

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la vie et de la nature



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie appliquée
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Impact du mode d'accouchement sur l'établissement et la diversité du microbiote intestinal chez les nourrissons

Présenté Par :

- 1) Melle GUERMOUCHE Ibtissem Iness
- 2) Melle GUEDIM Fatiha

Devant le jury composé de :

Dr .TAHARI Fatima-Zohra	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. BENDJEDOU Houaria	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. BOUCHACHIA Souad	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements :

Avant tout développement sur cette expérience il apparaît opportun de commencer ce travail par des remerciements.

Nous remercions Allah le tout puissant et le bienveillant, de nous avoir accordés le succès, les bénédictions, la santé et surtout le courage d'accomplir ce travail et que sans lui nous ne serions pas là.

A notre directrice de recherche madame BOUCHACHIA Souad, sa confiance en nous, sa bienveillance, ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion tout au long de la préparation, la rédaction de ce modeste travail.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à l'ensemble du jury, composé de Dr. TAHARI Fatima-Zohra, Présidente et Dr. BENDJEDOU Houaria, Examinatrice.

Pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui ont accordé.

Nous tenons à remercier chaleureusement les mamans qui ont accepté de participer à cette étude.

Leur coopération et leur confiance ont été indispensables à la réalisation de ce travail.

On tient à exprimer aussi toute notre reconnaissance à nos familles, en particulier à nos parents, pour leur amour inconditionnel, leurs invocations, leur patience et leurs encouragements constants, qui ont été pour nous une source de motivation et de sérénité.

A nos amis fidèles, qui ont toujours été présents, dans les moments de réussite, on vous remercie du fond du cœur pour votre soutien moral, vos conseils et votre présence bienveillante.

Enfin nous ne saurions pas terminer sans mentionner ceux qui de près ou de loin ont contribué à notre réussite ; ainsi qu'envers l'ensemble du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Dédicace :

Nous dédions ce mémoire à nos familles respectives, dont le soutien constant, l'amour inconditionnel et les encouragements nous ont accompagnés tout au long de ce parcours. Leur patience et leur bienveillance ont été des piliers essentiels dans les moments de doute comme dans les instants de réussite.

Nous tenons également à nous adresser une pensée particulière, à nous deux, Iness et Fatiha, pour la solidarité, la persévérance et l'engagement dont nous avons fait preuve tout au long de cette aventure. Ce mémoire est le fruit d'un travail partagé, d'efforts conjoints et d'une collaboration fondée sur la confiance, le respect et la complémentarité.

Ce projet marque la fin d'un chapitre et le début d'un nouveau, que nous abordons avec gratitude et fierté.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé.....	
Abstract	
ملخص.....	
Introduction Générale.....	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre I :Introduction au microbiote intestinal	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Composition générale du microbiote intestinal chez l’adulte	4
I.3.Importance du microbiote intestinal.....	4
I.4. Principaux facteurs influençant le microbiote intestinal.	5
I.4.1. Alimentation	6
I.4.2. Allaitement	7
I.4.3. Médicaments (Antibiotiques)	7
I.4.4. Facteurs génétiques.....	7
I.4.5. Stress.....	8
I.5. Implication du microbiote en pathologie humaine.....	8
I.5.1. Syndrome de l’intestin irritable (SII).....	8
I.5.2. Maladies inflammatoires chroniques de l’intestin (MICI)	10
I.5.3. Maladies métaboliques	11
I.5.4. Maladie cardiovasculaire	12
I.5.5. Maladies neurologiques et psychiatriques	12
I.5.6. Le Cancer colorectal	13
I.5.7. Allergie et asthme	14
I.6. Approches thérapeutiques les probiotiques et la transplantation fécale.....	14
I.6.1. Les probiotiques	14
I.6.2. La transplantation de microbiote fécale (TMF).....	15
Chapitre II : Établissement du microbiote chez le nouveau-né.....	17
II.1. Établissement et développement du microbiote intestinal chez le nourrisson.....	17

II.1.1. Transmission in utero	17
II.1.2. Transmission lors de l'accouchement	18
II.1.3. Transfert par l'allaitement	19
II.2. Composition générale du microbiote intestinal chez le nourrisson	19
Chapitre III : Materials et Méthodes	Erreur ! Signet non défini.
III.1. Cadre et période de réalisation de l'étude	21
III.2. Echantillonnage :	21
III.3. Analyses microbiologiques :	22
III.4. Isolement et identification des bactéries lactiques :	22
III.4.1. Les bifidobactéries :	22
III.4.2. Les lactobacilles et les streptocoques :	22
III.4.3. Isolement et identification des staphylocoques :	24
III.4.4. Isolement et identification des <i>Escherichia</i> :	24
III.4.4.1. Identification d' <i>Escherichia</i> par galerie API 20 E :	25
Chapitre IV : Résultats et Discussion.....	26
IV.1. Résultats qualitatifs des selles du nouveau-né	26
IV.2. Évaluation du microbiote intestinal chez les nouveau-nés nés par voie basse.....	26
IV.3. Évaluation du microbiote intestinal chez les nouveau-nés nés par césarienne	30
IV.4. Identification des bactéries lactiques.....	33
IV.4.1. Les bifidobactéries.....	33
IV.4.2. Les Streptocoques.....	34
IV.5. <i>Escherichia coli</i>	36
IV.6. Identification de <i>Staphylococcus</i>	38
IV.7. Discussion	39
Conclusion.....	Erreur ! Signet non défini.
Référence :.....	Erreur ! Signet non défini.
Annexes :.....	55

Liste des figures

Figure 1:Schéma du tractus gastro-intestinal et de la répartition de son microbiote.	3
Figure 2:Modificateurs du microbiote intestinal.	6
Figure 3:Principaux facteurs de risque du syndrome du côlon irritable (SCI)	9
Figure 4:Principales altérations de la microflore dans le syndrome du côlon irritable (SCI) ...	9
Figure 5:Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)	10
Figure 6:De la dysbiose intestinale aux maladies métaboliques	11
Figure 7:Caractéristique des souches probiotiques.	15
Figure 8:La composition du microbiote varie selon les différents sites corporels chez le nourrisson.	20
Figure 9:Évolution de la flore fécale chez le premier nouveau-né né par voie basse.	26
Figure 10:Évolution de la flore fécale chez le deuxième nouveau-né né par voie basse.	28
Figure 11:Évolution de la flore fécale chez le troisième nouveau-né né par voie basse.	29
Figure 12:Évolution de la flore fécale du premier nouveau-né né par césarienne.	30
Figure 13:Évolution de la flore fécale du deuxième nouveau-né né par césarienne.	31
Figure 14:Évolution de la flore fécale du troisième nouveau-né né par césarienne.	32
Figure 15:Aspect des Colonies de Bifidobacterium sur gélose MRS cystéine.	34
Figure 16:Aspect microscopique de Bifidobacterium après coloration de Gram (Gr x 100) ..	34
Figure 17:Aspect des Colonies de Streptococcus sur gélose M17.	35
Figure 18:Aspect microscopique de Streptococcus après coloration de Gram (Gr x 100).	35
Figure 19:Aspect des Colonies de Lactobacillus sur gélose MRS.	36
Figure 20:Aspect microscopique de Lactobacilles après coloration de Gram (Gr.x 100).	36
Figure 21:Aspect des Colonies d' Escherichia coli sur gélose Hektoen.	37
Figure 22:Aspect microscopique d'Escherichia coli après coloration de Gram (Gr.x 100). ...	37
Figure 23:Résultat des tests biochimiques sur galerie API20E pour l'identification d'Escherichia colis.	38
Figure 24:Aspect des colonies de Staphylococcus aureus sur milieu Chapman.	38

Liste des abréviations :

AIEC : Escherichia coli adhérent et invasif

CCR : Cancer colorectal

C.difficile : Clostridioides difficile

CS : Césarienne.

DT2 : Diabète type 2

E-Coli : Escherichia coli

FMT : Transplantation du microbiote fécale

GI : Gastro-intestinal

Gram + : gram positif

Gram- : gram négatif

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

ICD : Infection à Clostridioides difficile

IMC : Indice de masse corporelle

MA : Maladie d'Alzheimer

MC : Maladie de Crohn

MCO : Microorganismes.

MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

OMS : Organisation mondiale de la santé

RCH : Rectocolite hémorragique

SII : Syndrome de l'intestin irritable

TUA : Trouble de l'usage d'alcool.

Résumé

Le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement immunitaire, la digestion et l'équilibre métabolique du nourrisson. Son établissement précoce est influencé par plusieurs facteurs, au premier rang desquels le mode d'accouchement. Cette étude vise à évaluer l'impact du mode d'accouchement (voie basse ou césarienne) sur l'établissement et la diversité du microbiote intestinal chez les nourrissons. Notre étude a porté sur six nouveau-nés, dont trois nés par voie basse et trois par césarienne. Des échantillons fécaux ont été prélevés aux jours 1 et 10 de vie, puis analysés par culture sur milieux sélectifs. Les résultats montrent que les nouveau-nés par voie basse présentent dès le premier jour une colonisation précoce par des bactéries bénéfiques de genre *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Escherichia coli*. À dix jours, leur flore évolue vers une dominance de genres *Bifidobactéries* et *lactobacilles*, typique d'un microbiote protecteur, particulièrement chez les nourrissons allaités. En revanche, les nouveau-nés par césarienne ont un microbiote initialement appauvri, dominé par des bactéries d'origine cutanée ou hospitalière appartenant aux genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*. La naissance par césarienne pourrait ainsi contribuer à une dysbiose néonatale, avec des implications potentielles sur la santé à long terme. Des stratégies comme l'allaitement maternel, l'usage de probiotiques ou le réensemencement vaginal pourraient limiter ces effets.

Mots clés : microbiote intestinal, mode d'accouchement, nourrissons, césarienne, colonisation précoce.

Abstract

The infant gut microbiota plays a fundamental role in immune development, digestion, and metabolic balance. Its early establishment is influenced by several factors, foremost among them the mode of delivery. This study aims to evaluate the impact of delivery mode (vaginal birth vs. cesarean section) on the establishment and diversity of the intestinal microbiota in newborns. Our study involved six newborns, three delivered vaginally and three by cesarean section. Fecal samples were collected on days 1 and 10 of life and analyzed using culture on selective media. Results show that vaginally delivered newborns exhibit early colonization from day one by beneficial bacteria of the genera *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, and *Escherichia coli*. By day ten, their flora evolves towards a dominance of *Bifidobacteria* and *lactobacilli*, typical of a protective microbiota, especially in breastfed infants. In contrast, cesarean-born newborns have an initially depleted microbiota dominated by skin- or hospital-derived bacteria belonging to the genera *Staphylococcus* and *Streptococcus*. Cesarean delivery may thus contribute to neonatal dysbiosis, with potential long-term health implications. Strategies such as breastfeeding, probiotic use, or vaginal seeding could help mitigate these effects.

Keywords: gut microbiota, mode of delivery, infants, cesarean section, early colonization.

تلعب الجراثيم المعوية لدى الرضع دورًا أساسيًا في النمو المناعي والهضم والتوازن الأيضي. ويتأثر تكوينها المبكر بعدة عوامل، على رأسها طريقة الولادة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير طريقة الولادة (الولادة المهبلية مقابل الولادة القيصرية) على تكوين وتنوع الجراثيم المعوية لدى الأطفال حديثي الولادة. شملت دراستنا ستة أطفال حديثي الولادة، ثلاثة منهم ولدوا عن طريق المهبل وثلاثة عن طريق الولادة القيصرية. تم جمع عينات من البراز في اليومين الأول والعاشر من الحياة وتحليلها باستخدام مزرعة على وسائط انتقائية. أظهرت النتائج أن الأطفال حديثي الولادة عن طريق المهبل أظهروا استعمارًا مبكرًا منذ اليوم الأول من قبل البكتيريا النافعة من أجناس المكورات العنقودية والمكورات المعوية والمكورات اللبنية والإشريكية القولونية. وبحلول اليوم العاشر، تتطور الجراثيم لديهم نحو هيمنة البكتيريا المشقوقة والعصيات اللبنية، وهي نموذج للجراثيم الوقائية، خاصة عند الرضع الذين يرضعون رضاعة طبيعية، وعلى النقيض من ذلك، فإن الأطفال حديثي الولادة القيصرية لديهم جراثيم مستفدة في البداية تهيمن عليها البكتيريا المستمدة من الجلد أو من المستشفى والتي تنتمي إلى أجناس المكورات العنقودية والعنقودية. وبالتالي قد تُسهم الولادة القيصرية في حدوث دسباقتريوز لدى حديثي الولادة، مع ما يترتب على ذلك من آثار صحية محتملة على المدى الطويل. يمكن أن تساعد استراتيجيات مثل الرضاعة الطبيعية أو استخدام البروبيوتيك أو البذر المهبل في التخفيف من هذه الآثار.

الكلمات المفتاحية: الجراثيم المعوية، طريقة الولادة، الرضع، الولادة القيصرية، الاستعمار المبكر



Introduction

Générale

Le tractus gastro-intestinal (GI) humain abrite une population complexe et dynamique de micro-organismes (**Thursby et Juge, 2017**). Un être humain héberge 10^{13} bactéries dans son tube digestif, autant que de cellules humaines dans son corps (**Sokol, 2019**). Le microbiote, englobant une vaste gamme de micro-organismes tels que les bactéries, les virus, les champignons et les archées, joue un rôle indispensable dans de nombreux processus physiologiques, allant de l'absorption des nutriments à la modulation du système immunitaire. (**Inchingolo et al., 2024**). Le microbiote s'établit progressivement après la naissance et atteint une composition proche de celle de l'adulte vers l'âge de 3 ans (**Sokol, 2019**).

Au début de la vie, le microbiote intestinal est instable, très évolutif et peu diversifié. À la naissance, l'intestin du nouveau-né est un milieu aérobie, principalement colonisé par des bactéries telles qu'*Escherichia* et *Enterococcus*. Ces bactéries facultatives profitent de l'oxygène résiduel pour se développer, ce qui entraîne une baisse du potentiel redox et favorise la transition vers un environnement anaérobie. À ce stade, les bactéries anaérobies strictes, comme les *Firmicutes* (notamment les *Clostridia*), les *Bacteroidetes*, ainsi que les *bifidobactéries* – éléments clés du microbiome intestinal du nourrisson – commencent à s'implanter. Les *bifidobactéries* peuvent représenter jusqu'à 37 % du microbiote intestinal au cours des premiers mois de vie. En plus de ces dernières, d'autres genres bactériens tels que *Veillonella*, *Streptococcus*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Bacteroides* et *Clostridium* dominent également le microbiome intestinal du nourrisson (**Linehan et al., 2022**).

La composition de ce microbiote évolue dès la naissance sous l'influence de nombreux facteurs, notamment l'environnement, l'alimentation, les conditions d'hygiène et les traitements médicamenteux. L'un des premiers éléments déterminants est toutefois le mode d'accouchement : Une naissance par voie basse expose le nouveau-né à la flore vaginale de la mère, tandis qu'une césarienne l'expose davantage aux bactéries cutanées. Cette première colonisation microbienne joue un rôle essentiel dans le développement du microbiote intestinal (**Debré et Le Gall, 2014**).

Les différences observées entre les modes d'accouchement sont particulièrement marquées au cours de la période néonatale, mais tendent à s'atténuer avec le temps. Le microbiome intestinal des nourrissons nés par voie basse présente une proportion plus importante de *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.* et *Escherichia coli*, tandis que celui des

nourrissons nés par césarienne est caractérisé par une plus forte présence de *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Enterobacter spp* (Younge, 2023) .


Bon nombre des micro-organismes surreprésentés chez les nouveau-nés nés par césarienne sont des pathogènes opportunistes fréquemment associés au milieu hospitalier. Par ailleurs, ce mode d'accouchement est aussi lié à une concentration plus élevée de gènes de résistance aux antibiotiques dans le microbiote néonatal (Younge, 2023) .

Le mode d'accouchement, qu'il soit par voie basse ou par césarienne, influence significativement l'établissement et la diversité du microbiote intestinal chez les nourrissons. En réalité, les nourrissons nés par accouchement par voie basse acquièrent principalement le microbiote vaginal de leur mère, tandis que ceux nés par césarienne sont exposés à un microbiote distinct, provenant notamment de la peau maternelle et de l'environnement hospitalier. Cette disparité initiale dans l'établissement de la colonisation microbienne pourrait impacter le développement immunitaire et la santé à long terme des enfants.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact du mode d'accouchement sur l'établissement et la diversité du microbiote intestinal chez les nourrissons, en évaluant l'effet de l'accouchement par voie basse ou par césarienne sur la composition initiale du microbiote et son évolution durant les 10 premiers jours.

Le mémoire est divisé en deux grandes parties :

- La première partie constitue une revue bibliographique, organisée en deux chapitres : le premier chapitre présente le microbiote intestinal, en détaillant sa composition ainsi que son rôle fondamental dans l'organisme, tandis que le second chapitre s'intéresse à l'établissement du microbiote chez le nouveau-né, en expliquant les mécanismes d'implantation dès la naissance.
- La deuxième partie est expérimentale et comprend deux chapitres le chapitre Matériel et méthodes décrit les principales techniques utilisées pour l'isolement et l'identification des bactéries, suivi du chapitre Résultats et discussion qui expose les résultats obtenus et leur analyse approfondie, et enfin, une conclusion avec des perspectives.



Chapitre I :

Synthèse

bibliographique

Introduction au microbiote intestinal

I.1. Définition

Le microbiote intestinal distal désigne l'ensemble des micro-organismes présents dans le côlon. Il s'agit d'un écosystème complexe, constitué majoritairement de bactéries, mais aussi, dans une moindre mesure, d'archées, d'eucaryotes et de virus. Cet écosystème compte environ 10^{14} cellules bactériennes (El Kaoutari *et al.*, 2014), réparties en quatre phyla bactériens principaux : Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria et Proteobacteria. Les Firmicutes et les Bacteroidetes représentent les deux phyla dominants du microbiote, avec une présence respective de 60 à 75 % et de 30 à 40 % (Landman et Quévrain, 2016). Le nombre de gènes microbiens non redondants atteint 3,3 millions, soit jusqu'à 150 fois plus que le nombre de gènes codant pour des protéines dans le génome humain (estimé entre 20 000 et 25 000). Cette vaste population microbienne vit en symbiose avec son hôte et se nourrit à la fois de substrats d'origine végétale et animale issus de l'alimentation, ainsi que de substrats endogènes tels que les mucines produites par l'hôte (El Kaoutari *et al.*, 2014).

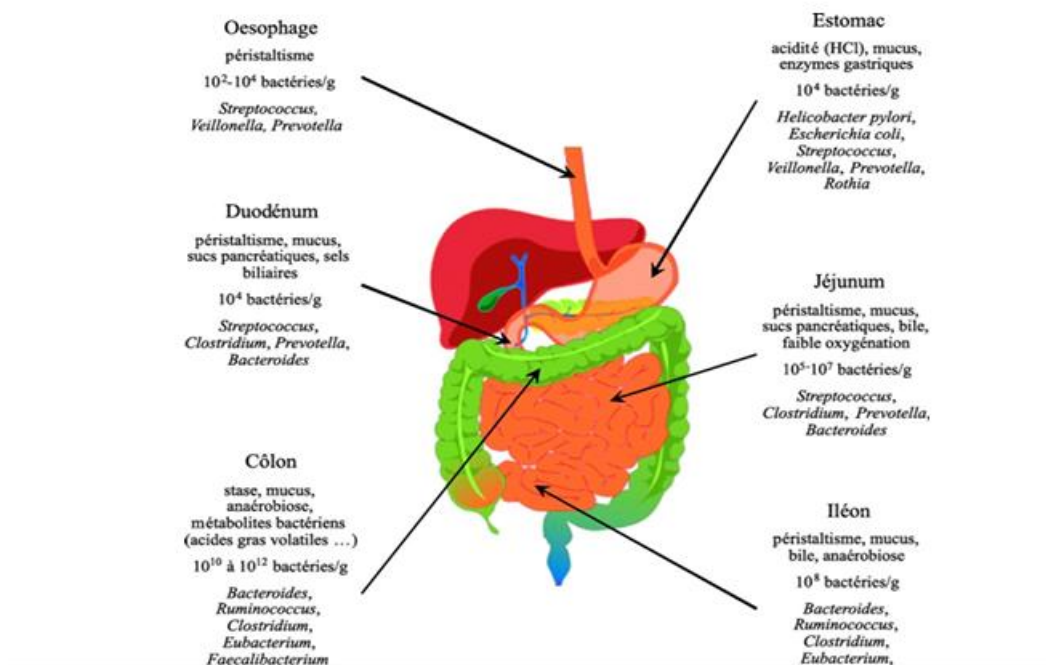


Figure 1: Schéma du tractus gastro-intestinal et de la répartition de son microbiote.

Disponible sur : <https://hal.science/tel-01215192/>

Pour chaque partie du tractus digestif, les principaux stress physico-chimiques, la concentration bactérienne et les genres (ou espèces) constituant la flore sont indiqués.

I.2. Composition générale du microbiote intestinal chez l'adulte

Le microbiote intestinal est composé d'environ un millier d'espèces bactériennes différentes, représentant près d'un kilogramme du poids corporel humain. À ces bactéries s'ajoutent également des eucaryotes unicellulaires, tels que des levures et des protozoaires (**Gérard, 2012**). Parmi les 50 phylums bactériens identifiés à ce jour, quatre dominent et sont régulièrement retrouvés dans le microbiote intestinal (**El Kaoutari et al., 2014**) :

- Le phylum des Firmicutes (notamment les genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio* et *Faecalibacterium*) est généralement le plus abondant, regroupant à lui seul plus de la moitié des bactéries intestinales ;
- Les Bacteroidetes (essentiellement *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*) sont également omniprésents et, avec les Firmicutes, forment le duo dominant du microbiote, représentant ensemble 10 à 30 % des bactéries totales ;
- Le phylum Actinobacteria (principalement les Bifidobacteria) est moins fréquemment majoritaire et constitue généralement moins de 10 % de la population bactérienne (**Gérard, 2012**).
- Le phylum Proteobacteria, dont fait partie le genre *Escherichia* (**El Kaoutari et al., 2014**).

Les autres groupes bactériens sont plus rares dans le microbiote intestinal dominant. Par exemple, les lactobacilles et les streptocoques comptent généralement pour moins de 2 %, tandis que les entérobactéries représentent moins de 1 % du total bactérien (**Gérard, 2012**).

I.3. Importance du microbiote intestinal

L'exploration du microbiote intestinal a révélé son rôle essentiel non seulement dans la physiologie intestinale, mais aussi dans la santé humaine de manière plus globale, au point d'être considéré comme un véritable « organe caché » (**Landman et Quévrain, 2016**) .

Le microbiote joue une fonction de barrière contre les micro-organismes pathogènes, notamment en instaurant une compétition pour les nutriments nécessaires à leur prolifération, ainsi qu'en produisant certains métabolites aux propriétés antimicrobiennes. Il contribue

également à la maturation et au maintien de l'homéostasie du système immunitaire. Grâce à des mécanismes complexes de rétrocontrôle, il dialogue avec ce système, permettant une réponse adaptée contre les agents pathogènes tout en favorisant une tolérance à certains antigènes jugés inoffensifs (**Gschwind *et al.*, 2018**).

Un microbiote en équilibre influence favorablement la digestion de composés tels que les polysaccharides, les glycosaminoglycanes et les glycoprotéines, la synthèse de vitamines, le métabolisme des acides aminés et des sels biliaires, ainsi que celui des xénobiotiques, entre autres (**Landman et Quévrain, 2016**).

En revanche, un déséquilibre du microbiote intestinal, appelé dysbiose, entraîne des perturbations fonctionnelles majeures. Ce phénomène est associé à diverses pathologies digestives (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, cancer colorectal...), mais également à des troubles métaboliques comme l'obésité ou des troubles neuro développementaux tels que l'autisme (**Landman et Quévrain, 2016**).

I.4. Principaux facteurs influençant le microbiote intestinal.

Des milliards de micro-organismes ont évolué en parallèle avec l'être humain et continuent de s'adapter constamment à sa physiologie. Il est donc essentiel de comprendre les facteurs qui modulent ces communautés microbiennes. Bien que la composition du microbiote intestinal soit propre à chaque individu, plusieurs paramètres sont reconnus comme influents, tels que l'alimentation, le mode de vie, la prise de médicaments, l'environnement, les premières années de vie ou encore la génétique (**Deschasaux *et al.*, 2019**). (**Figure 02**).

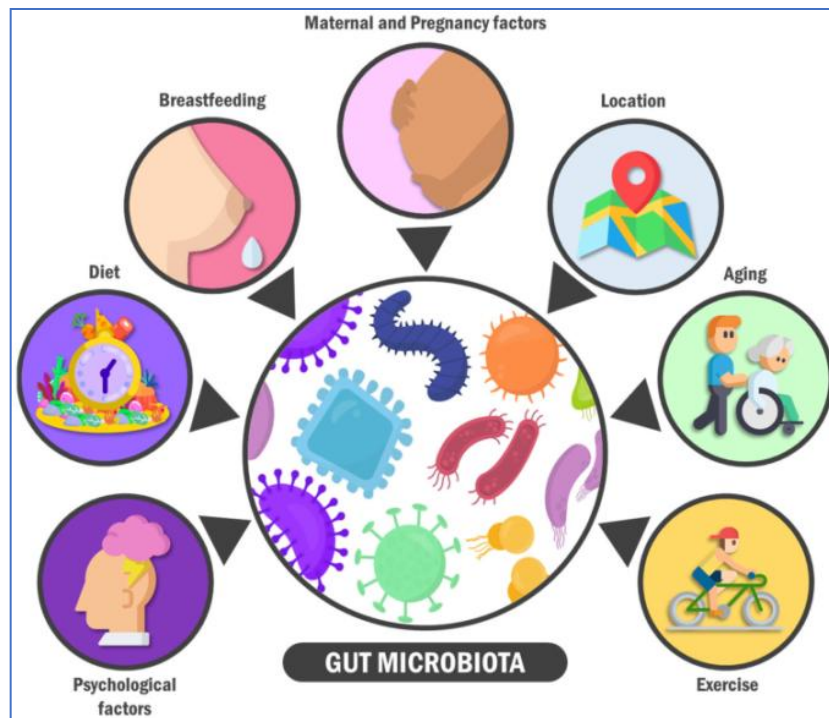


Figure 2: Modificateurs du microbiote intestinal. (Salazar *et al.*, 2023)

I.4.1. Alimentation

L'alimentation joue un rôle fondamental dans la modulation de la composition et de la diversité du microbiote intestinal, c'est-à-dire l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans le tube digestif. Une alimentation riche en fibres, fruits, légumes, céréales complètes et aliments fermentés favorise la croissance de bactéries bénéfiques telles que *Bifidobacterium* et *Faecalibacterium prausnitzii*, connues pour leur rôle anti-inflammatoire et leur capacité à produire des acides gras à chaîne courte (AGCC) comme le butyrate, essentiels à la santé de la muqueuse intestinale (Sonnenburg et Bäckhed, 2016 ; Makki *et al.*, 2018). En revanche, un régime de type occidental, riche en graisses saturées, sucres simples et produits ultra-transformés, est associé à une diminution de la diversité microbienne, une augmentation de bactéries pathobiontes (comme *Escherichia coli*) et un risque accru de dysbiose (Zmora *et al.*, 2019). Ces modifications peuvent avoir des conséquences sur la perméabilité intestinale, l'inflammation et le développement de troubles métaboliques ou digestifs. Les effets de l'alimentation sur le microbiote peuvent apparaître rapidement (en 24 à 48 h), mais leur maintien dépend d'une consommation continue et variée (David *et al.*, 2014).

I.4.2. Allaitement

La naissance constitue une étape majeure dans l'établissement du microbiote intestinal. Bien que le fœtus soit classiquement considéré comme stérile, cette hypothèse est aujourd'hui discutée (**Lecerf, 2021**). Le lait maternel contribue activement à la colonisation du tractus digestif de l'enfant. Il contient non seulement des bactéries vivantes, mais aussi de grandes quantités d'oligosaccharides servant de substrats à certaines espèces bactériennes bénéfiques. De plus, le lait maternel transmet une immunité passive via des IgA spécifiques, qui ciblent majoritairement des antigènes bactériens (**Hazebrouck, 2017**).

I.4.3. Médicaments (Antibiotiques)

Le devenir et l'activité des médicaments sont souvent dictés non seulement par l'hôte lui-même, mais aussi par les micro-organismes présents dans le tractus gastro-intestinal (**Walsh J et al., 2018**).

Les antibiotiques ont un impact profond et souvent délétère sur le microbiote intestinal. Ils provoquent une dysbiose importante en réduisant la diversité bactérienne et en éliminant des bactéries bénéfiques comme *Bifidobacterium* et *Faecalibacterium prausnitzii* (**Jernberg et al., 2010 ; Becattini et al., 2016**). Cela favorise la prolifération de bactéries pathogènes telles que les *Enterobacteriaceae* et augmente le risque d'infections à *Clostridioides difficile* ainsi que de diarrhées associées aux antibiotiques (**Dethlefsen et Relman, 2011 ; Buffie et Pamer, 2013**). Les altérations du microbiote peuvent persister pendant plusieurs mois, avec un rétablissement parfois incomplet de la flore d'origine (**Jernberg et al., 2010 ; Francino, 2016**). Chez les nourrissons, une exposition précoce aux antibiotiques a été liée à un risque accru d'obésité, de maladies allergiques et de troubles métaboliques (**Cox et Blaser, 2015**).

I.4.4. Facteurs génétiques

La contribution de la génétique à la composition du microbiote intestinal reste sujette à discussion (**Cahana et Iraqi, 2020**). Bien que de nombreux facteurs environnementaux aient une influence sur le microbiote, la génétique de l'hôte joue aussi un rôle, en interaction complexe avec l'environnement (**Quin et al., 2022**). Le corps humain est colonisé par une grande diversité d'espèces microbiennes, apportant à l'hôte des bénéfices considérables à travers diverses fonctions. Ces microbes produisent notamment des métabolites pouvant servir de sources d'énergie pour le métabolisme cellulaire, soutenir le développement et le bon fonctionnement du système immunitaire, et empêcher la colonisation par des agents

pathogènes. L'intestin humain héberge un écosystème microbien d'une grande diversité. Le séquençage répété du gène de l'ARN ribosomique 16S (ARNr) ainsi que les études métagénomiques ont montré que chaque microbiome intestinal possède une combinaison microbienne unique (**Scepanovic et al., 2019**).

I.4.5. Stress

Le stress, omniprésent dans la vie quotidienne humaine, a divers effets biologiques, de plus en plus reconnus comme incluant la modulation des micro-organismes commensaux présents dans le tractus gastro-intestinal (**Karl et al., 2018**). À mesure que les niveaux de stress augmentent, l'incidence des troubles psychiatriques liés au stress s'élève également. Des données précliniques et cliniques ont montré comment l'exposition au stress peut altérer le microbiote intestinal et ses métabolites, affectant ainsi la physiologie de l'hôte (**Madison et Bailey, 2024**). Le stress psychologique est associé à des modifications de l'abondance du microbiote intestinal (**Ma et al., 2023**).

Le microbiote intestinal influence la réponse au stress, l'humeur, l'anxiété et la dépression. En retour, un stress chronique perturbe l'équilibre microbien, entraînant une diminution des bactéries bénéfiques et une inflammation locale et systémique. Cette interaction bidirectionnelle entre le stress et le microbiote pourrait jouer un rôle dans l'apparition de troubles émotionnels comme l'anxiété ou la dépression (**Foster et al., 2017**).

I.5. Implication du microbiote en pathologie humaine

I.5.1. Syndrome de l'intestin irritable (SII)

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est le trouble fonctionnel chronique du système gastro-intestinal le plus fréquent. Il se manifeste par une altération de la motilité intestinale, des douleurs viscérales et des ballonnements abdominaux (**Lajoie et al., 2021**) (**Figure N° 04**). De nombreuses personnes atteintes présentent également des comorbidités psychologiques, notamment de l'anxiété et de la dépression (**Almonajjed et al., 2025**). Le SII se décline en plusieurs sous-types selon la symptomatologie dominante : constipation, diarrhée, mixte ou non classifié. Divers traitements ciblant le microbiote — incluant les antibiotiques, les probiotiques, les prébiotiques, les synbiotiques, la transplantation de microbiote fécal (TMF) et les modifications alimentaires — constituent des approches prometteuses pour la prise en charge de cette pathologie (**Napolitano et al., 2023**).

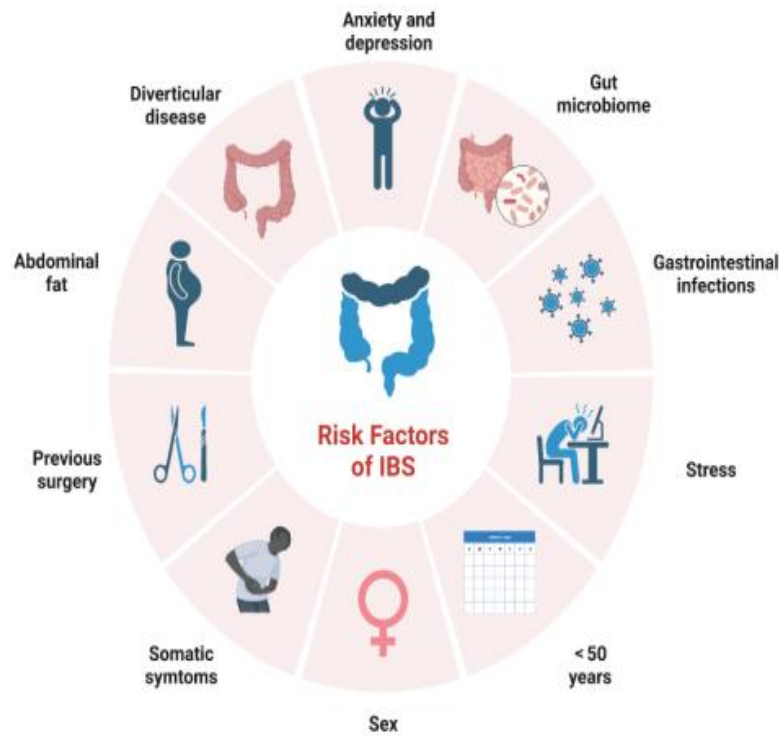


Figure 3: Principaux facteurs de risque du syndrome du côlon irritable (SCI) (Napolitano et al., 2023)

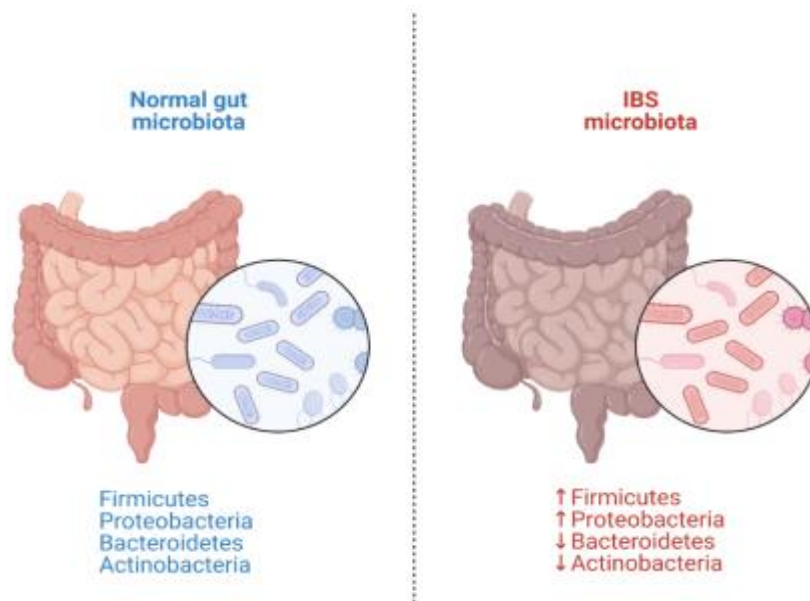


Figure 4: Principales altérations de la microflore dans le syndrome du côlon irritable (SCI) (M Napolitano *et al.*, 2023)

I.5.2. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Cette altération de l'équilibre de la microflore intestinale, appelée dysbiose, peut avoir plusieurs origines : (1) une alimentation déséquilibrée, trop riche en graisses d'origine animale et pauvre en fibres ; (2) une perturbation brutale de l'écosystème intestinal, provoquée par exemple par une gastroentérite aiguë ou un traitement antibiotique ; (3) l'accumulation, dès la petite enfance, de facteurs perturbant la mise en place d'un microbiote sain, comme le suggère l'hypothèse hygiéniste. Chacune de ces situations peut constituer un facteur de risque pour le développement de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Par ailleurs, la dysbiose peut favoriser la prolifération de pathobiontes — des micro-organismes habituellement inoffensifs devenant pathogènes dans certaines conditions — susceptibles d'aggraver l'inflammation intestinale (**Figure N°05**). C'est le cas notamment d'*Escherichia coli* adhérent et invasif (AIEC), une souche bactérienne suspectée de jouer un rôle clé dans la physiopathologie des MICI (**Rahmouni et al., 2016**).

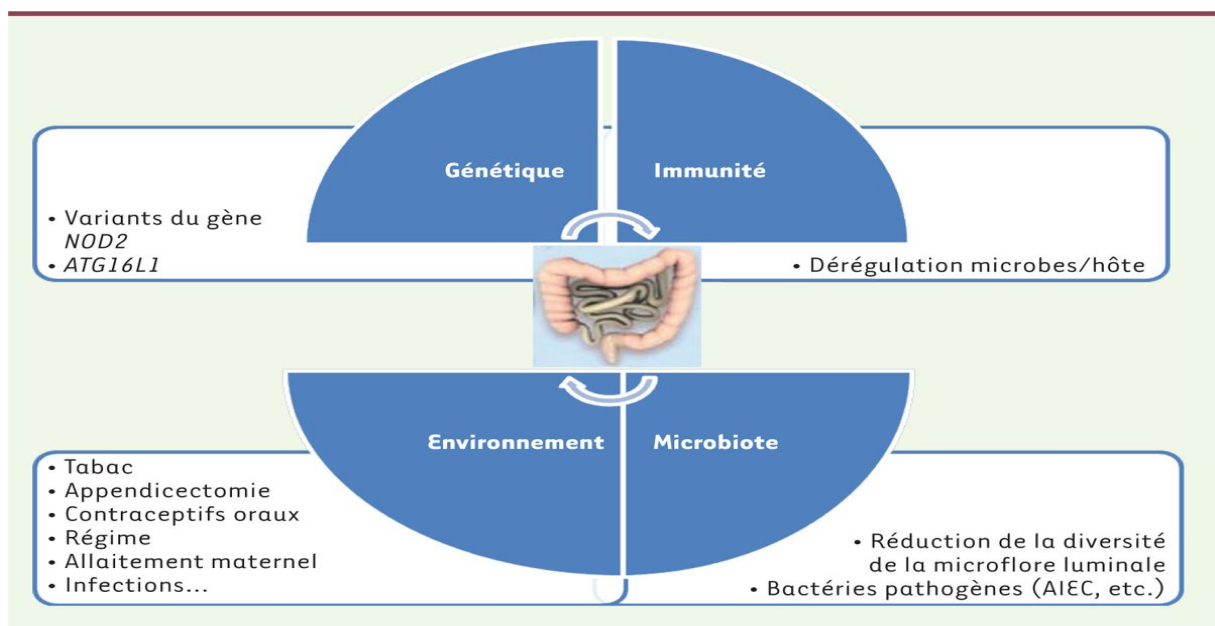


Figure 5: Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Rahmouni et al., 2016) .

La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) sont les deux principales formes de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Elles se manifestent par une inflammation persistante d'une portion du tube digestif, résultant d'une hyperactivation inappropriée du système immunitaire intestinal (**Rahmouni et al., 2016**) .

I.5.3. Maladies métaboliques

L'obésité, définie par un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 30 kg/m², est un trouble multifactoriel résultant d'interactions complexes entre le mode de vie, la génétique, l'alimentation, l'inflammation et le microbiote intestinal. Elle atteint aujourd'hui des proportions épidémiques dans les sociétés occidentales et s'accompagne de nombreuses complications, telles que la résistance à l'insuline, le diabète de type 2, un risque accru de cancers et de maladies cardiovasculaires, pouvant mener à une mortalité prématurée. Le rôle du microbiote intestinal dans la prise de poids s'expliquerait notamment par une meilleure extraction de l'énergie des aliments, en influençant l'expression des gènes métaboliques de l'hôte au niveau intestinal. Un régime alimentaire riche en graisses pourrait également aggraver cette tendance, directement ou par l'intermédiaire de modifications du microbiote (Kulkarni *et al.*, 2023 ; Xu *et al.*, 2024).

Le diabète sucré de type 2 (DT2), maladie chronique caractérisée par une hyperglycémie et une résistance à l'insuline, est également associé à des altérations de la composition du microbiote intestinal. Chez les patients atteints de DT2, on observe une diminution des bactéries bénéfiques et une prolifération de souches potentiellement pathogènes. Cette dysbiose pourrait jouer un rôle clé dans la pathogenèse de la maladie, en favorisant l'inflammation et en compromettant l'intégrité de la barrière intestinale (Kulkarni *et al.*, 2023 ; Xu *et al.*, 2024) .

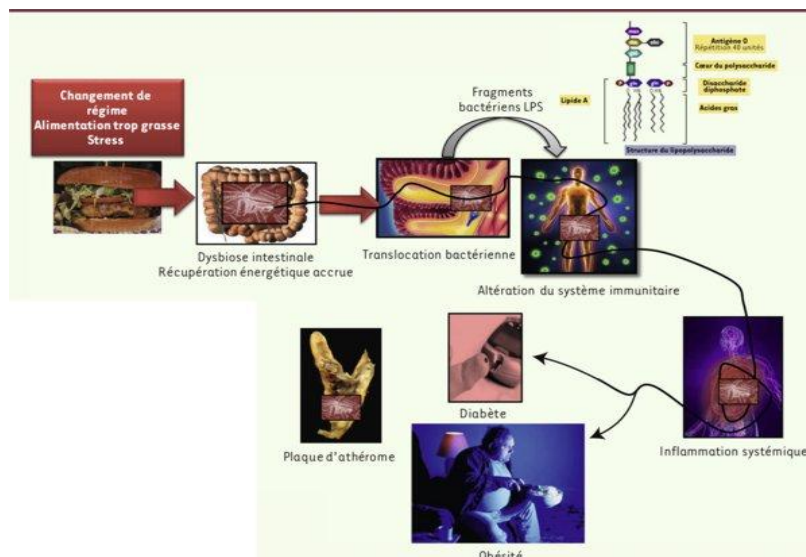


Figure 6: De la dysbiose intestinale aux maladies métaboliques (Burcelin et al., 2013)

I.5.4. Maladie cardiovasculaire

L'hypertension constitue le principal facteur de risque des maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires, et s'associe fréquemment à d'autres facteurs aggravants, pouvant entraîner des pathologies graves telles que les affections cardiaques, cérébrales ou rénales. Bien que son mécanisme précis reste encore mal élucidé, de nombreuses données récentes suggèrent une implication étroite du microbiote intestinal dans son développement (**Ge et al., 2024**).

Une étude transversale a notamment montré que, dans l'insuffisance cardiaque chronique, le microbiote se caractérise par une composition altérée, une faible diversité bactérienne et une diminution des bactéries productrices de butyrate, des modifications susceptibles d'induire une activation immunitaire chronique. Chez les patients hypertendus, on observe une augmentation de bactéries potentiellement nuisibles, telles que *Klebsiella*, *Streptococcus* et *Parabacterium*, associées à des réponses pro-inflammatoires et à une immunité intestinale affaiblie. Parallèlement, les bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte — reconnues pour leurs effets bénéfiques — sont réduites (**Ge et al., 2024**).

L'athérosclérose est une pathologie vasculaire dégénérative caractérisée par l'accumulation de plaques constituées de composants sanguins tels que les lipides et les sucres complexes. Courante parmi les maladies cardiovasculaires, elle représente l'une des principales causes de mortalité et constitue une menace majeure pour la santé humaine. Son développement repose sur des mécanismes complexes impliquant des troubles du métabolisme lipidique, une inflammation locale ou systémique, un stress oxydatif, un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire, ainsi que des facteurs de risque traditionnels comme le diabète, l'hypertension, l'obésité ou le tabagisme. Le microbiote intestinal joue également un rôle important en modulant le métabolisme du cholestérol, en influençant la réponse immunitaire, en produisant des métabolites bactériens tels que les acides gras à chaîne courte (AGCC), et en migrant potentiellement vers les tissus des plaques d'athérome, contribuant ainsi à la progression de la maladie (**Mao et al., 2024**).

I.5.5. Maladies neurologiques et psychiatriques

La dépression et l'anxiété sont des troubles mentaux fréquents qui compromettent fortement la qualité de vie, affectant la capacité à travailler, à étudier et à interagir au quotidien. Des recherches récentes ont mis en lumière une interaction bidirectionnelle entre le tube digestif et le cerveau, connue sous le nom d'« axe microbiote-intestin-cerveau ». Cette communication complexe suggère que le microbiote intestinal peut influencer le système

nerveux en modulant des processus physiologiques, cognitifs et émotionnels par l'intermédiaire de voies neuronales, immunitaires et chimiques. La nutrition, en participant à l'équilibre de la flore intestinale, pourrait également agir sur cet axe et impacter l'humeur ainsi que les fonctions cognitives. Toutefois, en raison de la complexité des troubles psychiatriques et de la variabilité interindividuelle du microbiote, il demeure difficile d'établir des liens de causalité clairs (**Clerici et al., 2025**).

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative se manifestant par un déclin progressif des fonctions cognitives et de la mémoire, ce qui en fait la forme de démence la plus répandue. Avec le vieillissement croissant de la population mondiale, le nombre de personnes atteintes de démence devrait atteindre 78 millions d'ici 2030. Ces dernières années, la MA s'est imposée comme un enjeu majeur de santé publique, affectant le bien-être global et la qualité de vie des populations à l'échelle mondiale (**Li et al., 2024**). D'après l'OMS, la démence touche 50 millions de personnes dans le monde, dont 60 à 70 % souffrent de MA (**Jimenez-Garcia et al., 2024**).

Des recherches récentes ont mis en évidence une association entre la dysbiose du microbiote intestinal et les altérations physiopathologiques observées dans la MA, telles qu'une agrégation anormale de la protéine A β au niveau cérébral, une réponse inflammatoire accrue, un dysfonctionnement du système immunitaire ainsi que des dommages neuronaux et synaptiques (**Liang et al., 2024**). Les mécanismes potentiels impliqués dans la pathogenèse de la MA, médiés par le microbiote intestinal, incluent notamment : d'une part, des interactions anormales entre le microbiote et l'hôte pouvant augmenter la perméabilité de l'épithélium intestinal ; d'autre part, la dysbiose intestinale pourrait également entraîner une altération de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et contribuer à la formation de dépôts amyloïdes (**Liang et al., 2024**).

I.5.6. Le Cancer colorectal

Le cancer colorectal (CCR) représente la troisième forme de cancer la plus fréquente à l'échelle mondiale, ainsi que la quatrième cause de mortalité et de morbidité liées au cancer. Le microbiote intestinal, ainsi que les altérations cellulaires qui lui sont associées, constitue un facteur émergent impliqué dans le développement du CCR (**Raljbar et al., 2021**).

Le microbiote observé chez les patients atteints de CCR présente une composition bactérienne distincte de celle d'un microbiote intestinal sain. Il inclut notamment des souches spécifiquement associées au CCR, telles que *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus gallolyticus*,

Enterococcus faecalis et *Escherichia coli*, ainsi que d'autres bactéries récemment identifiées comme *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* et *Prevotella* (Rebersek, 2021).

Ce microbiote joue un rôle dans la carcinogenèse colorectale à travers plusieurs mécanismes, notamment l'induction de l'inflammation, la modulation de la réponse immunitaire et l'altération du métabolisme des composés alimentaires. Ces processus peuvent entraîner la production de substances microbiennes nocives, comme certains métabolites ou génotoxines (Rebersek, 2021).

I.5.7. Allergie et asthme

La relation entre le microbiote intestinal et les maladies intestinales, ainsi que son interaction avec l'environnement immunitaire pulmonaire, est désignée sous le terme « axe intestin-poumon ». Ce lien bidirectionnel suscite un intérêt croissant, notamment en raison de l'augmentation mondiale de l'incidence de l'asthme bronchique. Il est désormais largement reconnu que les micro-organismes intestinaux, ainsi que leurs produits métaboliques, peuvent influencer directement ou indirectement l'apparition et la progression de l'asthme. Des études ont mis en évidence une moindre abondance de certaines bactéries bénéfiques — telles que *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Ruminococcus* et *Bacteroides* — ainsi que du champignon *Malassezia*, chez les jeunes enfants souffrant d'asthme ou de respiration sifflante atopique. Ces micro-organismes pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre le développement de ces troubles respiratoires (M Zhang *et al.*, 2025 ; R Aslam *et al.*, 2024).

I.6. Approches thérapeutiques : les probiotiques et la transplantation fécale

I.6.1. Les probiotiques

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, améliorent la santé de l'hôte. Ils appartiennent principalement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, issus de la flore humaine ou de produits laitiers fermentés (Coudeyras et Forestier, 2010). Parmi les plus utilisés figurent la levure *Saccharomyces cerevisiae* (boulardii) et diverses souches bactériennes de ces deux genres (Tsai *et al.*, 2019). Les probiotiques agissent d'abord en colonisant durablement l'hôte, puis en modulant le microbiote commensal afin de rétablir l'équilibre microbien normal (Kesika *et al.*, 2021).

Les pathologies les couramment ciblées sont les diarrhées, maladies inflammatoires chroniques intestinales et allergies. D'autres pathologies commencent à s'intéresser à l'approche probiotique comme l'obésité, les maladies métaboliques, ainsi que les maladies psychiatriques (**Butel, 2014**).

L'utilisation de ces derniers dans une approche thérapeutique pourrait réduire le recours aux antibiotiques (**Kesika et al., 2021**). Les effets bénéfiques des probiotiques ont longtemps été attribués à leur capacité à rétablir l'équilibre de la flore intestinale. Il est désormais reconnu que les probiotiques peuvent contribuer à la restauration ou à l'amélioration du microbiote, non pas tant en modifiant sa composition, mais plutôt en agissant sur ses fonctions physiologiques. De nombreux probiotiques ont d'ailleurs été isolés à partir du microbiote de sujets sains, en comparaison à celui de patients atteints de pathologies ou présentant une susceptibilité accrue. Ainsi, le rôle principal des probiotiques consiste généralement à compenser ou prévenir les effets néfastes des dysbioses, ou encore à s'intégrer temporairement au microbiote afin de renforcer ses fonctions endogènes (**Coudeyras et Forestier, 2010**).

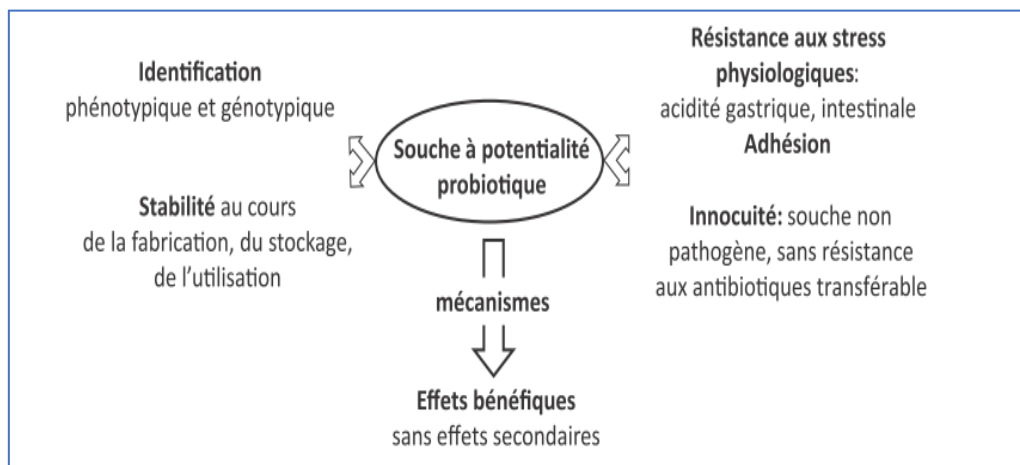


Figure 7: Caractéristique des souches probiotiques. (**Butel, 2014**)

I.6.2. La transplantation de microbiote fécale (TMF)

La transplantation de microbiote fécale (TMF), également appelée bio-inoculation (**Joly et al., 2017**), consiste à soigner une personne malade en lui transférant le microbiote intestinal d'un donneur en bonne santé dans l'intestin d'un receveur afin de traiter un trouble lié à des déséquilibres du microbiote intestinal (**Procari et al., 2023**).

La TMF a démontré une efficacité robuste dans le traitement de l'ICD récurrente (ICDr) et est désormais recommandée avec un niveau de preuve élevé. L'ICD est une maladie principalement d'origine écologique, caractérisée par une perte des propriétés de barrière du microbiote intestinal.

Dans une telle situation, la TMF agirait comme une « réinitialisation » pour restaurer la richesse et la diversité du microbiote intestinal et prévenir la croissance et la pathogénicité *de Clostridioides difficile*. En effet, une ou deux TMF suffisent à guérir l'ICDr dans 90 % des cas (**Benech et Sokol, 2020**). L'amélioration de la réponse au traitement TMF est influencée par quatre facteurs clés : la sélection du donneur, la préparation du receveur, la production du greffon et le processus de mise en œuvre et de gestion du TMF. Parmi ceux-ci, l'identification des donneurs efficaces est considérée comme l'étape la plus critique (**Tian et al., 2024**). Cependant, l'intérêt croissant se tourne désormais vers d'autres indications, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et le syndrome métabolique (**de Groott et al., 2017**).

II. Établissement du microbiote chez le nouveau-né

II.1. Établissement et développement du microbiote intestinal chez le nourrisson

II.1.1. Transmission in utero

Les microbiomes présents dans différents sites du corps humain se développent dès le plus jeune âge, certains étant transmis verticalement par la mère au cours de la période périnatale (**Xiao et zhao, 2023**). Cette transmission microbienne joue un rôle fondamental dans l'établissement du microbiote initial du nouveau-né, influençant de manière significative son développement futur. Le transfert de micro-organismes de la mère à l'enfant débute dès le début de la grossesse et se poursuit bien au-delà de l'accouchement.

➤ **Placenta**

L'établissement initial du microbiote intestinal du nourrisson se fait principalement par la transmission verticale des microbes de la mère. Les chercheurs pensent que la transmission du microbiome entre la mère et le bébé commence avant l'accouchement. Certaines études ont montré que les femmes enceintes qui prennent des probiotiques spécifiques peuvent transmettre leur microbiote intestinal au fœtus via le placenta, influençant ainsi le développement du microbiote intestinal fœtal (**Yang et al., 2021**).

➤ **Liquide amniotique**

Le liquide amniotique joue un rôle crucial dans le développement du fœtus. Il protège le fœtus des chocs externes, maintient la température et la stabilité utérines, et offre un environnement de vie optimal pour le fœtus. Le fœtus avale constamment le liquide amniotique, et les micro-organismes présents dans ce liquide pénètrent dans l'intestin fœtal ; ainsi, le liquide amniotique pourrait être important pour le microbiote intestinal du nourrisson. Des études récentes ont montré que le microbiote intestinal du nourrisson pourrait provenir du liquide amniotique. Les microbes présents (**Yang et al., 2021**).

II.1.2. Transmission lors de l'accouchement

Le mode d'accouchement est aujourd'hui reconnu comme un facteur déterminant majeur dans l'acquisition et le développement initial du microbiote intestinal, notamment au cours de la première année de vie (**Lai et al., 2024**). À la naissance, les nourrissons possèdent une communauté microbienne intestinale relativement simple, qui se complexifie progressivement pour atteindre une composition proche de celle de l'adulte vers l'âge de trois ans. Parmi les nombreux facteurs influençant la composition et l'évolution du microbiote durant cette période, le mode d'accouchement occupe une place centrale (**Mitchell et al., 2024**).

➤ Voie césarienne

Les nourrissons nés par césarienne présentent une composition microbienne intestinale précoce sensiblement différente de celle des nourrissons nés par voie vaginale. On observe notamment une richesse et une diversité bactériennes moindres, ainsi qu'une colonisation réduite par des espèces bénéfiques telles que *Bacteroides*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (**Mitchell et al., 2024**). En revanche, une colonisation plus rapide et plus abondante par des bactéries du genre *Clostridium* est souvent constatée chez ces enfants (**Coudeyras et Forestier, 2010**). Cette signature microbienne propre à la césarienne peut persister jusqu'à l'âge de six mois, malgré les effets modulateurs potentiels de l'allaitement maternel sur le microbiome (**Mitchell et al., 2024**).

Si l'absence de contact direct avec la flore vaginale et périnéale maternelle est généralement invoquée pour expliquer ce retard ou ce décalage de colonisation, l'administration prophylactique d'antibiotiques à la mère avant ou après la césarienne est également susceptible d'en altérer significativement la dynamique (**Coudeyras et Forestier, 2010**).

➤ Voie basse

En cas d'accouchement par voie basse, le nourrisson est exposé dès la naissance au microbiote maternel, qui constitue le premier inoculum microbien (**Suárez-Martínez et al., 2023**). Il est largement admis que la flore intestinale des nouveau-nés nés par voie vaginale provient en grande partie des bactéries présentes dans l'intestin, le vagin, la peau de la mère, ainsi que d'autres sources environnementales proches (**Lai et al., 2024 ; Mitchell et al., 2024**).

Cette primo-colonisation bactérienne concerne un tractus gastro-intestinal initialement stérile. Les premières espèces acquises sont majoritairement d'origine maternelle — vaginale, fécale ou cutanée — avant que ne s'ajoutent des micro-organismes issus de l'environnement, tels qu'*Escherichia coli* et des *streptocoques*. Rapidement, le microbiote s'enrichit de bactéries provenant de l'alimentation lactée, notamment les *bifidobactéries* et les *lactobacilles*, suivies plus tard par des genres comme *Bacteroides* et *Eubacterium* (El Kaoutari *et al.*, 2014) ;

II.1.3. Transfert par l'allaitement

Le lait maternel est un biofluide extrêmement complexe et très variable, qui a évolué au fil des millénaires pour nourrir les nourrissons et les protéger contre les maladies pendant que leur propre système immunitaire se développe. La composition du lait maternel humain change en réponse à de nombreux facteurs, s'adaptant aux besoins de l'enfant en fonction de son âge et d'autres caractéristiques. Par conséquent, on considère généralement que la composition du lait maternel est spécifiquement adaptée par chaque mère pour refléter précisément les besoins de son nourrisson (Andreas *et al.*, 2015).

Le lait maternel (LM) est la source normative de nutrition pour les nourrissons durant les six premiers mois de vie. Il est considéré comme une source essentielle de nutriments, contenant environ 87 % d'eau, 3,8 % de lipides, 1,0 % de protéines et 7 % de lactose, ce dernier et les lipides fournissant respectivement 40 % et 50 % de l'énergie totale apportée par le lait. Le lait maternel contient également des cellules immunitaires, des microARN, des hormones et des composés bioactifs aux propriétés anti-inflammatoires et anti-infectieuses. Parmi ces composants figurent des cytokines, des chimiokines, des immunoglobulines, des hormones, des facteurs de croissance, des oligosaccharides et des peptides antimicrobiens tels que la bactériocine et la lactoferrine (Duale *et al.*, 2022).

L'allaitement maternel façonne le microbiote intestinal dès les premiers instants de la vie, à la fois directement par l'exposition du nouveau-né au microbiote du lait maternel, et indirectement, via des facteurs présents dans le lait maternel maternel qui influencent la croissance et le métabolisme des bactéries, tels que les oligosaccharides du lait humain, les IgA sécrétoires et les facteurs antimicrobiens. Le potentiel du lait maternel à moduler le microbiote intestinal précoce de la progéniture représente un outil prometteur van den (van den Elsen *et al.*, 2019).

II.2. Composition générale du microbiote intestinal chez le nourrisson

Le microbiote intestinal du nourrisson présente initialement une faible diversité, qui augmente ensuite avec le développement précoce. Les microbes qui colonisent l'intestin sont généralement des bactéries aérobies, car l'intestin est aérobie. Après l'âge adulte, les microbes colonisés durant la petite enfance seront remplacés par des bactéries anaérobies typiques de l'intestin. Des études sur le microbiote intestinal des nourrissons ont montré que des *Clostridia*, *Enterobacteria* et *Streptococci* étaient observés dans les intestins des nourrissons au cours des deux premiers jours après la naissance. Les *Clostridia*, *Bacteroides* et *Bifidobacterium* apparaissent dans les intestins de 40 % des nourrissons dès le troisième jour. Entre le 4ème et le 7ème jour, *Bifidobacterium* devient dominant, avec sa plus grande abondance relative. Avant le sevrage, l'abondance relative des *Bacteroides* augmente progressivement pour concurrencer *Bifidobacterium* dans l'intestin du nourrisson. Après la diversification alimentaire, la composition du microbiote intestinal du nourrisson devient similaire à celle des adultes. Deux à trois ans après la naissance, le microbiote intestinal du nourrisson se développe progressivement vers celui de l'adulte (Yao *et al.*, 2021)

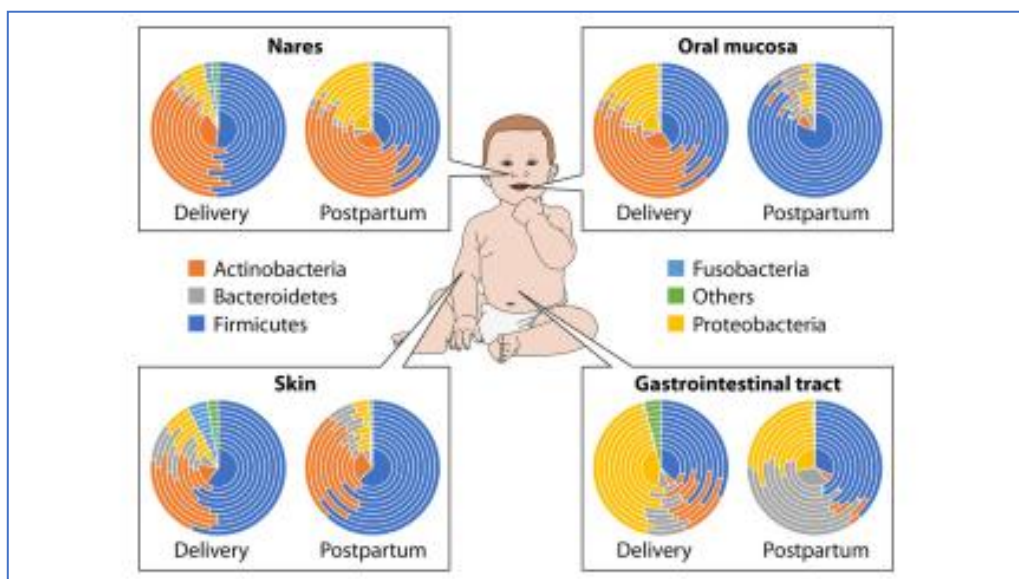


Figure 8: La composition du microbiote varie selon les différents sites corporels chez le nourrisson. (Milani *et al.*, 2017)



Chapitre III :

Materiel et

Méthodes

Cette recherche s'inscrit dans un contexte où il est établi que le mode de naissance joue un rôle crucial dans la colonisation bactérienne du nourrisson, avec des différences notables entre les bébés nés par voie basse, qui héritent principalement du microbiote intestinal maternel, et ceux nés par césarienne, dont le microbiote est davantage influencé par l'environnement hospitalier. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact du mode d'accouchement sur la composition et la diversité du microbiote intestinal chez les nourrissons. Plus précisément, cette étude vise à comparer les communautés bactériennes présentes dans les selles des nourrissons nés par césarienne et ceux nés par voie basse, afin d'évaluer l'impact du mode d'accouchement sur la colonisation bactérienne initiale et la diversité microbienne chez les jeunes enfants, en tenant compte aussi d'autres facteurs.

III.1. Cadre et période de réalisation de l'étude

Notre étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Dr Benzerdjeb à Aïn Témouchent, ainsi qu'au laboratoire pédagogique de l'université d'Aïn Témouchent, durant la période du 10 avril au 3 mai 2025.

III.2. Echantillonnage :

Notre étude a porté sur 3 nouveau-nés nés par voie basse (2 de sexe masculin et 1 de sexe féminin) et 3 nouveau-nés nés par césarienne (1 de sexe masculin et 2 de sexe féminin), accueillis au service de néonatalogie de l'hôpital Ahmed-Medeghri d'Aïn Témouchent et à la clinique Ibn Sina d'Aïn Témouchent, durant la période de Mars 2025 à Avril 2025.

Les échantillons fécaux sont recueillis individuellement et de manière aseptique dans des pots à vis stériles, puis transportés au laboratoire dans une glacière. Leur conservation se fait à 4 °C, sans dépasser un délai de quatre heures. Les prélèvements de selles sont réalisés aux jours J1 et J10.

Les six nouveau-nés ne présentent aucune pathologie, et leurs mères n'ont reçu aucun traitement antibiotique ni pendant la grossesse, ni durant la période d'allaitement.

III.3. Analyses microbiologiques :

- **Préparation des suspensions de dilution :**
- **Les échantillons fécaux :**

Des dilutions décimales des fèces sont effectuées dans l'eau physiologique (NaCl 0.9%). Pour chaque prélèvement, 1g d'échantillon fécal à analyser est ajouté dans un tube à essai à 9 ml du milieu NaCl 0.9%. On obtient ainsi une dilution mère de 10^{-1} à partir de laquelle on réalise des dilutions décimales jusqu'à 10^{-6}

III.4. Isolement et identification des bactéries lactiques :

III.4.1. Les bifidobactéries :

L'isolement des bifidobactéries est réalisé sur un milieu MRS enrichi en L-cystéine. Leur dénombrement s'effectue sur ce même milieu MRS-Cys, incubé en conditions anaérobies à 37°C pendant 48 heures dans une jarre d'anaérobiose (Martín *et al.*, 2009). Après 48 heures d'incubation, les colonies sont sélectionnées en fonction de leur morphologie observée à la loupe binoculaire, ainsi que selon leur mobilité, leur forme, leur état frais et leur coloration de Gram.

III.4.2. Les lactobacilles et les streptocoques :

L'isolement des lactobacilles a été effectué sur un milieu MRS (de Man, Rogosa, Sharpe), incubé à 37°C pendant 48 heures dans des conditions anaérobies strictes. Ce milieu est bien adapté à la croissance des bactéries lactiques, en particulier les lactobacilles, en raison de sa richesse en nutriments et de son pH légèrement acide (Zheng *et al.*, 2020). Après incubation, les colonies ont été sélectionnées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques observées à la loupe binoculaire, puis caractérisées par leur mobilité, leur forme, leur aspect en état frais, ainsi que leur coloration de Gram. Des repiquages successifs ont été réalisés à partir de colonies isolées en milieu liquide MRS, afin d'obtenir des cultures pures. La pureté des souches a été confirmée par observation microscopique après coloration de Gram, les lactobacilles se présentant généralement comme des bacilles Gram positifs immobiles (Rault *et al.*, 2009).

Les streptocoques ont été isolés à l'aide du milieu M17, adapté à la culture des streptocoques notamment *Streptococcus thermophilus* et d'autres espèces apparentées (Terzaghi et Sandine, 1975). Les ensemencements ont été incubés pendant 48 heures à deux

températures différentes : 37°C et 42°C, permettant de discriminer certaines espèces thermophiles. À l'issue de l'incubation, les colonies ont été sélectionnées selon leur morphologie macroscopique, puis évaluées pour leur forme cellulaire, leur mobilité, leur état frais et leur coloration de Gram. Des repiquages successifs ont été réalisés à partir de colonies isolées en bouillon M17, assurant la purification des souches. La pureté a été vérifiée par examen microscopique après coloration de Gram (Axelsson, 2004). Après croissance et dénombrement des colonies, de chaque boîte de Pétri 10 colonies sont isolées afin d'effectuer une coloration de Gram et la recherche de catalase.

⇒ Examen macroscopique :

L'examen macroscopique des bactéries lactiques a été effectué après incubation sur milieux spécifiques pendant 48 heures à 37 °C en conditions anaérobies. L'observation à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire a permis de caractériser les colonies selon plusieurs critères : forme, bord, relief, brillance, texture, couleur et opacité. Les lactobacilles forment généralement des colonies petites à moyennes, circulaires, crémeuses ou mates, de couleur blanchâtre. Les bifidobactéries produisent souvent des colonies irrégulières, opaques, mates, parfois légèrement rugueuses (Ventura *et al.*, 2007).

⇒ Examen microscopique :

L'examen microscopique des bactéries lactiques, telles que les bifidobactéries, les lactobacilles et les streptocoques, a été réalisé selon la méthode classique de la coloration de Gram, permettant de distinguer les bactéries Gram positives des Gram négatives en fonction de la composition de leur paroi cellulaire (Beveridge, 2001).

⇒ Recherche de la catalase :

Le test a été effectué en déposant une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 % directement sur une lame contenant une colonie bactérienne fraîche. L'absence de dégagement gazeux (aucune effervescence) indique une réaction négative, typique des bactéries lactiques, qui sont généralement anaérobies ou microaérophiles et dépourvues de système enzymatique de protection contre le stress oxydatif (Walter, 2008). En revanche, une réaction positive se manifeste par une production immédiate de bulles d'oxygène, caractéristique des genres comme *Staphylococcus* ou *Bacillus* (Madigan *et al.*, 2015).

III.4.3. Isolement et identification des staphylocoques :

L'isolement des staphylocoques a été réalisé sur milieu Chapman, un milieu sélectif contenant du mannitol et une forte concentration en NaCl (7,5 %), permettant de favoriser la croissance des staphylocoques halotolérants, tout en inhibant celle de nombreuses autres bactéries Gram négatif ou sensibles au sel (**Bannerman, 2003**). Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures en conditions aérobies. Après incubation, les colonies ont été sélectionnées sur la base de leur apparence macroscopique. Les colonies suspectes de staphylocoques apparaissent généralement rondes, convexes, lisses, opaques, de couleur jaune doré à crème selon la fermentation du mannitol (**Milheiriço et al., 2007**).

Les colonies ont ensuite été soumises à une observation microscopique après coloration de Gram. Les staphylocoques se présentent comme des cocci Gram positifs disposés en amas caractéristiques (en “grappes de raisin”). Des repiquages successifs sur bouillon nutritif et sur gélose Chapman ont été effectués à partir de colonies isolées afin d'obtenir des cultures pures. La pureté a été confirmée par observation microscopique. Une fermentation positive du mannitol (jaunissement du milieu) est un indicateur présomptif de la présence de *Staphylococcus aureus*, tandis que d'autres espèces comme *S. epidermidis* ne fermentent pas le mannitol (**Milheiriço et al., 2007 ; Becker et al., 2014**).

⇒ L'activité catalytique :

Pour ce faire, une colonie fraîche de culture (incubée 24 à 48 h sur milieu Chapman à 37 °C) a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et mise en contact avec une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3 % déposée sur une lame propre. Une réaction positive se manifeste immédiatement par une effervescence (formation de bulles d'oxygène), ce qui traduit une forte activité catalasique.

III.4.4. Isolement et identification des *Escherichia* :

Le dénombrement du genre *Escherichia* s'effectue sur milieu Hecktoen, incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures. *Escherichia coli* est isolé par repiquages successifs sur ce même milieu, avec une incubation de 24 heures à 37°C. L'identification et la caractérisation des colonies reposent sur l'observation macroscopique et microscopique (coloration de Gram), la détection de la mobilité, ainsi que la réalisation des tests d'oxydase et de production de H₂S. Enfin, une galerie API 20 E (BioMérieux) est utilisée pour confirmer l'identification.

⇒ **Test oxydase :**

Pour réaliser le test, une colonie fraîche d'*E. coli* (24 h d'incubation à 37 °C) est prélevée avec une baguette ou une anse stérile non métallique, puis appliquée sur une bandelette commerciale ou un papier filtre imprégné de réactif oxydase (généralement du tétraméthyl-p-phénylènediamine). Une absence de coloration violette dans les 30 secondes suivant l'application indique un test négatif, confirmant que la souche ne possède pas l'enzyme cytochrome c oxydase. Ce test, rapide et facile à mettre en œuvre, s'avère donc utile pour différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif, aérobies ou aéro-anaérobies.

III.4.4.1. Identification d'Escherichia par galerie API 20 E :

La galerie API 20 E est un système d'identification d'*E. Coli* basé sur des tests standardisés et miniaturisés, comprenant 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces tests sont inoculés avec une suspension bactérienne préparée à partir de colonies pures isolées sur milieu Hecktoen, diluées en eau physiologique, ce qui permet de reconstituer les milieux. Une anaérobiose est créée dans certains tests (ADH, LDC, ODC, URE, H₂S) en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine stérile. Les réactions observées se manifestent par des changements de couleur spontanés ou après addition de réactifs, et la lecture des résultats se fait en se référant au tableau de lecture conventionnel. (**Joffin *et al.*, 2006**).

L'identification d'*Escherichia colis* à partir de la galerie API 20E implique la saisie des résultats des tests dans un tableau Excel dédié, permettant ainsi le calcul du profil numérique et offrant une identification précise grâce à une base de données intégrée.



Chapitre IV :

Résultats et

Discussion

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1. Résultats qualitatifs des selles du nouveau-né

Les toutes premières selles du nouveau-né, appelées méconium, ont une couleur verte très foncée, presque noire. Elles sont denses, épaisses, collantes et souvent sans odeur. Le nourrisson les expulse généralement au cours des 12 premières heures suivant la naissance. Au fur et à mesure que le nourrisson est nourri au sein, la couleur des selles évolue progressivement.

Le choix des jours de prélèvement, à J1 et J10, pour les échantillons fécaux des nouveau-nés, qu'ils soient nés par voie basse ou par césarienne, est basé sur l'évolution du lait maternel. En effet, le lait maternel du premier jour, appelé colostrum, est épais et jaunâtre jusqu'au septième jour. Après ce délai, il se transforme en lait de transition, qui devient progressivement plus blanc et moins dense.

IV.2. Évaluation du microbiote intestinal chez les nouveau-nés nés par voie basse

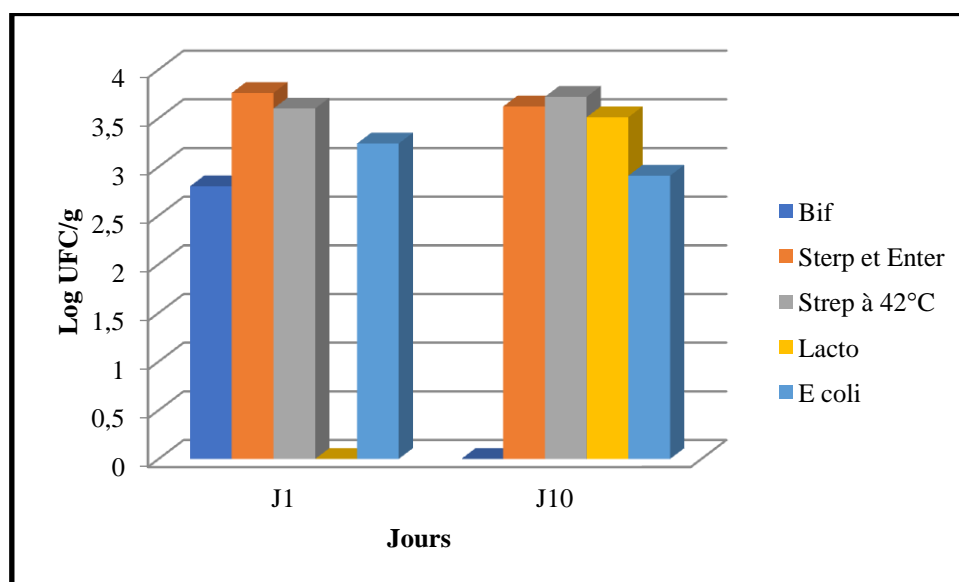


Figure 9: Évolution de la flore fécale chez le premier nouveau-né né par voie basse.

- Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Strep et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*

Cette figure présente les résultats d'une évaluation du microbiote intestinal chez les nouveau-nés nés par voie basse, réalisée à deux moments : le jour 1 (J1) et le jour 10 (J10) après la naissance. L'axe vertical indique la concentration bactérienne exprimée en log UFC/g (unités formant colonies par gramme).

À Jour 1 (J1), les bactéries les plus abondantes dans le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par voie basse sont les *Streptocoques* et *Enterocoques*, avec une concentration d'environ 3,7 log UFC/g. Les *Streptocoques* à 42°C et les *Lactobacilles* présentent une abondance proche, située entre 3,5 et 3,6 log UFC/g. La bactérie *E. coli* est modérément présente, avec une concentration d'environ 3,2 log UFC/g, tandis que les *Bifidobactéries*, moins abondantes, sont mesurées à environ 2,8 log UFC/g.

À Jour 10 (J10), on observe une légère augmentation ou une stabilisation de la majorité des groupes bactériens. Les *Bifidobactéries* augmentent nettement, passant de ~2,8 à ~3,5 log UFC/g, ce qui est un signe positif de maturation du microbiote. Les *Lactobacilles* augmentent légèrement, de ~3,5 à ~3,6 log UFC/g, tandis que la concentration d'*E.coli* reste stable ou diminue légèrement, allant de ~3,2 à ~2,9 log UFC/g. Les populations de *Streptocoques*, *Enterocoques* et *Streptocoques* à 42°C restent globalement stables, avec une légère baisse ou stagnation (**Figure N°09**).

Cette évolution reflète un profil de colonisation normal chez les nouveau-nés nés par voie basse, caractérisé par une diversité bactérienne relativement stable et une colonisation précoce par des bactéries d'origine vaginale ou intestinale, telles que les *Streptocoques*, *Enterocoques* et *E. coli*. L'augmentation notable des *Bifidobactéries*, considérées comme bénéfiques, témoigne d'une maturation favorable du microbiote intestinal entre le premier et le dixième jour de vie.

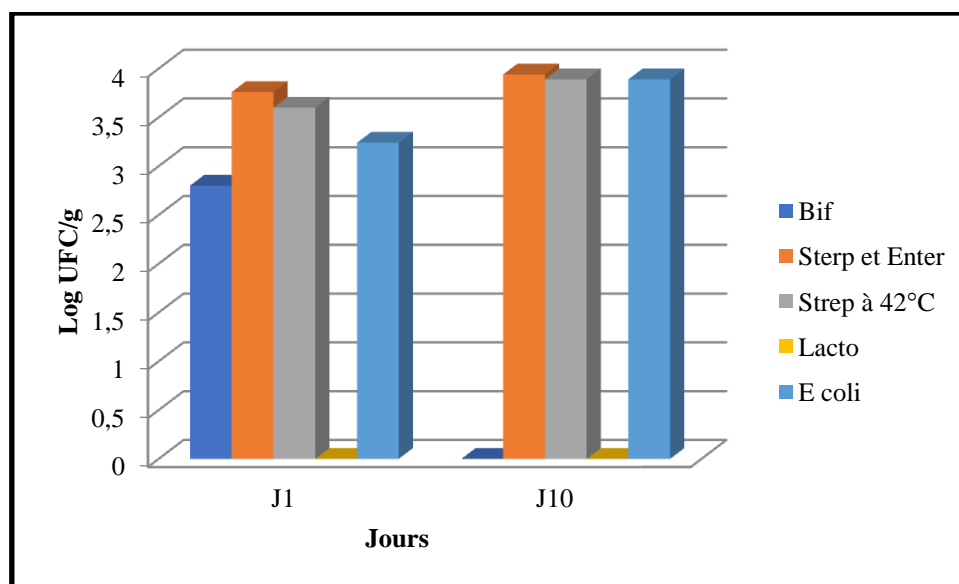


Figure 10: Évolution de la flore fécale chez le deuxième nouveau-né né par voie basse.

- Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Strep et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*.

À Jour 1 (J1), les bactéries les plus abondantes dans le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par voie basse sont les *Streptocoques* et *Entérocoques*, avec une concentration d'environ 3,8 log UFC/g. Les *Streptocoques* à 42°C présentent une abondance similaire, autour de 3,6 log UFC/g, suivis de près par les *Lactobacilles*, également à environ 3,3 log UFC/g. La bactérie *E. coli* est modérément présente, avec une concentration proche de 3,4 log UFC/g, tandis que les *Bifidobactéries* sont les moins abondantes, avec une concentration estimée à 2,8 log UFC/g.

À Jour 10 (J10), une augmentation générale des concentrations bactériennes est observée. Les *Bifidobactéries* montrent une nette progression, atteignant environ 3,3 log UFC/g, ce qui reflète une bonne dynamique de maturation du microbiote. Les *Streptocoques* et *Entérocoques*, ainsi que les *Streptocoques* à 42°C, augmentent légèrement pour atteindre environ 4 log UFC/g. Les *Lactobacilles* suivent cette tendance avec une croissance similaire, avoisinant également 4 log UFC/g à J10. La concentration en *E. coli* progresse elle aussi, atteignant une valeur comparable, autour de 4 log UFC/g (**Figure N°10**).

Cette évolution indique une colonisation intestinale progressive et harmonieuse chez les nourrissons nés par voie basse. La dominance initiale des bactéries d'origine vaginale ou périnéale, telles que les *Streptocoques*, *Enterocoques*, et *E. coli*, reflète le passage par le canal

vaginal au moment de la naissance. La croissance notable des *Bifidobactéries*, essentielles à l'équilibre du microbiote infantile, témoigne d'un développement favorable et d'une transition vers une flore intestinale plus stable et bénéfique au fil des jours.

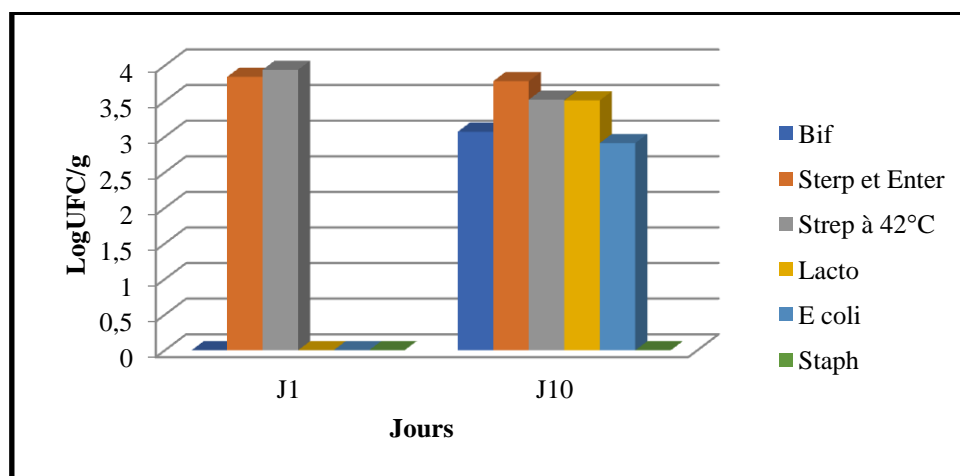


Figure 11: Évolution de la flore fécale chez le troisième nouveau-né né par voie basse.

- Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Sterp et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*, Staph : *Staphylococcus*

À Jour 1 (J1), les bactéries les plus abondantes dans le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par voie basse sont les *Streptocoques* et *Entérocoques*, avec une concentration d'environ 3,8 log UFC/g, suivies de près par les *Streptocoques* à 42°C (environ 3,6 log UFC/g). Les *Lactobacilles* et *E. coli* montrent des concentrations similaires, autour de 3,3 log UFC/g, tandis que les *Bifidobactéries* sont les moins abondantes à ce stade, avec une valeur d'environ 2,8 log UFC/g.

À Jour 10 (J10), toutes les populations bactériennes analysées présentent une augmentation significative. Les *Bifidobactéries* atteignent environ 3,3 log UFC/g, témoignant d'une colonisation croissante du microbiote par ces bactéries bénéfiques. Les *Streptocoques* et *Entérocoques*, les *Streptocoques* à 42°C, ainsi que les *Lactobacilles* s'établissent tous à une concentration d'environ 4 log UFC/g, traduisant une évolution stable et équilibrée de ces flores. De même, *E. coli* atteint aussi environ 4 log UFC/g, indiquant une progression parallèle de cette espèce (**Figure N°11**).

Ce profil de colonisation observé chez les nourrissons nés par voie basse met en évidence une implantation bactérienne précoce et diversifiée. Le passage par le canal vaginal

semble favoriser l'installation rapide de bactéries d'origine maternelle, notamment les *Streptocoques*, *Lactobacilles* et *E. coli*. L'augmentation progressive des *Bifidobactéries* au fil des jours traduit une maturation positive du microbiote intestinal, essentielle pour le développement immunitaire et métabolique du nouveau-né.

IV.3. Évaluation du microbiote intestinal chez les nouveau-nés nés par césarienne

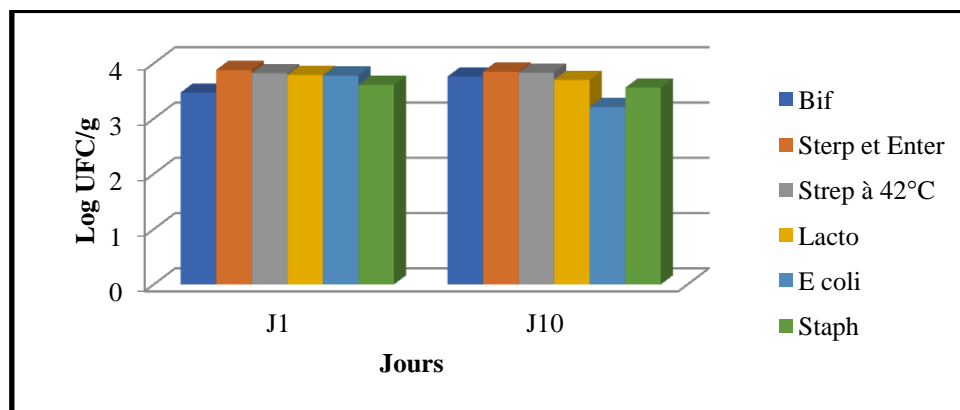


Figure 12: Évolution de la flore fécale du premier nouveau-né né par césarienne.

- Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Sterp et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*, Staph : *Staphylococcus*

À Jour 1 (J1), le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par césarienne est dominé par les *Streptocoques* et *Entérocoques* ainsi que les *Streptocoques* à 42°C, avec des concentrations élevées, proches de 3,9 à 4 log UFC/g. En revanche, les autres groupes bactériens — *Bifidobactéries*, *Lactobacilles*, *E. coli* et *Staphylocoques* — sont quasiment absents ou présents à des concentrations très faibles, inférieures à 0,5 log UFC/g. Cette disparité indique une colonisation très partielle et sélective du microbiote dans les premières 24 heures suivant la naissance par césarienne.

À Jour 10 (J10), une diversification significative du microbiote est observée. Les *Streptocoques* et *Entérocoques* restent prédominants à environ 3,9 log UFC/g, tout comme les *Streptocoques* à 42°C, stables autour de 3,8 log UFC/g. Les *Bifidobactéries* montrent une nette augmentation, atteignant environ 3,5 log UFC/g, marquant le début d'une colonisation bénéfique. Les *Lactobacilles* et *E. coli* progressent également, atteignant respectivement

environ 3,5 et 3 log UFC/g. En revanche, les *Staphylocoques* restent présents à un niveau très faible, autour de 0,2 log UFC/g (**Figure N°12**).

Ces résultats traduisent un retard initial dans l'établissement d'une flore intestinale diversifiée chez les nourrissons nés par césarienne. L'absence de contact direct avec la flore vaginale maternelle semble favoriser une colonisation initiale dominée par des cocci Gram positifs, au détriment de bactéries bénéfiques comme les *Bifidobactéries* et les *Lactobacilles*. Cependant, la progression observée entre J1 et J10 témoigne d'une évolution vers un microbiote plus complexe et équilibré, notamment sous l'effet de facteurs postnataux comme l'alimentation.

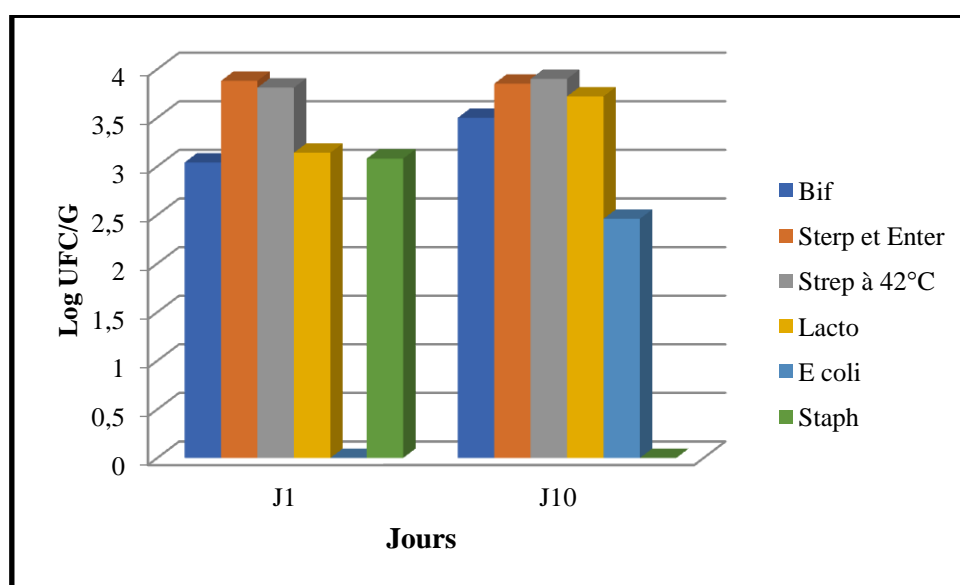


Figure 13: Évolution de la flore fécale du deuxième nouveau-né né par césarienne.

Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Sterp et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*, Staph : *Staphylococcus*

À Jour 1 (J1), les bactéries dominantes dans le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par césarienne sont les *Streptocoques* et *Entérocoques*, ainsi que les *Streptocoques* à 42°C, avec une concentration moyenne avoisinant 3,8 à 3,9 log UFC/g. Les *Lactobacilles* sont également présents à une concentration comparable (~3,7 log UFC/g), tandis que *E. coli* se situe autour de 3,3 log UFC/g. En revanche, les *Bifidobactéries* sont moins abondantes, ne dépassant pas 3,0 log UFC/g. La présence de *Staphylocoques* est également notable, avec une concentration proche de 3,2 log UFC/g, ce qui est caractéristique d'une colonisation d'origine cutanée.

À Jour 10 (J10), les concentrations bactériennes restent globalement stables, avec de légères variations. Les Bifidobactéries montrent une augmentation modérée, atteignant environ 3,4 log UFC/g, ce qui suggère un début de diversification du microbiote. Les Lactobacilles, les Streptocoques à 42°C et les Streptocoques/Entérocoques conservent une abondance élevée, autour de 3,8 à 4 log UFC/g. La concentration d'E. coli connaît une légère diminution, tombant à ~2,8 log UFC/g, tandis que les Staphylocoques deviennent presque indétectables à J10, traduisant une élimination progressive de cette flore transitoire (**Figure N°13**).

Cette évolution reflète un profil de colonisation propre aux naissances par césarienne, souvent marqué par une moindre diversité initiale, une colonisation prédominante par des bactéries cutanées ou environnementales (comme les Staphylocoques), et une maturation plus lente du microbiote intestinal. L'augmentation des Bifidobactéries à J10 est néanmoins encourageante, car elle traduit une installation progressive de bactéries bénéfiques essentielles à l'équilibre intestinal.

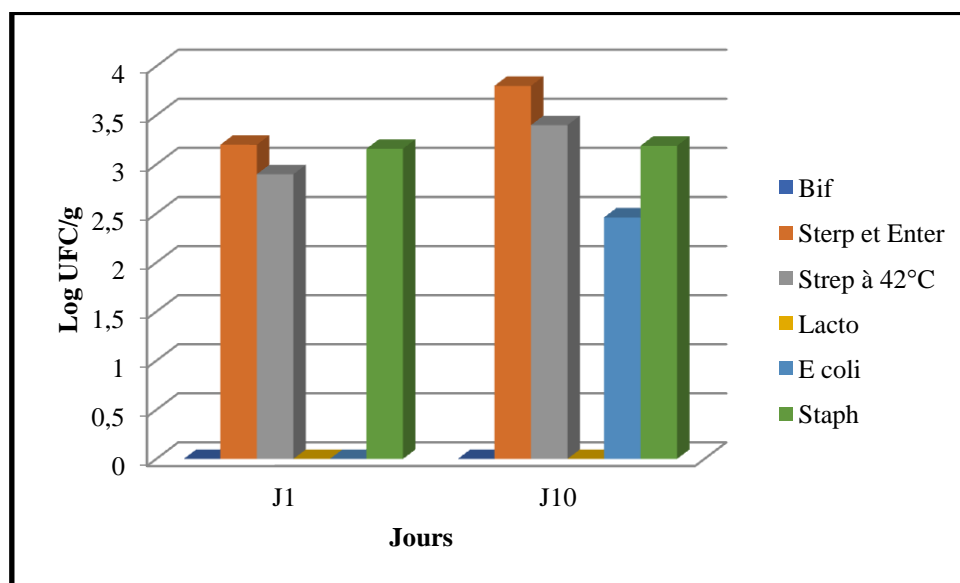


Figure 14: Évolution de la flore fécale du troisième nouveau-né né par césarienne.

Bif (Bleu foncé) : *Bifidobactéries*, Sterp et Enter (Rouge foncé) : *Streptocoques et Entérocoques*, Strep à 42°C (Vert) : *Streptocoques thermophilus* (à 42°C), Lacto (Violet) : *Lactobacilles*, E. coli (Bleu clair) : *Escherichia coli*, Staph : *Staphylococcus*

À Jour 1 (J1), le microbiote intestinal des nouveau-nés nés par césarienne est principalement dominé par les *Streptocoques et Entérocoques*, ainsi que les Streptocoques à 42°C, avec des concentrations proches de 3,3 à 3,4 log UFC/g. Les *Staphylocoques* sont

également bien représentés à ce stade, avec une concentration d'environ 3,3 log UFC/g, témoignant d'une colonisation cutanée fréquente. En revanche, les *Bifidobactéries*, les *Lactobacilles* et *E. coli* sont quasiment absents à J1, leur abondance étant proche de 0 log UFC/g, ce qui indique une colonisation retardée de ces bactéries intestinales typiques.

À Jour 10 (J10), une nette progression est observée pour plusieurs groupes bactériens. Les *Streptocoques* et *Entérocoques* atteignent une concentration élevée de près de 4 log UFC/g, tout comme les *Streptocoques* à 42°C (~3,7 log UFC/g) et les *Staphylocoques* (~3,4 log UFC/g), qui se maintiennent à un niveau stable. *E. coli* connaît une augmentation significative, passant de presque 0 à environ 2,7 log UFC/g, indiquant une installation progressive dans le microbiote. Les *Bifidobactéries* commencent également à apparaître, atteignant une concentration estimée à ~2,5 log UFC/g, tandis que les *Lactobacilles* demeurent peu présents (**Figure N°14**).

Ce profil suggère que chez les nourrissons nés par césarienne, la colonisation intestinale initiale est dominée par des bactéries cutanées et environnementales telles que les *Staphylocoques*, avec une installation retardée des bactéries bénéfiques telles que les *Bifidobactéries* et *E. coli*. La montée progressive de ces dernières entre J1 et J10 témoigne cependant d'un début de diversification et de maturation du microbiote.

IV.4. Identification des bactéries lactiques

IV.4.1. Les bifidobactéries

En condition anaérobie, les colonies développées sur une gélose MRS enrichie en cystéine apparaissent blanches, circulaires avec des contours nets, et mesurent environ 1 mm de diamètre. Après une coloration de Gram, l'examen microscopique révèle des bacilles Gram positifs présentant une morphologie irrégulière, et ces bactéries sont généralement observées isolément (**Figure N°15**, **Figure N°16**).



Figure 15: Aspect des Colonies de *Bifidobacterium* sur gélose MRS cystéine
(Photo prise par **GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025**).

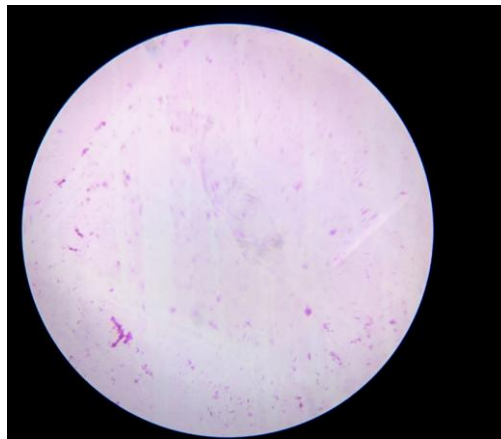


Figure 16: Aspect microscopique de *Bifidobacterium* après coloration de Gram (Gr x 100)
(Photo prise par **GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025**).

IV.4.2. Les Streptocoques

Sur milieu M17, les colonies se présentent sous une forme ronde ou lenticulaire, bombées, avec une coloration blanchâtre. Elles sont Gram positives, catalase négatives, et s'organisent généralement en paires ou en chaînes (**Figure N°17, Figure N°18**).



Figure 17: Aspect des Colonies de *Streptococcus* sur gélose M17

(Photo prise par **GUERMOUCHE** et **GUEDIM**, 2025).

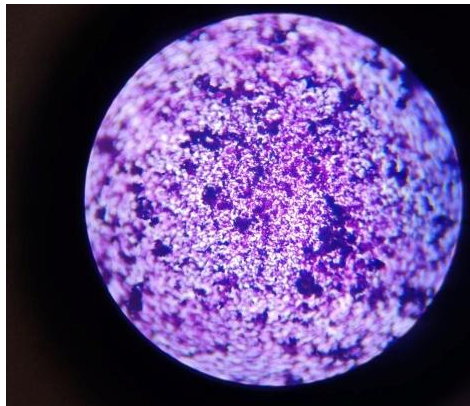


Figure 18: Aspect microscopique de *Streptococcus* après coloration de Gram (Gr x 100)

(Photo prise par **GUERMOUCHE** et **GUEDIM**, 2025).

IV.4.3. Les *Lactobacilles*

Les colonies de *Lactobacillus* se caractérisent par leur petite taille, d'environ 1 mm de diamètre, leur couleur blanchâtre ou laiteuse, leur surface lisse, convexe, et leur contour circulaire régulier. Les résultats après coloration de Gram et test de catalase révèlent que ces lactobacilles sont des bâtonnets Gram positifs et catalase négative. Toutes les cellules présentent une morphologie en bâtonnets, avec des modes d'association variables. Au microscope, les bacilles apparaissent soit isolés, soit regroupés en paires ou en chaînes. Ces observations permettent une classification initiale des isolats selon leur coloration Gram, leur morphologie cellulaire et leur mode d'association (**Figure N°19**, **Figure N°20**).



Figure 19: Aspect des Colonies de *Lactobacillus* sur gélose MRS
(Photo prise par **GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025**).

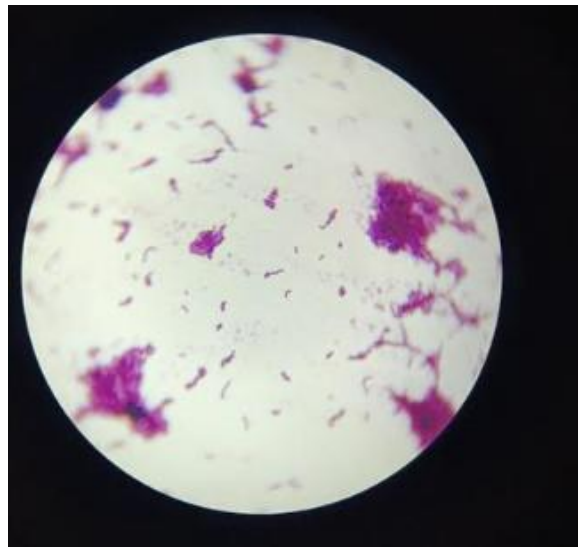


Figure 20: Aspect microscopique de *Lactobacilles* après coloration de Gram (Gr.x 100)
(Photo prise par **GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025**).

IV.5. *Escherichia coli*

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur milieu solide Hektoen, la caractérisation macroscopique permet de décrire les colonies bactériennes selon plusieurs critères tels que la taille, la pigmentation, le contour, l'aspect et la viscosité. Les colonies d'*Escherichia coli* sont bombées, brillantes, de couleur orange saumon. Elles présentent un contour régulier et un diamètre d'environ 3 mm. L'examen microscopique après coloration de Gram révèle des coccobacilles Gram négatif (**Figure N°21, Figure N°22**).

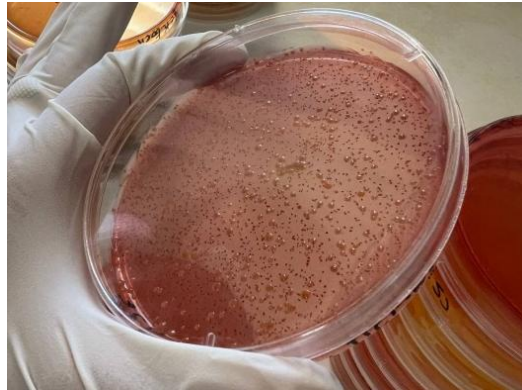


Figure 21: Aspect des Colonies d' *Escherichia coli* sur gélose Hektoen (Photo prise par **GUERMOUCHE** et **GUEDIM**, 2025).

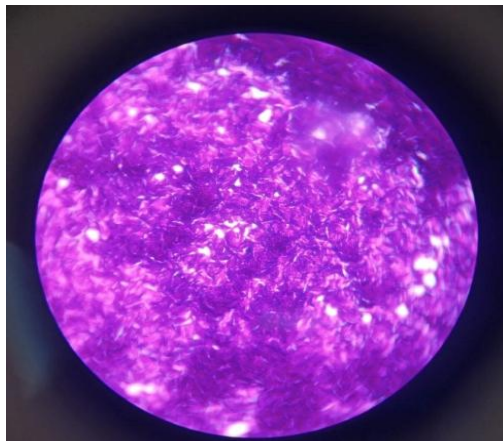


Figure 22: Aspect microscopique d' *Escherichia coli* après coloration de Gram (Gr.x 100). (Photo prise par **GUERMOUCHE** et **GUEDIM**, 2025).



Figure 23: Résultat des tests biochimiques sur galerie API20E pour l'identification d'*Escherichia coli* (Photo prise par GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025).

IV.6. Identification de *Staphylococcus*

Les colonies de *Staphylococcus* sont lisses, bombées et brillantes, de couleur dorée, et provoquent un virage du milieu Chapman vers le jaune en raison de la fermentation du mannitol. Cette bactérie est catalase positive.

À l'examen microscopique, les staphylocoques se présentent sous forme de coques Gram positives, disposées en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes de 3 à 5 éléments. Le regroupement caractéristique en « grappes » ou en « amas », rappelant une grappe de raisin (**Figure N°24**).

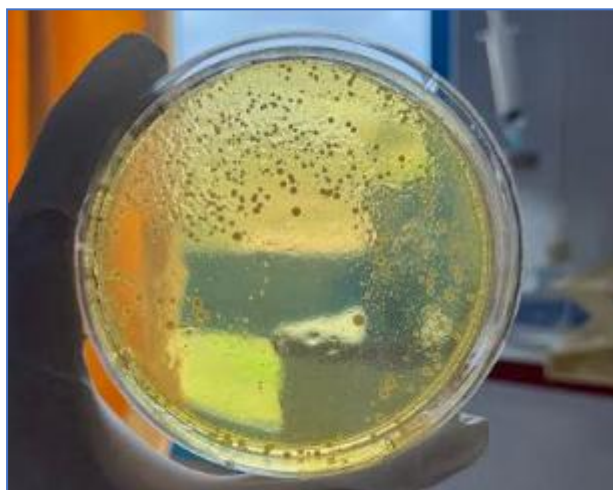


Figure 24: Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman (Photo prise par GUERMOUCHE et GUEDIM, 2025).

IV.7. Discussion

Le microbiote intestinal du nouveau-né constitue un écosystème dynamique essentiel à l'établissement du système immunitaire, à la régulation du métabolisme et à la maturation de la barrière intestinale. Sa composition initiale est largement déterminée par le mode d'accouchement, qui influence les premières bactéries colonisant le tractus digestif. Cette colonisation précoce joue un rôle clé dans la structuration et la diversité future du microbiote, ainsi que dans la santé générale du nourrisson.

Nos résultats ont montré qu'au J1, les bébés nés par voie basse présentent une colonisation intestinale précoce par plusieurs groupes bactériens. Les *streptocoques* et *entérocoques* sont bien représentés ($\approx 3,4$ log UFC/g), tout comme les *streptocoques thermophiles* (42°C), indiquant une flore en cours de mise en place. Notamment, *E. coli* est déjà présent à un niveau modéré ($\approx 2,5$ log UFC/g), ce qui reflète une contamination périnatale par les bactéries fécales maternelles. Les *Lactobacilles* sont détectables dès J1, ce qui est cohérent avec leur rôle comme flore vaginale dominante. En revanche, les *bifidobactéries* sont peu présentes à ce stade.

Au J10, une évolution significative est observée. On note une augmentation marquée des bifidobactéries ($\approx 3,8$ log UFC/g), des *lactobacilles* et d'*E. coli*, alors que les streptocoques restent stables. Ces résultats indiquent une évolution naturelle vers un microbiote de type « commensal bénéfique », riche en bactéries protectrices. Ce profil est typique des nourrissons allaités et nés par voie vaginale.

D'après **Arrieta et al. (2014)** les nouveau-nés venus au monde par voie basse sont exposés au microbiote vaginal et fécal de leur mère, ce qui facilite une colonisation rapide par des bactéries telles que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli* et *Bacteroides*. Ces microorganismes jouent un rôle crucial dans la maturation du système immunitaire, la digestion des oligosaccharides présents dans le lait maternel, ainsi que dans le renforcement de la barrière intestinale.

Dès les premières heures de vie, le nouveau-né commence à développer son microbiote intestinal. Le lait maternel contient en effet de faibles concentrations de bactéries non

pathogènes telles que *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Bifidobacterium*. Généralement, les premières bactéries sont détectables dans les selles peu de temps après la naissance, et la colonisation par *Bifidobacterium* s'établit habituellement dans les quatre jours suivants (**Bezirtzoglou et Stavropoulou ,2011**).

Les bactéries anaérobies, qui prédominent dans le microbiote intestinal de l'adulte, font partie des premiers microorganismes rencontrés lors d'un accouchement par voie basse. Selon **Bjursell et al.(2006)**, elles ne deviennent dominantes dans l'intestin qu'après que les anaérobies facultatifs ont épuisé l'oxygène disponible

À l'inverse, les profils obtenus chez les nouveau-nés nés par césarienne révèlent une flore appauvrie et dominée par des bactéries environnementales. Au J1, les *Streptocoques*, *Entérocoques*, *Streptocoques* à 42°C et surtout les *staphylocoques* sont fortement représentés ($\approx 3,2-3,4$ log UFC/g), traduisant une colonisation d'origine cutanée ou hospitalière. Les *Lactobacilles* et *Bifidobactéries* sont quasiment absents. Cette faible abondance peut être liée à des facteurs tels que le mode d'alimentation, l'absence d'allaitement maternel, ou encore l'usage précoce d'antibiotiques, qui altèrent la composition du microbiote intestinal.

Selon **Dominguez-Bello et al. (2010)** ainsi que **Urbaniak et al. (2014)**, les genres les plus abondants, *Streptococcus* et *Staphylococcus*, ont également été identifiés respectivement dans la cavité buccale, la peau et le tissu mammaire

Au J10, une certaine progression des *Lactobacilles* et d'*E. coli* est observée, mais reste inférieure à celle mesurée chez les bébés nés par voie basse. Les *Bifidobactéries*, bien qu'en légère augmentation, restent significativement moins abondantes. Cette différence suggère un retard dans l'installation du microbiote intestinal protecteur. La persistance des staphylocoques à J10 confirme la dominance d'une flore opportuniste.

Ces observations concordent avec les travaux d'**Azad et al. (2013)** et de **Penders et al. (2006)**, qui ont démontré que l'accouchement par césarienne entraîne un retard dans la colonisation par les bactéries d'origine maternelle. À la place, des espèces telles que *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*, majoritairement issues de la peau et de l'environnement hospitalier, deviennent prédominantes. Or, cette flore cutanée est moins favorable au bon développement du système immunitaire et pourrait contribuer à des déséquilibres microbiens persistants.

La comparaison entre les deux groupes révèle une différence significative en termes de richesse et de diversité bactérienne. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Dominguez-Bello et al. (2010)** ainsi que **Rutayisire et al. (2016)**, qui soulignent que les nouveau-nés issus d'un accouchement par voie basse bénéficient d'une colonisation microbienne précoce, principalement dominée par des espèces bénéfiques. En revanche, les nourrissons nés par césarienne présentent un microbiote moins diversifié, avec un retard dans l'apparition des bactéries protectrices, ce qui conduit souvent à un déséquilibre qualifié de dysbiose néonatale

Ce déséquilibre microbiologique a des conséquences notables. Plusieurs études ont en effet démontré que les enfants nés par césarienne présentent un risque accru de développer certaines maladies chroniques, telles que l'asthme, les allergies alimentaires, l'obésité ou encore le diabète de type 1 (**Arrieta et al., 2014 ; Rutayisire et al., 2016**). Ces effets pourraient s'expliquer en partie par une stimulation immunitaire insuffisante durant les premiers jours de vie, liée à une composition altérée du microbiote intestinal (**Neu et Rushing, 2011 ; Arrieta et al., 2014**)

Il convient également de souligner que l'allaitement maternel peut compenser partiellement ce retard de colonisation. Le lait maternel apporte des prébiotiques, notamment des oligosaccharides, qui favorisent la croissance des *Bifidobactéries*, ainsi que des anticorps et des agents antimicrobiens. Par ailleurs, des approches visant à restaurer un microbiote plus favorable — telles que l'administration de probiotiques ou la technique du « vaginal seeding » (réensemencement microbien vaginal) font actuellement l'objet d'études pour limiter les effets indésirables associés à la naissance par césarienne (**Penders et al., 2006 ; Palmer et al., 2007**).

Les facteurs environnementaux pourraient jouer un rôle plus déterminant que l'allaitement dans la colonisation intestinale postnatale. En particulier chez les nouveau-nés nés par césarienne, ces facteurs influencent de manière significative le développement du microbiote. L'installation d'une flore intestinale stable y est souvent retardée, marquée notamment par une faible présence de *Bacteroides spp* et la colonisation par un nombre restreint d'autres bactéries.

Chez les nourrissons de très faible poids de naissance, l'hospitalisation en unité de soins intensifs néonataux souvent accompagnée d'antibiothérapie prolongée, de nutrition parentérale, d'un retard dans l'alimentation orale et de procédures invasives comme l'intubation, modifie profondément la composition du microbiote. L'intestin de ces nouveau-

nés est colonisé par un éventail bactérien limité, où *Lactobacillus* et *Bifidobacterium spp* sont rarement, voire jamais détectés. Selon **Fanaro et al. (2003)**, les bactéries prédominantes dans le microbiote intestinal comprennent des espèces telles qu'*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus haemolyticus*.

Bien que nos résultats soient en accord avec les données existantes, ils présentent certaines limites liées à l'approche culturale employée. Une analyse métagénomique, reposant sur le séquençage à haut débit du gène 16S rRNA, permettrait d'obtenir une vision plus exhaustive de la composition du microbiote, notamment pour les bactéries anaérobies strictes comme Bacteroides, qui sont difficiles à cultiver par des méthodes classiques. Par ailleurs, un suivi prolongé au-delà du 10^e jour de vie serait nécessaire afin d'évaluer plus précisément la dynamique de stabilisation du microbiote intestinal (**Palmer et al., 2007 ; Turnbaugh et al., 2007**).



Conclusion et perspectives

Le développement de l'écosystème intestinal chez le nourrisson est un processus finement cordonné, ayant des répercussions majeures sur la santé aussi bien à court qu'à long terme. La période pré-sevrage, c'est-à-dire les trois à quatre premiers mois de vie, constitue une phase cruciale pour la maturation du microbiome intestinal.

Les résultats de cette étude confirment l'influence déterminante du mode de naissance sur la colonisation microbienne intestinale du nourrisson. Ils appellent à une meilleure prise en compte de cet aspect dans les pratiques obstétricales et néonatales, afin de promouvoir un développement microbiotique optimal dès les premiers jours de vie, en particulier chez les enfants nés par césarienne.

Le mode d'accouchement constitue un facteur clé dans la mise en place du microbiote intestinal du nouveau-né. La naissance par voie basse permet un transfert vertical des microorganismes maternels, en particulier issus du microbiote vaginal et intestinal, facilitant ainsi une colonisation précoce, riche et équilibrée. Cette diversité microbienne initiale joue un rôle fondamental dans la maturation du système immunitaire, le développement métabolique et la protection contre les agents pathogènes. A l'inverse, les nourrissons nés par césarienne sont privés de ce contact direct avec le microbiote maternel et développent une flore intestinale initialement moins diversifiée, souvent dominée par des bactéries d'origine cutanée ou hospitalière. Cette altération précoce peut perturber la succession naturelle des espèces microbiennes et retarder la stabilisation d'un microbiote.

De plus, l'administration prophylactique d'antibiotiques lors des césariennes, bien qu'indispensable d'un point de vue médical, pourrait accentuer le déséquilibre du microbiote intestinal et favoriser l'émergence de souches résistantes. Dans ce contexte, des approches alternatives comme l'allaitement maternel exclusif, l'usage ciblé de probiotiques, ou encore les techniques d'ensemencement vaginal, suscitent un intérêt croissant pour atténuer ces effets.

Le microbiote est devenu un sujet central tant dans la communauté scientifique que dans les médias grand public. L'avènement des nouvelles technologies de séquençage de l'ADN a profondément transformé les méthodes de recherche au cours de la dernière décennie, ouvrant ainsi de nombreuses perspectives dans divers domaines. Selon les spécialistes, l'approche métagénomique devrait être enrichie par des analyses complémentaires telles que la métaphysique, la protéomique, la métabolomique, ainsi que par l'intégration de métadonnées

notamment des informations cliniques et alimentaires afin de mieux comprendre la composition et le fonctionnement du microbiome.

La métagénomique guide le développement de stratégies visant à moduler le microbiote, notamment chez les nourrissons nés par césarienne, via des probiotiques ciblés, des prébiotiques ou des transferts microbiens. Elle permet aussi de mieux comprendre les mécanismes d'effet barrière contre les pathogènes.

La métagénomique offre une perspective intégrée, à la fois taxonomique, fonctionnelle et dynamique, pour étudier l'impact du mode d'accouchement sur le microbiote intestinal des nourrissons. Elle est un outil clé pour déchiffrer les interactions microbiennes précoces et leur influence sur la santé à long terme.



Références

- Almonajjed M B, Wardeh M, Atlagh A, Ismaiel A, Popa S L, Rusu F et Dumitrascu D L. Impact of microbiota on irritable bowel syndrome pathogenesis and management. *Revue MDPI*. 2025 ; 61(1) : 109. <https://doi.org/10.3390/medicina61010109>.
- Andreas NJ, Kampmann B, Le-Doare KM. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*. 2015; 91(11): 629-635. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
- Arrieta MC, Stiemsma L T, Amenyogbe N, Brown E M et Finlay B. Le microbiome intestinal au début de la vie : santé et maladie. *Revue Frontiers*. 2014 ; 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00427>
- Aslam R, Herrles L, Aoun R, Pioskowik A et Pietrzyk A. Link between gut microbiota dysbiosis and childhood asthma. *Revue NIH (National Library Of Medicine)*. 2024; 3(3): 100289. doi :10.1016/j.jacig.2024.100289.
- Axelsson L. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In S. Salminen, A. von Wright, & A. Ouwehand (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 2004. (3rd ed., pp. 1–66). Marcel Dekker.
- Azad M B, Konya T, Maughan H, Guttman D S, Field C J, Chari R S, Sears M R , Becker A B , Scott J A et Kozyrskyj A L. Microbiote intestinal des nourrissons canadiens en bonne santé : profils selon le mode d'accouchement et le régime alimentaire du nourrisson à 4 mois. *Revue CMAJ (Canadian Medical Association Journal)*. 2013 ; 185 (5) :385-394. <https://doi.org/10.1503/cmaj.121189>
- Bannerman T L. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* 2003;(8th ed., pp. 384–404). ASM Press.
- Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends in Molecular Medicine*. 2016; 22(6): 458–478. doi:10.1016/j.molmed.2016.04.003
- Becker K, Heilmann C, & Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*2014; 27(4): 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>

- Benech N et Sokol H. Transplantation de microbiote fécal dans les troubles gastro-intestinaux : l'heure est à la médecine de précision. *Revue BMC (Genome Medicine)*. 2020 ; 12(58). <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00757-y>
- Bezirtzoglou E et Stavropoulou E. Immunologie et impact probiotique de la microflore intestinale du nouveau-né et du jeune enfant. *Revue NIH (National Library Of Medicine) (PubMed)*. 2011; 17(6): 369-74. DOI: [10.1016/j.anaerobe.2011.03.010](https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.010)
- Bjursell MK., Martens EC., Gordon, JI. Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron*, to the suckling period. *J Biol Chem* 2006; 281(47):36269-79.
- Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 2013;13(11):790–801. doi:10.1038/nri3535
- Burcelin R, Chabo C, Blasco-Baque V, Serina M et Amar J. Le microbiote intestinal à l'origine de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les maladies métaboliques ?. *Revue Médecine/Science*. 2013 ; 29(8-9) : 800-806. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013298021>
- Butel M J. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Revue ScienceDirect*. 2014 ;16(2) : 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2014.01.010>
- Cahana I et Iraqi F A. Impact of host genetics on gut microbiome : Take-home lessons from human and mouse studies. *Revue NIH(National Library Of Medicine)*. 2020; 3(3): 229-236. Doi : 10.1002/ame2.12134.
- Cao Y Y, Cheng Y, Pan W, Diao J, Sun L L et Meng M M. Gut microbiota variations in depression and anxiety : a systematic review. *BMC Psychiatry*. 2025 ;25(443). <https://doi.org/10.1186/s12888-025-06871-8>
- Clerici L, Bottari D et Bottari B. Microbiome intestinal, alimentation et dépression : revue de la littérature sur les aspects microbiologiques, nutritionnels et neuroscientifiques. *Gut Microbiome, diet and depression*. 2025 ;14(30). <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00619-2>
- Comtet Marre S, Chakoory O, Rochette E, Gallot D, Merlin E, Pons M, Peyret P. Microbiote intestinal : de la stérilité chez les nouveau-nés à la complexité des interactions chez l'adulte Microbiote intestinal : De la stérilité chez les nouveau-nés aux interactions complexes

chez l'adulte. ELSEVIER (la revue de médecine interne). 2024 ; 59(3) : 172-183.
DOI: [10.1016/j.cnd.2024.04.006](https://doi.org/10.1016/j.cnd.2024.04.006)

-Coudeyras S et Forestier C. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. Revue Canadien Science Publishing. 2010 ; 56 (8) : 611-650. <https://doi.org/10.1139/W10-052>.

-Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. 2015;11(3):182–190. doi:10.1038/nrendo.2014.210

-David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014; 505(7484): 559–563. doi:10.1038/nature12820

-Debré P, Le Gall J Y. Le microbiote intestinal. Revue ScienceDirect (ELSEVIER). 2014 ; 198 (9) : 1667-1684. Doi : 10.1016/S0001-4079(19)31175-6

-Deschasaux M, Zwinderman K et Nieuwdorp M. Origine ethnique et composition du microbiote intestinal. Revue médecine/ sciences. 2019; 35 (5): 401-404. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019089>

-Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2011;108(Suppl 1):4554–4561. doi:10.1073/pnas.1000087107

- Dominguez-Bello M G, Costello E K, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et Knight R. Le mode d'administration façonne l'acquisition et la structure du microbiote initial dans de multiples habitats corporels chez les nouveau-nés. Revue PNAS. 2010 ; 107 (26) :11971 – 11975 <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>

-Duale A, Singh P , Al Khodor S.Breast Milk: A Meal Worth Having. *Front. Nutr*. 2022; 8: 800927. doi: 10.3389/fnut.2021.800927

-Duru M. Microbiote intestinale et santé : une nécessaire refonte de notre système agri-alimentaire. Revue de ScienceDirect. 2022; 57 (1): 18-27. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007996021001747>

-Engen P A, Green S J, Voigt R M, Forsyth C B et Keshavarzian A. The Gastrointestinal Microbiome. Revue NIH (National Library of Medicine). 2015; 37 (2): 223-236.

- El Kaoutari A, Armougom F, Raoult D et Henrissat B. Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *Revue médecine/sciences*. 2014 ; 30(3): 259-265. <https://doi.org/10.1051/medsci/20143003013>
- Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Microflore intestinale de la petite enfance : composition et développement. *Revue NIH (National Library Of Medicine) (PubMed)*. 2003 ; 91(441): 48-55. DOI : [10.1111/j.1651-2227.2003.tb00646.x](https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2003.tb00646.x)
- Foster JA, Rinaman L, Cryan JF. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(6): 356–371. doi:10.1038/nrgastro.2017.20
- Francino MP. Antibiotics and the human gut microbiome: dysbioses and accumulation of resistances. *Frontiers in Microbiology*. 2016;6:1543. doi:10.3389/fmicb.2015.01543
- Ge Y, Wang J, Wu L et Wu J. Gut Microbiota : A potentiel new regulator of hypertension. *Revue NIH (National Library of Medicine) (pubMed)*. 2024; 27(11): 1333005. doi : 10.3389/fcvm.2024.1333005.
- Gérard P. 2012. microbiote intestinal et lipides : impact sur la santé humaine. *Journal OCL*. 19 (4). 223-227. <https://doi.org/10.1051/ocf.2012.0458>
- Groot P F, Frissen M N, Clercq N C et Nieuwdrop M. Transplantation de microbiote fécal dans le syndrome métabolique : histoire, présent et avenir. *Revue NIH (National Library of Medicine) (pubMed)*. 2017 ; 8 (3) : 253-267. Doi : 10.1080/19490976.2017.1293224.
- Gschwind R, Fournier T, Butel M J et Wydau-Dematteis S. Etablissement du microbiote. *Revue médecine / sciences*. 2018 ; 34(4) : 331-337. <https://doi.org/10.1051/medsci/20183404014>
- Hazebrouck S. Allergies alimentaires : Influence de l'allaitement et du microbiote intestinal. *Revue ScienceDirect*. 2017; 57: 487-491. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2017.08.011>
- Horn J, Mayer D E, Chen S et Mayer E A. Role of diet and its effects on the gut microbiome in the pathophysiology of mental disorders. *NIH (National Library Of Medicine)*. 2022;12 (1): 164. Doi :10.1038/s41398-022-01922-0.
- Inchingolo F, Danilo Inchingolo A, Palumbo I, Trilli I, Guglielmo M, Mancini A, Palermo A, Michele Inchingolo A, Dipalma G. L'impact de la césarienne sur le microbiote

- intestinal: mécanismes, conséquences et perspectives. Revue MDPI. 2024 ; 25 (2) : 1055. <https://doi.org/10.3390/ijms25021055>
- Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*. 2010;156 (Pt 11): 3216–3223. doi:10.1099/mic.0.040618-0
- Jimenez-Garcia A M, Villarino M et Arias N. A systematic review and meta-analysis of basal microbiota and cognitive function in Alzheimer's disease : A potential target for treatment or a contributor to disease progression ?. Revue Alzheimer's Association. 2024 ; 16(4) :70057. <https://doi.org/10.1002/dad2.70057>
- Joffin JN., Leyrol G. Microbiologie technique. Tome1. Dictionnaire des techniques. 4ème édition, Bordeaux : CRDP d'aquitaine, 2006, ISBN : 2-86617-515-8, p 363.
- Joly F, Nuzzo A, Kapel N, Thomas M. Lien entre les probiotiques et le microbiote : vision du clinicien. *ScienceDirect* . 2017 ;52(1) : 5-12. [https://doi.org/10.1016/S0007-9960\(17\)30193-1](https://doi.org/10.1016/S0007-9960(17)30193-1)
- [Karl J P](#), [Hatch M A](#), [Arcidiacono M S](#), [Pearce C S](#), [Pantoja-Feliciano I G](#), [Doherty A L](#) et [Soares W J](#). Effets des facteurs de stress psychologiques, environnementaux et physiques sur le microbiote intestinal. Revue NIH (National Library of Medicine). 2018; 9:2013. doi : [10.3389/fmicb.2018.02013](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02013)
- Kesika P, Sivamaruthi B S, Subramanien T et Chaiyasut C. Le potentiel antiviral des probiotiques : une analyse des résultats scientifiques. Revue MDPI. 2021; 11(18): 8687. <https://doi.org/10.3390/app11188687>
- Kulkarni D H, Rusconi B, Floyd A N, Joyce E L, Talati K B, Kousik H, Alleyne D, Harris D L, Garnica L, McDonough R, Bidani S S, Kulkarni H S, Newberry E P, McDonald K D et Newberry R D. Gut Microbiota induces weight gain and inflammation in the gut and adipose tissue independent of manipulations in diet, genetics, and immune development. NIH (National Library of Medicine). 2023; 15(2):2284240. Doi : 10.1080/19490976.2023.2284240
- Lai C, huang L, wang Y, huang C, luo Y, Quin X et Zeng J. Effect of different delivery modes on intestinal microbiota and immune function of neonates. Revue scientific reports. 2024 ;14(17452). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68599-x>

- Lajoie F, Rousseau G, Blanquet-diot S et Etienne-Mesmin L. Syndrome de l'intestin irritable. *Revue Médecine/Science*. 2021 ; 37 : 593-600. <https://doi.org/10.1051/medsci/2021095>
- Landman C et Quévrain E. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *ELSEVIER (la revue de médecine interne)*. 2016 ; 37(6) : 418-424. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.12.012>
- Lecerf JM. Le rôle du microbiote en santé humaine. *Actualités pharmaceutiques*. 2021;607:8-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2021.04.003>.
- Li H, Cui X, Y Lin, F Huang, A Tian et R Zhang. Gut microbiota changes in patients with Alzheimer's disease spectrum based on 16S rRNA sequencing. *Revue Frontiers*. 2024 ; 16. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1422350>.
- Liang Y, Liu C, Cheng M , Geng L , Li J, Du W, Song M, Chen N, Yeleen T A N, Song L, Wang X, Han Y et Sheng C. The link between gut microbiome and Alzheimer's disease : from the perspective of new revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer's disease. *Revue Alzheimer's Association*. 2024 ; 20(8) : 5771-5788. <https://doi.org/10.1002/alz.14057>.
- Linehan K, Dempsey E M, Ryan C A, Ross R P, Stanton C. Premières rencontres de type microbien: les facteurs périnataux dirigent l'établissement du microbiome intestinal du nourrisson. *Revue PubMed NIH (National Library Of Medicine)*.2022; 1(2): 10. doi: [10.20517/mrr.2021.09](https://doi.org/10.20517/mrr.2021.09)
- Ma L, Yan Y, Webb R J, Li Y, Mehrabani S, Xin B, Xiaomin S, Wang Y et Mazidi M. Stress psychologique et composition du microbiote intestinal : une revue systématique des études humaines. *NIH (National Library of Medicine)*. 2023; 82(5):247-262. doi: 10.1159/000533131.
- Madison A A et Bailey M T. Stressé au plus haut point : l'inflammation et la perméabilité intestinale associent les changements du microbiote intestinal liés au stress aux résultats en matière de santé mentale. *Revue NIH (National Library of Medicine)*. 2024 ; 95(4) : 339-347. doi:10.1016/j.biopsych.2023.10.014.
- Mao Y, Kong C, Zang T, You L, Wang L S, Shen L et Ge J B. Impact of the gut microbiome atherosclerosis. *Revue Wiley*. 2024; 3(2): 167-175. <https://doi.org/10.1002/mlf2.12110>.

- Martín R., Jiménez E., Heilig H., Fernandez L., Marin ML., Zoetendal EG., et al. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-DGGE and qRTi-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75: 965-9.
- Martin R, Nauta AJ , Ben Amor K , Knippels LMJ, Knol J ,Garssen J. Petite enfance : microbiote intestinal et développement immunitaire pendant la petite enfance. *Revue NIH (National Library Of Medicine) (PubMed)*. 2010 ; 1(4): 367-82. doi: 10.3920/BM2010.0027.
- Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host Microbe*. 2018; 23(6): 705–715. doi:10.1016/j.chom.2018.05.012
- Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, Belzer C et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2017; 81(4). <https://doi.org/10.1128/membr.00036-17>
- Milheirico C, Oliveira D C, & de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007; 51(9): 3374–3377. <https://doi.org/10.1128/AAC.00275-07>
- Mitchell C M, Mazzoni C, Hogstorm L, Bryant A, Bergerat A, Cher A, Pochan S, Herman P, Carrigan M, Sharp K, Huttenhower C, Lander E S, Vlamakis H , Xavier R J et Yassour M. Delivery Mode Affects Stability of Early Infant Gut Microbiota. *ScienceDirect*. 2020; 1(9): 100156. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100156>
- Napolitano M, Fasulo E, Ungaro F, Massimino L, Sinagra E, Danese S et Mandarino F V. Gut dysbiosis in irritable bowel syndrome : A narrative review on correlation with disease subtypes and novel therapeutic implications. *Revue MDPI*. 2023; 11(10): 2369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102369>.
- Neu J et Rushing J. Césarienne ou accouchement vaginal : résultats à long terme pour les nourrissons et hypothèse d'hygiène. *Revue NIH (National Library Of Medicine) (PubMed)*. 2011 ;38(2) :321–331. doi : [10.1016/j.clp.2011.03.008](https://doi.org/10.1016/j.clp.2011.03.008).
- Palmer C, Bik E M, DiGiulio D B, Relman D A, Brown P O. Développement du microbiote intestinal du nourrisson humain. *Revue PLOS Biology*. 2007 ; 5(7) : 1556- 1572. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>

- Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma F F, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt P A, Stobberingh E E. Facteurs influençant la composition du microbiote intestinal dans la petite enfance. Revue NIH (National Library Of Medicine) (PubMed). 2006; 118(2): 511-21. doi: 10.1542/peds.2005-2824.
- Porocari S, Benech N, Valles-Colomer M, Segata N, Gasbarrini A, Cammarota G, Sokol H et Ianiro G. Determinants clés du succès de la transplantation de microbiote fécal: du microbiome à la clinique. Revue NIH (National Library Of Medicine)(PubMed). 2023; 31 (5):712-733. DOI: [10.1016/j.chom.2023.03.020](https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.03.020)
- Quin Y, Havulinna A S, Yang L, Jousilahti P, Ritchie S C, Tokolyi A, Sanders J G, Valsta L, Brozynska M, Zhu Q, Tripathi A, Vazquez-Baeza Y, Loom R, Cheng S, Jain M, Niiranen T, Lahti L, Knight R, Salomaa V, Inouye M et Méric G. Combined effects of host genetics and diet on human gut microbiota and incident disease in a single population cohort. Revue nature genetics. 2022 ;54 :134-142. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00991-z>
- Rahmouni O, Dubuquoy L, Desreumaux P et Neut C. Microbiote intestinal et développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Revue Médecine/Science. 2016 ;32(11) :968-973. <https://doi.org/10.1051/medsci/20163211012>
- Ranjbar M, Salehi R, Javanmard S H, Rafiee L, Faraji H, Jafapor S, Ferns G A, Ghayour-mobarhan M, Manian M et Nedaeinia R. The dysbiosis signature of fusobacterium nucleatum in colorectal cancer-cause or consequences?. Revue NIH (National Library Of Medicine)(PubMed). 2021; 21(194). Doi : 10.1186/s12935-021-01886.
- Rault A, Bouix M, & Béal C. Fermentation kinetics modeling of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus in cow milk. Journal of Dairy Science. 2009; 92(11): 5821–5832. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2247>
- Rutayisire E, Huang K, Liu Y et Tao F. Le mode d'administration affecte la diversité et le schéma de colonisation du microbiote intestinal au cours de la première année de vie des nourrissons : une revue systématique. Revue BMC. 2016 ; 86. <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0498-0>
- Sazar J, Durán P, Díaz MP, Chacín M, Santeliz R, Mengual E, Gutiérrez E, León X, Díaz A, Bernal M. et al. Exploring the Relationship between the Gut Microbiota and Ageing: A

Possible Age Modulator. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2023 ; 20 : 5845. <https://doi.org/10.3390/ijerph20105845>.

- Scepanovic P, Hodel F, Mondot S, Partula V, Byrd A, Hammer C, Alanio C, Bergstedt J, Patin F, Touvier M, Lantz O, Albert M L, Duffy D, Quintana-Murci L, Fellay J. A comprehensive assessment of demographic, environmental, and host genetic associations with gut microbiome diversity in healthy individuals. *Revue BMC*. 2019 ; 130 (7) : 1-15. DOI : [10.1186/s40168-019-0747-x](https://doi.org/10.1186/s40168-019-0747-x)

-Sokol H. Définition et rôles du microbiote intestinal. *Revue PubMed NIH (National Library of Medicine)*. 2019; 69(7): 776-782.

-Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*. 2016; 535(7610): 56–64. doi:10.1038/nature18846

- Suárez-Martínez C, Santaella-Pascual M, Yagüe-Guirao G, Martínez-Graciá C. Infant gut microbiota colonization: influence of prenatal and postnatal factors, focusing on diet. *Revue PubMed NIH (National Library Of Medicine)*. 2023; 14: 1236254. doi: 10.3389/fmicb.2023.1236254

-Terzaghi B E, & Sandine W E. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*.1975 ; 29(6): 807–813. <https://doi.org/10.1128/am.29.6.807-813.1975>

- Thursby E et Juge N. Introduction au microbiote intestinal humain. *Revue PubMed NIH (National Library Of Medicine)*. 2017 ; 474(11) : 1823-1836. doi: 10.1042/BCJ20160510.

- Tian H, Wang X, Croc Z, Li L, Wu C, Bi D, Li N, Chen Q et Qin H. Transplantation de microbiote fécal en pratique clinique : controverses actuelles et perspectives d’avenir. *Revue ScienceDirect*. 2024 ; 2(6) : 269-2832(58). <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00757-y>

-Tsai Y L, Lin T L, Chang C J, Wu T R, Lai W F, Lu C C et Lai H S. Probiotiques, prébiotiques et amélioration des maladies. *Revue BMC (Journal des sciences biomédicales)*. 2019 ; 26(3) <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0493-6>

-Turnbaugh P J, Ley R E, Hamady M , Fraser-Liggett C M , Knight R , Gordon J I. Le projet sur le microbiome humain. *Revue nature*. 2007; 449: 804-810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>

- Urbaniak C, Cummins J, Brackstone M, Macklaim JM, Gloor GB, Baban CK, Scott L , O'Hanlon DM , Burton JP , Francis KP , Tangney M , Reid G. Microbiota of human breast tissue. *Revue NIH(National Library Of Medicine)*. 2014; 80(10):3007 – 14.

- Van den Elsen LWJ, Garssen J, Burcelin R and Verhasselt V. Shaping the Gut Microbiota by Breastfeeding: The Gateway to Allergy Prevention? *Front. Pediatr.* 2019; 7: 47. doi: 10.3389/fped.2019.00047.

- [Walsh J](#), [Griffin B T](#), [Clarke G](#) et [Hyland P N](#). Interactions médicament-microbiote intestinal : implications pour la neuropharmacologie. *Revue (BJP) British Pharmacological Society Journals*. 2018 ; 107 <https://doi.org/10.1111/bph.14366>

- Xiao L et Zhao F. Microbial transmission, colonisation and succession: from pregnancy to infancy. *Revue NIH(National Library Of Medicine)*. 2023; 72(4): 772–786. doi: 10.1136/gutjnl-2022-328970

- Xu T C, Liu Y, Yu Z et Xu B. Gut-targeted therapies for type 2 diabetes mellitus. *NIH (National Library of Medicine)*. 2024; 12(1): 1-8. Doi : 10.12998/wjcc.v12.i1.1.

- Yang L, Sakandar HA, Sun Z, Zhang H. Recent advances of intestinal microbiota transmission from mother to infant. *Journal of Functional Foods*. 2021; 87: 104719. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104719>.

- Yao Y, Cai X, Ye Y, Wang F, Chen F, Zheng C. The Role of Microbiota in Infant Health: From Early Life to Adulthood. *Front. Immunol.* 2021; 12:708472. doi: 10.3389/fimmu.2021.708472.

- Younge N. Influence du microbiome infantile sur la santé et le développement. *Revue PubMed NIH (National Library Of Medicine)*. 2023 ; 67(5) : 224-231. doi: 10.3345/cep.2023.00598.

- Zhang M, Qin Z, Huang C, Liang B, Zhang X et Sun W. The gut microbiota modulates airway inflammation in allergic asthma through the gut-lung axis related immune modulation. *Revue NIH (National Library Of Medicine)*. 2025; 25 (4): 727-738. Doi : 10.17305/bb.2024.11280.

- Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz C M A P, Harris H M B, Mattarelli P, Lebeer S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020; 70(4): 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
- Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(1):35–56. doi:10.1038/s41575-018-0061-2



Annexe

Annexes :

Annexe 01 : Milieu MRS (de Man, Rogosa, Sharpe)

But : Favoriser la croissance des bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus* spp.

Composition typique (g/L) :

- Peptone : 10
- Extrait de levure : 5
- Extrait de viande : 8
- Dextrose (glucose) : 20
- Acétate de sodium : 5
- Citrate d'ammonium : 2
- K_2HPO_4 (phosphate dipotassique) : 2
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,2
- $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,05
- Tween 80 : 1 mL
- pH ajusté à 6,2

Annexe 2 : Milieu MRS + cystéine

But : Cultiver les bactéries lactiques anaérobies strictes (comme *Bifidobacterium* spp.)

Composition :

- Milieu MRS standard
- L-cystéine HCl : 0,05 à 0,5 g/L (agent réducteur pour réduire l'oxygène → conditions anaérobies)

Annexe 03: Milieu Hektoen Enteric (HE)

But : Isolement des entérobactéries pathogènes, surtout *Salmonella* et *Shigella*, à partir des selles

Composition typique (g/L) :

- Peptones (pancréatique et animale) : 16

- Extrait de levure : 3
- Lactose : 12
- Saccharose : 12
- Salicine : 2
- Bile ox gall : 9 (inhibe Gram +)
- NaCl : 5
- Thiosulfate de sodium : 5
- Citrate de sodium : 9
- Fer ammoniacal : 1,5 (pour précipitation de H₂S → colonies noires)
- Bromothymol blue, fuchsine acide (indicateurs de pH)
- pH ≈ 7,5

Lecture des résultats :

- Salmonella → colonies vertes/noires (H₂S +)
- Shigella → colonies vertes
- Fermentateurs (ex : E. coli) → colonies jaune-orangées

Annexe 04 : Milieu Chapman (Milieu à la mannitol-sel ou MSA)

But : Sélectif pour Staphylococcus spp., différentiel pour S. aureus

Composition typique (g/L) :

- Peptone : 10
- Extrait de viande : 1
- NaCl : 75 (7,5%) → inhibe la plupart des autres bactéries
- Mannitol : 10
- Rouge de phénol : 0,025 (indicateur de pH)
- Agar : 15
- pH ≈ 7,4

Lecture :

- S. aureus → fermente le mannitol → jaune
- S. epidermidis → non-fermenteur → rose/rouge

Annexe 05 : Milieu M17

But : Cultiver des bactéries lactiques, surtout les streptocoques lactiques (ex : Streptococcus thermophilus)

Composition typique (g/L) :

- Peptone tryptique : 5
- Peptone de caséine : 5
- Extrait de viande : 5
- Extrait de levure : 2,5
- Lactose : 5
- Disodium β -glycérophosphate : 19 (tampon)
- Ascorbate de sodium : 0,5
- $MgSO_4$: 0,25
- pH \approx 6,9

Annexe 07 : Interprétation de la galerie API 20E (de haut en bas) :

Code du test	Résultat	Interprétation
ONPG	+	Jaune \rightarrow β -galactosidase présente
ADH	-	Orange \rightarrow Arginine dihydrolase absente
LDC	+	Jaune \rightarrow Lysine décarboxylase présente
ODC	+	Jaune \rightarrow Ornithine décarboxylase présente
CIT	-	vert \rightarrow Ne consomme pas le citrate
H ₂ S	-	Pas de précipité noir
URE	-	Jaune \rightarrow Urease absente
TDA	-	Jaune \rightarrow Tryptophane désaminase absente
IND	+	Rose après réactif Kovac \rightarrow Production d'indole
VP	-	Incolore \rightarrow Test Voges-proskauer

		négatif
GEL	-	Pas de diffusion → Gélatinase absente
GLU	+	Jaune → Fermentation du glucose
MAN	+	Jaune → Fermentation du mannose
INO	-	Orange → Pas de fermentation de l'inositol
SOR	+	Jaune → Fermentation du sorbitol
RHA	+	Jaune → Fermentation du rhamnose
SAC	-	Orange → Pas de fermentation du saccharose
MEL	-	Orange → Pas de fermentation du mélibiose
AMY	-	Orange → Pas de fermentation de l'aydaline
ARA	+	Jaune → Fermentation de l'arabinose

Annexe 08 : Une suspension bactérienne fraîche a été étalée en un frottis mince sur une lame propre, séchée à l'air libre puis fixée à la flamme. La coloration a été effectuée en quatre étapes : application du cristal violet pendant une minute, mordantage avec le lugol pendant une minute, décoloration rapide à l'éthanol à 95 % pendant 10 à 20 secondes, puis contre-coloration avec la fuchsine ou la safranine pendant 30 secondes (**Bartholomew & Mittwer, 1952**). Après rinçages à l'eau entre chaque étape et séchage, les lames ont été observées au microscope optique à immersion (objectif 100×). Les bifidobactéries sont apparues comme des bacilles Gram positifs, irréguliers ou ramifiés, parfois en forme de Y ou de V (**Ventura et al., 2007**). Les lactobacilles se sont présentés sous forme de bacilles droits ou légèrement courbés, également Gram positifs, généralement en chaînes courtes (**Hammes & Hertel, 2009**). Enfin, les streptocoques sont apparus comme des cocci violets, disposés en chaînettes typiques, témoignant aussi d'une paroi de type Gram positif (**Axelsson, 2004**). Cet examen constitue une étape essentielle pour confirmer la morphologie et l'identification présumptive des bactéries lactiques avant des analyses plus spécifiques.