

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche scientifique
Université A - Mira de Bejaïa



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de microbiologie
Filière: Sciences Biologiques
Spécialité: Microbiologie Appliquée

Réf

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

**Essai de production d'une crème hydratante à base
de probiotiques.**

Présenté par:

Hadjadj Sylia et Ouali Yousra

Soutenu le : 26 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mr AMIR N.	MAA	Univ. de Bejaia	Président
Mme FARADJI-HAMMA S.	MCA	Univ. de Bejaia	Examinatrice
Mme SAIT-DIB S.	MCA	Univ. de Bejaia	Promotrice
Mme ADEL- ABDERRAHIM k.	MCA	Univ. de Bejaia	Co-promotrice

. Année universitaire: 2022/ 2023



Remerciements



*Nous tenons à remercier tout d'abord notre **Dieu** tout-puissant pour sa bénédiction, et sa miséricorde qui nous ont données la bonne santé, la force et la patience d'atteindre cette étape dans la réalisation de cet humble travail.*

*Nous tenons à exprimer également notre gratitude et nos sincères remerciements à notre chère promotrice **Madame SAIT-DIB Sabrina**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui a contribué à alimenter notre réflexion.*

*Et à notre Co-promotrice **Madame Khadija Adel abderrahim** nous la remercions chaleureusement pour sa gentillesse, et ses judicieuses Orientations. Nos vifs remerciements vont également **Mme BOULEKBACHE-MAKHLOUF Lila**, directrice du laboratoire 3BS.*

*Nous tenons à remercier également les membres du jury, **Monsieur Amir** qui a honoré de sa présence notre soutenance et **Madame Faradj** qui nous a donné son temps pour examiner et évaluer notre manuscrit.*

Notre salutation respectueuse s'adresse aussi à tous nos enseignants de département de sciences microbiologie pour leurs contributions à notre formation durant notre cursus.

Mais avant tout, merci à nos familles, au fond du cœur, pour leurs encouragements et leurs soutiens moraux et financiers. Enfin, nous tenons à remercier toute les personnes qui nous ont apportée soutien de près et de loin pour la réalisation de ce modeste travail. Merci à tous ceux qui nous à aidées à réaliser ce mémoire de près ou de loin.



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Si dieu a mis le paradis sous les pieds des mères, ce n'est pas pour rien.

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie nechallah. Je t'aime

A mon père « Arezki », aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi.

A mon cher frère « Ali » je te remercie Pour avoir toujours été un Frère formidable, d'avoir été là quand j'avais besoin de toi

A mes chers sœurs « Farida, Sabrina, Nadia, Rima » pour leur présence à mes côtés dans tous les moments et qui m'ont toujours poussées à aller de l'avant je vous aime énormément.

A mes chères amis Wissam et Ferhat qui m'ont soutenue tout au long de mes études je vous remercie énormément.

Sans oublier ma binôme « Yusra » pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Sylia

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

Ma mère

Qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance Sa présence dans ma vie, reçoit à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père ABD-el-Malek

Qui m'a toujours encouragé et soutenu durant tout mon cursus et à la Réalisation de ce travail, c'est la lumière de mes jours, la source de mes

Efforts, ma vie et mon bonheur.

À mes chers frères et ma sœur : Massinissa, Yoghourta, Missipssa, Kousseila, Youba, Ouarda je vous remercient infiniment et Que Dieu vous garde pour moi. À mes sœurs que ma mère n'a pas accouchées :

Kamir, Kahina, Katia, Lydia

À tous les membres de ma famille paternelle et maternelle, mes amies et spécialement à

Ma très chère amie et binôme de travail : Hadjadj Sylia

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer, je vous dis merci.

Yousra

Liste des abréviations

DA : Dermatite atopique

TLRs: Toll-Like Receptors

PRRs: Pattern Recognition Receptors

OMS : Organisation Mondiale pour la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

FAMT :Flore Aérobie Mésophile

GNO : Gélose Nutritive Ordinaire

MH : Muller-Hinton MRS De Man, Rogosa et Sharp

MRS : deMan, Rogosa et Sharpe

PCA : Plate Count Agar

pH : Potentiel Hydrogène

SARM : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline

SM : Solution mère

UFC : Unité Formant une Colonie

UV : Ultraviolets

EPH : Eau physiologique

R : Résistante

Liste des figures

Numéro de tableau	Titre	Page
Figure 01	Structure de la peau	3
Figure 02	Différentes couches de l'épiderme	4
Figure03	La fonction immunitaire de la peau	7
Figure 04	Photographie de lésion inflammatoire prurigineuses typiques observées chez deux patients atteint de dermatite atopique	9
Figure 05	Bactérie du genre <i>Lactobacillus</i> sous microscope électronique	11
Figure 06	Bactérie du genre <i>Bifidobacterium</i> sous microscope électronique.	11
Figure 07	La méthode des puits utilisée pour la recherche d'activité antibactérienne.	26
Figure 08	Aspect de <i>Lactobacillus</i> (a), Aspect de <i>L. delbrueckiissplactis</i> (b), Aspect de <i>bifidobacterium</i> (c)après coloration de Gram	27
Figure 09	Résultat de test de catalase	28
Figure 10	Résultat de l'évaluation de la couleur de crème	31
Figure 11	Résultat de l'évaluation de l'odeur de la crème	31
Figure 12	Résultat de l'évaluation de l'aspect de la crème	32
Figure 13	Résultat de l'évaluation de l'étalement de la crème	33
Figure 14	Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers les souches de <i>Staphylocoques</i> (<i>SARM, S epidermis</i>) et <i>Bacillus subtilis</i> .	35
Figure 15	Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers <i>Salmonella sp.</i>	36
Figure 16	Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers les bactéries à gram positif et négatif (<i>Enterococcus fecalis</i> ; <i>Enterobacter</i>).	37
Figure 17	Les résultats du test des puits sur bactéries à Gram négatif (<i>E.coli</i> ; <i>Kelbsiella pneumoniae</i>).	38
Figure 18	Résultat du test des puits vis-à-vis d' <i>Acinetobacter</i> .	39

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre	page
Tableau I	Quelques bactéries considérés comme probiotique	12
Tableau II	Tableau représentatif des différentes souches bactériennes testées.	20
Tableau III	Les ingrédients de la phase huileuse et aqueuse	21
Tableau IV	Tableau représentant le dénombrement de différentes flores microbiennes	24
Tableau V	Les paramètres physico-chimiques	28
Tableau VI	Résultats d'analyse sensoriel sur la couleur de la crème.	31
Tableau VII	résultats de test l'odeur de la crème	31
Tableau VIII	Les résultats l'aspect de la crème	32
Tableau IX	les résultats de l'étalement de la crème	32
Tableau X	Résultats d'Activité antimicrobienne des différentes crèmes et les bactéries probiotiques.	33

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Généralités sur la peau

I. Généralités sur la peau 3

I.1. Structure de la peau 3

I.1.1. Epiderme 3

I.1.2. Derme 5

I.1.3. Hypoderme 5

I.3. Physiologie la peau 5

I.3.1. Fonctions et propriétés de la peau 5

I.3.2. Fonctions de la peau 5

I.4. Immunité innée de la peau 6

I.5. Le microbiote cutané 7

I.6. La dermatite atopique 8

Chapitre II : Les probiotiques est les produits cosmétiques

II. Les probiotiques est les produits cosmétiques 10

II.1. Historique et définition de probiotique 10

II.2. Classification des probiotiques 10

II.2.1. *Genre Lactobacillus* 10

II.2.2. Genre *Bifidobacterium* 11

II.2.3. Autres genre 11

II.3. Effet bénéfique des probiotiques 12

II.4. Mécanisme d'action des probiotiques 13

II.4.1. Production de substances antimicrobiennes	13
II.4.2. Production d'acide par les probiotiques	13
II.4.3. Stimulation de la bêta défensines.....	14
II.5.Utilisation des probiotiques pour application cutanées	14
II.5.1. Probiotiques et cicatrisation des plaies.....	14
II.5.2.Les probiotiques et la réduction de l'acné.....	15
II.6. Crèmes cosmétiques.....	15
II.6.1. Définition du produit cosmétique naturel.....	15
II.6.2. Mécanisme d'hydratation cutanée.....	16
II.6.3. Pénétration percutanée des cosmétiques	16
II.7. Les émulsions	17
II.7.1.Définition d'une émulsion	17
II.7.2.Types d'émulsions	17

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III. Lieu et objectif d'étude.....	18
III.1 Matériel	18
III.1.1 Matériels biologiques	18
III.2 Méthodes	18
III.2.1. Isolement et Identification des bactéries lactiques	18
III.2.2. Caractérisation et identification des souches lactiques	19
III.2.3. Souches pathogènes utilisées	19
III.3 Préparation de la crème	20
III.3.1 Choix de type d'émulsion	20
III.3.2.Les ingrédients entrant dans les deux phases huileuse et aqueuse	21
III.4.Analyses physico-chimiques.....	22
III.4.1.Détermination du pH.....	22
III.4.2.Détermination de la viscosité.....	23
III.4.3. Détermination de la densité.....	23

III.4.4. Détermination de stabilité	23
III.5. Contrôle de la qualité microbiologique de la crème hydratante	23
III.6. Analyses organoleptiques de la crème	24
III.7. Etude de l'activité antimicrobienne de la crème et des ferments lactiques.	25
III.7.1. Standardisation des souches	25
III.7.2. Activité antibactérienne (Méthode des puits).....	25

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Identification des souches.....	27
IV.1.1. Critères morphologiques.....	27
IV.1.2. Critères physiologiques et biochimiques.....	27
IV.2 Analyses physico-chimiques.....	28
IV.3 Analyse de la qualité microbiologique.....	29
IV.4 Analyses organoleptiques.....	30
IV.4.1 Couleur de la crème.....	30
IV.4.2 Odeur de la crème.....	31
IV.4.3 Aspect de la crème.....	32
IV.4.4 Etalement de la crème.....	32
IV. Etude de l'activité antibactérienne des crèmes et des bactéries lactiques.....	33
Conclusion et perspectives.....	40

Références bibliographiques

INTRODUCTION

Introduction

La peau est la première ligne de défense contre les agents pathogènes et est capable de faire la distinction entre les micro-organismes commensaux et pathogènes. Ces micro-organismes pathogènes sont capables de moduler le système immunitaire de la peau et les altérations du microbiote pouvant entraîner de nombreuses lésions cutanées.

Compte tenu du rôle important du microbiote dans la défense contre les pathogènes et la réponse immunitaire, il est évident que toute modification de ce dernier peut conduire à des pathologies. Ces pathologies reposent sur un déséquilibre dans sa composition, appelé dysbiose, ou sur la pénétration des bactéries dans les couches profondes de la peau en cas d'altération de la barrière cutanée entraînant ainsi des infections (**Sanford *et al.*, 2013**).

Les bactéries lactiques sont considérées parmi la flore intestinale normale et jouent un rôle crucial dans le maintien et l'amélioration de la santé. Elles peuvent être considérées comme des microorganismes à potentiel probiotique. Selon la **F.A.O./OMS, (2002)** ; les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante exercent un effet positif sur la santé au-delà des effets nutritionnels. Pour remplir cette fonction, les bactéries lactiques doivent répondre à un certain nombre de critères dont la tolérance à l'acidité et aux sels biliaires (**Fuller, 1989 ; Saito, 2004**). De nombreux mécanismes d'action ont été proposés afin d'expliquer l'impact des microorganismes probiotiques au niveau gastro-intestinal principalement l'exclusion compétitive, la compétition pour les nutriments, l'amélioration de la fonction barrière de l'épithélium, la réduction de l'inflammation, la stimulation du système immunitaire et la production de composés antimicrobiens (**Fernandez, 2014**).

L'utilisation de probiotiques a montré des effets prometteurs sur la prévention et le traitement de différents troubles cutanés inflammatoires, tels que l'acné et la dermatite atopique (**Domizio *et al.*, 2016**).

Au cours de la dernière décennie, l'intérêt pour l'utilisation de probiotiques oraux et topiques pour les soins de la peau et le traitement des maladies dermatologiques a augmenté. Alors que de nouveaux produits sont lancés sur le marché, des groupes de scientifiques tentent de déterminer leur efficacité, leur mécanisme d'action, leur innocuité et leurs indications. **Lee *et al.* (2019)** expliquent qu'ils ont montré leur efficacité dans un certain nombre d'essais limités portant sur le traitement de quelques maladies telles que l'acné, la dermatite atopique et la rosacée.

Objectif de notre travail est d'évaluer le potentiel d'utilisation de quelques souches probiotiques par leur activité antimicrobienne, et la fabrication d'une crème hydratante porteuse de ses micro-organismes afin d'élaborer un probiotique topique à usage dermatologique.

Afin de répondre à l'objectif, notre travail se repartie en deux parties

- La première partie des généralités sur la peau, la flore cutanée et les éléments nécessaire à la compréhension des probiotiques et les crèmes cosmétiques

- La Seconde partie est la partie expérimentale qui traite les méthodes d'identification des souches bactériennes probiotiques, préparation d'une émulsion et l'étude de leur effet antibactérien vis-à-vis à des souches pathogènes.

Enfin, une conclusion qui résumera tous les résultats obtenus et quelques perspectives.

CHAPITRE I

Généralités sur la peau

I. Généralités sur la peau

I.1. Structure de la peau

La peau est présentée comme étant l'organe le plus lourd et le plus grand du corps, elle représente 2 m² de surface, son épaisseur varie entre 1 à 5 mm selon l'endroit du corps dont la fonction principale est de protéger l'organisme des agressions extérieures (physiques, Chimiques et les infections). C'est une enveloppe protectrice qui joue également un rôle actif dans de nombreux processus biologiques et biochimiques (Melissopoulos *et al.*, 2012).

I.2. Anatomie de la peau

Selon le plan structurel, la peau est composée de trois tissus superposés qui sont l'épiderme le plus externe, le derme intermédiaire et le plus profond l'hypoderme (Figure 01) (Melissopoulos *et al.*, 2012).

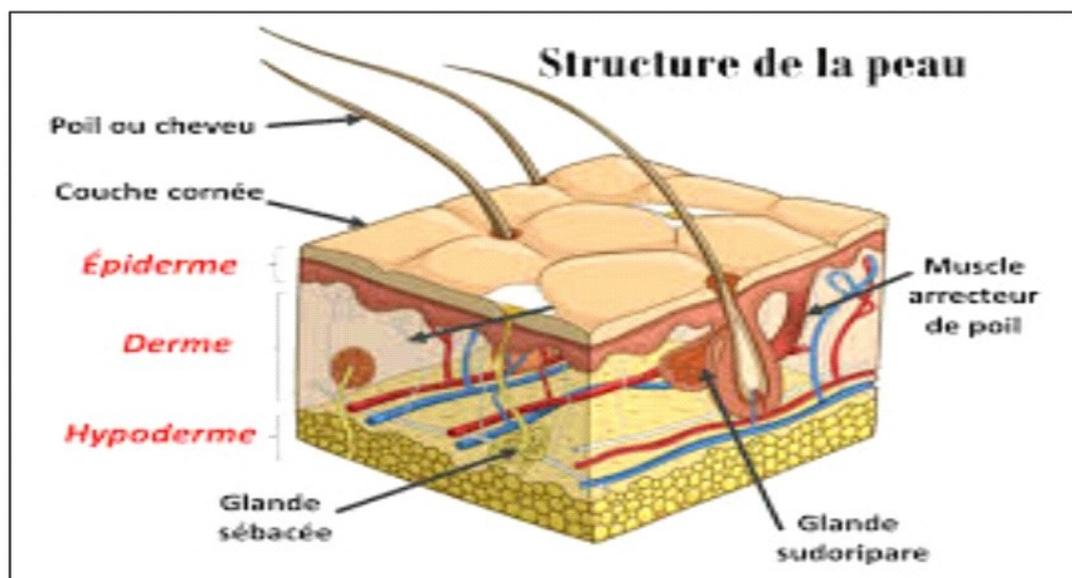


Figure 01 : Structure de la peau (Bruno, 2010).

I.2.1. Epiderme

Il représente la couche supérieure de la peau recouvrant le derme, sa fonction principale est la protection. C'est un épithélium pavimenteux, pluristratifié, kératinisé et avasculaire (Mastour., 2014).

Selon Marieb *et al* (2010), L'épiderme se compose de 5 couches cellulaires (Figure 2) dont lesquelles on retrouve 4 types cellulaires (les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et de Merkel).

Couche basale : (stratum basale) la plus interne, est formée d'une couche unique à partir de laquelle les cellules se renouvellent et migrent en superficie.

Couche Malpighi : Contient des kératinocytes qui produisent de la kératine c'est-à-dire une protéine qui donne à la peau sa tonicité. Deux autres types de cellules constituent la couche de Malpighi, les Mélanocytes, qui produisent la mélanine responsable de la pigmentation cutanée et les cellules de Langerhans, globules blancs qui éliminent les toxiques au niveau de l'épiderme et qui sont en cause dans certaines affections cutanées (allergies, inflammation...)

Couche granuleuse : Stratum granulosum est la couche la plus foncée, contenant 3 ou 4 assises de cellules. Ces cellules contiennent des grains de keratohyaline (ou profilaggrine).

Couche claire (stratum lucidum) : est constitué de cellules vieillissantes dont le noyau est en cours de disparition.

Couche cornée (stratum corneum) : est une couche externe constituée de cellules mortes très épaisses appelées les cornéocytes, qui ne possèdent pas de noyaux et sont très riches en kératine.

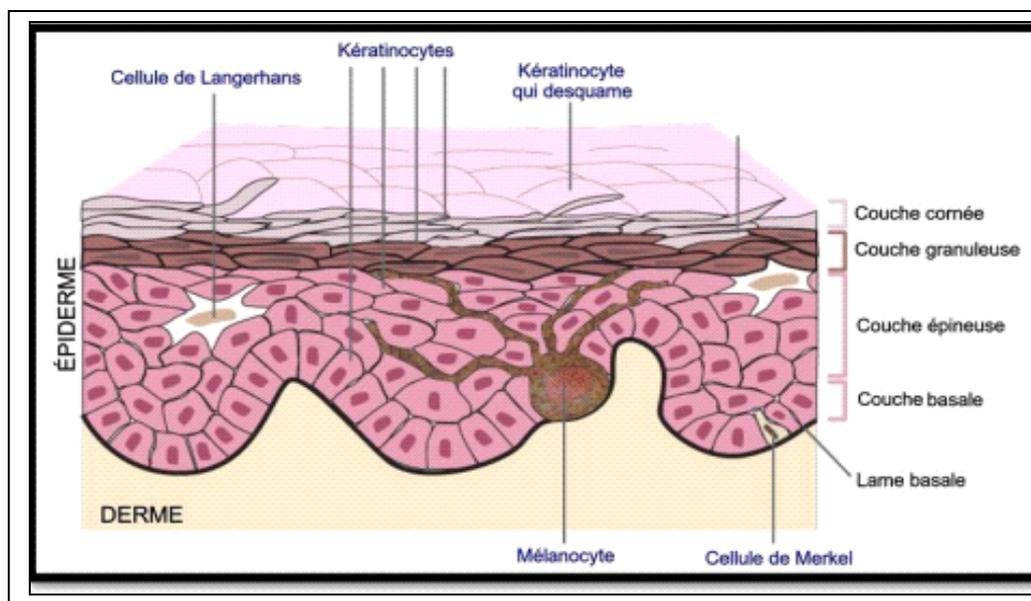


Figure 02 : Différentes couches de l'épiderme.

1.2.2. Derme

Le derme est un tissu conjonctif de 0,5 mm d'épaisseur en moyenne qui procure une élasticité et une résistance à la peau. Il est divisé en 2 parties, le derme papillaire, superficiel, formé d'un tissu conjonctif lâche, et le derme réticulaire, en profondeur, formé d'un tissu conjonctif dense. Le derme est constitué de différents éléments fibrillaires (fibres de collagène et élastiques) et cellulaires (fibroblastes et cellules immunitaires) mais également de vaisseaux sanguins, de nerfs sensoriels et de corpuscules (**Kolarsick., 2011**).

1.2.3. Hypoderme

C'est la couche la plus profonde de la peau, qui permet de relier la peau au reste du corps. Cette couche est principalement composée de tissu adipeux qui joue plusieurs rôles dont la protection, réservoir énergétique, de synthèse (**Marieb et al., 2010**).

1.3. Physiologie de la peau**1.3.1. Fonctions et propriétés de la peau**

La peau est une enveloppe qui protège l'individu. C'est un organe de défense, empêcher l'entrée des micro-organismes. De nombreuses cellules participent à la défense contre les corps étrangers, dont les cellules du système immunitaire. Il existe certaines cellules, comme celles de Langerhans, spécifiques du système immunitaire de la peau. De nombreuses interactions, biochimiques et cellulaires, entrent en jeu dans les diverses fonctions défensives de la barrière cutanée (**Hill Sylvestre et al., 2013**).

1.3.2. Fonctions de la peau

La peau a de nombreuses fonctions qui sont :

 Fonction de protection

L'effet de barrière mécanique est possible grâce aux cellules kératinisées de l'épiderme, très résistantes à l'abrasion. Ainsi, la composition des différentes strates de la peau, notamment la couche graisseuse, protège efficacement les structures internes contre les chocs mécaniques. Enfin, la mélanine aide à protéger la peau des rayonnements dangereux sur l'ADN (**Israd, 2010; Peyrefitte, 1995**).

L'effet de barrière chimique est dû grâce aux sécrétions cutanées et à ses propriétés physico-chimiques. En effet, le faible pH du film liquide acide sécrété par la peau, et les

substances bactéricides contenues dans le sébum, font de la peau une barrière efficace contre les micro-organismes exogènes. La desquamation permanente ayant lieu au niveau de la couche cornée permet également d'éliminer les micro-organismes adhérents, et la sécheresse relative de la peau ralentit le développement microbien (**Peyrefitte, 1995; Israd, 2010**).

L'effet de barrière biologique est possible grâce d'une part, au système immunitaire inné représenté par différents agents au niveau de la peau et, d'autre part, à la flore bactérienne " commensale", qui occupe cette niche écologique depuis la colonisation de la peau au cours des premières années de vie (**Dominguez-Bello et al., 2010**). Les cellules épithéliales sont à l'interface entre la peau et l'environnement extérieur et représentent la première ligne de défense du système immunitaire inné (**Braff and Gall, 2006**).

Fonction de thermorégulation

La présence de nombreux vaisseaux lui permet de protéger les plans sous-jacents des variations chaud/froid et d'assurer une température corporelle constante pour maintenir l'homéostasie de l'organisme (**Noyon, 2012**).

Fonction de sensation

La peau, par sa richesse en fibres sensibles, informe l'organisme sur 4 grands groupes de sensations : le toucher, la douleur, la température et la pression. Premier organe sensoriel à apparaître au cours de l'évolution, le sens tactile est aussi le dernier à disparaître au cours du processus de vieillissement (**Noyon, 2012**).

Fonction métabolique

La peau a un rôle métabolique, notamment car elle synthétise diverses molécules (hormones, enzymes, protéines...) qui jouent un rôle au niveau local. Ainsi, dans la peau débute la synthèse de la vitamine D, impliquée dans l'absorption du calcium et du phosphore et, par conséquent, dans la minéralisation des os (**Peyrefitte, 1995; Israd, 2010**).

1.4. Immunité innée de la peau

La peau est à l'interface entre le milieu interne de notre organisme et l'environnement extérieur. En contact direct avec cet environnement, elle se trouve constamment agressée par des pathogènes microbiens exogènes (**Braff and Gallo, 2006; Eyerich et al., 2018**). Il est généralement admis que l'un des rôles majeurs de la peau est de protéger l'organisme en assurant la réponse immunitaire innée lors de blessures et d'attaques microbiennes (**Pasparaklis et al., 2014; Dréno et al. 2016**). Cette barrière immunitaire comprend une

réponse innée qui est immédiate, ainsi qu'une réponse adaptative qui met plusieurs jours à s'installer (Cavaillon, 2010).

La présence d'un agent pathogène au niveau de l'épiderme induit l'activation des PRRs (pattern Recognition Receptors), qui sont des récepteurs de l'immunité immédiate incluant les TLRs (Toll-Like Receptors) (Kumar *et al.*, 2011; pasparakis *et al.*, 2014; Eyerich *et al.*, 2018). Cette voie de signalisation va induire la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires et conduire au recrutement d'effecteurs au niveau du site d'infection, Comme les macrophages et les cellules dendritiques (Eyerich *et al.*, 2018). L'intervention de ces médiateurs pourra également survenir dans le transport d'antigène au niveau des organes lymphoïdes secondaires afin d'être présentés à des lymphocytes T et ainsi mettre en place une réponse immunitaire adaptative (Figure 3).

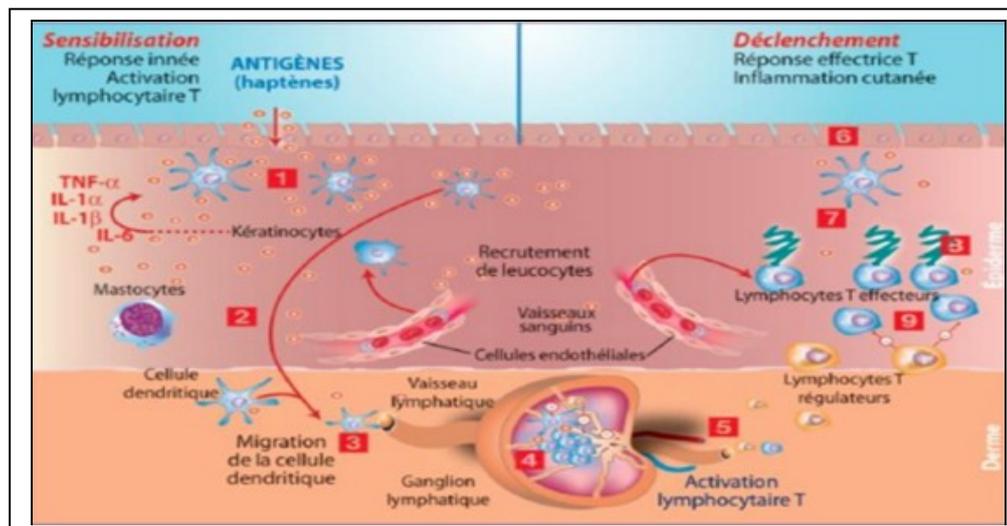


Figure 03 : La fonction immunitaire de la peau (Percival *et al.*, 2012).

1.5. Le microbiote cutané

Le microbiote humain est défini comme les groupes de micro-organismes présents dans un tissu, qu'ils soient commensaux et symbiotiques, pathogènes facultatifs ou obligatoires : bactéries, virus, parasites et espèces fongiques. Ces bactéries sont dites commensales, c'est à dire qui ne provoque pas de maladies quand elles sont en symbiose. Le microbiote est présent dans les différentes parties du corps dans lesquelles un épithélium est en contact avec le monde extérieur. On distingue le microbiote des voies respiratoires (bouche, pharynx et poumons), celui du tractus digestif (estomac et intestin), celui de l'appareil urogénital et enfin celui de la peau (Wein, 2015).

Lorsque nous parlons de microbiote cutané, il est important de clarifier la notion de "microbiote" et de "microbiome", Car il existe un abus de langage entre ces deux termes. L'ensemble des communautés microbiennes (bactéries, virus, champignons, protozoaires...) présent au niveau d'un environnement défini constitue le "microbiote". Quant à lui, le microbiome correspond à l'étude de l'ensemble des génomes des micro-organismes présentes, ainsi que leurs interactions avec l'environnement (**Cattoir, 2016**).

Le microbiote de la peau varie de manière quantitative et qualitative d'une personne à l'autre selon l'âge, le sexe, le siège, le système immunitaire et certains facteurs physicochimiques tels que l'humidité, le pH et la température (**Kong et Segre, 2012**).

La peau d'un adulte héberge en moyenne 1000 milliards de bactéries, et 1000 espèces de champignons, virus et arthropodes. Ce microbiote vit sur la surface et dans les couches superficielles de l'épiderme pour réaliser ainsi un écosystème complexe dont la caractérisation repose sur la culture de prélèvements à la surface de la peau ou des biopsies (**Nutrium, 2011**).

1.5.1. Le microbiote cutané et dermatoses inflammatoires

De nombreuses études démontrent l'importance d'un bon équilibre entre les différentes communautés microbiennes au sein du microbiote cutané afin de garantir l'homéostasie de la peau et l'intégrité de sa fonction "barrière". La dysbiose, un déséquilibre des communautés bactériennes au niveau du microbiote cutané, est souvent observée dans les dermatoses inflammatoires, en particulier l'acné. Ainsi, le rôle du microbiote cutané a été mis en évidence dans l'étiologie, la persistance, et la gravité de nombreuses dermatoses. Sa capacité à activer le système immunitaire inné est sans doute un facteur clé, observé dans ces contextes de dermatose inflammatoires (**Dréno et al., 2016**).

1.6. Dermatite atopique

La dermatite atopique (DA) est une dermatose inflammatoire également appelée eczéma, associée à une dysbiose et une colonisation de la peau par *Staphylococcus aureus* (**Yamzaki et al., 2017**). C'est une dermatose très fréquente, souvent associée à d'autres maladies atopiques, telles que la rhinite allergique et l'asthme. Elle touche jusqu'à 20% des enfants et jusqu'à 3% de la population adulte (figure 4) (**Bierber, 2008; Nutten, 2015**).

La dermatite atopique est une inflammation chronique de la peau. Suite à de nombreuses études, on est aujourd'hui en mesure d'affirmer que les mécanismes à l'origine

de la (DA) sont multiples. Les facteurs génétiques, autant que les facteurs environnementaux favorisent son développement, Ainsi les gènes qui contribuent à l'intégrité de la barrière cutanée, Les gènes de l'immunité innée et adaptative sont impliqués (**Camille et al., 2017**).

La prise en charge de la dermatite atopique est essentiellement symptomatique. Elle englobe le traitement des lésions en phase de poussée (que l'on peut assimiler à un traitement de crise) et le traitement de prévention au cours des phases de rémission (que l'on pourra considérer comme un traitement de fond) (**Descamps, 2003 ; Stalder et al., 2005 ; Darsow et al., 2010 ; Dammak et Guillet, 2011**).



Figure 04 : Photographie de lésion inflammatoire prurigineuses typiques observées chez deux patients atteint de dermatite atopique (**Biebre, 2008**).

Chapitre II

*Les probiotiques est les
produits cosmétiques*

II. Les probiotiques est les produits cosmétiques**II.1. Historique et définition de probiotique**

La notion de probiotiques a été développée grâce aux travaux de **Metchnikoff en 1907**. Son prix Nobel suggérait que la bonne santé et la longévité des paysans bulgares étaient dues à leur consommation de produits laitiers fermentés. Le terme probiotique a été introduit pour la première fois par **Lilly et Stillwell en 1965** pour décrire les substances produites par un microorganisme et stimulant la croissance d'autres microorganismes.

En 1991, Fuller redéfinit les probiotiques comme étant des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale.

Selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS), les probiotiques sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte ».

Ce sont des acteurs incontournables de développement et d'innovation dans les domaines des industries alimentaires et médicales. Ces microorganismes, généralement des bactéries, influencent la santé humaine et animale et protègent par exemple de certaines infections intestinales, participent à la digestion et influencent le système immunitaire. Leur inclusion dans les aliments ou les compléments alimentaires est en constante progression depuis une dizaine d'années (**Bruno, 2014**).

II.2. Classification des probiotiques**II.2.1. Genre *Lactobacillus***

Les lactobacilles sont les hôtes naturels de nombreuses muqueuses de l'homme et des animaux : cavité buccale, intestin, vagin, urètre... (**DC. Delmas, 2015**).

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Au sein de ces derniers, les lactobacilles forment un ensemble très disparate. Ils appartiennent au groupe des Firmicutes, à la classe des Bacillis, à l'ordre des Lactobacillales (**Bahri, 2014**).

Appartient à la famille des Lactobacillaceae qui comprend pour l'instant 192 espèces (**DC. Delmas, 2015**). Ce sont des bactéries à gram positif, non sporulées et généralement non mobile.

Ils peuvent se présenter sous la forme de bâtonnets ou coccobacilles. Le métabolisme énergétique des lactobacilles est exclusivement fermentaire(Figure5) (**Bahri, 2014**).

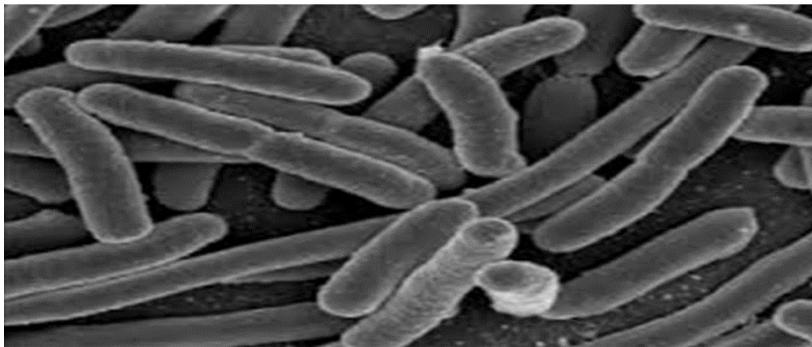


Figure 05: Bactérie du genre *Lactobacillus* sous microscope électronique.

II.2.2. Genre *Bifidobacterium*

Les bifidobactéries ont été isolées et décrites pour la première fois par Henry Tissier à la fin du XIX siècle. Les bifidobactéries ont des caractéristiques morphologiques et physiologiques particulières avec une forme bâtonnet à morphologie variable, généralement un peu courbée et plissée, parfois ramifiée. Cette bactérie est Gram positive, non sporulée, non productrice de gaz, immobile, anaérobie, son génome a un contenu en G+C généralement élevé qui varie de 42 à 67% (**Tissier, 1900; Bruno, 2014**).

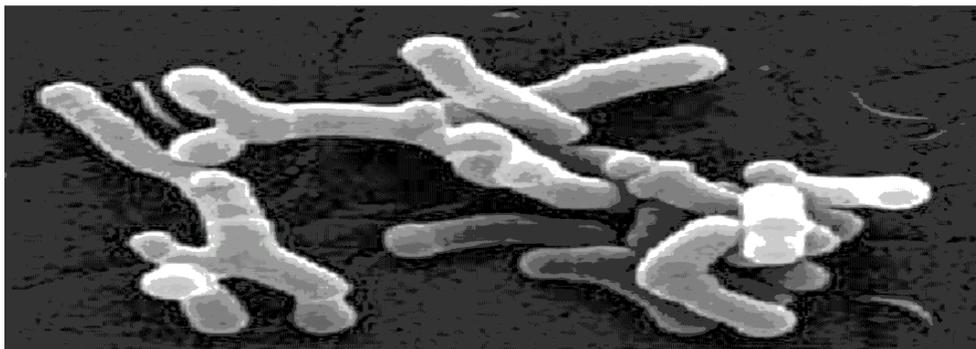


Figure 06: Bactérie du genre *Bifidobacterium* sous microscope électronique.

II.2.3. Autres genres

Cette catégorie concerne d'autres bactéries lactiques comme les *Enterococcus* et les *Streptococcus* (**Holzappel et al.,2001**) qui sont des cocci à gram positif (**Djerboua, 2019**), et autres bactéries non lactiques appartenant à l'espèce *Propionibacterium freudenreichii*, *E. coli*, et quelques types de levures (Tableau I).

Tableau I: Quelques bactéries considérés comme probiotique (Holzapfel et al., 2001).

Espèces de <i>Lactobacillus</i>	Espèce de <i>Bifidobacterium</i>	Autre bactéries lactiques	Autre bactéries non lactiques
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus var. toyoi</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli strainnissle</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. reutri</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. delbrueckii</i> Subsp. <i>Bulgaricus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. amylovorus</i>			
<i>L. crispatus</i>			
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. gasseri</i>			

II.3. Effet bénéfique des probiotiques

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, bénéfiques pour la sante de leur hôte. Afin d’être reconnu comme probiotique, un microorganisme doit-être identifier et classifier précisément selon les règles taxonomiques en vigueur. De plus, son innocuité d’utilisation est primordiale. Lorsque l’identification et l’innocuité d’utilisation d’un microorganisme sont établies, la seconde étape nécessaire pour le considérer comme probiotique, est de démontrer son impact positif vis-à-vis de la santé humaine (Malbezin, 2017; Elodie et Isabelle, 2020).

II.4. Mécanisme d'action des probiotiques

La peau sert avant tout de barrière pour empêcher l'entrée dans le corps de microbes et de virus. La microflore intestinale semble jouer un rôle crucial dans la prévention de nombreux troubles inflammatoires de la peau. En effet, la dysbiose intestinale ou le syndrome de l'intestin perméable peuvent affecter le microbiome cutané et ses fonctions de base. Cela peut contribuer à des troubles dermatologiques courants comme l'acné, la dermatite atopique (eczéma). Mais les probiotiques topiques peuvent également améliorer la santé de la peau (Ky, 2021). Ces bactéries ont un rôle actif et participent à la bonne santé de la peau. En effet, ces bactéries fabriquent des peptides antimicrobiens, qui maintiennent les bactéries pathogènes (Camille, 2017).

II.4.1. Production de substances antimicrobiennes

Les microorganismes probiotiques sont capables de produire de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, peroxyde d'hydrogène, les bactériocines qui empêchent avec succès l'adhésion des agents pathogènes. Des compositions topiques à l'invention de Farmer (2005), convenant à une application topique sur la peau qui peut être utilisée pour inhiber la croissance de bactéries, levures, champignons, virus.

L'utilisation potentielle de souche productrices de bactériocines comme agent probiotiques et bioprotecteurs capable d'inhiber la croissance des bactéries inflammatoires cutanées telle que *S.epidirmidis* et *S.aureus*.

L'invention de Teodorescu (1999) décrit l'utilisation d'un produit eubiotique, constitué d'un mélange de trois souches de *Lactobacillus acidophilus* LD-11, LR-13, LV-17 associées pour l'entretien et traitement des téguments. En comparaison avec les souches courantes, ces dernières fermentent le raffinose, le tréhalose et la dextrine respectivement. La réalisation d'un produit eubiotique naturel capable de maintenir le pH cutané à des valeurs physiologiques, de détruire la microflore pathogène et d'être résistant en composition cosmétique (Bendetta et al, 2011).

II.4.2. Production d'acide par les probiotiques

La préservation de la microflore résidente est considérée comme un moyen efficace d'assurer le maintien de fonctions cutanées saines et normales. Les microorganismes probiotiques utilisent différents mécanismes, comme abaissant le pH, pour préserver la santé de la peau et pour

inhiber la croissance des agents pathogènes. Une propriété intéressante de ces derniers est le métabolisme fermentaire qui implique la production de l'acide lactique qui maintien l'acidification du milieu environnant. L'environnement acide de la peau est en effet très important car il décourage la colonisation bactérienne et fournit une barrière contre l'humidité (Bendetta *et al*, 2011).

II.4.3. Stimulation de la bêta défensines

Sullivan *et all*, (2009) ont affirmé que les extraits de *Lactobacillus* pourraient simuler la production de bêta-défensines dans les cellules de la peau, ce qui pourrait être utile dans la réduction ou la prévention de la croissance des populations microbiennes sur la peau. Des quantités efficaces d'extraits de *Lactobacillus* sont appliquées sur une coupure ouverte ou une plaie sur la peau qui peut avoir été en contact avec de la saleté ou des microbes indésirable, ou sur une base chronique appliqué sur une peau propre pour maintenir un niveau sain de la flore cutanée (Bendetta *et al*, 2011).

II.5. Utilisation des probiotiques pour application cutanées

De nouvelles preuves scientifiques ont démontré que les probiotiques oraux peuvent aider à traiter certaines maladies de la peau, telles que l'acné, la dermatite atopique, le photo-vieillissement et la cicatrisation des plaies. Et d'autre preuves scientifiques actuelles examinent l'application topique des probiotiques et leurs effets sur les maladies dermatologiques et les soins de la peau (Franca, 2020; Perez, 2022).

II.5.1. Probiotiques et cicatrisation des plaies

Les probiotiques ont démontré une capacité dans de multiples modèles humains et animaux d'améliorer l'efficacité de la cicatrisation des plaies. Les probiotiques inclus *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, et *Saccharomyces cerevisiae* dans des modèles de lésions thermiques, des plaies infectées et non infectées. Le traitement probiotique topique a entraîné une amélioration de la cicatrisation comme en témoignent l'augmentation du dépôt de tissu de granulation, l'amélioration de la concentration de collagène. Il existe de nombreuses options pour prévenir les infections des plaies, telles que les pansements à l'argent, l'iode et les produits antibactériens pour la peau. Le mécanisme d'action par lequel les probiotiques sont capable d'induire un effet antimicrobien n'a pas encore été entièrement élucidé

mais est probablement multifactoriel. Ils produisent des exopolysaccharides qui ont une activité immuno-stimulatrice et sont capables d'activer les macrophages et les lymphocytes. Il a été démontré que les probiotiques diminuent la concentration de bactéries pathogènes via un antagonisme spécifique à l'espèce, et une régulation des peptides antimicrobiens.

Les brûlures, et les escarres sont des plaies chroniques associées à des Biofilms, une fois qu'un biofilm s'est formé, il est presque impossible de le détruire en raison de la résistance accrue aux traitements antimicrobiens. Il a été démontré que l'addition de probiotiques à des cultures bactériennes pathogènes peut inhiber la formation des Biofilms (**Knackstedt et al., 2020**).

II.5.2. Les probiotiques et la réduction de l'acné

Les probiotiques ont une double action au niveau du microbiote cutané. D'une part, ils maintiennent l'équilibre entre les bactéries commensales et bactéries pathogènes qui s'y trouvent. Ainsi, ils doivent toujours être en surnombre, à défaut le déséquilibre favorise les affections de la peau comme l'acné et l'eczéma atopique. Et d'autre part ils soutiennent et enrichissent le microbiote si besoin. Ils sont capables d'augmenter les populations de bactéries bénéfiques et de protéger la peau. Ces microorganismes sont d'excellents anti-inflammatoires naturels, ils inhibent la production de cytokines pro-inflammatoires comme les interleukines. En réduisant l'inflammation, ils apaisent les inconforts et limitent les imperfections (**Domizio et al., 2016**).

II.6. Crèmes cosmétiques

II.6.1. Définition du produit cosmétique naturel

« Un produit cosmétique est une substance ou un mélange destiné à être mis en contact avec les parties superficielles du corps humain (l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes) ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles (**article L5137-1 du Code de la santé publique**).

II.6.2. Mécanisme d'hydratation cutanée

L'hydratation cutanée, indispensable pour assurer à la peau sa souplesse, sa douceur, sa tonicité et son aspect. L'eau est un constituant majoritaire de notre organisme et représente 60% du poids corporel de l'adulte. Dans la peau, l'eau est principalement répartie dans le derme où elle forme un gel semi-fluide avec différentes protéines de structure de la matrice extracellulaire. L'épiderme et la couche cornée ne renferment quant à eux que très peu d'eau. L'hydratation de la peau se résume à l'hydratation du stratum corneum au pourcentage d'eau au niveau de cette couche, la plus superficielle de l'épiderme. Il est impossible de modifier la teneur en eau du derme; en revanche l'équilibre entre la diffusion et l'évaporation de l'eau au niveau de l'épiderme est un élément sur lequel il est possible d'influer. La couche cornée forme une barrière de perméabilité efficace qui remplit deux fonctions importantes: elle s'oppose à la pénétration dans l'épiderme des micro-organismes, substances chimiques et allergènes de l'environnement, et empêche la perte insensible d'eau, protégeant ainsi l'organisme de la déshydratation (**Verdier *et al*, 2007; Masson, 2010**).

II.6.3. Pénétration percutanée des cosmétiques

La pénétration percutanée est un élément indispensable pour comprendre les réactions possibles de l'organisme à une substance appliquée sur la peau.

Le passage transcutané n'est pas dû à des phénomènes de transport actif, mais il est dominé par des mécanismes de diffusion à travers les membranes.

On considère que ce mécanisme de passage transcutané peu connu et surtout peu maîtrisable lors de la formulation peut être à l'origine des phénomènes de sensibilisation.

Les substances actives utilisées en cosmétologie ne sont jamais isolées au sein du produit. Elles se trouvent au sein d'une formulation complexe. Les produits permettant ou aidant la pénétration d'une substance sont appelés « véhicules ».

Après la phase de contact entre le produit cosmétique et la peau, la substance active quitte son véhicule, ce qui lui permet de pénétrer dans le stratum corneum. La couche cornée se remplit en fonction de l'affinité de la molécule pour cette structure (**Audrey, 2011**).

II.7. Les émulsions**II.7.1. Définition d'une émulsion**

C'est une dispersion de gouttelettes d'un liquide dans une autre phase liquide continue. Ce sont des systèmes finement divisés qui sont caractérisés par le développement important d'une interface entre les deux liquides non miscibles. Ces systèmes sont thermodynamiquement instables et peuvent être stabilisés cinétiquement par l'ajout d'émulsifiants. Ces derniers peuvent être de différentes natures, et qui jouent un rôle fondamental dans la stabilisation de l'émulsion. Cette dernière peut être fluide, crémeuse ou même gélifiée, ce qui permet d'explorer une large gamme de texture (Eléonore *et al.*, 2011).

II.7.2. Types d'émulsions

Il existe deux types d'émulsions

1. **Les émulsion simples**, constituées d'une phase dispersée dans une phase continue, et sont de type « huile dans eau ». Si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé, cette émulsion est appelée " « eau dans huile » " (Eléonore *et al.*, 2011; Nathalie, 2012).
2. **Les émulsions multiples**, quant à elle consistent une émulsion simple dispersée à son tour dans une phase continue externe. De type Eau/Huile/Eau ou Huile/Eau/Huile (Eléonore *et al.*, 2011; Nathalie, 2012).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III. Lieu et objectif d'étude

La réalisation de cette étude a été faite au niveau du laboratoire de recherche 3BS (biochimie, biophysiques, biomathématiques et Scientométrie), à l'Université de Abderrahmane-Mira Bejaia.

Notre travail consiste à la fabrication d'une crème hydratante à base de probiotiques (probiotiques topiques) et à étudier ses propriétés physicochimiques, microbiologiques ainsi que son pouvoir antagoniste vis-à-vis de 10 souches pathogènes.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel biologique

Pour la réalisation de la partie expérimentale, on s'est servi du matériel biologique suivant:

A. Les probiotiques

L'échantillon de probiotiques pharmaceutiques (complément alimentaire) d'une boîte d'ultra-biotiques contenant 16 gélules représentent, un remède à base de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* a été acheté auprès d'une pharmacie.

B. Bactéries lactiques

L'échantillon de bactéries lactiques (sous forme lyophilisée): *Lactobacillus delbruekii ssp. Lactis*.

C. Les souches pathogènes

Enterococcus faecalis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermis*, *Salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*.

III.2. Méthodes

III.2.1. Isolement, purification et identification des Bactéries lactiques

Le contenu de chaque échantillon a été versé dans un bouillon MRS dans le but d'une revivification de bactéries, avec une incubation à 37°C pendant 24 à 48h. L'isolement et purification ont été effectués par repiquage successif sur milieu MRS ou M17 (Idoui *et al.* 2009).

Seules les bactéries Gram positif et catalase négative sont présumées des bactéries lactiques (Belarbi, 2011).

III.2.2. Revivification et vérification de la pureté des souches lactiques

1. Etude morphologique

Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

✚ Examen macroscopique

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonie obtenue sur des milieux solides (MRS et M17), il s'agit d'une observation à l'œil nu qui consiste à déterminer les paramètres suivants : la taille, couleur et forme des colonies.

✚ Examen microscopique

La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leurs morphologies et leurs modes d'association (Franciosi *et al.*, 2009).

2. Critères physiologiques et biochimiques

❖ Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies facultatives, Cette enzyme dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène (O₂) selon la réaction suivante :



Sa recherche consiste à prélever une colonie purifiée sur gélose MRS ou M17 et dissocier dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes sur une lame de verre, Une effervescence dû à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme (Tankeshwar, 2013).

III.2.3. Souches pathogènes utilisées

Pour les tests d'activité antibactérienne, nous avons choisis 10 microorganismes pathogènes (Tableau II).

Tableau II : Tableau représentatif des différentes souches bactériennes testées.

	Souche cible	ATCC
S ₁	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
S ₂	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
S ₃	<i>Acenitobacter baumannii</i> ,	ATCC 610
S ₄	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la mécilline (SARM)	ATCC 43300
S ₅	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
S ₆	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 25923
S ₇	<i>Sllamonella sp</i>	Souches de laboratoire
S ₈	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	*E47
S ₉	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
S ₁₀	<i>Enterobacter</i>	Souches de laboratoire

III.3. Préparation de la crème

III.3.1. Choix de type d'émulsion

Les émulsions sont constituées de deux phases, une phase contenant les huiles et les produits hydrophobes, dite la phase huileuse, et la phase aqueuse contenant de l'eau et les produits hydrophiles.

Les émulsions H/E (Huile/Eau) ont un effet plus occlusif que les émulsions E/H (Eau/Huile). Elles augmentent l'hydratation cutanée en diminuant la perte insensible en eau. La pénétration cutanée des substances actives est augmentée à son tour.

III.3.2. Les ingrédients entrant dans les deux phases huileuse et aqueuse

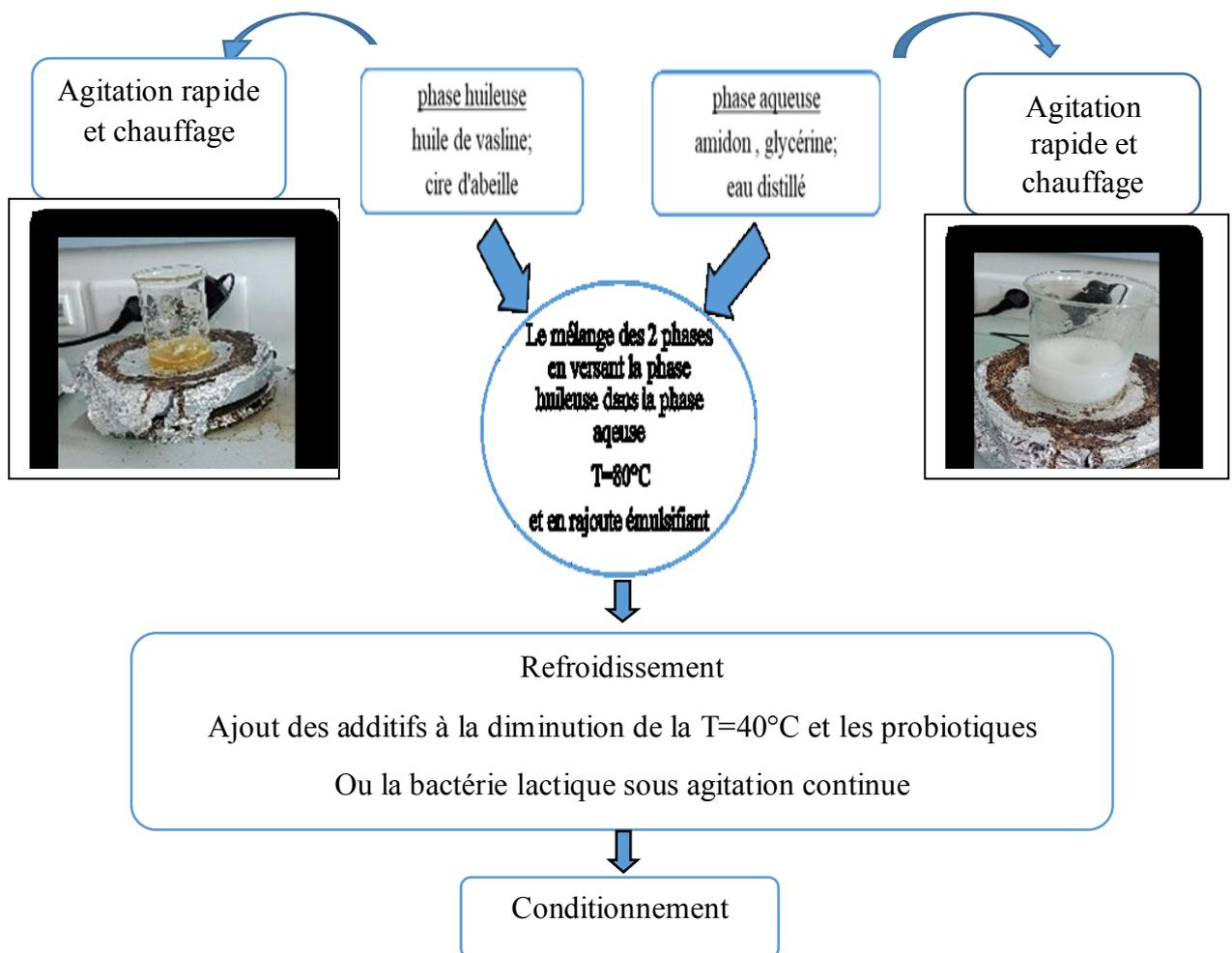
Le tableau III résume les noms des ingrédients, et leurs caractéristiques et usages, selon lesquels ils ont été choisis pour former les 2 phases.

Tableau III : Les ingrédients de la phase huileuse et aqueuse.

La phase	Nom d'ingrédient	Caractéristique	Usage
La phase aqueuse	L'eau déminéralisé	Liquide incolore et inodore	Solvant
	Le glycérine	Liquide incolore visqueux incolore et inodore	Utilisé comme additif pour améliorer le pouvoir hydratant d'une crème
	L'amidon	Sous forme de poudre blanche	Utilisation large en cosmétique

La phase huileuse	Huile de vaseline	Liquide transparent visqueux incolore et inodore	Hydrate et protège la peau
	Cire d'abeille	Corps solide jaune	Hydrate et nourrit

✚ Le schéma suivant résume les différentes étapes de préparation de la crème :



✚ Pour fabriquer trois types de crèmes :

Crème 1 : Témoin

Crème 2 : Ajout des probiotiques

Crème 3 : Ajout de *Lactobacillus delbrueckii ssp. Lactis*

III.4. Analyses physico-chimiques

III.4.1. Détermination du pH

Il est très important de connaître l'acidité de la crème hydratante car elle est destinée à être appliquée sur la peau du corps d'une certaine manière et sur la peau du visage, et cette acidité est généralement estimée en mesurant le pH. Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre.

Homogénéiser l'échantillon, en introduire un volume suffisant dans le récipient de mesure et y plonger les électrodes et vérifier que l'indication donnée par le pH-mètre est stable au bout d'une minute.

III.4.2. Détermination de la viscosité

La viscosité est une grandeur physique qui représente la résistance au cisaillement d'un objet. Est un indicateur important de la qualité de la plupart des produits finis.

Le viscosimètre rotatif est l'un des viscosimètres plus idéaux pour effectuer des mesures de viscosité rapide et précises permettant de varier le taux (ou la tension) de cisaillement ainsi que d'étudier les systèmes newtoniens et non newtoniens, il possède un ensemble de tiges de différentes géométries, de façon à obtenir la meilleure précision dans l'intervalle de viscosité du produit (Addil, 1993).

Le principe de fonctionnement du viscosimètre est de faire tourner une broche qui est immergée dans l'échantillon à une vitesse constante.

La mesure de la viscosité (en centpoise ou seconde milli pascal) est déterminée par la vitesse de rotation, la taille et la forme de la broche.

III.4.3. Détermination de la densité

La densité d'un corps est le rapport de la masse du corps à la masse d'un volume égal d'une substance de référence. Le corps de référence est l'eau pure à 4 °C pour les liquides et les solides (Elguerri, 2015). La densité est une grandeur sans dimension et sa valeur s'exprime sans unité de mesure.

III.4.4. Détermination de stabilité

Le test de stabilité des produits cosmétiques est réalisé par observation visuelle des échantillons après centrifugation à grande vitesse 40000 tour/ min pendant 20 minutes (Roland *et al.*, 2003).

III.5. Contrôle de la qualité microbiologique de la crème hydratante

Les produits cosmétiques ne sont pas obligatoirement stériles mais il est important de vérifier que la crème hydratante répond aux exigences microbiologiques spécifiées dans les monographies (Vergeat *et al.*, 2013).

Après la préparation des trois crèmes (Témoin, crème plus probiotiques, crème plus *Lactobacillus delbruekii ssp, lactis*.) nous avons recherché quelques flores sur ces trois dernières et comparé les résultats obtenus aux normes afin de juger de leur conformité :

- Dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale.
- Flore témoin de contamination fécale (*E. coli*).

- Dénombrement des micro-organismes saprophytes (levures, moisissures).

Tableau IV : Tableau représentant le dénombrement de différentes flores microbiennes.

Flore recherchée	Technique de dénombrement	Le temps d'incubation
Dénombrement de la flore aérobies mésophiles totaux (FAMT)	Des dilution décimales ont été ensemencés en masse à partir de la solution mère avec un volume de 1ml, sur une gélose ordinaire (GNO ou PCA) (NF ISO 2114)	30°C/ 48h
Dénombrement des levures et moisissures	Étalement en surface avec un volume de 0.1ml de la solution mère et ses dilution sur gélose (Sabouraud) (NF ISO 21150)	25°C pendant 5 jours
Dénombrement d'<i>Escherichia coli</i>	1ml de solution mère et ses différentes dilution ont été ensemencées en masse avec la gélose VRBG (ISO 16212)	44°C pendant 48h

Lecture : comptage de toutes les colonies ayant poussé [15-300 colonies] peu importe leurs aspects. Le dénombrement sera suivi d'un calcul du nombre des microorganismes selon la formule : $N = \sum c / d \cdot V (n_1 + 0.1n_2) \dots \dots \dots (1)$

$\sum c$ = nombre de colonies comptée sur les boites retenus, d = taux de dilution, V = volume

ensemencé, n_1 = nombre de boite de la première dilution retenue, n_2 = nombre de boite de la deuxième dilution retenue.

III.6. Analyses organoleptiques de la crème

Les propriétés sensorielles d'un produit sont souvent liées à des propriétés sensorielles spécifiques (odeur, apparence et couleur) du produit. Pour s'assurer de la bonne formulation des produits cosmétiques, l'évaluation sensorielle est un outil de mesure fiable et indépendant ainsi qu'un outil de contrôle qualité en évaluant la cohérence des produits fabriqués. Et a une importance dans le développement et le choix d'un produit adapté au marché (Gilbert, 2014).

Les échantillons des crèmes préparés ont été basés sur trois critères sensoriels : odeur, couleur, aspect et l'étalement (voir annexe). Ces crèmes ont été proposées à 50 personnes (féminins et masculins).

III.7. Etude de l'activité antibactérienne de la crème et des bactéries lactiques

Le principe de la détection de l'activité antibactérienne est basé sur la diffusion de l'agent antibactérien dans des milieux de culture solides pour inhiber la croissance des micro-organismes indicateurs sensibles. La mise en évidence de l'activité antibactérienne est effectuée sur quelques souches représentant des espèces d'intérêt. Les souches révélant une activité inhibitrice sont testées par la suite par des tests indirects appelé des puits (**Izquierdo et al., 2009**).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des souches de probiotiques, de *Lactobacillus delbruekii ssp. lactis* et les trois crèmes a été réalisée vis-à-vis 10 souches bactériennes.

III.7.1. Standardisation des souches

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de l'inoculum bactérien de la souche cible utilisée. La suspension cellulaire doit être préparée dans l'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune et pure de 18h. La taille de l'inoculum est un élément essentiel à la qualité des résultats de l'antibiogramme, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien. Des standardisations des souches bactériennes ont été réalisé à une longueur d'onde de 625 nm (son opacité doit être équivalente à une D.O de 0.08 à 0.13 lue à 625 nm), contenant environ 10^8 bactéries par ml.

III.7.2. Activité antibactérienne (Méthode des puits)

Les bactéries lactiques ont été repiquées dans un bouillon MRS liquide et incubées pendant 18 h à 37°C. Après incubation, le surnageant de culture a été récupéré par une centrifugation réfrigérée (4°C). Des puits de 5 mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce (cloche de durham) sur la gélose nutritive inoculé par la souche indicatrice (pathogène), Le fond de chaque puit a été scellé avec une goutte de Gélose nutritive. Les puits ont été ensuite remplis avec 100µl du surnageant de culture. Les boîtes de Pétri ont été placées par la suite dans un réfrigérateur à une température de +4°C/2h pour permettre la diffusion des métabolites antibactériens éventuellement présents dans le surnageant (Figure 7). Les boîtes ont été incubées à 37°C (**Barefoot et Kaenhammer, 1983 ; Doumandji et al., 2010; Hwanhlem et al., 2011**).

Des zones d'inhibition autour des puits ont été mesurées en millimètres après incubation à 37°C/24 heures pour les souches bactériennes.

L'inhibition a été notée positive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6 mm (Schillinger et Lucke, 1989).

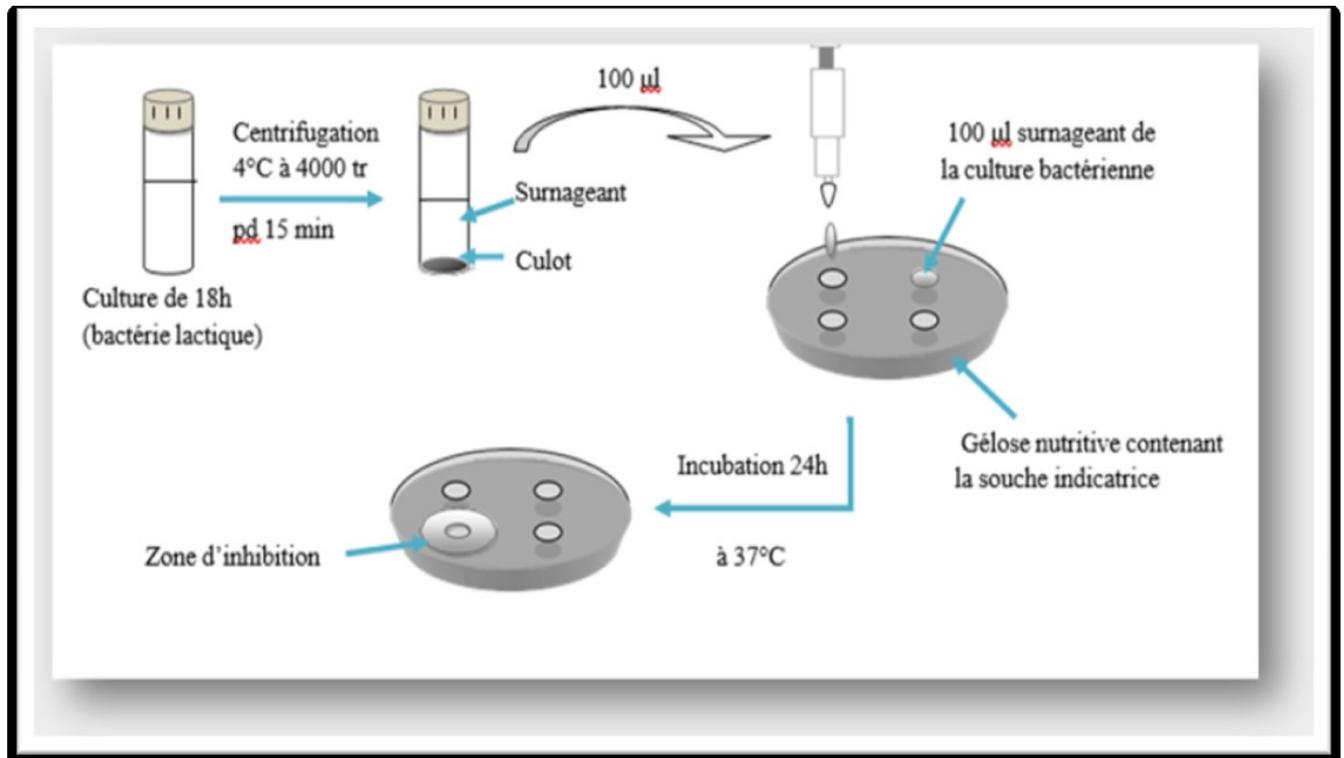


Figure 7: La méthode des puits utilisée pour la recherche d'activité antibactérienne (Barefoot et Kaenhammer, 1983).

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1. Identification des souches

IV.1.1. Critères morphologiques

Dans de cette étude nous avons identifié les souches isolées (probiotiques pharmaceutique et les bactéries lactiques industrielle) par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

1. Caractérisation macroscopique

L'examen macroscopique sur milieu solide MRS montre deux formes de colonies qui révèlent un aspect presque semblable; elles sont lisses légèrement bombées, avec contour régulier, translucides ou opaques, de petite taille (1 - 2 mm), et de couleur crème.

2. Caractérisation microscopique

Après la coloration de Gram, l'observation au microscope optique nous a permis de déterminer le type du Gram des bactéries lactiques qui sont Gram positives; et qui apparaissant généralement sous formes des bacilles avec différents modes d'associations soit en chaînette, isolées, en amas ou bien sous forme bifide en "Y" (Figure 8).

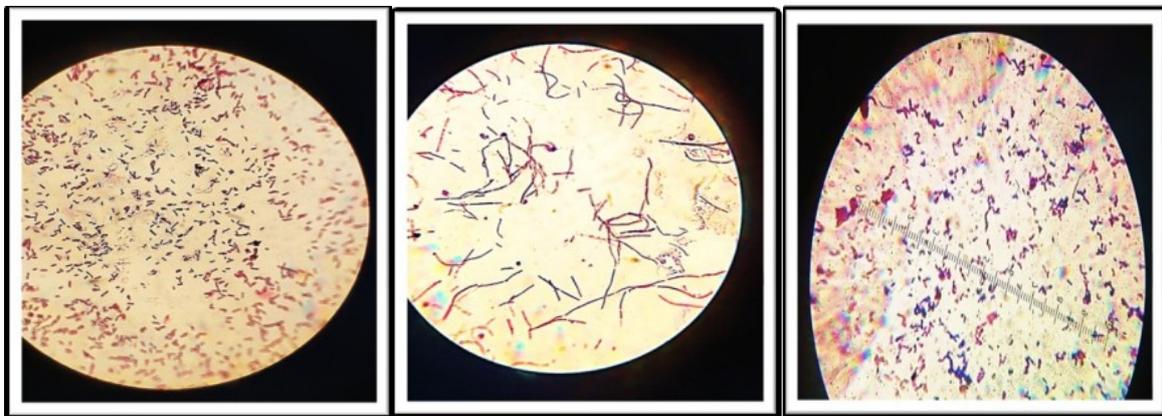


Figure 8: Aspect de *Lactobacillus* (a), Aspect de *L. delbrueckii ssp lactis* (b), Aspect de *Bifidobacterium* (c) après coloration de Gram.

IV.1.2. Critères physiologiques et biochimiques

1) Test de la catalase

Les résultats obtenus après réalisation du test catalase sont négatifs. Ils sont similaires avec les résultats obtenus par **Marchal et al. (1991)**.



Figure 9 : Résultat du test catalase.

IV.2. Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physicochimiques de la crème hydratante à base de probiotique ont fourni des informations précieuses sur ses caractéristiques et sa composition. Ces analyses ont permis de déterminer des paramètres tels que la viscosité, la densité et le pH, qui sont importants pour évaluer la qualité et l'adaptabilité de la crème à son utilisation. Les résultats obtenus ont confirmé que la crème hydratante possède des propriétés physicochimiques appropriées, ce qui la rend efficace et sûre pour une utilisation cosmétique. Ces résultats servent de base solide pour appuyer l'efficacité et la qualité de la crème hydratante à base de probiotique, offrant ainsi une option prometteuse pour ceux qui recherchent une hydratation cutanée optimale et des bienfaits pour la peau. Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau V : Les paramètres physico-chimiques

	pH	Densité	Viscosité mPa/s	Stabilité
Crème Témoin	5,56	1,0139	105	Stable
Bactérie lactiques industrielle	5,35	1,701	76	Stable
Probiotiques pharmaceutique	5,25	1,57	93	Stable

Les valeurs de pH obtenus sont proches aux résultats rapportés par **Gore et al. (2018)**, le pH moyen de la surface de la peau et même le pH optimal des bactéries lactiques et des probiotiques que nous utilisons est de $5,0 \pm 0,4$, ce qui veut dire que notre produit est un

milieu favorable pour les probiotiques utilisés. De façon générale, la mesure du pH va nous renseigner sur la stabilité chimique des formulations.

Les propriétés rhéologiques d'une émulsion constituent l'un des meilleurs moyens d'étude de l'influence des paramètres de formulation et des procédés de fabrication sur les qualités d'un produit, mais aussi une méthode de contrôle de la reproductibilité de la production et de la conservation (**Puisieux et Seiller, 1983**). Le comportement le plus fréquemment rencontré pour les émulsions de types crème cosmétique est le comportement rhéofluidifiant ou viscoplastique, permettant notamment de faciliter leur application sur la peau.

La viscosité d'un produit cosmétique directement lié à sa forme finale, une crème plus visqueuse peut avoir une consistance plus épaisse. Tandis qu'une crème moins visqueuse peut être plus légère et plus facile à étaler. Les résultats de nos mesures de viscosité (Tableau VI) montrent que la formulation témoin est plus visqueuse par rapport aux deux autres crèmes.

Dans une étude portant sur la production d'émulsions cosmétiques E/H,H/E et E/H/E par ultrasons, **Tal-Figiel (2007)** a rapporté que les valeurs de densité sont inférieurs à nos résultats (entre 0,91 jusqu'à 1,15 g/cm³) et de viscosité (48,8 jusqu'à 94,7 mPa) étaient proches avec les viscosités des deux crèmes (Probiotique et bactérie lactique) par contre sont inférieurs aux résultats de la crème témoin. L'émulsification par ultrasons est une méthode efficace pour obtenir des émulsions finement dispersées, alors que dans notre étude l'agitation avec un bras mixeur nous a permis d'obtenir des valeurs satisfaisantes, ce qui confirme que notre produit est plus stable (**Tal-Figiel, 2007**).

La stabilité de nos formulations dans le temps et sous les conditions physiques. Elle a été rigoureusement mesurée à l'aide d'une centrifugeuse réglée à une vitesse de 40000 par minute pendant 20 minutes tr/min. Ceci est réalisé en utilisant deux eppendorfs remplis à la même hauteur avec notre crème (2g), qu'on met dans deux godets en face à face dans l'appareille. Notre crème a toujours une finition parfaite même après 20minutes de roulage. L'émulsion était stable à la centrifugation et aucune séparation de phase n'a été observée. Le produit reste homogène.

IV.3. Analyse de la qualité microbiologique

D'après nos résultats, aucune présence d'*Escherichia coli* et des germes aérobies mésophiles n'a été observé dans la crème témoin, probiotique pharmaceutiques et ainsi celle

contenant les bactéries lactiques industrielles. Le même résultat a été observé dans le cas des champignons et des levures. C'est un critère microbiologique qui indique le contrôle d'hygiène des procédés de fabrication et la qualité de produit final.

Ces échantillons présentent une qualité satisfaisante, nous pouvons donc conserver notre crème au moins pendant 15 jours, selon (AFNOR en ISO 17516).

Le résultat renseigne sur une bonne activité antagoniste exercée par les souches de probiotiques que nous avons utilisé pour cet objectif.

IV.4. Analyses organoleptiques

Le développement et la caractérisation des produits cosmétiques ne peuvent se réduire à l'évaluation des propriétés physico-chimiques car l'innovation est un véritable enjeu pour les entreprises cosmétiques. Pour cette raison, l'analyse sensorielle est utilisée depuis de nombreuses années comme un outil efficace pour aider au développement de produits innovants de haute qualité.

Les critères sensoriels des produits cosmétiques concernent des ressentis d'ordre visuel, olfactif, tactile, plus rarement sonore et gustatif. Pour les évaluer, une approche analytique est indispensable afin de comprendre et de modifier les stimuli qui impactent les propriétés sensorielles des produits. La norme **NF ISO 5492** définit l'analyse sensorielle comme « *l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens* ».

Le processus cognitif mis en place lorsque le consommateur entre en interaction avec le produit cosmétique peut être résumé en deux étapes clés.

- Etape 1 : le consommateur perçoit au travers de son système sensoriel les propriétés organiques du produit comme sa couleur, son odeur et sa texture ;
- Etape 2 : les informations sont intégrées pour permettre de générer une perception qui pourra conférer au produit une valeur symbolique.

L'évaluation des produits par le système sensoriel est donc un préalable à l'acceptabilité ou au rejet de ceux-ci.

IV.4.1. Couleur de la crème

D'après les résultats obtenus dans la figure 10, nous avons remarqué que 52% des personnes jugeaient la couleur normale et 42% jugeaient la couleur claire. Par contre 6% ont jugé que la crème a une couleur foncée (Tableau VI). La couleur de la crème est due à la couleur de la cire et de l'émulsifiant utilisé.

Tableau VI : Résultats d'analyse sensoriel sur la couleur de la crème.

Foncé	Moyenne	Claire
3	26	21

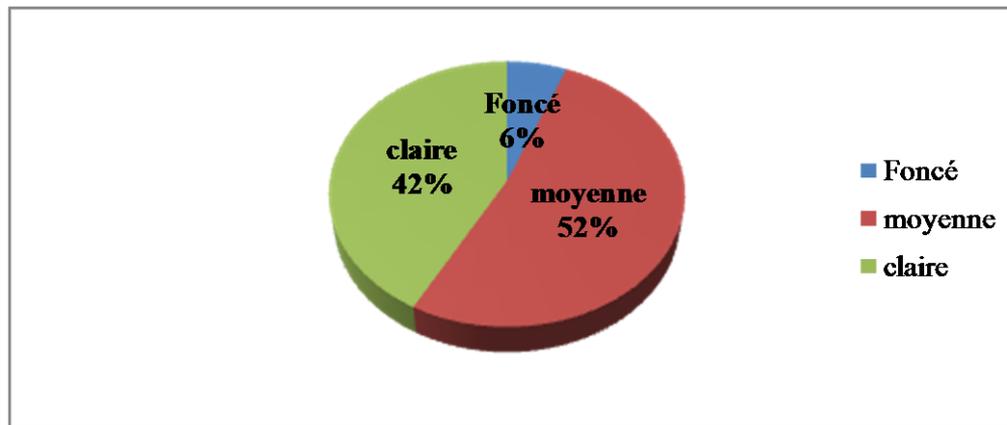


Figure 10: Résultat de l'évaluation de la couleur de crème.

IV.5.2. Odeur de la crème

Sur la base des résultats de notre analyse sensorielle (Tableau VII), nous avons constaté que la crème était jugée normale avec 31 personnes évaluant notre crème avec un pourcentage de 62% et 16 personnes ayant qualifié notre crème agréable avec un pourcentage de 32% (Figure 11). L'odeur de la crème est liée à l'odeur agréable de l'arôme du miel et de l'eau de rose. Tandis que 6% jugent que l'odeur est mauvaise.

Tableau VII : Résultats de test l'odeur de la crème

Désagréable	Normal	Agréable
3	31	16

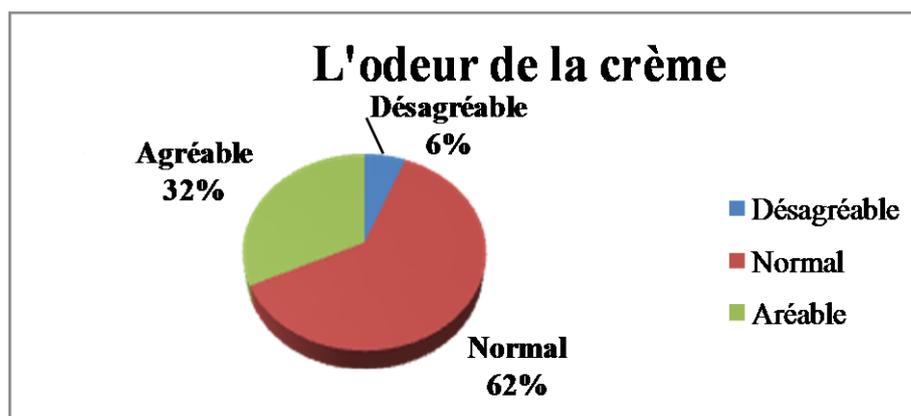


Figure 11 : Résultat de l'évaluation de l'odeur de la crème.

IV.5.3. Aspect de la crème

A partir des résultats obtenus dans la figure ci-dessous, on remarque que 84% des personnes ont jugé que notre crème était homogène. Tandis que 16% ont évalué qu'elle était hétérogène en raison de sa texture moins crémeuse (tableau VIII).

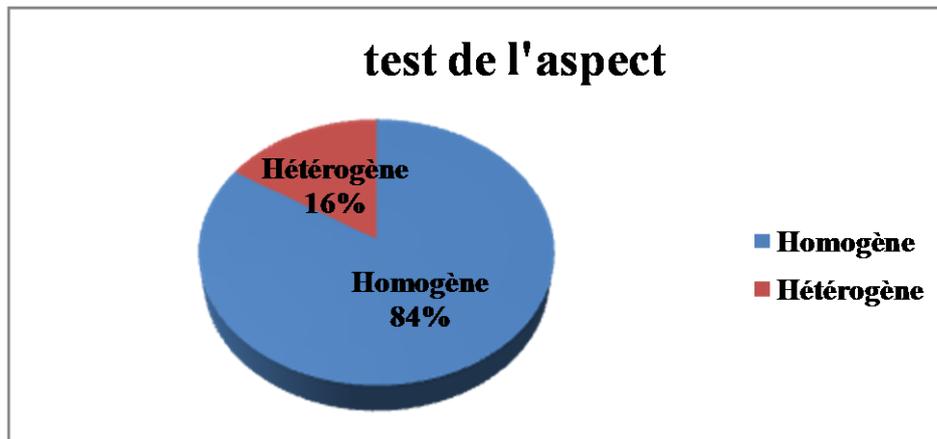


Figure 12 : Résultat de l'évaluation de l'aspect de la crème.

Tableau VIII : Les résultats l'aspect de la crème

Homogène	Hétérogène
42	8

IV.5.4. Etalement de la crème

A partir des résultats obtenus dans la figure 13, on constate que 30 personnes ont jugé la crème comme étant bonne, ce qui représente un pourcentage de 60%. 19 personnes ont jugé la crème comme étant excellente, ce qui correspond à un pourcentage de 38% par rapport à l'étalement de la crème (Tableau IX). La cause est parfaitement dûe à la teneur en huile de vaseline et glycérine. Mais 2% ont jugé que l'étalement est mauvais, à cause de l'effet du gommage qui est dû à la présence d'amidon et de la cire d'abeille.

Tableau IX : Les résultats de l'étalement de la crème

Mauvais	Bon	Excellent
1	30	19

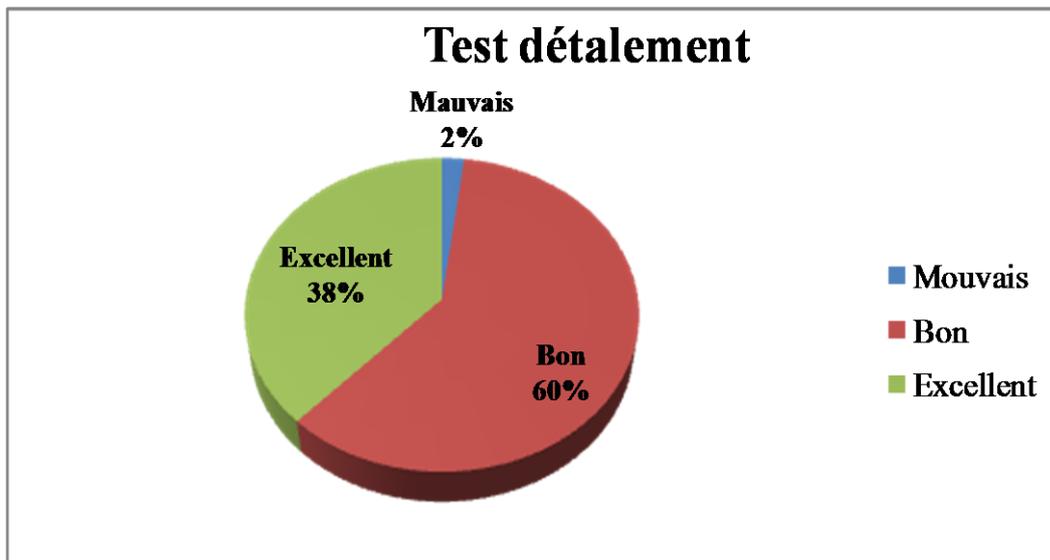


Figure 13 : Résultat de l'évaluation de l'étalement de la crème.

IV.6. Etude de l'activité antibactérienne des crèmes et des bactéries lactiques

L'activité antibactérienne des souches isolées à partir de la boîte de probiotiques pharmaceutiques et de l'échantillon de bactérie lactique industrielle et les trois crèmes produites a été évaluée afin de mettre en évidence un pouvoir antagoniste vis à vis des 10 souches de bactéries pathogènes.

Selon la méthode de diffusion en puits de **Tagg et Mc Given (1971)** qui se traduit par la formation d'un halo autour des puits, la lecture des résultats consiste à mesurer le rayon du halo d'inhibition. Les résultats de l'activité antibactérienne trouvée sont représentés sur le tableau X:

Tableau X: Résultats d'Activité antimicrobienne des différentes crèmes et les bactéries probiotiques.

Souches bactérienne	Diamètre des zones d'inhibition (mm)				
	Crème témoin	Probiotiques	Crème probiotique	Crème bactérie lactique	Bactérie lactique
<i>S. epidermis</i>	10 mm	13mm	16mm	11mm	11mm
<i>SARM</i>	16 mm	23mm	26mm	18 mm	24 mm

<i>Bacillus subtilis</i>	12mm	11mm	15mm	13mm	11mm
<i>Entrococcus faecalis</i>	R	14mm	11mm	16mm	10mm
<i>Entrobacter</i>	R	11mm	15mm	11mm	10mm
<i>Salmonella</i>	R	14mm	11mm	15mm	21mm
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	R	R
<i>Acinetobacter</i>	7mm	11mm	R	22mm	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20mm	30mm	30mm	28	20mm
<i>E.coli</i>	18mm	21mm	25mm	19mm	22mm

D'après les résultats du test d'antagonisme, on observe que les souches présentent une activité antibactérienne importante envers les bactéries Gram positif du genre *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus* multirésistants (SARM) et *S. epidermis*) et de *Bacillus subtilis* dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition varie entre 11 et 26 mm. Et on remarque aussi que les bactéries à Gram négatif (*Acinetobacter*, *klebsiella Pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella. Sp*, *Entrobacter*) présentent des diamètres des zones d'inhibition plus grand (entre 11 à 30 mm).

Nos résultats ont révélé que la crème à base des probiotiques et la crème à bactérie lactique testés ont une activité inhibitrice contre les micro-organismes cibles utilisés. Les bactéries à Gram négatif se sont avérées plus sensibles, ce qui a donné un bon spectre d'activité avec un diamètre d'inhibition dont l'intervalle entre 20 et 30 mm. En revanche, les bactéries à Gram positif présentent des zones d'inhibitions moins évidente avec un diamètre dont l'intervalle varie de 10mm à 26mm. Cependant, nos résultats sont cohérents avec ceux de **Mameche (2008)**, qui a constaté que les bactéries lactiques avaient une activité inhibitrice plus élevée contre les bactéries à Gram-négatif (25 mm) que contre les bactéries à Gram-positives (23mm). Cette différence peut être dû à la distinction morphologique entre les bactéries à Gram-négatif et à Gram-positif.

Les membranes des bactéries présentent une grande variabilité dans leur composition lipidique, ce qui suggère que leur sensibilité aux composés antimicrobiens agissant à la surface des cellules peut différer. Certains agents antimicrobiens agissent en provoquant une séparation de phase latérale, ce qui induit des défauts dans les membranes. Cependant, l'induction de cette séparation latérale des phases n'est qu'un des nombreux mécanismes d'action des agents antimicrobiens. De nombreuses études ont montré une corrélation significative entre la composition lipidique des bactéries et la capacité des agents antimicrobiens à induire une séparation latérale des phases (**Rotem et al., 2008**).

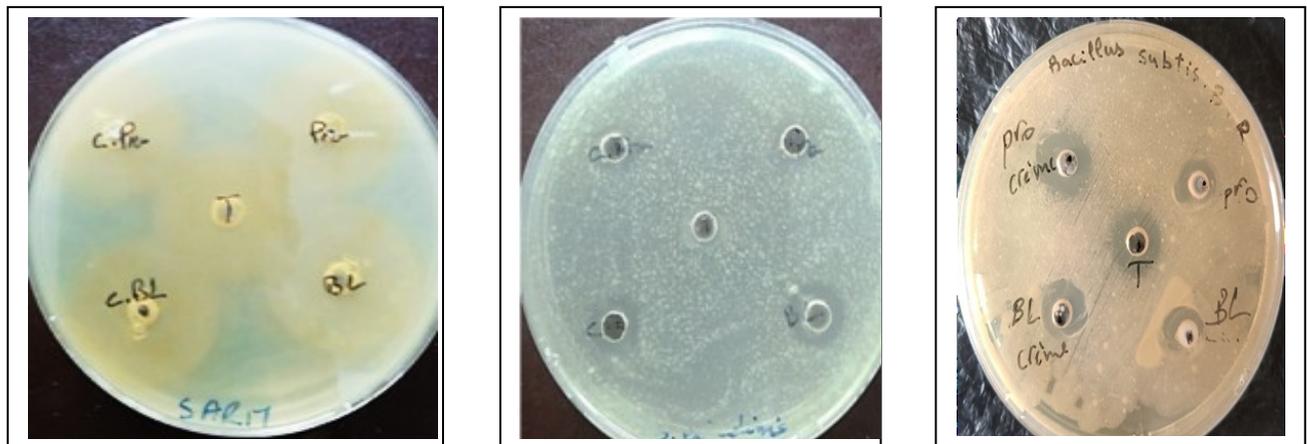


Figure 14: Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers les souches de *Staphylocoques* (*SARM*, *S. epidermis*) et *Bacillus subtilis*.

Les souches lactiques testées sont actives vis-à-vis la souche pathogène *Staphylocoque* qui sont des cocci à Gram positif aérobies ubiquitaires pouvant être impliqués à la fois dans des infections localisées ou des infections invasives. Parmi les staphylocoques, on distingue *Staphylococcus aureus* l'une des bactéries les plus fréquemment rencontrées en pathologie infectieuse humaine, à l'origine d'infections souvent graves; et les Staphylocoques à coagulase négative, dont *S. epidermidis*, qui sont commensaux chez l'humain, mais peut causer des infections graves dans certains cas. L'une des principales préoccupations cliniques est la prévention de l'infection à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (*SARM*), ce qui a conduit à la mise en place d'une stratégie de dépistage et d'isolement des patients porteurs au sein des hôpitaux. Nos résultats sont très intéressants par rapport à celles trouvé par **Benmammar (2017)** qui a trouvé des zones d'inhibition entre 12 et 16 mm de diamètre. En revanche, **Hor et Liang (2003)** ont trouvé une activité antimicrobienne des

Lactobacillus et *Bifidus* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage d'inhibition allant de 0,5 % à 34,2 %.

De même, **Belhamra (2017)** a trouvé que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'action des bactéries lactiques avec un diamètre qui varie de 30,5 à 43,5mm.

Nos résultats sont similaires avec ceux de **Belhamra (2017)**, qui a trouvé que les souches lactiques testées ont une activité inhibitrice contre les microorganismes pathogènes de Gram positif et négatif et elles ont donné un bon spectre d'activité contre *Salmonella gallinarum* et *Staphylococcus aureus*. La différence est que *E. coli* et *Bacillus cereus* ont donné un même effet, par contre dans notre travail *E. coli* est très sensible par rapport *Bacillus cereus*.



Figure 15 : Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers *Salmonella sp.*

Salmonelle sp a marqué une faible sensibilité face aux bactéries testés, dont l'intervalle des zones d'inhibition est entre 11mm et 21mm. Tandis que celle-ci présente aucune activité antibactérienne contre la crème témoin cela signifie qu'elle est résistante au test témoin. Nos résultats sont déferents avec les résultats obtenus par **Almeida et al., (2015)** qui ont rapporté une bonne activité inhibitrice des bactéries lactiques contre *Salmonella sp* et *Enterococcus féacalis*.

Un tel antagonisme bactérien pourrait résulter des effets combinés de plusieurs mécanismes au cours de leur croissance. Les bactéries lactiques sont connues par la production de plusieurs types de composés antimicrobiens: les acides organiques, les bactériocines, les acides gras à courte chaîne, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène (**Armas et al., 2017 ; Reuben et al., 2020**). A noter que l'acide lactique est le métabolite principal de

bactéries lactiques causant la réduction du pH qui inhibe largement les micro-organismes (Eklund,1989; Schnurer et Magnusson, 2005). Hicks et Goepfert (1968), ont bien confirmé que l'acide lactique et l'acide acétique produit par les bactéries lactiques participent à l'inhibition de *Staphylococcus aureus*. En outre, la croissance de certaines cultures lactiques entraîne la production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est considéré comme un inhibiteur de la croissance bactérienne (Julliard *et al.*, 1987).

L'activité antibactérienne de crème à base des probiotiques est proche de celui des probiotiques seuls, les diamètres des zones d'inhibition sont plus ou moins les mêmes dans les deux cas, on peut dire que notre produit permet la diffusion des extraits extracellulaires qui exercent cet effet d'une part et aussi contient des bactéries probiotiques qui aussi jouent un rôle très important dans l'amélioration de la fonction barrière et empêche la prolifération des germes pathogènes.

Le mécanisme d'action des probiotiques concerne l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes grâce à des composés antimicrobiens, tels que la diminution du pH qui provoque la perméabilisation de la membrane externe des bactéries Gram-négatif facilitant ainsi la pénétration d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines (Bey, 2009).



Figure 16 : Les zones d'inhibition de deux souches lactiques avec les deux crèmes envers les bactéries à gram positif et à gram négatif (*Enterococcus faecalis* ; *Enterobacter*).

Activité antibactérienne a révélé que les bactéries probiotiques ainsi la crème a probiotique présente une forte activité inhibitrice contre *E. coli* avec une moyenne entre 21 à 25 mm qui est une activité supérieure à celle observée contre *Bacillus subtilis*, *S.épidirmidis*, *Enterococcus faecalis* dont le diamètre des zones d'inhibition est 10 mm à 16 mm, et *Enterobacter* de 10 mm à 15 mm. En revanche, les résultats obtenus par **Allouche et al en 2010** ont trouvé que *Lactobacillus* était plus actif contre les souches à Gram positif avec un intervalle de 12 à 22, contre 0 et 9 pour les souches à Gram négatif.

Karska-Wysocki et al. (2010) dans son étude sur l'activité antibactérienne de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) rapportent que le probiotique *Lb. acidophilus* CL1285® et *Lb. _casei* LBC80R produit des composants antimicrobiens capables d'inhiber la croissance et d'éliminer SARM. Ce phénomène a également été observé lorsque des tests ont été effectués avec des produits alimentaires commercialisés, qui ont été fermentés par les souches brevetées LAB *Lb. Acidophilus* CL1285® et *Lb._casei* LBC80R. L'interaction entre les bactéries lactiques et le SARM, en culture liquide mixte, a donné un effet bactéricide (**Karska-Wysocki et al., 2010**).

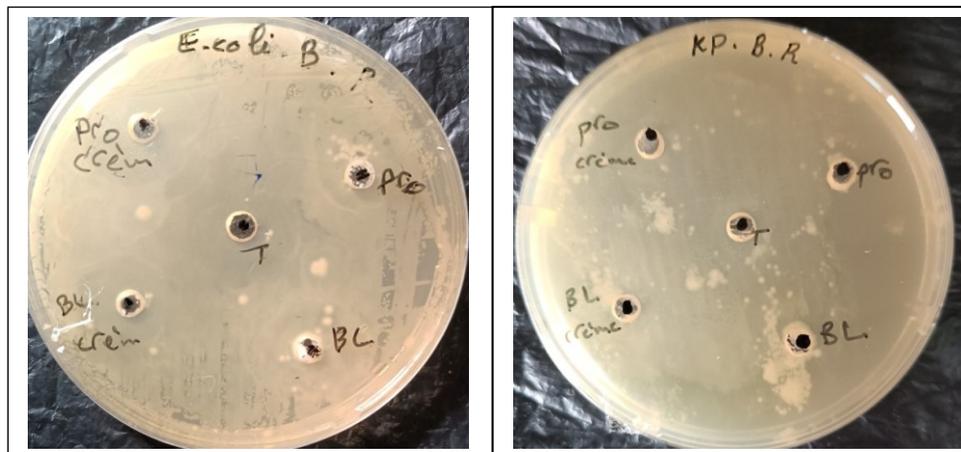


Figure 17 : Les résultats du test des puits sur bactéries à Gram négatif (*E.coli* ; *Kelbsiella pneumoniae*).

Klebsiella pneumoniae est la souche la plus sensible démontrée par ce test, avec des diamètres de zone d'inhibition dont l'intervalle 20 à 30 mm. Par contre, les résultats de **Okińczyc et al. (2020)** ont révélé une très faible activité contre cette souche avec une zone d'inhibition de 11mm.

Aucune zone d'inhibition n'a été observée sur la souche *Pseudomonas Aeruginosa* autour des puits, celle-ci s'est montrée qu'elle est résistante.

Nos résultats sont similaires avec l'étude de **Benhanfia et al. (2014)** qui n'a révélé aucune activité contre cette espèce. Par contre l'étude de **Nedji et Loucif-Ayad (2014)** a révélé une très faible activité contre *Pseudomonas Aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 9mm.



Figure 19 : Résultat du test des puits sur vis-à-vis d'*Acinetobacter*

Aucune différence significative n'est observée entre la crème probiotiques, et crème témoin et *Lactobacillus* vis-à-vis de *Acinetobacter*, celle-ci s'est montrée qu'elle est résistante face à ces derniers qui n'ont développé aucune zone d'inhibition. Par contre seulement la crème à bactéries lactiques et bactéries probiotiques est actif sur *Acinetobacter*, avec une zone d'inhibition de 11 et 22 mm.

Cette activité antibactérienne des souches lactiques est dû à la production de plusieurs agents antibactériens :

- L'acide lactique par son pouvoir acidifiant inhibe plusieurs types de bactéries.
- L'effet de diacétyle par son pouvoir d'inhibition.
- Le H₂O₂ qui inhibe les bactéries qui n'ont pas une défense contre le stress oxydatif.
- La substance synthétisée de nature protéique (bactériocines).

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Le but de cette étude est de préparer une crème hydratante qui se présente sous forme d'une émulsion, résultant d'un mélange de phases aqueuse et huileuse. Grâce à certains paramètres tels que sa consistance, cette crème offre une excellente acceptabilité et adaptabilité, la rendant ainsi extrêmement bénéfique dans le domaine cosmétique. Elle est formulée à base de probiotiques topiques à usage dermatologique, ce qui lui confère un rôle innovant dans la prévention et les soins de la peau dans le contexte de la beauté.

Au terme de cette étude expérimentale, il a été constaté qu'après avoir obtenu des résultats d'analyses physico-chimiques et microbiologiques, on a confirmé que notre crème est parfaitement stable avec un pH optimal pour la croissance des probiotiques et des valeurs de viscosité et densité acceptables si on les compare avec les valeurs de l'étalement de la crème hydratante. Nous considérons donc notre produit final comme hygiénique, exempt de FTAM et *E. coli* et de levures et moisissures, ce qui indique la bonne qualité microbiologique de notre crème.

Afin d'effectuer nos résultats d'analyse sensorielle descriptive de notre crème proposées à 50 personnes, la plupart ont mentionnés qu'elle était d'odeur normale, d'une couleur moyenne, d'un bon étalement et 84% ont jugé qu'elle est une crème homogène bien défini.

Les résultats d'activité antibactérienne a montré l'effet inhibiteur des bactéries lactiques testées et les deux crèmes préparées vis-à-vis des souches pathogènes cibles (*S. epidermidis*, *SARM. Bacillus subtilis*, *Salmonella*, et autres sauf *Pseudomonas aëruginosa* qui été résistante. Les résultats révèlent que les crèmes et les bactéries lactiques présentent une activité antibactérienne, particulièrement intéressante contre les souches à Gram négatif par rapport aux souches à Gram positif. Nous avons montré que les souches lactiques sont douées d'activités antibactériennes.

Ces observations ouvrent des perspectives futures :

- Il serait intéressant de faire les tests de stabilité de la crème pendant la durée de conservation;
- L'isolement et l'identification par les méthodes moléculaires des souches probiotiques à pouvoir antimicrobien;

- Il serait intéressant de faire une caractérisation plus poussée et une purification de substances inhibitrices produites par les souches de lactobacilles et de bifidobactéries;
- Il serait intéressant de faire une formule de crème de base permet la diffusion des bactériocines des souches de lactobacilles et de bifidobactéries;
- Nous souhaitons de déterminer la concentration exacte des probiotiques pour inhiber l'activité des autres bactéries et champignons;
- L'étude de l'enjeu à long terme, surtout pour l'industrie cosmétique est de trouver un moyen naturel de diminuer l'utilisation de médicaments.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

A

Addil EL Akkad, (1993). Etude comparative des perturbations de la couche limite et de la portance, sur plaque plane et sur modèle d'aile en présence de fluides désirants. Exigence partielle pour l'obtention de garde de maître en science appliquées. Université du Québec à Chicoutimi. P46-50.

Allouche F. N., Hellal A., Laraba A. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacilles thermophiles* utilisées dans l'industrie laitière. Nature et technologie. (3) :13-20.

Almeida F.A., Denny C., Benso B. (2015) Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review *Molecules*,20;7329-58.

Audrey S. (2011). Allergies ET Cosmétiques : Le Rôle Du Pharmacien D'officine. These : Université De Limoges Faculté De Pharmacie.P89

Armas, F., Camperio, C., et Marianelli, C. (2017). In vitro assessment of the probiotic potential of *Lactococcus lactis* LMG 7930 against ruminant mastitis-causing pathogens. *PLoS One*, 12(1).

B

Barefoot, S.F., Klaenhammer, T.R. (1983). Detection and activity of lactacin B, à bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 45(6) :1808-1815.

Bahri, F (2014). Isolement et caractérisation des souches de *Lactobacilles* à caractère probiotique à partir de selles d'enfants, Thèse : Université Constantine I, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie, Constantine, p5.

Belarbi F., (2011). Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Mémoire de magistère, Université d'Oran Es-Senia., Oran.

Belhamra, Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. *Biologie*, Ferhat Abbas Sétif 1. Doctorat : 147.

Bendetta, C., La Torre, C., Melchiorre, E., Marchesani, G., Zoccali, G., Palumbo, P., Cifone, M. G. (2011). Use of Probiotics for Dermal Applications. *Microbiology Monographs*, 221–241.

Benhanifia, M., K. Shimomura, I. Tsuchiya, S. Inui, S. Kumazawa, W. Mohamed, L. Boukraa, M. Sakharkar, et H. Benbarek. (2014). « Chemical Composition and

Antimicrobial Activity of Propolis Collected from Some Localities of Western Algeria ». *Acta Alimentaria* 43 (3) : 482-488.

Benmammar (2017). Caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de bactéries lactiques productrices de bactériocine. Biologie, université djillali liabes de sidi Bel Abbes. Doctat.

Bey, F. (2009). Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus* sp. Et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire de Magistère en Microbiologie Alimentaire et Industrielle. Université d'Oran Es-Senia

Bieber, T. (2008). Atopic dermatitis, *N. Engl. J. Med.* 358, 1483-1494.

Bousboua, H. (2005). Eléments de microbiologie : Programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie. Constantine (Algérie): Campus-club. 304p.

Braff, M. H. and Gallo, R. L. (2006). Antimicrobial peptides: an essential component of the skin defensive barrier. *Curr. Top. Microbiol, Immunol.* 306, 91-110.

Bruno, E. (2014). Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz, thèse : Université de Bourgogne – Agro Sup Dijon, bourgogne P9-33.

C

Camille, D., Isabelle B. (2017). Prise en charge de la dermatite atopique et intérêt des probiotiques dans son traitement, Thèse : Université de Bordeaux. UFR Des science pharmaceutique, Bordeaux. P 155.

Catherine. (2015). *Lactobacillus. sp.* Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique.

Cattoir, V. (2016). Microbiotes humains. In *Bactériologie médicale, techniques usuelles*, (Elsevier Masson), p.600.

Cavaillon, J-M. (2010). La réponse immunitaire à l'agression : le B.A.-BA - Système immunitaire inné. *Ranimation* 20, 393-405.

D

Dammak A, Guillet G. (2011). « Dermatite atopique de l'enfant. » *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 24, pp 84-102.

Darsow U, Wollenberg A, Simon D, Taïeb A, Werfel T, Oranje A, Gelmetti C, Svensson A, Deleuran M, Calza AM, Giusti F, Lübke J, Seidenari S, Ring J. 2010 « ETFAD/EADV eczema task force 2009 position paper on diagnosis treatment of atopic dermatitis. » Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 24, (3), p 317-328.

Delmas, C (2015).*Lactobacillus. sp.* Fiche technique bactériologie, Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique.

Descamps V.(2003) « Les traitements actuels de la dermatite atopique chez l'adulte. » Annales de Dermatologie et de Vénérologie, 130, pp 266-274. Devilliers A, Oranje A. « Wet-wrap treatment in children with atop.

Djrboua, T (2019).*Streptocoques /Streptococcus/Enterococcus.* Slide Share une entreprise Scribd logo .5-51.

Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.k., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., and Knight. R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proc. Natl. Acad. SCI. U. A. 107 ,11971-11975.

Domizio, J., Alessandra, P., Marcel, H., Daniel, H., Michel, G. (2016). Le microbiote cutané : le poids lourd sort de l'ombre. La revue médicale suisse, Service de dermatologie et vénéréologie, CHUV.

Doumandji, A., Hellal, A., Saidi, N. (2010). Purification de la bactériocine à partir de *Lactobacillus acidophilus*11, Rev. Microbiol. Ind. Sanet Environn. 4 : 25-47

Dréno,B., Araviiskaia, E., Berardesca, E., Gontijo,G., Sanchez Viera, M., Xiang. L.F., Martin, R., and Bieber, T. (2016). Microbiome in HEALTHY skin, update for dermatologists. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV. 30, 2038-2047.

E

Eklund, T. (1989). Organic Acids and Esters. In: Gould, G.W. (Ed), Mechanisms of Action Food Preservation Procedures, Elsevier Applied Science, London, pp.161-200.

Eléonore, J – B., Florence, A., Ghozlene, M. (2011). Stabilisation d'émulsion d'intérêt pharmaceutique par des protéines et des polysaccharides : exemples de la B-lactoglobuline, de la gomme arabique et de la gomme xanthane, thèse : Université Paris-Sud, Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué 11. Paris, P19.

Élodie, S., Isabelle, P. (2020). Les probiotiques pour la beauté de la peau : Développement d'un complément alimentaire destiné au marché Français, Thèse : Université de Bordeaux,U.F.R. Des science pharmaceutique, Bordeaux. P 23.

Eyerich, S., Eyerich, K., Traidl-Hoffmann, C., and Biedermann, T. (2018). Cutaneous Barriers and skin Immunity: Differentiating A Connected Network. *Trends Immunol.* 39,315-327.

F

Farmer, S., (2005). Topical compositions containing probiotic *Bacillus* bacteria, spores, and extracellular products and uses thereof. US Patent 6905692, 14 June 2005.

Fernandez B., (2014). Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes. Thèse de doctorat en sciences et technologies des aliments. Québec, Canada, P143

Franca, K (2020). " Topical Probiotics in Dermatological Therapy and Skincare" *Dermatol Ther (Heidelb)*, vol.11, 71–77.

Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. et Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International dairy journal*, 19(1):3-11.

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

Fuller, R. (1991). "Probiotics in human medicine". National library of Medicine, National center for biotechnology information, **32(4):** 439-442.

G

Gilbert. L. (2014). Caractérisation physico-chimique et sensorielle d'ingrédients cosmétique : une approche méthodologique. Université du HAVRE. Unité de recherche en chimie organique et Macromoléculaire(URCOM), thèse. HAVRE. P37

Gore, E., Picard, C., Savary, G. (2018). Spreading behavior of cosmetic emulsions: Impact of the oil phase. *Biotribology*, 16, 17–24.

H

Harley, J. P. (2005). Laboratory exercises in microbiology, 6th ed. McGraw Hill, New York, NY.

Hicks, R. et Goepfert, J.M. (1968). Effect of Volatile Fatty Acids on *Salmonella Typhimurium*, American Society of Microbiology, *J of bacteriology* p 956 -958

Hill Sylvestre-M-P, Ottavy F, Rolland M, Saurat JH. (2013). La peau : la dermatologie au service de la beauté. Paris, France : Ellipses, imp.

Holzappel, W. H., P. Haberer, et al. (2001). "Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition." *The American journal of clinical nutrition.* 73(2): 365s-373s.

Hwanhlem N., Buradaleng S., WattanachantS., Benjakul S., Maneerat S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*,22: 401-407.

I

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. ET Karam, N.E., (2009). Lactic acid bacteria from sheep's Dhan'', a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites*. 60(2) : 177-183

Israd, o. (2010). Etude des effets modulateurs de *propionibacterium acnes* sur l'expression kératinocytaire d'hormones cutanées – Evaluation in vitro de l'efficacité d'une molécule thérapeutique a visée anti-acnéique.

Izquierdo Alegre, E. (2009). Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique (Thèse de doctorat, université Strasbourg).

J

Julliard, V. Spinnler, H.E. Desmazeaud, J. et Boquien, C.V. (1987). Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. *Lait*, 67(2): 149-172.

K

Karska-Wysocki, B., Bazo, M., & Smoragiewicz, W. (2010). Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbiological research*, 165(8):674-686

Kong, H. H., & Segre, J. A. (2012). Skin microbiome: looking back to move forward. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132 (3 Pt 2) :933–939.

Knackstedt, R.,Knackstedt, T., Knackstedt, J, G (2020). " The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *International Wound journal*.Vol.17. 1687–1694.

Kumar, H., Kawai, T., and akira, S. (2011). Pathogen Recognition by the Innate Immune system. *Int. Rev. Immunol*.30,16-34.

Ky Lo., BA., BSc., ND., Lac. (2021). Les profonds effets cutanés des probiotiques. *Naturopathic currents*.

L

Lee, G. R., Maarouf, M., Hendricks, A. J., Lee, D. E., & Shi, V. Y. (2019). Topical probiotics: the unknowns behind their rising popularity. *Dermatology Online Journal*, 25(5).

Lilly, D. M. and R. H. Stillwell. (1965). "Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by London.

M

- Malbezin, C. (2017).** Place des probiotiques dans la prise en charge de pathologies humaines. Thèse. Université de Picardie Jules Verne, Sciences pharmaceutiques, Picardie, p38.
- Mameche-Doumandji A. (2008)** Purification et caractérisation de bactériocine produite par des bactéries lactiques autochtones isolées, thèse : sciences alimentaires, institut national agronomique, Algérie, p 14.
- Marchal, N., Bourdon, J.L.et Richard C.L. (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Paris
- Mareieb EN., Hoehn K., Moussakova L., Lachaine R. (2010).**Anatomie et physiologie humaines. Paris ; [saint-laurent (Québec)] : pearson ; ERPI ;1293p,172-175.
- Masson E. (2010).** Annales de dermatologie (2010) 137, supplément 1, S23-S25
- Mastour I. (2014).** Anatomie et physiologie de la peau ; Ed.TEC et DOC. Paris ; 152p.
- Melissopoulous A., ET Levacher C., Robert L., Balloti R. (2012).** La peau : structure et physiologie. Paris: Lavoisier. 1–154 p.
- Metchnikoff, E. (1907)** The prolongation of life: Optimistic studies. G. P. Putnam & Sons, London.

N

- Nedji, Neila, et Wahida Loucif-Ayad. (2014).** « Antimicrobial Activity of Algerian Propolis in Foodborne Pathogens and Its Quantitative Chemical Composition ». Asian Pacific Journal of Tropical Disease 4 (6) : 433-37.
- Noyon, Lucile.** 2012. La prévention du vieillissement cutané. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. Thèse.
- Nutrium, H. (2011).** Microbiote cutané et santé de la peau, 107(14), 8–11.
- Nutten, S. (2015).** Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. Ann. Nutr. Metab.66 suppl 1, 8-16.
- NORME NF ISO 5492(1992).** Analyse sensorielle-Vocabulaire. AFNOR.
- NORME AFNOR en ISO 17516**

O

- Okińczyc, P., Emil P., Roman F., Jarosław W., Krzysztof K, W., Tomasz M., Barbara K., Krystyna S-W., et Zbigniew, S. (2020).** « Antimicrobial Activity of Apis Mellifera L. and Trigona Sp. Propolis from Nepal and Its Phytochemical Analysis ». Biomedicine & Pharmacotherapy 129: 110435.

P

Pasparakis, M., Haase, I., and Nestle, F.O. (2014). Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 14,289-301.

Percival, S. L., Emanuel, C., Cutting, K. F., & Williams, D. W. (2012). Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. *International Wound Journal*, 9(1) :14–32.

Perez, J. (2022). Les probiotiques sont-ils efficaces contre l'acné ? Darwin Nutrition , Les aliments bénéfiques, (Mango Editions) et du podcast Révolutions Alimentaires.

Peyrefitte, G. (1995). Biologie de la peau. «Cahier de esthétique cosmétiques » 2^{ème} Ed. Paris ; p71-74.

Puisieux, F., Seiller M. (1983) Galenica 5. Les systèmes dispersés. 1 Agents de surface et émulsions Techniques et Documentation. Editions Lavoisier, France.

R

Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. R. U., et Jahid, I. K. (2020). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science*, 103(2), 1223-123.

Roland I., Piel G., Delattre L., Evrard B. (2003). Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design, 263(1-2): 85–94.

S

Saito, T. (2004). Selection of the useful probiotic lactic acid bacteria from the *Lactobacillus acidophilus* group and their application to functional foods. *Anim.Sci.J* , 75: 1-13.

Sanford, J.A. and R.L. Gallo.(2013). Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin Immunol*, P 370-7.

Schillinger U., Lücke F-K., 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55 :1901-1906

Schnurer, J. et Magnusson, J. (2005). Antifungal Lactic Acid Bacteria as biopreservative. *food Sc.Technol* 16 :70-78.

Stalder JF, Armigaud P, Aulanier S et al. 2005 « Prise en charge de la dermatite atopique de l'enfant. Texte de recommandation. » *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 132, (S1), pp 19-33.

Sullivan M, Schnittger SF, Mammone T, Goyarts EC. (2009). Skin treatment method with *Lactobacillus* extract. US Patent 7,510,734 B2, 31 Mar 2009.

T

Tagg, J.R. et McGiven, A.R. (1971). Assay system for bacteriocins. *Appl. Microbiol.*, 21, 943-948.

Tal-Figiel, B. (2007). The formation of stable w/o, o/w, w/o/w cosmetic emulsions in an ultrasonic field. *Chemical Engineering Research and Design*, 85(5) :730-734.

Tankeshwar A. (2013). Catalase test: principle, uses, procedure and results. *Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria*. <http://www.microbeonline.com>.

Teodorescu, R. (1999). A natural eubiotic product for maintenance and treatment of tegument. WO patent 007332, 18 Feb 1999.

Tissier, H. (1900). Recherche sur la Flore intestinal des nourrissons (Etat normal et pathologique). Paris, Université de paris: 253.

V

Vergeat, B. E., & Berger, T. (2013). Les produits de santé : synthèse de l'actualité Juridique 2013. *Journal de médecine légale, droit médical, victimologie, dommage corporel*, (1-2) :65-79.

Victor, H. (2010). Microbiologiques applicables aux denrées alimentaires lignes directrices pour l'interprétation. Fiche ministère de la santé, direction de la sante, service de la Sécurité alimentaire FC/LZ/PH F-054 REV02, P1-47.

Verdier-Sevrain S, Bonte F. (2007). Skin hydration : à review on its molecular mechanisms. *J Cosmet Dermatol P* :75-82

W

Wein, A. J. (2015). Re: The microbiome of the urinary tract - A role beyond infection. *Journal of Urology*, 194(6), 1643–1644.

Y

Yamazaki, Y., Nakamura, Y.,and Nunez, G, (2017). Role of the microbiota in skin immunity and atopic dermatitis. *Allergol. Int. Off. J. Jpn. Soc. Allergol.* 66,539-544.

<https://microbiologiemedicale.fr/peau-anatomie>

<https://microbiologiemedicale.fr/peau-anatomie/>

Annexes

Annexes

Annexe I

Le tableau I : présente l'ensemble des matériaux biologiques utilisés dans durant nos travaux expérimentaux.

Isolement et purification	<ul style="list-style-type: none">- Milieu Man Rogosa et Sharpe (MRS)- M 17
Analyses microbiologiques	<ul style="list-style-type: none">- Gélose nutritive ; Bouillon nutritif ; Sabouraud agar ; Gélose Violet Red Bile Glucose, VRBG.
Test antagonisme	<ul style="list-style-type: none">- Muller Hinton.
Produit chimiques et réactifs	<ul style="list-style-type: none">- Eau distillé stérile ; Eau oxygénée ; Eau physiologiques ; Eau peptonée (indole) ; Covax ; Ethanol 96° ; Fuchsine ; Huile de vaseline stérile ; Huile de fige de barbaris ; germicide ; Lugol ; Glycérine ; la cire d'abeille ; L'amidon ; vitamine E ; violet de Gentiane .

Le tableau II : présente l'ensemble des outils microbiologiques utilisés durant nos travaux expérimentaux.

Appareillages	<ul style="list-style-type: none">- Autoclave ; Bec bunzen ; Etuves ; Centrifugeuse ; La balance ; Réfrigérateur ; Vortex ; Viscosimètre ; Densimètre ; Agitateur magnétique chauffant ; pH-mètre ; Microscope optique.
Verreries et autres	<ul style="list-style-type: none">- Lames et lamelles ; Flacons ; pipettes pasteur ; Micropipette ; Entonnoir ; Bécher ; Parafilme ; Papier aluminium ; Spatules ; Barreaux magnétiques ; Eprouvette graduée ; Les tubes endorfs ; Les tubes à essai stériles ; Erlenmeyer 500 ml,1000 ml ; Anse de plastique ; Boites de pétri en plastique.

Annexes

Annexe II

Milieux	Composition des milieux de culture
Gélose nutritive	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de viande.....1,0g - Extrait de levure.....2,5g - Peptone.....5,0g - Chlorure de sodium5,0g - Agar Agar.....15,0g - Eau distillée.....1000ml - pH
Gélose Muller-Hinton	<ul style="list-style-type: none"> - Infusion de viande de bœuf (déshydratée).....300,0g - Hydrolysate de caséine.....017,0g - Agar Agar.....01,5g - Eau distillé.....1000ml - Ph = 7
milieu VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone.....7,0g - Extrait de levure.....3,0g - Chlorure de sodium.....5,0g - Rouge neutre.....0,03 - Sels biliaires.....1,50 - Cristal violet.....0,002g - Glucose.....10,00g - Agar.....13,00g - eau distillée11g - pH = 7,4
Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone10g - Extrait de viande10g - Extrait de levure5g - Glucose20g - Tween 801ml - Phosphate dipotassique2g - Acétate de sodium5g

Annexes

	- Citrate de sodium2g
	- Sulfate de magnésium0,2g
	- Sulfate de manganèse0,05g
	- Agar (gélose)15g
	- Eau distillée1000 ml
	- pH = 6,5

Annexes

Annexe III

Fiche organoleptique

Sexe : Féminine Masculin

Age :

Date :

	Remarque	Note/10
Foncé	_____	
Couleur Moyenne	_____	
	Claire	
Désagréable	_____	
Odeur Normale	_____	
	Agréable	
Aspect	Homogène _____	
	Hétérogène	
Mauvais	_____	
Etalement Bon	_____	
	Excellent	

Est-ce que vous l'aimez ?

Annexes

Annexe IV

Photographie des résultats du test d'analyse microbiologique de crèmes

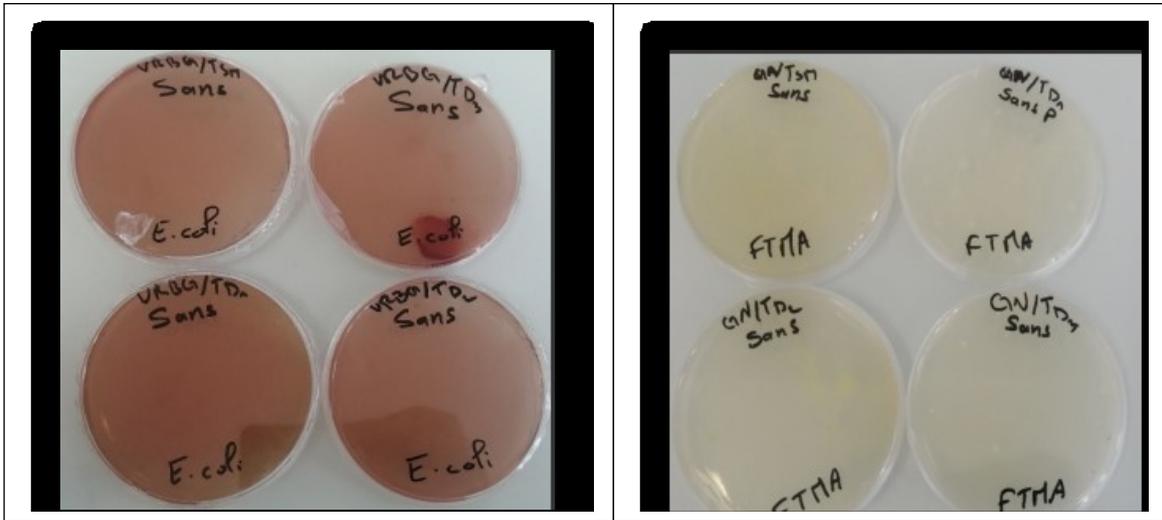


Figure 1 : Dénombrement des FTMA & *E. coli* dans la Crème témoin.

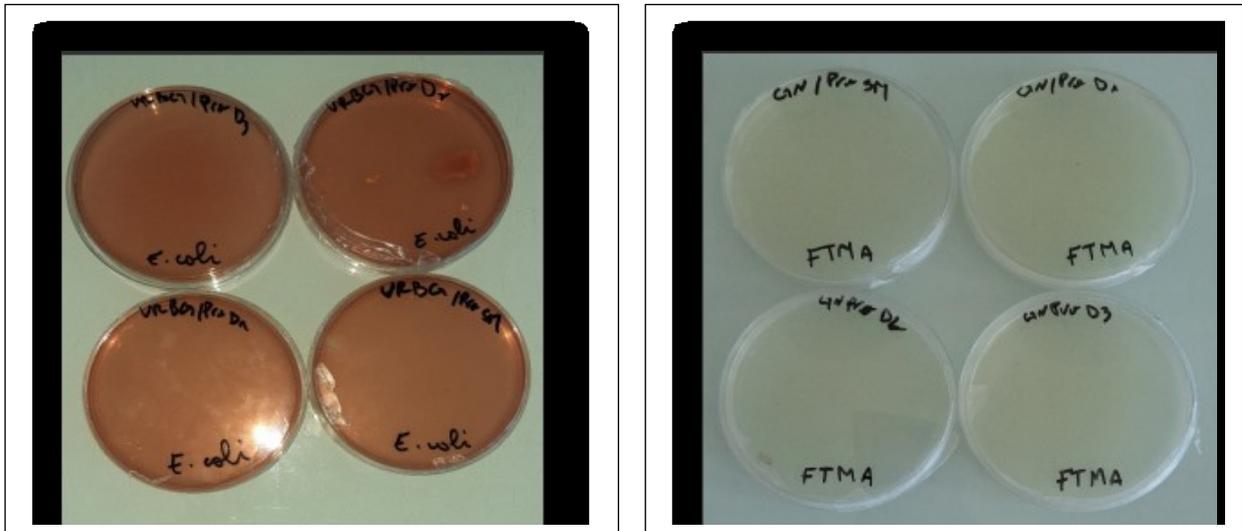


Figure 2 : Dénombrement des FTMA & *E. coli* dans la Crème a base des probiotiques pharmaceutiques.

Annexes

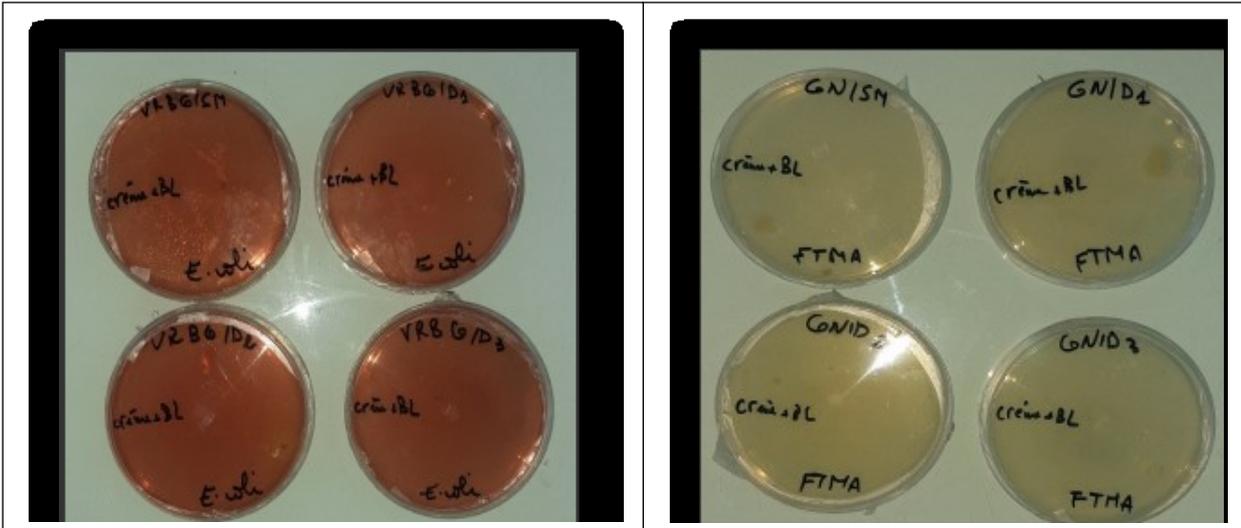


Figure 3 :Dénombrement des FTMA & *E. coli* dans la Crème a base des probiotiques industrielles.



Figure 4 :Dénombrement des champignons Crème témoin et Crème a base des probiotiques pharmaceutiques.

Résumé

Le but recherché dans ce travail consiste à développer une toute nouvelle formulation d'une crème hydratante à base de probiotiques. Ces microorganismes sont très bénéfiques pour la santé humaine dont ils ont un rôle très indispensable dans le soin et le traitement de plusieurs pathologies dermatologique. Les résultats d'analyses physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques sont satisfaisantes pour définir la qualité de notre crème. Les résultats obtenus dans notre étude ont montré significativement l'effet antibactérien des probiotiques testés et les crèmes préparés sur plusieurs souches bactériennes pathogènes par la méthode des puits. Et ceci pourrait refléter le large spectre d'activité des probiotiques seules ou présents dans les crèmes.

Mots-clés: Crème probiotique topique , probiotiques, bactérie lactique, analyse sensorielle, activité antibactérienne.

Abstract

The aim of this work is to develop a brand new formulation of a stable probiotic-based moisturizer. These microorganisms are very beneficial for human health, of which they have a very essential role in the care and treatment of several dermatological pathologies. The results of physico-chemical, microbiological and organoleptic analyzes are satisfactory to define the quality of our cream. The results obtained in our study showed significantly the antibacterial effect of the probiotics tested and the creams prepared on several pathogenic bacterial strains by the well method. And this could reflect the broad spectrum of activity of probiotics alone or present in creams.

Keywords: Topical probiotic cream, probiotics, lactic acid bacteria, sensory analysis, antibacterial activity.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير تركيبة جديدة تمامًا لمرطب يعتمد على البروبيوتيك. هذه الكائنات الدقيقة مفيدة جدًا لصحة الإنسان ولها دور لا غنى عنه للعناية في رعاية وعلاج العديد من الأمراض الجلدية. نتائج التحليلات الفيزيائية الكيميائية والميكروبيولوجية والعضوية مرضية لتحديد جودة الكريم. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا بشكل كبير، التأثير المضاد للبكتيريا للبروبيوتيك الذي تم اختباره والكريمات المحضرة على العديد من السلالات البكتيرية المسببة للأمراض بالطريقة الجيدة. ويمكن أن يعكس هذا الطيف الواسع من نشاط البروبيوتيك وحده أو الموجود في الكريمات .

الكلمات الرئيسية: كريم البروبيوتيك الموضعي، البروبيوتيك، بكتيريا حمض اللبن، التحليل الحسي

النشاط المضاد للبكتيريا