : Résultat du test catalase positive.

Tableau IV : Caractéristiques microscopiques et l'étude biochimique des isolats.

	Morphologie		**Gram**		**Catalase**
	Cocci	*Bacille*	+	-	-
Lait maternel (n=1, 3, 4,7,9)	Cocci		+		-
Lait maternel (n=8, 10)		Bacille	+		-
Selles de nourrissons (n=1, 3, 7, 9)	Cocci		+		-
Selles de nourrissons (n=4,8, 10)		Bacille	+		-
			+		-

I.3. Comparaison de la distribution des genres bactériens étudiés dans le lait maternel et les selles des nouveau-nés

En comparant la flore du lait maternel et des selles de nourrissons, aucune différence dans les taux de colonisation des deux genres des bactéries étudiés (*lactobacillus, lactococcus*) n'a été observée.

Cela signifie qu'il existe une distribution homogène de ces genres dans ces deux environnements.

I.4. Influence de la voie d'accouchement sur la prévalence des genres bactériens étudiés dans le lait maternel et les selles des nouveau-nés

Quatre nourrissons étaient nés par voie basse, tandis que six étaient accouchés par césarienne.

La flore fécale des nourrissons nés par voie vaginale a été comparée à celle des nourrissons nés par césarienne.Il y'avait une différence dans la distribution des genres bactériens où le genre des *Staphylococcus* était plus élevé chez les nourrissons nés par césarienne tandis que le genre Lactobacillus était plus élevé chez les nourrissons nés par voie basse.

II .Discussion

La flore ou microbiote intestinal est l'ensemble des micro-organismes (principalement des bactéries) qui colonisent le tube digestif humain. Chaque individu possède un microbiote intestinal unique, car de nombreux facteurs influence son développement et sa composition. En effet, dès la naissance, des micro-organismes extérieurs envahissent le tube digestif suite aux premiers contacts de l'enfant avec son environnement. L'enfant en bas âge présente ainsi dans ses premières années un microbiote intestinal de plus en plus diversifié et complexe qui se stabilise vers l'âge de 2 à 3 ans. Ce processus de « colonisation » microbienne pourrait profondément influencer l'état de santé tout au long de la vie.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'impact de certains facteurs sur l'établissement de la flore intestinale chez les nouveaux nés, essentiellement l'allaitement maternel. Pour cela, nous avonsisolé et caractérisé les bactéries lactiques du lait maternel et des selles des nouveau-nés de la population de l'Ouest algérien.

Deux souches bactériennes ont été identifiées au niveau du genre*Lactobacillus* et *Staphylococcus*, isolées à partir du lait maternel et des selles des nourrissons de la population d'Ain Temouchent. La caractérisation phénotypique nous a permis d'avoir une première image de la diversité bactérienne au sein des échantillons étudiés.

Les résultats montrent qu'il y a une distribution homogène des genres étudiés dans le lait maternel et les selles des nourrissons. Nos résultats sont en accord avec des études antérieures indiquant que la composition bactérienne du microbiote fécal du nourrisson allaitant reflète généralement celle du lait maternel (V. Martin et al., 2012).

Nous avons constaté que *Staphylococcus* est prédominant dans le lait maternel (80%) et dans les selles des nourrissons (50%). Plusieurs études ont montré que *Staphylococcus* était le genre prédominante dans le lait et les selles des nourrissons nourris au sein alors qu'il était moins répandu dans ceux des nourrissons nourris à la formule (Jimenez et al., 2008; V. Martin et al., 2012). Cela suggère que le régime peut affecter la composition du microbiota intestinal. En outre, le lait maternel contient non seulement des bactéries potentiellement probiotiques mais aussi des prébiotiques capables de stimuler la croissance des probiotiques (Thurl et al., 2010). Des études récentes ont montré que le lait maternel contient des bifidobactéries (Gueimonde, Laitinen, Salminen, & Isolauri, 2007). En effet, une étude algérienne a montré que le nombre de bifidobactéries atteignait $26{,}10^9$ UFC / g dans les selles des nourrissons allaités (HADADJI, BENAMA, SAIDI, HENNI, & KIHAL, 2005). Dans notre étude, nous n'avons pas pu isoler les bifidobactéries, ce fait est probablement dû à leurs besoins de croissance exigeants. En fait, le milieu MRS favorise la croissance de bactéries lactiques, en particulier les *Lactobacillus*. Le milieu M17 est un milieu sélectif pour l'isolement des streptocoques lactiques. L'utilisation de techniques de culture dépendante a limité la capacité à explorer le microbiote car la plupart des bactéries intestinales nécessitent des conditions anaérobies strictes pour la croissance ou ont des besoins nutritionnels spécifiques.

L'incidence de *Staphylococcus* peut être liée au sexe avec un taux élevé chez les garçons. Peu de travaux portent sur la différence de composition de la flore intestinale entre les deux sexes. Selon une étude récente sur les enfants américains, les nourrissons de sexe féminin ont tendance à avoir une plus grande diversité bactérienne peu après la naissance. De plus, les filles sont susceptibles d'avoir une plus grande abondance de *Clostridies* et moins d'*Entérobactéries* que les garçons (Cong et al., 2016). Une autre étude sur des enfants caucasiens à mentionner que les espèces *Bactéroides* étaient moins abondantes chez les garçons que chez les filles (Kozyrskyj, Kalu, Koleva, & Bridgman, 2016)

Le mécanisme associant le microbiote au sexe est mal connu. Il a été postulé que les hormones liées à chaque sexe pourraient influencer la composition du microbiote intestinal en favorisant la présence de certaines souches bactériennes au détriment des autres. Il se pourrait aussi que le système immunitaire, dont le fonctionnement diffère entre mâles et femelles, détermine le type de microbes logés dans le microbiote intestinal (Gomez, Luckey, & Taneja, 2015). De récentes études sur des modèles animaux ont montré qu'il existe une différence dans la réponse des mâles et femelles au régime alimentaire, pathologies et probiotiques (Karunasena, McMahon, Chang, & Brashears, 2014). De plus, d'autres études ont montré que la production de cytokines est significativement différente entre les rongeurs males et les femelles dans le côlon, le cecum et le foie dans les conditions normales ou expérimentales. De même, une différence dans la production des acides gras de courte chaine par les tissus du côlon, en effet, les souris male produisaient en grande quantité le butyrate et l'acétate et les femelles en produisaient beaucoup plus l'o-phosphocholine ou l'histidine (Karunasena et al., 2014). Ces nouvelles découvertes suggèrent que les biais sexuels dans les communautés bactériennes fécales pourraient être influencés par les activités métaboliques et immunitaires spécifique au sexe, ainsi que par l'immunorégulation dans les tissus gastro-intestinaux. Cependant, l'influence de ces mécanismes spécifiques au sexe au début de la vie reste encore inconnue.

Nos résultats montrent que la prévalence des genres bactériensest dépendant du mode d'accouchement par voie basse ou par césarienne. En effet, il a été rapporté que les nourrissons livrés par voie vaginale ont acquis des communautés bactériennes ressemblant au microbiote vaginal de leur mère, dominé par *Lactobacillus, Prevotella ou Sneathia spp.,* et les nourrissons nés par césarienne présentaient des communautés bactériennes semblables à celles trouvées sur la surface de la peau, dominées par *Staphylococcus, Corynebacterium et Propionibacterium spp*(Dominguez-Bello et al., 2010).

Conclusion et perspectives

Le développement de l'homme, dans la santé et la maladie, se fait de pair avec le développement de son microbiome. Comprendre les facteurs qui influent sur les changements de composition et de fonction des communautés bactériennes aidera à concevoir des thérapies qui ciblent le microbiote intestinal en tant qu'organe humain. Cet objectif est difficile en raison de la grande diversité d'espèces, des variations interindividuelles et des fluctuations temporelles de la composition, en particulier au cours de son implantation.

La composition et les variations des microbiotes sains ainsi que la dynamique d'installation des communautés pendant l'enfance et les modifications physiologiques durant la vie sont des connaissances indispensables pour comprendre le rôle du microbiote dans l'état de maladie.

Dans la présente étude, nous avons caractérisé certaines espèces appartenant au lait maternel et aux selles nourrissons allaités. Nous avons constaté que certaines paires mère-nourrissons partageaient la même espèce. Cela suggère que le lait maternel peut contribuer à l'établissement de la flore intestinale des nourrissons. Il serait intéressant de faire une comparaison avec les enfants non allaités pour voir l'impact réel du lait maternel sur la composition de la flore intestinale. Pour compléter notre étude, il faudra effectuer une analyse MLST (Multilocus sequence typing) pour la caractérisation des isolats au niveau de la souche. Pour déterminer si le lait maternel et les fèces infantiles partagent les mêmes souches.

Pour comparer la flore intestinale selon les différents facteurs étudiés, nous suggérons d'augmenter le nombre d'échantillons pour de meilleurs résultats. Il s'agit de la première étude à comparer la flore du lait maternel et des selles des nourrissons de la population algérienne. Ainsi, nous proposons d'effectuer d'autres études pour explorer d'autres genres tels que les bifidobactéries et de caractériser les isolats au niveau de la souche. Cela pourrait confirmer ou infirmer nos résultats sur le rôle des différents facteurs étudiés dans l'établissement de la flore intestinale des nouveau-nés.

Annexes

Annexes I

Questionnaire

Date du prélèvement : ……

Code de l'échantillon : ……

Nature du prélèvement : Lait maternel ☐

Selles du nourrisson ☐

Renseignements sur la Mère

Informations personnelles

Nom : …… Prénom : ……

Date de naissance : …… Age : ……

Lieu de naissance : ……

Adresse : ……

Numéro de téléphone : ……

Durée de la grossesse : ……

Voie d'accouchement : ……

Maladie chronique : ……

Etat de santé durant la grossesse : ……

Etat de santé après l'accouchement : ……

Prise de médicaments durant la grossesse : Oui ☐ Non ☐

Types de médicaments : ……

Prise de médicaments après l'accouchement : Oui ☐ Non ☐

Type de médicaments : ……

Renseignement sur le nouveau-né

Nom : …… Prénom : ……

Date de naissance : …… Age : ……, Poids : ……

Sexe : F ☐ M ☐

Type d'allaitement : Maternel exclusif ☐ Artificiel ☐ Mixte ☐

Etat de santé de votre bébé : ……

Prise récente d'antibiotiques : Oui ☐ Non ☐

Annexes II

Les résultats de la description de la population d'études

Lieu	L'âge des mères	L'âge des nouveau-nés	Voie d'accouchement	Sexe de bébé	Type d'allaitement
Ain-Temouchent et Tlemcen	Entre 22 ans et 30 ans	Entre 4 jours et 5 mois	4 césariennes et 6 voies basses	5 femelles et 5 malles	Lait maternel exclusif

Annexes III

Composition des milieux de culture (pour 1L d'eau distillée) et produits chimiques

Milieux de cultures Gélose MRS

Peptone	
Extrait de viande de bœuf	8g/L
Extrait de levure	4g/L
Glucose	20g/L
Hydrogénophosphate de potassium	2g/L
Citrate d'ammonium	2g/L
Acétate de sodium 3 H_2O	5g/L
Sulfate du magnésium 7 H_2O	0,2g/L
Sulfate de manganèse 4 H_2O	0,05g/L
Phosphate dipotassique	2g/L
Agar	10g/L
Tween 80	1mL
pH	6,2±0,2
Autoclavage	120°C/20min

Gélose M17

Tryptone	2,50 g
Peptone pepsique de viande	2,50 g
Peptone papainique de soja	5,00 g
Extrait autolytique de levure	2,50 g
Extrait de viande	5,00 g
Lactose	5,00 g
Glycérophosphate de sodium	19,00 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	2,50 g
Agar agar bactériologique	15,00 g
pH	7,1 ± 1,2
Autoclavage	120°C/20min

Produits chimiques

Fushine phénique

Fushine cristallisée	1g
Alcool éthylique	10ml
Phénon	5g
Eau distillée	10ml

Violet de gentiane phénique

Violet de gentiane	1g
Phénol	11g
Ethanol	10ml
Eau distillée	100ml

NaCl (0.9%)

Sodium	154mmol/L
Chlorure	154mmol/L
pH	4,5-7,0

H2O2 (10%)

Annexes IV

Coloration de Gram

Préparation de frottis

a) Faire un frottis :

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H20 sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile pour prélever des bactéries. Il n'est pas nécessaire de prendre beaucoup de bactéries
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

b) Coloration et explications :

- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.

- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H2O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
- Laisser agir 1 minute.
- Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H2O comme précédemment décrit.
- Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone. Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déhydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.
- Rincer à l'H2O.
- Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.
- Rincer à l'H2O.

Laisser sécher à l'air.

Déposer une goutte de l'huile à émersion ; Observer au microscope optique (G×100), la forme, la disposition, et le Gram (Gram+ : couleur violette ; Gram- : couleur rose).

Annexes V

Appareillage :

Bain Marie: pour liquéfier les milieux de culture.

Balance de précision : Pour peser des ingrédients de milieux de culture.

Distillateur

Etuves (30 et 37°C) : Pour l'incubation des boites ensemencées.

Four Pasteur : Pour la stérilisation (par la chaleur sèche : 180°C/20min) des équipements en verrerie (tubes à vise, pipette Pasteur).

L'Autoclave : Pour stérilisation (par la chaleur humide : T°120C/15min) des équipements en verrerie ainsi que des milieux de culture.

pH-mètre

Microscope Optique : observation des bactéries aux différents grossissements

Plaque chauffantes agitatrices: Faire agiter les milieux de culture durant leur préparation jusqu'à l'ébullition.

Réfrigérateur : Pour la conservation des milieux de culture.

2. Equipements :

Bec Bensun, boites de pétri, pipettes Pasteur, portoirs, seringues (10ml), spatules de laboratoire.

3. verreries :

Béchers à différents volumes, flacons en verre (250ml), lames et lamelles en verre, tubes à essai, Pipettes Pasteur.

4. Réactifs : Alcool, Eau distillée, Lugol, Solution d'eau oxygénée (30%), L'huile à émersion.

Références bibliographiques

Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2014). The placenta harbors a unique microbiome. [Comparative StudyResearch Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *Sci Transl Med, 6*(237), 237ra265. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599

Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classific ation and Physiology. In S. Salminen, A. Von Wright & A. Ouwehand (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (pp. 656). New York: Marcel Dekker.

Beaudry, M., Chiasson, S., & Lauzière, J. (2006). *Biologie de l'allaitement : le sein, le lait, le geste*. Québec: Presses de l'Université du Québec.

Beaugerie, L., & Sokol, H. (2014). *Les fondamentaux de la pathologie digestive* (CDU-HGE ed.). France: Elesevier-Masson.

Berg, R. D. (1996). The indigenous gastrointestinal microflora. [Review]. *Trends Microbiol, 4*(11), 430-435.

Biasucci, G., Rubini, M., Riboni, S., Morelli, L., Bessi, E., & Retetangos, C. (2010). Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev, 86 Suppl 1*, 13-15. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.004

Bourgeois, C. M., & Larpent, J. P. (1996). *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires*. Paris: Tec & Doc, Lavoisier.

Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., & Butel, M. J. (2007). [Establishment of the intestinal microflora in neonates]. [Review]. *Gastroenterol Clin Biol, 31*(5), 533-542.

Cibik, R., Marcille, F., Corthier, G., & Dore, J. (2004). [Intestinal flora: development, characteristics and influence of the type of feeding]. *Arch Pediatr, 11*(6), 573-575. doi: 10.1016/j.arcped.2004.03.081

Coico, R. (2001). Gram staining. *Curr Protoc Immunol, Appendix 3*, Appendix 3O. doi: 10.1002/0471142735.ima03os23

Cong, X., Xu, W., Janton, S., Henderson, W. A., Matson, A., McGrath, J. M., . . . Graf, J. (2016). Gut Microbiome Developmental Patterns in Early Life of Preterm Infants: Impacts of Feeding and Gender. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *PLoS One, 11*(4), e0152751. doi: 10.1371/journal.pone.0152751

De MAN, J. C., ROGOSA, M., & ELISABETH SHARPE, M. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of applied Bacteriology, 23*(1), 130–135.

Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *Proc Natl Acad Sci U S A, 107*(26), 11971-11975. doi: 10.1073/pnas.1002601107

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env., 13*(1), 143-154.

Drouault, S., & Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research, BioMed Central, 32* (2), 101-117.

Duboc, P., & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int. Dairy J., 11*, 759-768.

Duijts, L., Jaddoe, V. W., Hofman, A., & Moll, H. A. (2010). Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy. [Comparative StudyResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *Pediatrics, 126*(1), e18-25. doi: 10.1542/peds.2008-3256

Elmer, G. W., Surawicz, C. M., & McFarland, L. V. (1996). Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. [Review]. *JAMA, 275*(11), 870-876.

Fernandez, L., Langa, S., Martin, V., Jimenez, E., Martin, R., & Rodriguez, J. M. (2013). The microbiota of human milk in healthy women. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 59*(1), 31-42.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. [Review]. *J Appl Bacteriol, 66*(5), 365-378.

Gomez, A., Luckey, D., & Taneja, V. (2015). The gut microbiome in autoimmunity: Sex matters. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov'tReview]. *Clin Immunol, 159*(2), 154-162. doi: 10.1016/j.clim.2015.04.016

Greer, F. R., Sicherer, S. H., & Burks, A. W. (2008). Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas. [Review]. *Pediatrics, 121*(1), 183-191. doi: 10.1542/peds.2007-3022

Guediche, M. N. (1990). Colonisation Bactérienne du Nouveau-né et Infection. *Médecine du Maghreb, 22*.

Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S., & Isolauri, E. (2007). Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Neonatology, 92*(1), 64-66. doi: 10.1159/000100088

HADADJI, M., BENAMA, R., SAIDI, N., HENNI, D. E., & KIHAL, M. (2005). Identification of cultivable Bifidobacterium species isolated from breast-fed infants feces in West-Algeria. *African Journal of Biotechnology, 4*(5), 422-430.

Hamosh, M. (2001). Bioactive factors in human milk. [Review]. *Pediatr Clin North Am, 48*(1), 69-86.

Hillier, S. L., Martius, J., Krohn, M., Kiviat, N., Holmes, K. K., & Eschenbach, D. A. (1988). A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. [Research Support, Non-U.S. Gov'tResearch Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *N Engl J Med, 319*(15), 972-978. doi: 10.1056/NEJM198810133191503

Hitchins, A. D., & McDonough, F. E. (1989). Prophylactic and therapeutic aspects of fermented milk. [Review]. *Am J Clin Nutr, 49*(4), 675-684.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. [Research Support, Non-U.S. Gov'tReview]. *Am J Clin Nutr, 73*(2 Suppl), 365S-373S.

Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. B. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*: John Wiley & Sons.

Hoogkamp-Korstanje, J. A., Lindner, J. G., Marcelis, J. H., den Daas-Slagt, H., & de Vos, N. M. (1979). Composition and ecology of the human intestinal flora. [Comparative Study]. *Antonie Van Leeuwenhoek, 45*(1), 35-40.

Hooper, L. V., & Gordon, J. I. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. [Review]. *Science, 292*(5519), 1115-1118.

Hooper, L. V., Midtvedt, T., & Gordon, J. I. (2002). How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. [Research Support, Non-U.S. Gov'tResearch Support, U.S. Gov't, P.H.S.Review]. *Annu Rev Nutr, 22*, 283-307. doi: 10.1146/annurev.nutr.22.011602.092259

http://microbeonline.com/pour-plate-method-principle-procedure-uses-dis-advantages/.

Jelliffe, D. B., & Jelliffe, E. F. P. (1978). Human milk in the modern world: psychological, nutritional, and economic significance. *Oxford University Press*, 211-240.

Jeurink, P. V., van Bergenhenegouwen, J., Jimenez, E., Knippels, L. M., Fernandez, L., Garssen, J., . . . Martin, R. (2013). Human milk: a source of more life than we imagine. [Review]. *Benef Microbes, 4*(1), 17-30. doi: 10.3920/BM2012.0040

Jimenez, E., Delgado, S., Maldonado, A., Arroyo, R., Albujar, M., Garcia, N., . . . Rodriguez, J. M. (2008). Staphylococcus epidermidis: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *BMC Microbiol, 8*, 143. doi: 10.1186/1471-2180-8-143

Karunasena, E., McMahon, K. W., Chang, D., & Brashears, M. M. (2014). Host responses to the pathogen Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis and beneficial microbes exhibit host sex specificity. *Appl Environ Microbiol, 80*(15), 4481-4490. doi: 10.1128/AEM.01229-14

Kozyrskyj, A. L., Kalu, R., Koleva, P. T., & Bridgman, S. L. (2016). Fetal programming of overweight through the microbiome: boys are disproportionately affected. [Research Support, Non-U.S. Gov'tReview]. *J Dev Orig Health Dis, 7*(1), 25-34. doi: 10.1017/S2040174415001269

Landman, C., & Quevrain, E. (2016). [Gut microbiota: Description, role and pathophysiologic implications]. [Review]. *Rev Med Interne, 37*(6), 418-423. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012

Leveau, J. Y., & BOUIX, M. (1993). *Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel*. Paris: Tec et Doc Lavoisier.

Marteau, P., Flourie, B., Pochart, P., Chastang, C., Desjeux, J. F., & Rambaud, J. C. (1990). Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Br J Nutr, 64*(1), 71-79.

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiminez, E., Marin, M. L., Xaus, J., . . . Rodriguez, J. M. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Pediatr, 143*(6), 754-758. doi: 10.1016/j.jpeds.2003.09.028

Martin, V., Maldonado-Barragan, A., Moles, L., Rodriguez-Banos, M., Campo, R. D., Fernandez, L., . . . Jimenez, E. (2012). Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Hum Lact, 28*(1), 36-44. doi: 10.1177/0890334411424729

Mofredj, A., Bahloul, H., & Chanut, C. (2007). [Lactococcus lactis: an opportunistic bacterium?]. [Review]. *Med Mal Infect, 37*(4), 200-207. doi: 10.1016/j.medmal.2007.01.005

Muller, M. (1974). The Baby Killer : A War on Want Investigation into the Promotion and Sale of Powdered Baby Milks in the Third World. *War on Want*.

Newburg, D. S. (2005). Innate immunity and human milk. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *J Nutr, 135*(5), 1308-1312.

Nowrouzian, F., Hesselmar, B., Saalman, R., Strannegard, I. L., Aberg, N., Wold, A. E., & Adlerberth, I. (2003). Escherichia coli in infants' intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence gene carriage. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pediatr Res, 54*(1), 8-14. doi: 10.1203/01.PDR.0000069843.20655.EE

Olivares, M., Díaz-Ropero, M., Lara-Villoslada, F., Rodriguez, J., & Xaus, J. (2005). Efectiveness of probiotics in allergy: child's game or adult affair? *Nutrafoods, 4*, 59-64.

Olivares, M., Diaz-Ropero, M. P., Martin, R., Rodriguez, J. M., & Xaus, J. (2006). Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Appl Microbiol, 101*(1), 72-79. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02981.x

OMS. (1981). Code International de commercialisation des substituts du lait maternel

Orla-Jensen, S. (1919). *The lactic acid bacteria*. Copenhagen: Andr. Fred. Host & Son

Palmer, G. (1988). The politics of breastfeeding. *Pandora Press*, 304.

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F. F., Snijders, B., Kummeling, I., . . . Stobberingh, E. E. (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pediatrics, 118*(2), 511-521. doi: 10.1542/peds.2005-2824

Pot, B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.)* (Tec & Doc ed., pp. 1-106). Paris: Lavoisier.

Rigourd, V., Aubry, S., Tasseau, A., Gobalakichenane, P., Kieffer, F., Assaf, Z., . . . Magny, J.-F. (2011). Allaitement maternel : bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Pédiatrie*(4-002-H-05), 08.

Rofes, C. (2014). *Intérêts du microbiote intestinal et probiotiques.*Doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse

Schaafsma, G. (1996). State of the art concerning probiotic strains in milk products. *Int. Dairy Fed.Nutr. Newsl., 5*, 23-24.

Scholtens, P. A., Oozeer, R., Martin, R., Amor, K. B., & Knol, J. (2012). The early settlers: intestinal microbiology in early life. [Review]. *Annu Rev Food Sci Technol, 3*, 425-447. doi: 10.1146/annurev-food-022811-101120

Steel, J. H., Malatos, S., Kennea, N., Edwards, A. D., Miles, L., Duggan, P., . . . Sullivan, M. H. (2005). Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pediatr Res, 57*(3), 404-411. doi: 10.1203/01.PDR.0000153869.96337.90

Stewart, J. A., Chadwick, V. S., & Murray, A. (2005). Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Med Microbiol, 54*(Pt 12), 1239-1242. doi: 10.1099/jmm.0.46189-0

Stiles, M. E. (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. [Review]. *Antonie Van Leeuwenhoek, 70*(2-4), 331-345.

Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. [Research Support, Non-U.S. Gov'tReview]. *Int J Food Microbiol, 36*(1), 1-29.

Stoll, B. J., Hansen, N., Fanaroff, A. A., Wright, L. L., Carlo, W. A., Ehrenkranz, R. A., . . . Poole, W. K. (2002). Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. [Comparative StudyMulticenter Study Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *N Engl J Med, 347*(4), 240-247. doi: 10.1056/NEJMoa012657

Suau, A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J. J., Gibson, G. R., Collins, M. D., & Dore, J. (1999). Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Appl Environ Microbiol, 65*(11), 4799-4807.

Tackoen, M. (2012). Le lait maternel : composition nutritionnelle et propriétés fonctionnelles. *Rev Med Brux, 33 :*, 309-317.

Thurl, S., Munzert, M., Henker, J., Boehm, G., Muller-Werner, B., Jelinek, J., & Stahl, B. (2010). Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. *Br J Nutr, 104*(9), 1261-1271. doi: 10.1017/S0007114510002072

Turcka, D., Vidailhetb, M., Bocquetc, A., Bressond, J. L., Briende, A., Chouraquif, J. P., . . . Simeonik, U. (2013). Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Archives de Pédiatrie, 20*, S29-S48.

UNICEF. (2007). Suivi de la situation des enfants et des femmes: Enquête nationale a indicateurs multiples MICS3 Algerie 2006

UNICEF. (2015). Suivi de la situation des enfants et des femmes: Enquête par Grappes à Indicateurs Multiples (MICS) 2012-2013

Vael, C., & Desager, K. (2009). The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. [Review]. *Curr Opin Pediatr, 21*(6), 794-800. doi: 10.1097/MOP.0b013e328332351b

Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. [Research Support, Non-U.S. Gov'tReview]. *Microbiol Rev, 60*(2), 407-438.

Vanderhoof, J. A., & Young, R. J. (1998). Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders. [Review]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr, 27*(3), 323-332.

Ward, R. E., Ninonuevo, M., Mills, D. A., Lebrilla, C. B., & German, J. B. (2006). In vitro fermentation of breast milk oligosaccharides by Bifidobacterium infantis and Lactobacillus gasseri. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *Appl Environ Microbiol, 72*(6), 4497-4499. doi: 10.1128/AEM.02515-05

Wenjun, L., Huili, P., Heping, Z., & Yimin, C. (2014). Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In Z. Heping & C. Yimin (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Practice* (pp. 103-203). Netherlands: Springer

WHO. (2013). Recommendations on: postnatal care of the mother and newborn, from http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/postnatal-care-recommendations/en/

Wood, B. J. B., & Holzapfel, W. H. (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (1 ed. Vol. 2): Springer US.

Yoshioka, H., Iseki, K., & Fujita, K. (1983). Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. [Comparative StudyResearch Support, Non-U.S. Gov't]. *Pediatrics, 72*(3), 317-321.

Zivkovic, A. M., German, J. B., Lebrilla, C. B., & Mills, D. A. (2011). Human milk glycobiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. [Research Support, N.I.H., ExtramuralResearch Support, Non-U.S. Gov'tResearch Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Proc Natl Acad Sci U S A, 108 Suppl 1*, 4653-4658. doi: 10.1073/pnas.1000083107

Résumé

Le lait maternel contient tous les éléments nécessaires pour assurer la croissance et le développement du nourrisson C'est une source potentielle de bactéries qui favorise le bon développement des bactéries de la flore intestinale, intervenant dans la protection contre les maladies et augmentant l'efficacité du système digestif.

Dans ce contexte cette étude consiste à isoler et caractériser la flore du lait maternel et des selles des nourrissons dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Des informations concernant l'âge, le poids, le sexe et le mode d'accouchement ont été recueillis.

Il ressort des résultats une distribution homogène des souches bactériennes entre les échantillons du lait maternel et des selles de nourrissons. Le mode d'accouchement peut jouer un rôle dans la formation du microbiote intestinal.

En somme, les résultats de cette étude préliminaire montrent que le lait maternel contient une diversité bactérienne qui peut jouer un rôle important dans l'établissement du microbiote intestinal chez les nourrissons allaités. D'autres facteurs peuvent aussi influencer ce processus.

Mots clés: microbiote intestinal-lait maternel-selles de nourrissons-bactéries lactiques

Abstract

Human breast milk contains all of the essential elements that are important for growth and development of baby. It is a potential source of bacteria that promotes the establishment of the good flora of infants implicated on the protection from infections and illness.

For this, we characterized bacteria from breast milk and infant feces of the northwest Algerian population. Information on age, weight, sex and mode of delivery were collected.

The results show a homogeneous distribution, between samples of breast milk and infant feces.Comparing the intestinal flora of vagin ally delivered infants and those born by cesarean section a difference of distribution was found for the genus *staphylococcus*.

In conclusion, the results of this preliminary study show that breast milk contains a diversity of bacteria that can play an important role in the infant gut colonization. Other factors may also influence this process.

Keywords: Intestinal microbiote- Human breast milk-Infant feces-Lactic bacteria

الملخص:

يحتوي حليب الثدي على جميع العناصر اللازمة لنمو وتطور الرضيع. وهو مصدر محتمل للبكتيريا التي تشجع على التطور السليم للبكتيريا التي توجد في الفلورا المعوية، وتتدخل في الوقاية من الأمراض وتزيد من فعالية الجهاز الهضمي. في هذا السياق، تتكون هذه الدراسة من عزل ووصف فلورا حليب الأم وبراز الأطفال في عينة من سكان غرب الجزائر. تم جمع معلومات عن العمر والوزن والجنس وطريقة الولادة. تظهر النتائج توزيع متجانس من السلالات البكتيرية بين عينات حليب الثدي وبراز الأطفال. قد تلعب طريقة الولادة دورًا في تكوين ميكروبات الأمعاء. باختصار، تظهر نتائج هذه الدراسة الأولية أن حليب الثدي يحتوي على التنوع البكتيري الذي يمكن أن يلعب دورا هاما في إنشاء ميكروبات الأمعاء عند الرضع الذين يرضعون رضاعة طبيعية. عوامل أخرى قد تؤثر أيضا على هذه العملية.

الكلمات المفتاحية :براز الاطفال –مكروبات الامعاء –بكتيريا حمض اللاكتيك -الرضاعة الطبيعية