

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE MICROBIOLOGIE



MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN BIOLOGIE

OPTION : *PHYTOPHARMACOLOGIE*

Préparé par : Mr KHENNOUF TAREK

THEME

**ETUDE DE L'ACTIVITE PROBIOTIQUE DES BACTERIES
ISOLEES A PARTIR DE *Cynodon dactylon* ET *Olea europea*.**

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT : Pr BENLARIBI M

RAPPORTEUR : Dr LEGHOUCHI E

EXAMINATEUR : Dr LAHOUEL M

EXAMINATEUR : Dr KACEM M

Pr (Université de Constantine)

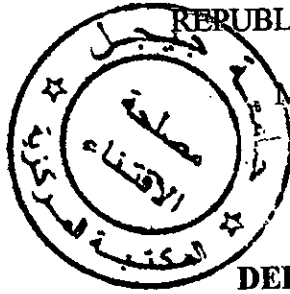
MC (Université de Jijel)

MC (Université de Jijel)

MC (Université d'Es-senia Oran)

جامعة جيجل
المكتبة المركزية
J.H. 088

615/27



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE MICROBIOLOGIE



MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN BIOLOGIE

OPTION : *PHYTOPHARMACOLOGIE*

Préparé par : Mr KHENNOUF TAREK

THEME

**ETUDE DE L'ACTIVITE PROBIOTIQUE DES BACTERIES
ISOLEES A PARTIR DE *Cynodon dactylon* ET *Olea europea*.**

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT : Pr BENLARIBI M

Pr (Université de Constantine)

RAPPORTEUR : Dr LEGHOUCHE E

MC (Université de Jijel)

EXAMINATEUR : Dr LAHOUEL M

MC (Université de Jijel)

EXAMINATEUR : Dr KACEM M

MC (Université d'Es-senia Oran)

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu, le Tout- Puissant, qui m'a aidé à réaliser ce travail.

Je remercie très sincèrement le Dr. Leghouchi Essaid, maître de conférences à l'Université de Jijel, et directeur de laboratoire de recherche de Pharmacologie et de Phytochimie d'avoir accepté de diriger ce travail. Je le remercie pour son encadrement, sa patience et ses conseils pour réaliser ce travail.

Je remercie également Mr. IDOUI Tayeb, maître assistant à l'université de Jijel pour sa coopération précieuse, sa patience et ces conseils le long de la réalisation du travail.

Je remercie le Pr. BENLARIBI Mostapha professeur à l'université de Constantine, d'avoir accepté de présider le jury.

Je remercie le Dr. LAHOUEL Mesbah maître de conférence à l'université de Jijel d'avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie le Dr. KACEM Mourad maître de conférence à l'université de Es-senia Oran d'avoir accepté de juger mon travail.

J'exprime également ma gratitude à mes collègues de laboratoire : Hanane, Mounia, Asma, Lilia, Widad, Hassiba, Afaf et Wassila, pour leur coopération.

Je remercie Mr HAMDUCHE Amir pour sa participation de la réalisation du mémoire.

Je tien à remercier Mr BOUSSOUF Nabil, chef de service de laboratoire central de l'hôpital de Taher, qui m'a permet de réaliser une partie de travail dans son laboratoire.

Je tiens aussi à exprimer toute ma gratitude aux ingénieurs de laboratoire, et à YAHIA technicien de laboratoire de recherche.

Je tiens aussi à exprimer toute ma gratitude à DJABER et BILAL pour leur coopération.

Je remercie toutes et tous qui ont participé dans la réalisation du mémoire.

Liste des abréviations

°D	: Degré d'ornic
ADH	: Arginine dihydrolase
ADP	: Adénosine diphosphate
AAP	: Amino-4-antipyrène
ATP	: Adénosine triphosphate
BM	: Bleu de méthylène
C	: Cytosine
Cfu	: Unités formant colonies
CH	: Cholestérol
Eh	: Potentiel d'oxydoréduction
ESP	: Exopolysaccharides
FAO	: Food and Agriculture Organisation
G	: Guanine
GMQ	: Gain Moyen Quotidien
H₂O₂	: Eau oxygénée
IC	: Indice de consommation
IgA	: Immunoglobuline
IL	: Interleukine
INF	: interféron
Lb	: <i>Lactobacillus</i>
Lc	: <i>Lactococcus</i>
Ln	: <i>Leuconostoc</i>
LPL	: Lipoprotéine lipase
MEVAG	: Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides
MF	: Matière fécale
MRS	: De Man Rogosa Sharp
NaCL	: Chlorure de sodium
OMS	: Organisation mondiale pour la santé
PAMP	: Pathgen Associated Molecular Patterns
Pc	: <i>Pediococcus</i>
pH	: potentiel hydrogène
PV	: Poids vif
S	: <i>Streptococcus</i>
SFB	: Bouillon de selinite acide de sodium et cystine

SSP : Sous espèce
TLR : Toll Like Receptors
U/L : Unité par litre
V : Volume
YMA : Yeast Milk Agar

Table des matières

I. Introduction	2
II. Analyse bibliographique.....	4
II.1. Bactéries lactiques.....	4
II.1.1. Définition	4
II.1.2. Présentation des bactéries lactiques	4
II.1.3. Caractéristiques des différents genres.....	7
II.1.4. Habitat des bactéries lactiques	11
II.1.5. Production des composés antagonistes par les bactéries lactiques.....	12
II.1.6. Identification des bactéries lactiques	13
II.1.7. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	21
II.1.8. Applications des bactéries lactiques.....	22
II.1.9. Altérations liées aux bactéries lactiques.....	25
II.2. Microflore intestinale normale.....	27
II.2.1. Description générale : écosystème gastro-intestinal.....	27
II.2.2. Factures influençant la microflore gastro-intestinale.....	30
II.3. Probiotiques.....	32
II.3.1. Généralités et historique.....	32
II.3.2. Définition des probiotiques	32
II.3.3. Microorganismes utilisées comme probiotiques	33
II.3.4. Critères de sélection des souches probiotiques.....	34
II.3.5. Mécanismes d'action des probiotiques	34
II.3.6. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé.....	37
III. Matériel et méthodes.....	41
III.1. Matériel.....	41
III.1.1. Animaux.....	41
III.1.2. Herbe verte	41
III.1.3. Saumures d'olives.....	41
III.1.4. Caecum du rat.....	41
III.1.5. Milieux de cultures utilisés.....	41
III.2. Méthodes	42
III.2.1. Isolement des souches bactéries lactiques.....	42

III.2.2. Isolement et identification des bactéries du caecum du rat	46
III.2.3. Etude des aptitudes technologique des souches	46
III.2.4. Croissance sur des milieux à différents pH.....	47
III.2.5. Interactions bactériennes.....	48
III.2.6. Etude de l'effet des surnageants des cultures des bactéries lactiques sur les entérobactéries.....	50
III.2.7. Etude de l'effet probiotique d'une souche bactérienne	50
III.2.8. Traitement statistique.....	55
IV. Résultats.....	57
IV. 1. Résultats et interprétation	57
IV.1.1. Identification des souches de bactéries lactiques.....	57
IV.1.2. Identification des bactéries de caecum du rat.....	61
VI.1.3. Résultats de l'étude du pouvoir protéolytique des bactéries lactiques	62
VI.1.4. Résultats d'étude du pouvoir épaississant des bactéries.....	62
VI.1.5. Pouvoir acidifiant	63
VI.1.6. Croissance des bactéries lactiques sur des milieux à pH bas.....	64
VI.1.7. Interactions bactériennes.....	66
VI.1.8. Effet probiotique des bactéries lactiques.....	71
V- Discussion	79
VI- Conclusion	84
Bibliographie.....	86
Annexe.....	98

Introduction

I. Introduction :

L'Homme à l'instar des animaux vit continuellement en association avec la population de microorganismes complexe habitant son tractus gastro-intestinal. L'un des principaux effets bénéfiques émanant de leur alliance est la protection et l'amélioration de la résistance aux maladies infectieuses de l'organisme hôte. Cependant, la composition de cette flore peut être altérée par divers facteurs alimentaires et environnementaux, qui rendent l'organisme hôte susceptible aux maladies ou aux désordres digestifs [1].

Plusieurs Les travaux ont démontré que la consommation d'aliments fermentés permet de rétablir la flore intestinale en générant des effets bénéfiques sur la santé de l'homme et des animaux. Les investigations récentes ont mis en évidence le rôle crucial que joue la microflore intestinale dans le maintien et l'amélioration de la santé. Certains de ces travaux ont montré que les animaux conventionnels pourvus d'une microflore intestinale complète sont plus résistants aux infections que les animaux axéniques (germ-free) dépourvus de microflore. En effet, de nombreuses études scientifiques ont rapporté les propriétés prophylactiques et thérapeutiques de certains microorganismes présents dans les aliments fermentés [1].

Ces microorganismes favorables pour la santé de l'homme et de l'animal ont reçu le nom de « Probiotiques ». Ce concept a été développé tout particulièrement après l'émergence, ces dernières décennies, des bactéries résistantes aux antibiotiques et l'intérêt suscité par les agents naturelles d'inhibition pour le contrôle des germes pathogènes. Les microorganismes probiotiques sélectionnés en alimentation humaine sont représentés essentiellement par les bactéries lactiques, particulièrement celles appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Aujourd'hui, ces deux genres bactériens sont largement utilisés dans la fabrication de produits laitiers fermentés. A titre d'exemple, aux États Unis, près de 60 % des yaourts réfrigérés contiennent des cultures probiotiques tels que le *Lactobacillus acidophilus* et / ou *Bifidobacterium sp.* Un des effets positifs sur la santé attribué aux probiotiques est leur action sur le système immunitaire. La modulation de certains paramètres de la réponse immunitaire, diminution du taux cholestérol, l'effet inhibiteur des germes pathogènes par les probiotiques a donné à ces derniers une grande importance [1].

Notre travail consiste à isoler des souches de bactéries lactiques à partir de *Cynodon dactylon* et *Olea europea* et étudier leurs aptitudes technologiques ainsi l'étude de l'effet probiotique d'une souche de ces dernières.

**Analyse
bibliographique**

II. Analyse bibliographique :

II.1. Bactéries lactiques:

II.1.1. Définition :

Le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini par ORLA-JENSEN en 1919, et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides produisant de l'acide lactique. La fermentation est dite homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents comme l'acide acétique, éthanol, CO₂ ... (figure 1) [2, 3].

II.1.2. Présentation des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. Elles rassemblent en effet certain nombre de genres de bactéries à gram positif possédant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes, mais avec parfois peu d'homologie de leurs acides nucléiques. Leur principale caractéristique est un métabolisme exclusivement fermentaire qui les conduit à produire à partir du glucose, des quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO₂ et autres acides organiques). Leur capacité de biosynthèse est faible, elles possèdent de ce fait une exigence élevée en facteurs de croissance : acides aminés, bases nucléiques, acides gras, vitamines...etc. Sept genres principaux constituent le groupe des bactéries lactiques : *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconstoc*. Le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré par plusieurs auteurs comme un genre de bactéries lactiques, bien qu'il se distingue par un pourcentage de G + C de 55 %, largement supérieur à celui des autres genres. Des études taxonomiques récentes ont également conduit à différencier de nouveaux genres comme : *Vagococcus*, *Oenococcus* et *Tetragenococcus* (figure 2). Les études phylogénique basées sur des séquences des ARN ribosomiques ont confirmées l'appartenance des ces différents genres à un même groupe qui inclut également *Clostridium*, *Bacillus* et *Propionibacterium* [2].

La plupart des bactéries lactiques participent à l'élaboration de nombreux produits alimentaires fermentés pour lesquels elles jouent plusieurs rôles relatifs aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sanitaires de l'aliment. Elles sont également impliquées dans les phénomènes d'altérations de certaines catégories de denrées alimentaires. Leur caractère pathogène est en revanche extrêmement réduit, puisque seules certaines espèces du genre

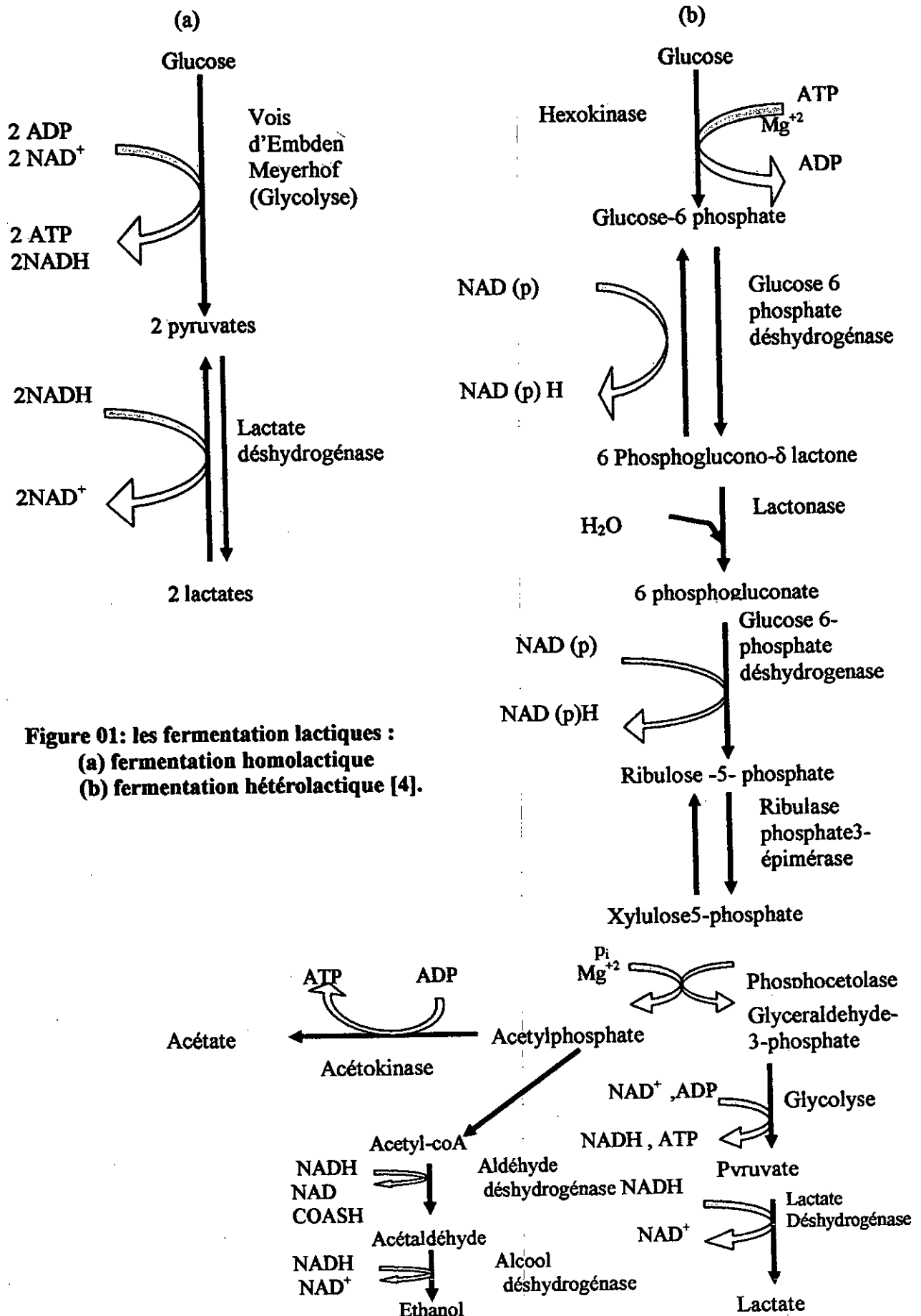


Figure 01: les fermentation lactiques :
 (a) fermentation homolactique
 (b) fermentation hétérolactique [4].

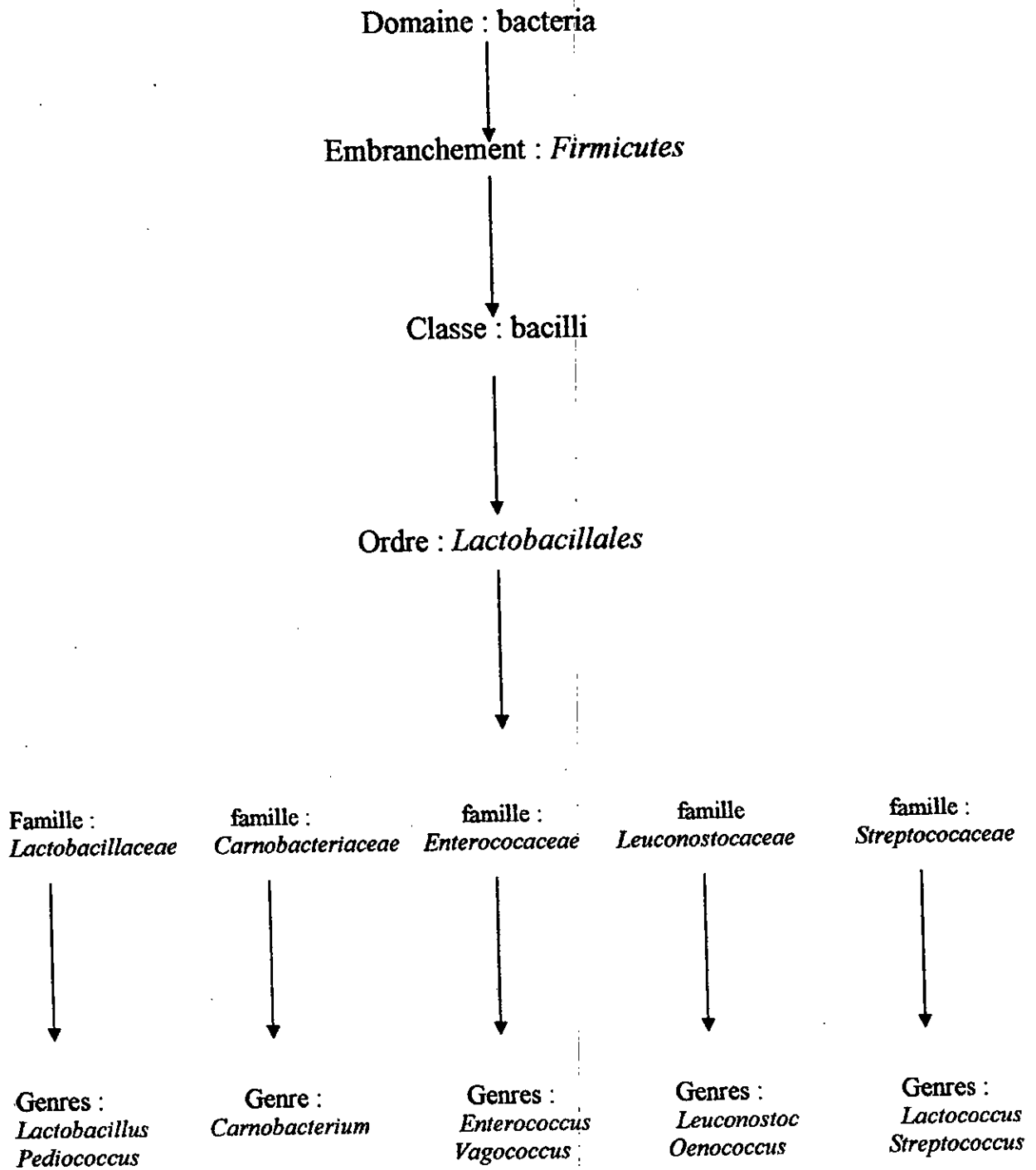


Figure 02: Classification des bactéries lactiques [5].

Streptococcus et dans certaines conditions, *Enterococcus* peuvent être impliquées dans des infections humaines [2]. Des travaux plus en plus nombreux étaient l'objet d'étude de « l'effet santé » des bactéries lactiques chez l'homme et l'animal et ils ont essayé de cerner leur mécanisme d'action dans le tube digestif. Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés, c'est le cas des probiotiques [6].

II.1.3. Caractéristiques des différents genres :

Les bactéries lactiques présentent des caractéristiques communes qui expliquent leur regroupement [3]:

- * Ce sont des bactéries à Gram positif généralement immobiles, jamais sporulées, catalase négative, oxydase généralement négative, nitrate réductase négative.

- * Leur capacité biosynthétique est faible, ce qui explique leur polyauxotrophie pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des vitamines et acides gras, mais aussi leur métabolisme fermentaire, incapable de synthétiser le noyau hème des porphyrine, elles sont normalement dépourvues de cytochromes et en conséquence inaptés à toute respiration aérobie ou anaérobie.

- * Ce sont des bactéries anaérobies facultatives : microaérophiles, uniquement capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose. Groupe hétérogène, les bactéries lactiques sont représentées par plusieurs genres d'importance d'ailleurs différente. Leurs cellules sont soit des coques : c'est le cas des *Streptococcus* mais aussi de *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, soit des bacilles : *Lactobacillus*. Ils se distinguent en plus par leur type fermentaire : homolactique ou hétérolactique. A ces genres, a été ajouté le genre *Bifidobacterium*.

II.1.3.1. Genre *Lactobacillus* :

Il regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est illustrée par la variation du pourcentage G+C (32 à 53%). La classification remaniée par Kandler et Weiss [7], les subdivise en 3 groupes selon leur type fermentaire :

- * **groupe I** : Il comprend les espèces homofermentaires obligatoires c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Elles sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate, ce groupe est constitué d'environ de 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers, mais un grand nombre a été isolé chez l'homme et

les animaux (tractus digestif, organes génitaux) et participe à l'équilibre de la microflore de l'organisme [2].

* **Groupe II** : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles, ils sont isolés dans les fourrages, les produits laitiers et les produits carnés [2].

* **Groupe III** : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphate pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*. Outre, leur présence dans les produits laitiers et carnés, et certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale [2]. Les lactobacilles contaminent fréquemment les produits alimentaires et sont des agents de surissement. Ils ne sont jamais pathogènes. Les lactobacilles sont très utilisés dans l'industrie, en laiterie, fromagerie, dans la fabrication de la choucroute, et interviennent dans les saumures [8].

II.1.3.2. Genres *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* :

Ils rassemblent les coques homofermentaires, ils produisent en majorité de l'acide L-lactique, les espèces initialement regroupées dans le genre *Streptococcus* ont été distribuées dans ces quatre genres selon les homologues de leurs ARN ribosomiques 16s. Le genre *Lactococcus* (du groupe N) représente les streptocoques dits « lactiques » car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Ils sont mésophiles, mais se développent jusqu'à 10°C. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers. Certaines espèces isolées de poissons et d'eaux douces et qui possèdent la particularité d'être mobiles, ont été répertoriées dans le nouveau genre *Vagococcus*. Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* ; d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). L'espèce *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. Du fait de ces propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme streptocoque lactique. Le genre *Enterococcus* rassemble la plupart des espèces anciennement désignées sous le terme streptocoques fécaux comme *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, ils se caractérisent par leur développement entre

10 et 40 °C, leur aptitude a croître en présence de 6.5% de NaCl et à pH 9.6. Leur habitat est varié : intestin de l'homme et des animaux, produits végétaux, sol et produits laitiers [2].

II.1.3.3. Genre *Carnobacterium* :

Des études menées sur les produits carnés ont conduit à isoler des bactéries lactiques décrites comme des *Lactobacillus* atypiques peu acidifiants et psychrotrophes. Une étude taxonomique de ces différentes souches a permis de les regrouper après hybridations ADN-ADN dans un nouveau genre, c'est, *Carnobacterium*, morphologiquement proche de *Lactobacillus* (bacilles parfois très courts, qui se différencient par leur tendance psychrotrophe et leur production de l'isomère L de l'acide lactique). Le genre comprend quatre espèces : *C. divergens*, *C. piscicola*, *C. mobile* et *C. gallinarum*. Elles sont isolées des produits carnés ou de produits de la mer [2].

II.1.3.4. Genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus* :

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrades qui les différencie des autres genres. Ils sont mésophiles, et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose, par contre certaines espèces se distinguent par leur capacité de se développer à des teneurs en sel, élevées comme le *Pc.halophilus* renommé *Tetragenococcus halophilus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl. Ils sont présents dans la bière, le vin, les produits végétaux (ensilage) et les saumures (Anchois salées) [2].

II.1.3.5. Genres *Leuconostoc* et *Oenococcus*:

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D) de CO₂ et d'éthanol, certaines espèces sont capables de fermenter le citrate, ce qui leur confère une activité aromatique importante. Ce genre comporte sept espèces présentes majoritairement dans les produits végétaux, mais elles sont également isolées dans les produits laitiers et le vin. Récemment l'espèce *Leuconostoc oenos* a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus* dont l'espèce est *Oenococcus oeni* [2].

II.1.3.6. Genre *Bifidobacterium* :

Anciennement, *Lactobacillus bifidus*, les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V, mais pouvant être cocoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur pourcentage G+C élevé, et présence

d'une enzyme, la fructose -6- phosphate phosphocetolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide lactique, acétique et en moindre portion de l'éthanol et d'autres acides organiques, ce qui les rapproche du groupe des bactéries lactiques [2]. La découverte des bifidobactéries remonte au début du siècle [9]. Ces bactéries jouent un rôle majeur dans l'équilibre et la stabilité de la flore intestinale, d'où l'appellation de culture probiotique [10]. Parmi les 32 espèces de bifidobactéries répertoriées, 10 sont considérées comme étant d'origine humaine, alors que les autres sont isolées dans la matière fécale des animaux divers [11]. *B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis* *B. breve* ont été les plus étudiées à cause de leur aptitude à fermenter le lait ou à être incorporées dans les aliments [9, 12, 13, 14, 15]. La croissance des bifidobactéries comprise entre 37 et 41 °C et entre pH 6.5 et 7. Elles produisent de l'acide lactique en métabolisant une grande variété d'hexoses par le cycle de fructose -6- phosphate [16]. Elles ont un effet bénéfique pour la santé [17]. Le tableau 01 représente quelques caractères des différents genres de bactéries lactiques.

Tableau 01: Différents genres de bactéries lactiques et leurs caractéristiques [2].

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale	Nombre d'espèce
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire ou Hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	G1 23 G2 16 G3 22
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	Psychrotrophe	6
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Thermophiles ou Mésophiles	19
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	mésophiles	13
<i>Vogococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaire	Mésophiles	2
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaire	Mésophiles	1
<i>Loconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	11
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	1
<i>Bifidobactérium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

II.1.4. Habitat des bactéries lactiques :

D'une manière générale les bactéries lactiques peuvent être isolées du lait, des végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux.

Les streptocoques lactiques ou lactocoques, comme beaucoup de *Streptococcus* non pathogènes peuvent être isolées du lait ou des végétaux qui sont probablement leur réservoir naturel. Ainsi *Lactococcus lactis ssp lactis* fut isolé pour la première fois par Lister en 1873 du lait fermenté, nommé *Bacterium lactis* et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé. Pour le *Streptococcus thermophilus*, on peut l'isoler de lait chauffé à 45-50 °C ou du lait pasteurisé, des produits laitiers : yaourt, matériel de laiterie, des levins artisanaux il n'aurait jamais été isolé d'autres habitats. Les *Leuconostoc*, on les isole du lait et des produits laitiers, des fruits, des légumes, en particulier de la betterave (d'où l'ancien nom de *Betacoccus*), des végétaux en fermentation, des produits de la panification et des solutions visqueuses du sucre dans les sucreries [3].

Les *Lactobacillus* par leur variété sont présents dans des milieux très différents, les espèces mésophiles, *Lb.casei ssp casei*, *Lb.plantarum*, *Lb.curvatus*, *Lb.brevis* sont caractérisées par un large spectre de fermentation et sont présentes dans le lait, dans les fromages, dans le lait fermenté, dans les végétaux fermentés : choucroute, les marinades, l'ensilage, la présure et dans le vin. La présence des thermophiles à spectre étroit de fermentation est plus limitée : dans les laits fermentés (*Lb. delbueckii ssp bulgaricus*, dans le yaourt, *Lb.acidophilus* dans les laits à *acidophilus*) et dans certains fromages fabriqués à température supérieure à 40 °C [3].

Pour les pédiocoques les différentes espèces présentes dans les végétaux en décomposition, par fois dans les boissons : bière, cidre et vin. *Pc.pentosaceus* avec *pc.acidilactici* sont bien présentés dans les matières végétales mais peuvent aussi être trouvés dans le lait et les produits laitiers, ces deux espèces sont surtout présentes dans les saucissons avec des lactobacilles, des streptocoques et des microcoques. *Pc.halophilus* est facilement isolée des préparations d'anchois salés ou de sauces de soja [3].

Pour les *Bifidobacterium*, découverts dans les selles d'enfants nouveau-nés, on peut les isoler de l'intestin, du vagin, ou de la bouche des adultes, on les retrouve aussi dans le tractus intestinal de nombreuses espèces animales, la présence ou la prédominance de telle ou telle espèce dans l'intestin des nouveau-nés humains est controversée [3].

II.1.5. Production des composés antagonistes par les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont connues par la production, lors de leur croissance, des substances inhibant la croissance d'autres micro-organismes. Cette caractéristique est utilisée pour la destruction des bactéries indésirables ou pathogènes dans la fabrication des aliments.

Chez *Lactococcus lactis* on a décrit la production de deux substances considérées comme antibiotiques : la nisine et la diplococcine produites chacune par une sous-espèce différente, la production de la nisine par *Lactococcus lactis ssp lactis*, certaines souches de cette sous-espèce sont capables de produire et d'excréter une famille de petits polypeptides de 3500 daltons le plus souvent sous forme de dimère ou de tétramère, ces polypeptides sont appelés nisine [18, 19]. La diplococcine est produite par *Lactococcus lactis ssp cremoris*, mise en évidence en 1933 comme une substance d'activité plus restreinte que la nisine, elle est active sur d'autres bactéries lactiques [3].

Chez *Streptococcus thermophilus* il y a production d'un composé actif contre *Lactococcus lactis* mais aussi contre les *Bacillus*, les *Pseudomonas* et des entérobactéries. Le poids moléculaire de la molécule active thermostable ne dépasse pas 700 daltons [3].

Les lactobacilles ont des bactériocines de nature protéique, leur mode d'action est bactéricide et leur spectre d'activité est restreint à des espèces voisines. Chez *Lb. helveticus*, la lactocine 27 est une glucoprotéine thermostable de 12400 daltons isolé d'un complexe protéolipopolysaccharidique. Elle est active seulement sur des souches de *Lb. helveticus* ou *Lb. acidophilus*. Elle provoque l'arrêt de la synthèse protéique mais pas celle de l'ADN ou de l'ARN. L'helvéticine J inhibe seulement des souches *Lb. delbrueckii ssp bulgaricus*, *Lb. helveticus* et *Lb. lactis*. Chez *Lb. acidophilus* la majorité des souches produisent une bactériocine d'origine chromosomique active sur *Lb. delbrueckii ssp bulgaricus*, *Lb. helveticus* et *Lb. Lactis*. Chez *Lb. Plantarum*, il y a une plantaricine A isolée de cette espèce inhibe des levures des bactéries à Gram négatif et la plupart des bactéries à Gram positif, dont des bactéries lactiques. Une autre protéine appelée plantacine A inhibe la croissance d'autres souches des bactéries lactiques (*Lb. plantarum*, *Ln. mesenteroides*, *Pc. damnosus*). Le *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* produit lui aussi des lactocines. Plusieurs souches de l'espèce *Lb. sake* inhibent d'autres bactéries lactiques [3].

Chez *Pediococcus* deux souches de *Pc. pentosaceus* produisent une protéine appelée pediocine A inhibe la croissance d'autres pédiocoques, *Lactobacillus plantarium*, *Leuconostoc menseentroides*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus brevis*, il y a aussi une bactériocine produite par *Pediococcus acidilactici* PAC

1.0., ce composé appelé pediocine PA-1 est capable d'inhiber *Listeria monocytogenes*. Les *Leuconostoc* sont capables aussi de produire des bactériocines [3].

En résumé les bactériocines des bactéries lactiques lorsqu'elles sont purifiées ne sont actives que contre les bactéries à Gram positif, leur spectre d'action à l'exception de celui de nesine et de pédiocine A est restreint aux espèces voisines de l'espèce productrice ou présente dans la même niche écologique [3].

II.1.6. Identification des bactéries lactiques :

Sur les milieux précités les bactéries lactiques forment de petites colonies blanches à crème, bombées. L'appartenance au groupe se fait sur la base de la coloration du Gram (Gram positif), de la catalase et oxydase négatives, et éventuellement l'absence de la réduction des nitrates. L'identification du genre est d'abord orientée par la morphologie puis par le type fermentaires et les conditions physiologiques de croissance (température, sel, pH). La distinction entre les genres *Lactobacillus* et *Carnobacterium* se fait à partir de la croissance sur gélose à l'acétate, cette distinction est plus délicate, la présence d'acide méso-diaminopimélique dans la paroi et le caractère psychotrophe (figure 3). L'identification des espèces se base en plus de ces tests, sur le profil de fermentation de différents glucides, la dégradation de l'arginine, la production de dextrane (*Leuconostoc*) et l'isomère de l'acide lactique. Des tests plus spécifiques comme la recherche du pouvoir hémolytique ou sérologique peuvent être utilisés pour les *Streptococcus* et *Enterococcus* [1].

Egalement on peut utiliser d'autres tests, la croissance dans différentes températures de 10°C et à 45°C la croissance dans des conditions hostiles, celle en présence de 6.5% de NaCl pour la caractérisation des enterococques, la croissance sur le lait bleu de sherman est également étudiée, où est additionné de bleu de méthylène à 1% et 3 %, la recherche de l'acétoïne, l'activité ADH, et la culture sur le lait tournesolé pour la recherche de la réductase (tableau 2). Pour les *Leuconostoc*, la caractérisation des genres s'est basée sur la morphologie et le caractère hétérofermentaire, qui peut être mis en évidence sur les milieux de Gibson- Abelmalek ou de Mac Cleskey. Celle des diverses espèces et sous espèces est basée sur des critères voisins de ceux étudiés pour les *Streptococcus*, fréquemment avec les mêmes milieux et dans les mêmes conditions (Tableau 3) [8].

Pour les espèces de *Pediococcus* ou *Tetragenococcus*, la croissance en conditions extrêmes de sel (18%) ou température (50°C) est également testée (figure 4) (Tableau 4). Cette identification est basée sur des réponses métaboliques, est particulièrement délicate chez les

Lactobacillus qui possèdent un très grand nombre d'espèces (Tableau 5). Le genre *Bifidobacterium* est distingué des autres genres par sa morphologie irrégulière et production d'acide acétique majoritaire par fermentation du glucose. L'identification phénotypique des espèces est essentiellement basée sur le profil fermentaire de quelques glucides et la recherche d'activités enzymatiques [2].

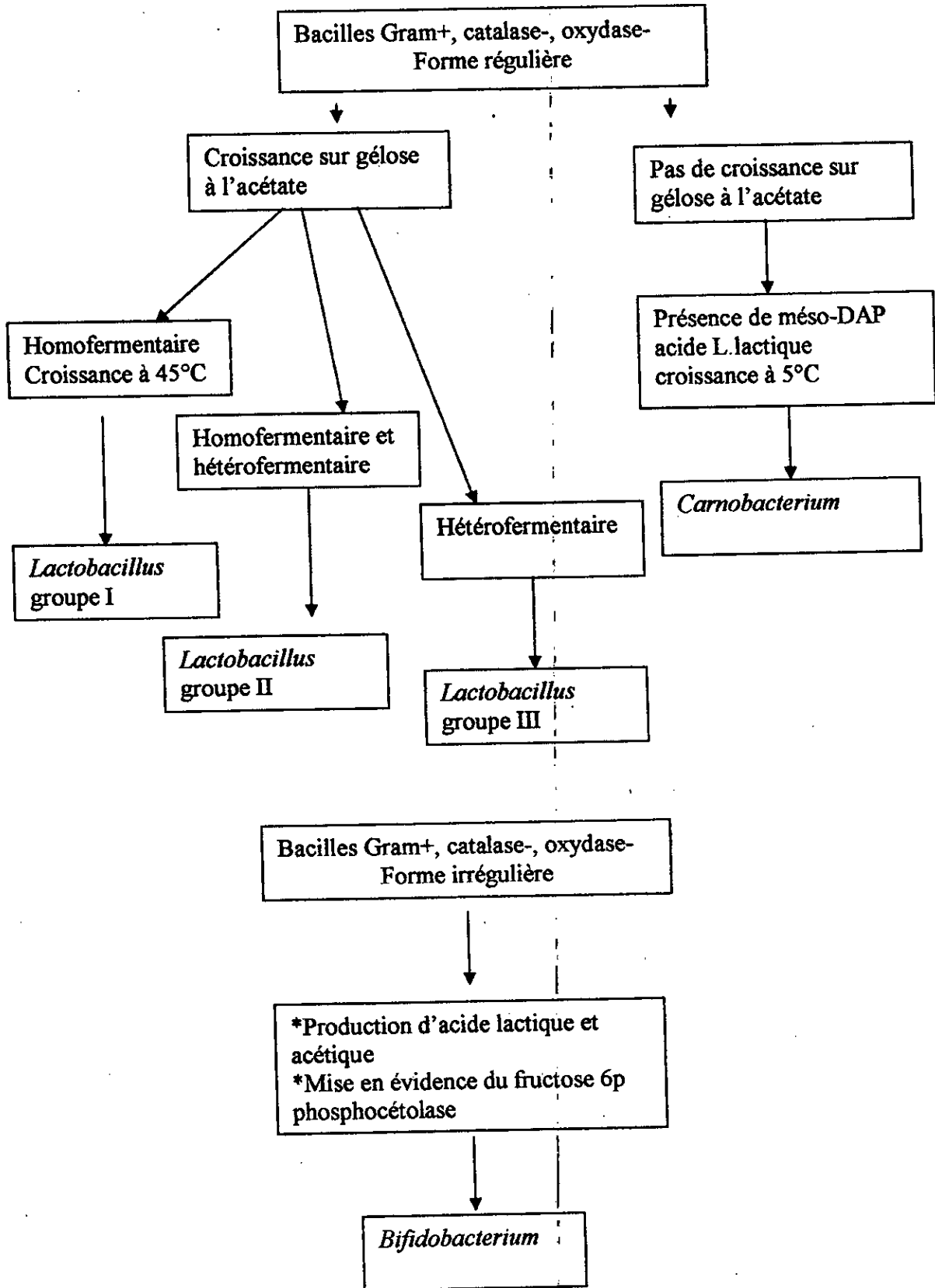


Figure 03: Identifications des genres des bactéries lactiques (Bacilles) [2].

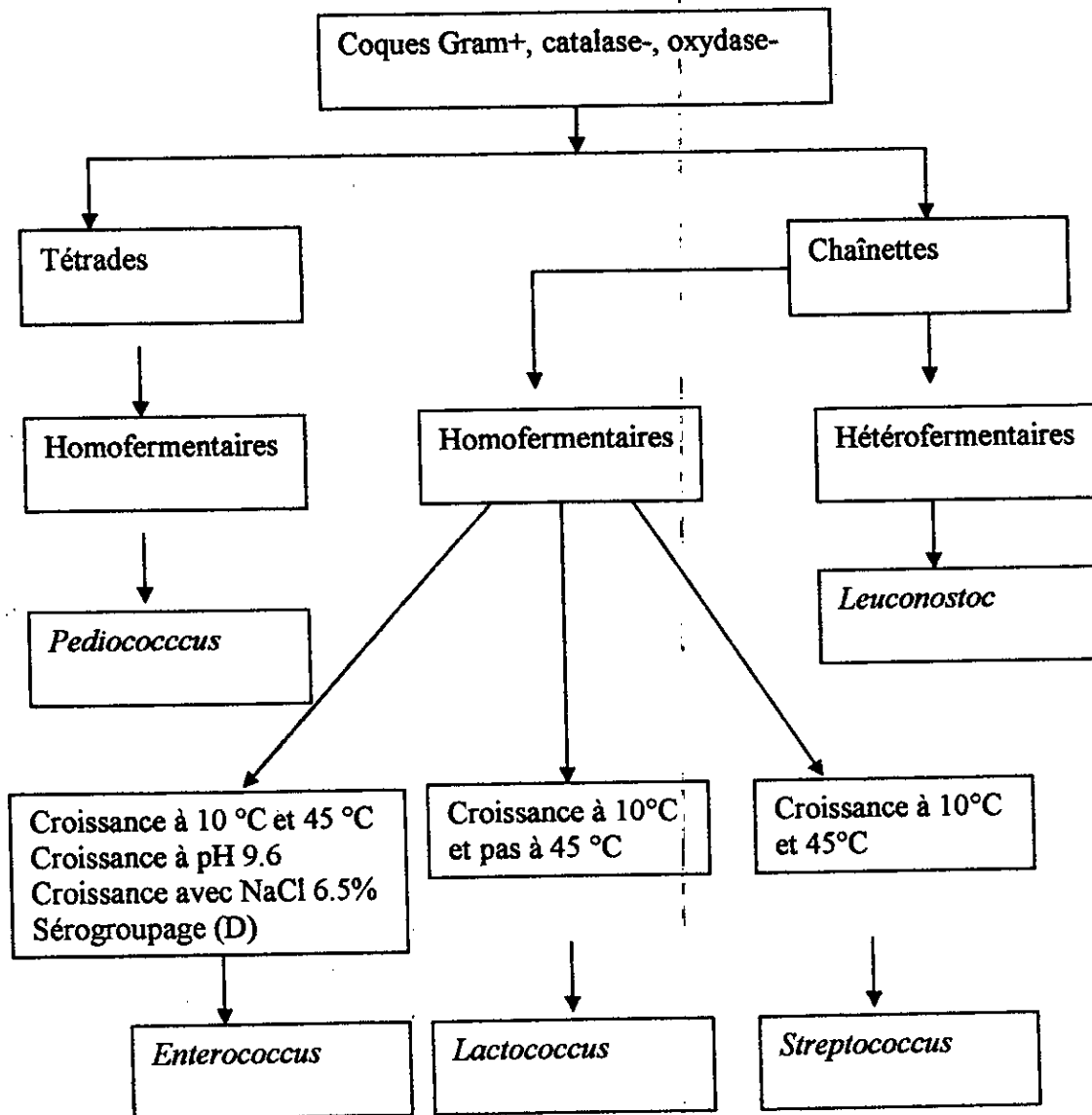


Figure 04 : Identification des bactéries lactiques (coques) [1]

Tableau 02: Principaux caractères des streptocoques de la flore lactique [20].

	<i>Lactococcus lactis ssp</i>			<i>Lc. raffinolactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>lactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>diacetylactis</i>		
morphologie	0.5 à 1µm	0.5 à 1 µ m	0.6 à 1 µm	ND	0.7 à 0.9 µm
culture à 10°C	+	+	+	+	-
culture à 40°C	+	+	+	-	+
culture à 45°C	-	-	-	-	+
Culture en lait					
à 0.1% de bleu de méthylène	+	+	+	ND	-
à 0.3% de bleu de méthylène	+	+	+	-	-
Culture en NaCl à					
2.5%	+	+	+	+	+
4%	+	+	+	-	-
6.5%	V	-	V	-	-
Réductase	+	+	+	+	-
Citrate	-	-	+	ND	-
Acétoïne					
ADH	+	-	+	-	-
Hemolyse	gamma	gamma	gamma	gamma	alpha
Groupes sérologiques	N	N	N	N	-

Tableau 03: Principaux caractères des Leuconostocs [20].

	<i>Ln.menenteroides ssp</i>			<i>Ln.paramesenteroides</i>	<i>Ln.lactis</i>	<i>Ln. oenos</i>
	<i>mesenteroides</i>	<i>dextranicum</i>	<i>cremoris</i>			
Culture à 10°C	+	+	+	+	+	+
Culture à 37°C	+	+	+	+	+	-
Culture à 39°C	-	-	-	-	+	-
Culture à 45°C	-	-	-	-	-	-
Hétérofermentation	+	+	+	+	+	+
Citrate	-	-	+	+	+	+
Formation de Dextrane	+	+	-	-	-	-
ADH	-	-	-	-	-	-

Tableau 04: Principaux caractères des pédiocoques [20].

	<i>Pc.damnosus</i>	<i>Pc. parvulus</i>	<i>Pc.inopinatus</i>	<i>Pc. dextrinicus</i>	<i>Pc. pentosaceus</i>	<i>Pc.acidilactici</i>	<i>Pc.halophilus</i>	<i>Pc.urinaequi</i>
Acide lactique produit	DL	DL	DL	L(+)	DL	DL	L(+)	L(+)
Croissance à 35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 50°C	-	-	-	-	-	+	-	-
Croissance à pH= 4.2	+	+	-	-	+	+	-	-
Croissance à pH= 8.2	-	-	-	-	±	±	+	+
Croissance en NaCl								
à 4%	+	+	+	+	+	+	±	+
à 6.5%	-	+	±	-	+	+	+	+
à 18 %	-	-	-	-	-	-	+	-

Tableau 05: Principaux caractères des lactobacilles [20].

	Croissance à 15°C	Croissance à 45°C	Lactose	Saccharose	Gluconate	Ribose	Xylose	ADH
<i>Lb. delbrueckii ssp delbrueckii</i>	-	+	-	+	-	-	-	±
<i>Lb. delbrueckii ssp bulgaricus</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb. delbrueckii ssp lactis</i>	-	+	+	+	-	-	-	±
<i>Lb. acidophilus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb. gasseri</i>	-	+	±	+	-	-	-	-
<i>Lb. crispatus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb. helveticus</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb. plantarum</i>	+	-	+	+	+	+	±	-
<i>Lb. casei ssp casei</i>	+	-	±	+	+	+	-	-
<i>Lb. casei ssp pseudoplantarum</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. casei ssp tolerans</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Lb. casei ssp rhamnosus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. sake</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. curvatus</i>	+	-	±	-	+	+	-	-
<i>Lb. bavaricus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. Bifermentans</i>	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Lb. Brevis</i>	+	-	±	±	+	+	±	+
<i>Lb. Buchneri</i>	+	-	±	±	+	+	±	+
<i>Lb. fermentum</i>	-	+	+	+	+	+	±	+
<i>Lb. kefir</i>	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>Lb. confusus</i>	+	-	-	+	+	+	+	-
<i>Lb. viridescens</i>	+	-	-	±	-	-	-	-

II.1.7. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques :

II.1.7.1. Pouvoir acidifiant :

Trois critères sont à prendre en compte [20]:

- La quantité de l'acide lactique produite.
- La nature des acides produits et de type d'acide lactique (D (-), L (+) ou DL).
- La vitesse de production de l'acide lactique.

La quantité de l'acide lactique produite est liée au métabolisme fermentaire : homofermentation ou hétérofermentation. Cela conditionne également la nature des acides produits. Dans le cas de l'homofermentation, seul l'acide lactique est produit, alors que dans le cas de l'hétérofermentation, l'acide acétique peut être présent à côté de l'acide lactique. La vitesse d'acidification est un critère important en technologie. On cherche le plus souvent des souches rapidement acidifiantes [20].

II.1.7.2. Activité protéolytique :

On peut mettre en évidence l'activité des bactéries lactiques à hydrolyser les protéines, elle est déterminée de façon rapide par l'examen du lait tournesolé ou un test de dégradation de la caséine ou sur les différents milieux appropriés [8]. Les bactéries lactiques sont peu protéolytiques [21].

II.1.7.3. Production des polysaccharides :

Certaines souches de bactéries lactiques ont la faculté de synthétiser des exopolysaccharides, glucanes (dextranes) et fructosanes (levanes), qui constituent la capsule cellulaire. Ces macromolécules contribuent à modifier la texture des produits dans lesquels se développent les souches compétentes [20].

II.1.7.4. Aptitudes aromatisantes :

Les bactéries lactiques jouent un rôle important sur les propriétés organoleptiques du produit dans lequel elles se développent. Cela est dû aux composés organiques qu'elles sécrètent par transformation du milieu. Dans le lait, le citrate joue un rôle essentiel, à partir de ce composé les bactéries produisent le diacétyle, l'acétaldéhyde, l'acétate, et le dioxyde de carbone qui sont les principaux responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés [20].

II.1.7.5. Aptitudes antagonistes :

Les bactéries lactiques sont connues et utilisées pour les influences antagonistes qu'elles développent. Elles sont dues aux métabolites excrétés : acide lactique et autres acides organiques, diacétyl, peroxyde de d'hydrogène et surtout antibiotiques et bactériocines [20].

II.1.7.6. Aptitude à résister aux bactériophages :

Les bactériophages, ou virus bactériens, doués d'une spécificité plus ou moins large, peuvent s'attaquer aux bactéries lactiques, provoquer leur lyse et être responsable de défauts d'acidification au cours de la fermentation qui devient ainsi inefficace. Les bactéries peuvent se défendre contre l'attaque des bactériophages notamment par leur système de restriction-modification. La présence de tels systèmes a été décrite dans les streptocoques lactiques, mais toutes les souches ne les possèdent pas [20].

II.1.8. Applications des bactéries lactiques :

Dans les fabrications traditionnelles, les bactéries lactiques cultivées dans le lait étaient utilisées comme levains pour de transformation ultérieure de ce milieu : c'est la tradition des pieds de cuve. Ces levains traditionnels sont encore employés lors de la fabrication de fromages de montagne dans les « fruitières » du Jura et des Alpes. C'est à partir des années 1900 que le développement des industries de transformation a conduit à la production industrielle de bactéries lactiques adaptées aux différents produits laitiers. Les bactéries lactiques produites comme ferments commerciaux sont des cultures en mélange appartenant aux genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium*. D'autres ferments bactériens non lactiques sont aussi produits pour l'industrie laitière comme *Propionibacterium*. Un certain nombre de ces ferments sont produits pour d'autres aliments fermentés [3].

II.1.8.1. Utilisation des bactéries lactiques dans l'industrie laitière :

L'importance des ferments lactiques est grande dans l'industrie agro-alimentaire et en particulier dans l'industrie de transformation laitière. Les ferments lactiques commerciaux sont généralement cultivés sous forme de levains servant à ensemercer les cuves de fabrication. Une des techniques récentes : les ferments concentrés congelés ou lyophilisés permettent un ensemencement direct des cuves. La croissance de ces bactéries dans le lait et leur activité dans les fromages ont des conséquences bénéfiques pour l'aliment : la fermentation du lactose en

acide lactique acidifie le milieu et conjointement avec la protéolyse des caséines prépare la coagulation du lait et la synérèse du caillé. Beaucoup de bactéries sont capables d'excréter dans le milieu des composés antagonistes : peroxydes, antibiotiques ou bactériocines dont le spectre d'action peut être suffisamment large pour inhiber spécifiquement certaines bactéries. Les ferments commerciaux disponibles sont, selon les productions industrielles à réaliser, des ferments mésophiles et des ferments thermophiles. On peut aussi les classer selon leur composition en souches : en ferments à souche unique, en ferments multiples et en ferments mixtes. Les ferments multiples sont des mélanges de souches sélectionnées, compatibles et distinctes par leur lysotype. Les souches sont cultivées indépendamment et mélangées peu avant leur commercialisation. Les ferments mixtes sont des mélanges stables de composition (nombre et nature des souches) inconnue, les souches sont cultivées ensemble, le lysotype de chaque souche est indéterminé et le mélange peut coexister avec des phages [3].

Les bactéries lactiques sont utilisées pour la fermentation d'un grand nombre de produits d'origine animale ou végétale. Seuls les cinq genres, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus* sont communément propagés dans les salles à ferments des industries laitières ou employés dans la fermentation lactique des produits laitiers [18]. Le rôle principal des bactéries lactiques est la production d'acide lactique qui influence, la texture, le goût et la qualité microbiologique des fromages. En effet, la production d'acide facilite la coagulation des protéines par la pression ainsi que la synérèse. L'abaissement du pH limite aussi la croissance des bactéries indésirables [19]. Enfin la production d'acide lactique intervient également sur le goût des produits fermentés, soit directement dans les produits frais, soit indirectement en agissant sur les activités enzymatiques pendant l'affinage [2].

II.1.8.2. Utilisation des bactéries lactiques dans la panification :

Les levains de panification sont constitués d'une flore sauvage issue de la farine, elle comprend des levures qui assurent la fermentation, mais également une flore bactérienne variée au sein de laquelle les bactéries lactiques sont largement représentées. Les *Lactobacillus* sont majoritaires, avec les espèces *Lb.plantarum*, *Lb.brevis*, *Lb.casei* ou *Lb.sanfrancisco*. La composition de la pâte et les conditions d'anaérobiose conviennent bien à ces bactéries lactiques [2].

II.1.8.3. Bactéries lactiques dans les produits carnés :

Les bactéries lactiques interviennent comme agents de fermentation dans les préparations des viandes salées, épicées et ne subissant aucun traitement thermique d'assainissement, comme les saucissons. Les bactéries ajoutées sont les lactobacilles, avec trois espèces principales : *Lb.sake*, *Lb.curvatus* et *Lb.plantarum* des *Pediococcus damnosus*, *pentosaceus* et *acidilactici* interviennent également. Ils participent à l'acidification rapide du produit dans les premiers jours de sa fabrication, puis à sa maturation [2].

II.1.8.4. Bactéries lactiques dans la vinification et la cidrerie :

En vinification, les bactéries lactiques interviennent dans la fermentation molo-lactique qui provoque la transformation de l'acide malique en acide lactique et CO₂. Elle permet également de stabiliser le vin. L'étude du processus mis en jeu a montré qu'il implique essentiellement les genres *Leuconostoc* et *Oenococcus*. En cidrerie, la fermentation molo-lactique se produit dans une moindre mesure. Elle implique des *Leuconostoc* mais également des *Lactobacillus* [2].

II.1.8.5. Utilisation des bactéries lactiques dans les produits végétaux :

Les bactéries lactiques interviennent dans la préparation de nombreux produits végétaux fermentés selon des méthodes plus ou moins traditionnelles. L'exemple le plus connu est le choucroute, obtenue par fermentation lactique de lanières de chou en présence de sel. Elle fait intervenir trois espèces principales : *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus brevis*. D'autres préparations à base de fruits ou légumes salés (olives, concombres) font intervenir une fermentation lactique spontanée réalisée par la flore naturelle, où l'on trouve les espèces citées pour la choucroute ainsi les *Pediococcus* [2].

II.1.8.6. Production microbienne d'acide lactique :

La production d'acide lactique fut la première production d'un acide organique microbienne en 1880. L'acide lactique peut être produit industriellement à partir de milieux synthétiques de lactosérums de fromagerie ou de perméats d'ultrafiltration contenant du lactose mais aussi à partir de matières amylacées hydrolysées chimiquement ou enzymatiquement ou à partir de saccharose. La production microbienne est environ 20.000 tonnes par an, entièrement d'acide L- lactique. L'acide lactique obtenu utilisé en industrie agro-alimentaire comme additif acidifiant et conservateur dans les boissons, les jus de fruits, les sirops ... ets, dans l'industrie

pharmaceutique sous forme de sels, dans l'industrie de tannerie comme complexant du calcium et dans l'industrie du plastique comme monomère [3].

II.1.8.7. Utilisation des bactéries lactiques comme probiotiques :

Depuis une dizaine d'année, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de cultures lactiques à effets bénéfiques pour la santé ou « probiotiques » (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale. Dans la majorité des cas, les produits laitiers tels les yaourts, lait fermenté, fromages, lait en poudre et crèmes glacées ont été choisis comme véhicules privilégiés des cultures probiotiques. La propagation des bifidobactéries est cependant problématique du fait de leur sensibilité à l'oxygène, de leur faible tolérance aux acides issus de leur métabolisme et de leurs exigences nutritionnelles [12]. L'utilisation du terme probiotique remonte à 1965 et fait référence à toute substance ou organisme qui contribue à l'équilibre dans l'intestin [5], plus récemment, les probiotiques ont été définis comme des organismes vivants qui, après ingestion en certaines quantités, exercent des effets bénéfiques pour la santé allant au-delà des vertus nutritives inhérentes de base [22].

II.1.9. Altérations liées aux bactéries lactiques :

Dans toutes les denrées où la flore lactique est présente, son activité métabolique peut également se manifester par des effets négatifs sur la qualité des aliments du fait des altérations provoquées par la production de métabolites [2]. Ces altérations présentent une difficulté capitale pour les industries de l'agroalimentaire, avec des conséquences sensorielles négatives pour le consommateur [23].

II.19.1. Altérations liées à la production d'acide lactique et autres acides organiques :

Elles se manifestent dans le lait cru, en cas de maintien à la température ambiante ou rupture de la chaîne du froid. Le développement de la flore lactique sauvage et l'acidification non contrôlée qui s'ensuit entraînent une altération irréversible du produit. Il faut noter également qu'une acidification trop marquée est nuisible à l'affinage de certains fromages et à la qualité des yaourts par exemple. L'acidification trop poussée non contrôlée est également à l'origine de l'altération des produits carnés [2, 24].

II.1.9.2. Altérations liées à la production des polysaccharides :

Certaines bactéries lactiques, notamment les *Leuconostoc* et certains *Lactobacillus* produisent des polysaccharides. Ils sont responsables de la formation de films muqueux en surface des produits carnés conservés sous vide ou de produits de salaison comme le jambon ou le bacon. Des pédiocoques sont également à l'origine de l'apparition d'une viscosité de la bière contenant encore une grande quantité de sucres fermentescibles [2, 25].

II.1.9.3. Altérations liées à la production de gaz :

Cette production caractéristique des bactéries hétérofermentaires, tels les *Lactobacillus* et les *Leuconostoc*. Son effet sur l'altération peut être sensible dans le cas de viandes conservées sous vide où la production de CO₂ par les bactéries provoque des défauts d'aspect [2]. La production du CO₂ est due à une décarboxylation des acides animés [26].

II.1.9.4. Altérations liées à la production des composés aromatiques :

L'équilibre des saveurs dans un produit alimentaire où interviennent des microorganismes est souvent difficile à maîtriser et résulte d'un ensemble de processus métaboliques complexes. La production des composés aromatiques par les bactéries lactiques peut conduire à des saveurs nuisibles à la qualité du produit. Des protéases de certaines bactéries peuvent produire des peptides amers en production fromagère, ainsi que la dégradation des lipides donne des acides gras volatiles, des aldéhydes ou des cétones qui confèrent aux produits des odeurs désagréables [2].

II.1.9.5. Altérations liées à la production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂):

Le peroxyde d'hydrogène produit par certaines bactéries lactiques peut s'accumuler dans certaines conditions et réagir avec les pigments de la viande pour former une porphyrine. Il s'ensuit un verdissement observé sur des produits tels que les saucisses et le jambon cuit conservés sous vide. Les lactobacilles hétérofermentaires, les pédiocoques et les entérocoques peuvent être à l'origine du phénomène [2]. Les lactobacilles, les leuconostoc sont les principales espèces bactériennes responsables des altérations des produits carnés [27,28].

II.2. Microflore intestinale normale :

II.2.1. Description générale : écosystème gastro-intestinal :

A la naissance, les bébés sont dépourvus de microorganismes, mais ils deviennent rapidement colonisés par une microflore dense et complexe venant de la mère [29], et du milieu environnant [30]. Une population moins dense est observée dans l'estomac et le duodénum (103-105 cfu/g de contenu) en raison des conditions acides, alors qu'une population plus diversifiée et plus dense est observée dans le jéjunum et l'iléum (108 ufu/g). Le colon est la partie la plus colonisée du tractus digestif dont 400 espèces ont été isolées [31]. La composition de la flore intestinale d'un adulte, qui est relativement stable au cours du temps, est spécifique de chaque individu [4, 32]. Le tractus gastro-intestinal est un écosystème complexe et ouvert aux microorganismes exogènes. De par sa surface totale (muqueux) estimée à 200-300 m², il représente la plus grande surface du corps en contact avec l'environnement [33].

L'écosystème gastro-intestinal est généré par une alliance stable entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire et une importante flore microbienne. Ces trois composants sont continuellement liés entre eux et évoluent ensemble en assurant une fonction et une activité normale de l'écosystème. Si l'un des trois composants de l'écosystème est défaillant, l'alliance est altérée et par conséquent diverses pathologies s'y installent [34].

Les interactions entre les microorganismes et l'hôte peuvent être de trois types : symbiose, commensalisme et pathogénicité [35]. L'hôte est protégé contre la microflore intestinale pathogène par les barrières chimiques et physiques formées par l'épithélium gastro-intestinal [36]. Le rôle de la microflore intestinale n'est pas encore bien connu, mais elle semble avoir des fonctions nutritionnelles, métaboliques, immunologiques et protectrices [37, 38]. En effet par la fermentation des sucres, elle libère principalement des gaz (H₂, CO₂), de l'acide lactique et des acides gras à courtes chaîne [39]. Ces derniers, particulièrement le butyrate sont absorbés au niveau du colon et sont utilisés comme source d'énergie par les cellules humaines [40].

Après une colonisation complète, la microflore intestinale est considérée comme un organe acquis après la naissance. Il est constitué d'une grande diversité d'espèces microbiennes assurant différentes jonctions pour l'hôte. La microflore du tractus gastro-intestinal a été estimée à près de 10¹³ - 10¹⁴ cellules microbiennes. Cette microflore représente environ 10 fois le nombre total de cellules du corps humain [41,42]. La figure 05 représente la microflore normale de l'homme dans les différents compartiments.

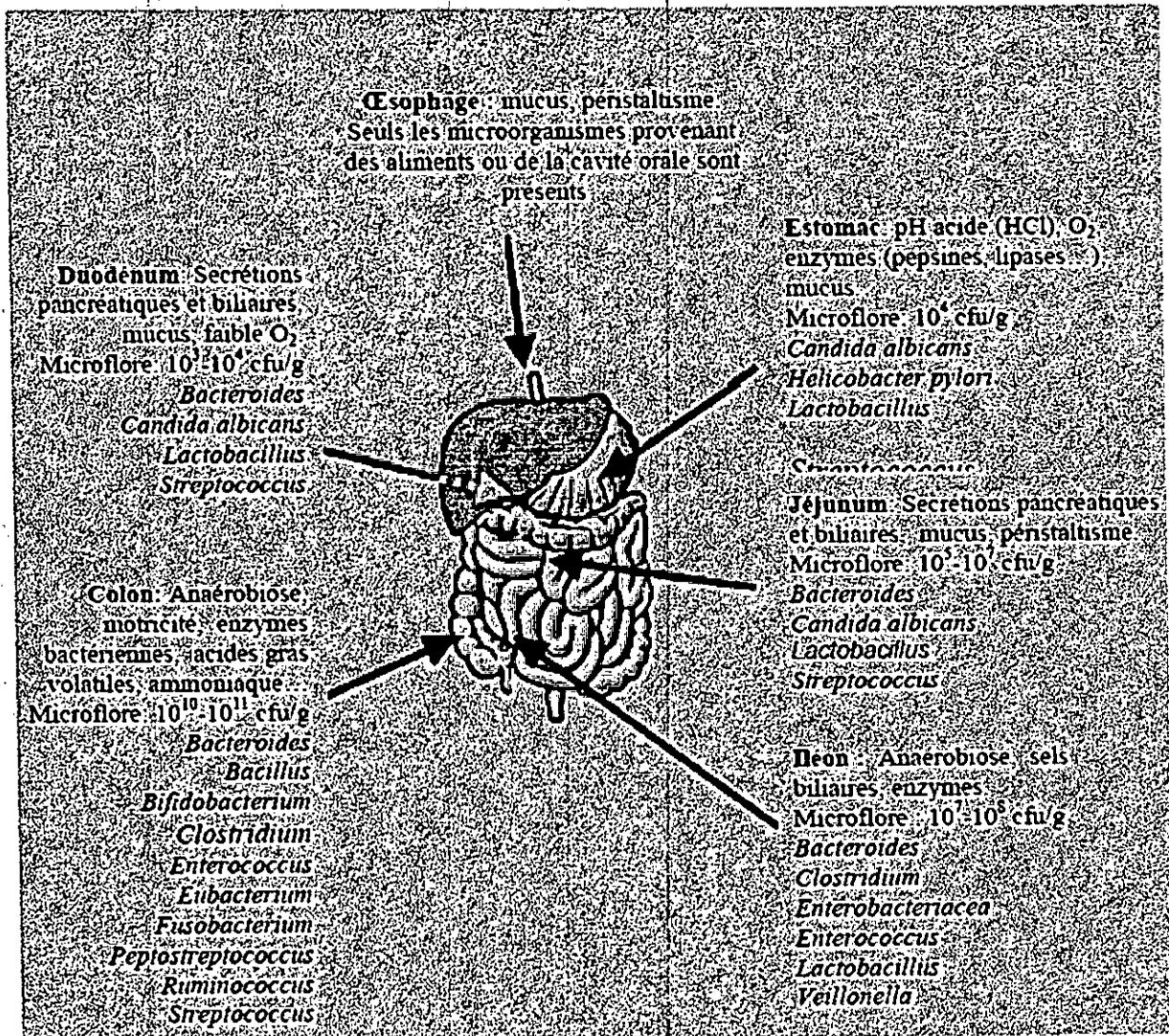


Figure 05: Microflore normale des différents compartiments de l'homme [43].

La prévalence des bactéries dans le tractus gastro-intestinal dépend des conditions régnantes dans le compartiment du tractus. Deux catégories de bactéries ont été identifiées : les bactéries autochtones ou résidentes se trouvant dans des niches particulières, la distribution des bactéries se diffère d'un compartiment à l'autre du tractus digestif, et les bactéries allochtones ou transitoires rencontrées dans d'autres habitats du tractus. La majorité des bactéries pathogènes sont allochtones et vivent normalement en harmonie avec l'hôte, excepté lorsque l'équilibre du système est rompu [44].

De point de vue microbiologique, l'environnement gastro-intestinal comprend trois régions principales qui offrent des conditions très différentes pour la survie des différents

microorganismes. Dans le premier compartiment, l'estomac, la prolifération microbienne est fortement réduite par la présence d'oxygène apporté par la déglutition et une forte acidité. De ce fait, l'estomac héberge sélectivement les microorganismes acidotolérants et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles, streptocoques, levures... etc. Dans le deuxième compartiment qui est le petit intestin, la microflore est constituée essentiellement de bactéries anaérobies facultatives tels que les lactobacilles, les streptocoques et les entérobactéries, et les anaérobies strictes notamment les bifidobactéries, les bactéroïdes et les clostridies. Dans le dernier compartiment qui est le colon (dépourvu d'oxygène), le transit digestif est plus lent et la flore microbienne est plus abondante, représentant 35 à 50% du volume du contenu du colon humain [45,46].

La microflore du colon est très complexe est dominée par les bactéries anaérobies strictes (*Bacteroïde ssp*, *Clostridium ssp*, *Bifidobacterium ssp*, *Atopobium ssp* ...). Tandis que les bactéries anaérobies facultatives sont moins nombreuses et représentées par les lactobacilles, les entérocoques, les streptocoques, et les *Enterobacteriaceae*. Les levures (ex. *candida albicans*) sont relativement faiblement représentées. La charge microbienne dans les différents compartiments a été estimée à environ : 10^4 , 10^{3-4} , 10^{5-7} , 10^{7-8} , et 10^{10-11} unités formants colonies (cfu) / g dans l'estomac, le duodénum, le jéjunum, l'iléon et le colon respectivement [43,47].

Les bifidobactéries et les lactobacilles et certains entérocoques, *E.coli*, streptocoques et bactéroïdes, se distinguent par leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, comme l'amélioration de la modulation et de l'intégrité de l'intestin, l'antagonisme contre les pathogènes et la modulation de la fonction immunitaire [48-50]. Les principaux composants de la flore du colon sont représentés dans la figure 06.

Toutefois il faut noter qu'une partie de la flore gastro-intestinal (fraction minoritaire) demeure non cultivable et moins explorée, et ce pour diverses raisons : Méconnaissance des besoins de croissance de certaines bactéries, la sélectivité de milieux utilisés, le stress dû aux conditions de culture, la nécessité d'anaérobiose stricte et la difficulté de stimuler les interactions entre les bactéries et autres microorganismes ou les cellules de l'hôte [51].

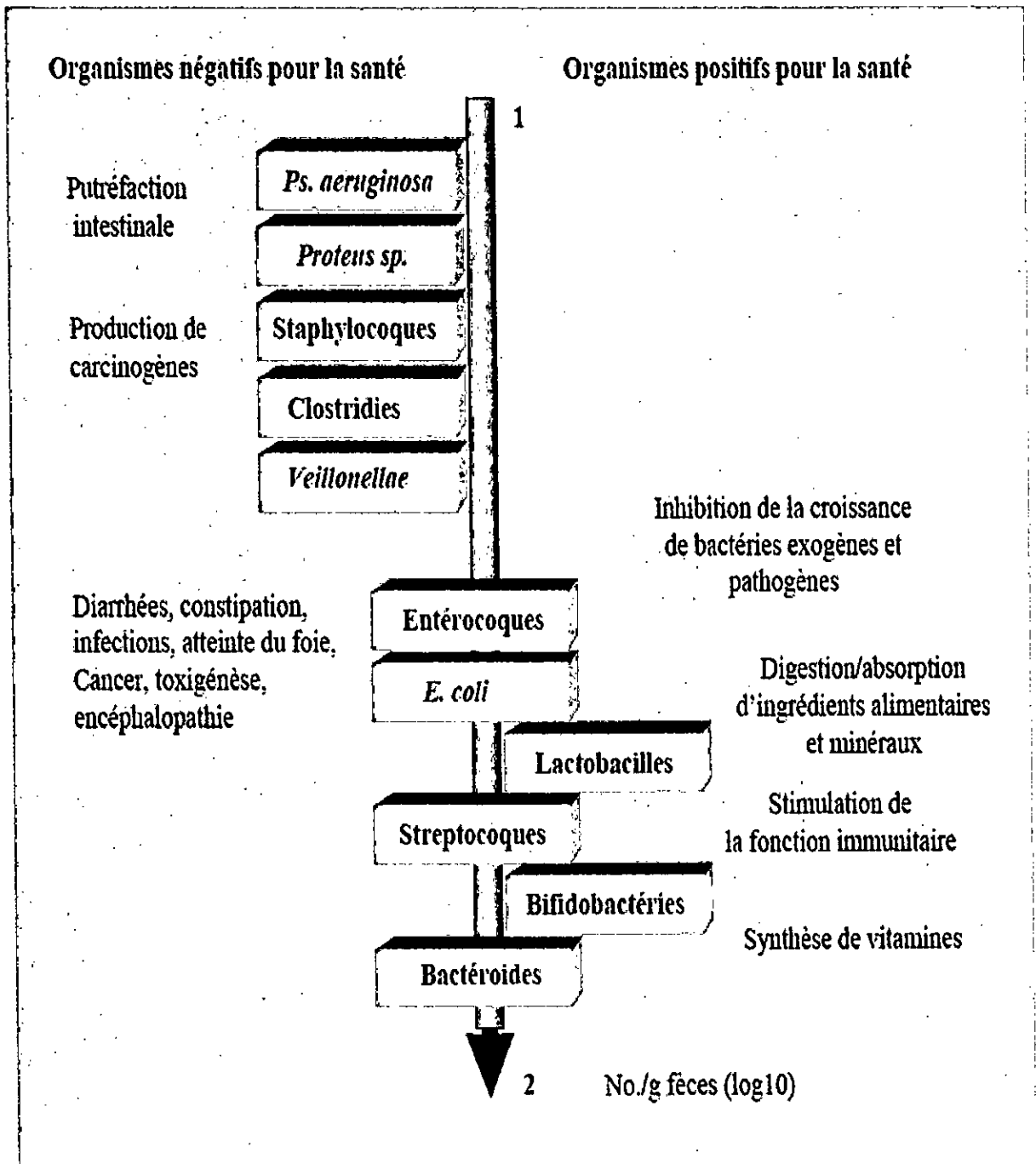


Figure 06: Principaux composants du colon humain [48].

II.2.2. Factures influençant la microflore gastro-intestinale :

Divers facteurs peuvent influencer la microflore gastro-intestinale et qui sont liés aux conditions de l'hôte (age, état de santé...etc.), le régime alimentaire et les circonstances environnementaux (contamination par les pathogènes, antibiothérapie, chimiothérapie, stress,...) (tableau 06) [52-54].

Tableau 06: les principaux facteurs influençant la composition et la fonction de la microflore intestinale [54].

Facteurs médiés par l'hôte	Facteurs microbiens
<ul style="list-style-type: none"> - pH, sécrétions (immunoglobulines, bile, sels, enzymes), - Motilité (péristaltisme), - Physiologie (variable selon les compartiments), - Cellules détachées, mucines, exsudats de tissus. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adhésion - Motilité - Flexibilité nutritionnelle - Spores, capsules, enzymes, composants antimicrobiens - Temps de génération.
Interactions microbiennes	
Synergie	Antagonisme/ stimulation
<ul style="list-style-type: none"> - Coopération métabolique - Excrétion de vitamines et facteurs de croissance - Changement de Eh (potentiel d'oxydo-réduction), pH et tension d'O₂. 	<ul style="list-style-type: none"> - Acides gras de courte chaîne, amines. - Changement de Eh, pH et tension d'O₂ - Composants antimicrobiens, siderophores, - Besoins nutritionnels, etc.
Régime alimentaire	
Composition, fibres non digestibles, drogues, etc.	

Ces divers facteurs peuvent perturber l'équilibre de l'écosystème intestinal en favorisant des espèces particulières par rapport à d'autres. Dans certains cas, ce déséquilibre peut être très favorable à la prolifération de microorganismes opportunistes pathogènes, pouvant compromettre la santé et le bien-être de l'hôte. Il serait impératif de rechercher des solutions alternatives permettant la restauration de l'équilibre de la microflore. L'utilisation des probiotiques s'est avérée une alternative prometteuse.

II.3. Probiotiques :

II.3.1. Généralités et historique :

Depuis des siècles, l'homme consomme des bactéries via les laits fermentés ou d'autres produits laitiers. Un effet bénéfique des laits fermentés sur le fonctionnement du système digestif a été constaté dès le début de 20ème siècle.

Depuis, des données abondantes dans le même sens se sont accumulées et le phénomène a été qualifié de probiotique [55].

Au début du siècle, l'immunologiste Russe le professeur Ellie Metchnikoff [56] émet l'hypothèse de la « prolongation de la vie » et qui a pensé que la longévité reconnue de certaines peuplades comme les bulgares, les turcs et les arméniens, pourrait être due à une particularité de leur alimentation. En effet ces peuples consomment au quotidien de grandes quantités de lait fermenté, ancêtre de yaourt (il identifiera dans ce lait deux bactéries, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, auxquelles il attribuera ce bienfait de « longue vie » [56]. C'est en 1954 que le terme « probiotique » sera pour la première fois introduit dans la littérature par Ferdinand Vergin. La racine grecque du mot « pro » et « bios » qui signifie « pour la vie », sous-entend pour son créateur que la substance ainsi dénommée a un effet bénéfique sur la vie au sens large du terme, par opposition aux effets négatifs des antibiotiques [57]. Quelques dix ans plus tard Lilly DM et Stillwell RH publient dans la grande revue scientifique « science » les résultats de leurs travaux montrant que les probiotiques sécrètent des facteurs capables de stimuler la croissance d'autres micro-organismes [58]. Les probiotiques sont utilisés pour traiter ou pour la prévention des maladies, il ont utilisés comme facteurs de croissance [59], pour l'intolérance du lactose [60], ils ont un effets antituberculeux et anticholestérolémique [61,62], utilisés pour la destruction des carcinogènes [63,64], pour le traitement des différentes diarrhées [65-71]. Ils peuvent aussi améliorer la qualité des viandes de consommation [72].

II.3.2. Définition des probiotiques :

Plusieurs définitions ont été données aux probiotiques, Lilly et Stillwell [58], utilisent le mot probiotique pour décrire des substances produites par un micro-organisme et stimulent la croissance d'autres microorganismes. Selon Parker [73], les probiotiques désignent les microorganismes et les substances qui contribuent au maintien de l'équilibre de la flore intestinale. Cette définition a été modifiée par Fuller [74], qui définit les probiotiques comme étant : des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire et qui ont une

action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale. Enfin en 2002 le groupe de travail mixte formé par l'organisation des nations unies pour l'agriculture et l'alimentation (FAO) et l'organisation mondiale pour la santé (OMS) a adopté la définition suivante :

« Les probiotiques sont des micro-organismes vivants administrés en quantités adéquates et qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte » [75].

II.3.3. Microorganismes utilisés comme probiotiques :

La majorité des microorganismes utilisés comme probiotiques sont des bactéries dont les lactobacilles et les bifidobactéries sont les plus utilisés, mais on trouve aussi des champignons et des levures.

Parmi les bactéries on trouve [76-79]:

* *Lactobacilles* : *Lb.acidophilus*, *Lb.sporongenes*, *Lb.plantarum*, *Lb.rhamnosus*, *Lb.delbrueckii*, *Lb.reuteri*, *Lb.fermentum*, *Lb.lactis*, *Lb.cellobiosus*, *Lb.brevis*, *Lb.bulgaricus*, *Lb.helveticus*, *Lb.salivarius*, *Lb.johnsonii*.

* *Bifidobacterium*: *B. bifidum*, *B. infantis*, *B.longum*, *B. thermophilum*, *B. animalis*

* *Streptococcus*: *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. intermedius*, *S. thermophilus*

* *Leuconostoc*.

* *Pediococcus*.

* *Bacillus*.

* *Enterococcus* : *E. faecium*, *E. faecalis*.

Parmi les levures et les mycètes on trouve : la levure *Saccharomyces boulardii*, les mycètes, *Aspergillus niger* et *Aspergillus oryzae* [41,76].

Les souches ou les espèces probiotiques sont des composants normaux de la flore intestinale [80], en général, les souches probiotiques sont sélectionnées prioritairement pour leurs effets bénéfiques et leur sécurité d'utilisation. Cependant l'aptitude des souches bactériennes à stimuler la jonction immunitaire est très variable, seulement certaines souches sont reconnues capables d'exercer des effets immunomodulateurs sur l'organisme hôte [81]. Il faut noter que les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont de plus en plus utilisées dans les produits probiotiques à cause des nombreux effets bénéfiques sur la santé associés à leur consommation [82].

II.3.4. Critères de sélection des souches probiotiques :

Les probiotiques doivent répondre à certaines propriétés et critères qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne, en général un bon probiotique doit être [76, 77, 83, 84, 85, 86,] :

- non pathogène, non toxique ;
- résistant à l'acidité gastrique et aux sels biliaires ;
- Capable d'adhérer à l'épithélium gastro-intestinal ;
- Capable de survivre et avoir une activité métabolique dans l'intestin ;
- Capable de produire des molécules antibactériennes (contre les bactéries pathogènes) ;
- Capable de réduire le pH du colon ;
- Effets sur la santé documentés et cliniquement validés.

Cependant le critère de viabilité ou de survie demeure essentiel dans la sélection des probiotiques. La capacité de survie des probiotiques dans l'hôte après leur ingestion dépend de leur résistance intrinsèque, des facteurs de l'hôte et de véhicule par lequel ont été ingérés [87], il y a plusieurs facteurs qui influent sur la capacité de survie des probiotiques, on note, l'acidité gastrique, l'oxygène, le potentiel redox, les sels biliaires, le mucus, et l'interaction avec la flore endogène [88-90]. Certains de ces critères sont maintenant remis en question, comme les propriétés d'adhérence [91,92].

II.2.5. Mécanismes d'action des probiotiques :

Il y a plusieurs explications possibles au fait que les microorganismes probiotiques déplacent les agents pathogènes et augmentent le développement et la stabilité de l'équilibre dans le gros intestin. Il s'agit :

- D'une compétition avec les germes pathogènes pour les nutriments et les sites de fixation [4] ;
- De l'inactivation des toxines ou des métabolites des bactéries pathogènes [4] ;
- De la production d'inhibiteurs de la croissance des organismes pathogènes [4] ;
- De la stimulation de l'immunité spécifique [4] ;
- De la production de l'acide lactique et l'acide acétique qui inhibent les germes pathogènes, stimulation de la production des IgA [93], diminuant la production des cytokines pro-inflammatoires comme $INF\gamma$ et $INF\alpha$, IL-12 [94,95].

Les mécanismes par lesquels la microflore et les probiotiques modulent les fonctions immunes sont spécifiques de chaque souche et sont encore mal connus, on peut définir deux grands mécanismes [96]:

- La stimulation directe des cellules immunitaires via les interactions cellules-cellules.
- La dégradation des antigènes alimentaires et libération de composés aux propriétés immunes modifiées (figure 07).

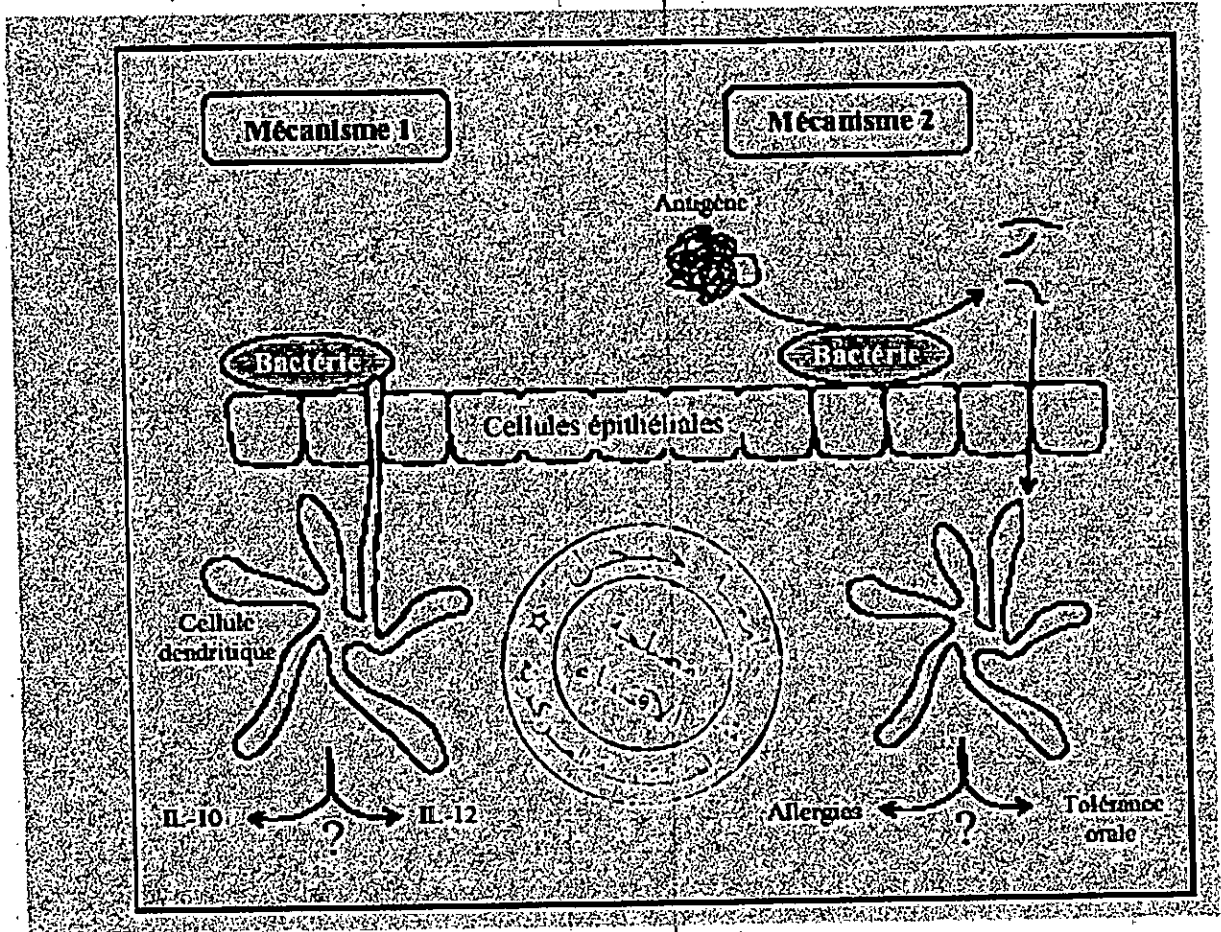


Figure 07 : Mécanismes d'action des probiotiques [96].

Le premier mécanisme fait l'objet de nombreuses études depuis la découverte de nouveaux récepteurs sur les cellules eucaryotes. Ces récepteurs sont appelés TLRs (Toll Like Receptors) et reconnaissent des motifs structuraux invariants d'origine bactérienne, appelés PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns). Les premiers motifs invariants sont des polysaccharides (bactéries à Gram négatif), les peptidoglycanes et les acides lipoteichoïques (bactéries à Gram positif), et les motifs CpG de l'ADN. Les PAMPs reconnaissent des TLRs différents, ce qui engendre des réponses variées, par exemple les lipopolysaccharides et les

acides lipoteichoïques reconnaissent le TLR4, se qui engendre la production d'IL-10 alors que les peptidoglycanes reconnaissent le TLR-2 en association ou non avec le TLR-6, et stimule la production des cytokines pro-inflammatoires (IL-12) [96].

Le deuxième mécanisme, basé sur l'activité métabolique de la microflore, il a été démontré que l'hydrolyse des protéines laitières par les bactéries probiotiques modifie leurs propriétés immunomodulantes. Le lait fermenté avec différentes bactéries probiotiques (*Bifidobacterium lactis* Bb12 et *Lactobacillus paracasei ssp paracasei*) et dépourvu de tout extrait bactérien après fermentation, induisait une stimulation *in vitro* de la production d'IL-6 par les macrophages, bien que la stimulation était moindre avec le lactobacille. L'immunomodulation a été attribuée à des composés de nature protéique isolés par chromatographie. Ceci démontre que l'activité métabolique des bactéries probiotiques dégrade les protéines alimentaires et libère des composés immunomodulants [96].

II.3.6. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé :

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques, la figure 08 illustre les effets bien santé de ces derniers [97].

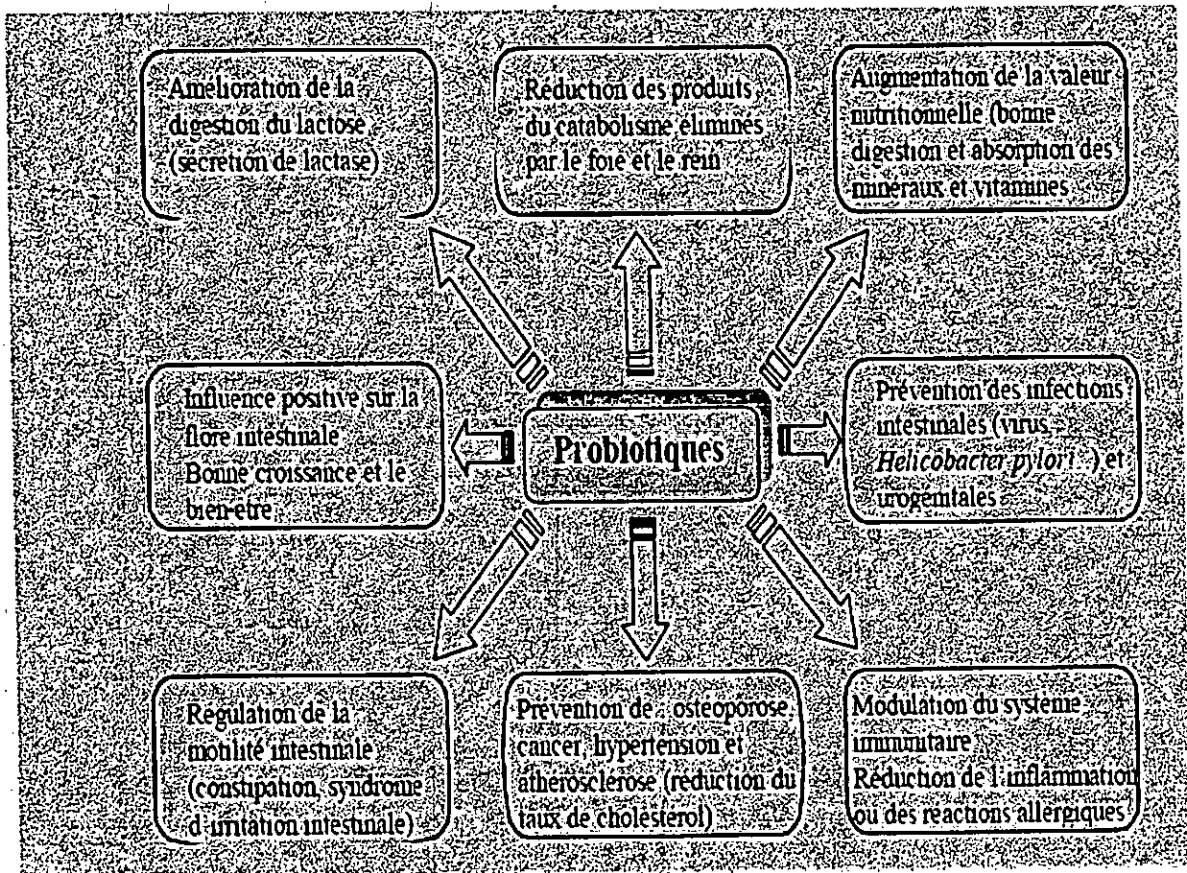


Figure 08 : les effets bénéfiques des probiotiques [97].

II.3.6.1. Effet des probiotiques sur les bactéries pathogènes :

Les bactéries probiotiques peuvent exercer un effet contre les germes pathogènes par plusieurs mécanismes. Ils empêchent l'adhésion et la colonisation des pathogènes sur la muqueuse intestinale, compétition pour les nutriments, la production des toxines [98]. Les acides gras à courtes chaînes, l'acide acétique ont une activité contre les bactéries pathogènes, les champignons et les levures [99], la production du peroxyde d'oxygène et l'acide benzoïque peut inhiber les pathogènes et les bactéries sensibles à l'acidité [99-103].

II.3.6.2. Effet des probiotiques sur le taux du cholestérol :

Les probiotiques ont un effet bénéfique sur le taux du cholestérol sanguin, il se trouve que le *Lactobacillus acidophilus* NCFM et *Lactobacillus sporogenes* peuvent diminuer le taux du cholestérol en présence de la bile est en absence de l'oxygène, et ces deux conditions sont présentes dans le tractus intestinal [76, 77,99, 104, 105, 106,].

II.3.6.3. Probiotiques pour le traitement et la prévention des diarrhées :

Les infections entérogéniques sont des affections très largement répondues, il est actuellement connu que la microflore gastro-intestinale exerce une barrière contre les entéropathogènes. L'utilisation des probiotiques semble efficace dans ces cas, comme la prévention et le traitement des gastro-entérites aiguë et les infections chez l'enfant [83,107]. Il sont également efficaces dans le traitement des diarrhées liées à la prise des antibiotiques [67, 68, 69, 93,108, 109]. Les probiotiques sont utilisés également dans le cas d'une diarrhée virale aiguë et les diarrhées à rotavirus [110-114], ils sont capables de guérir les diarrhées chez le nourrisson [65,115]. Il sont efficaces dans le cas de diarrhées des voyageurs [78, 116,117].

II.3.6.4. Probiotiques dans les maladies inflammatoires :

Les processus inflammatoires impliqués dans les pathologies de l'intestin de l'homme comme la maladie de Crohn, la colite, qui sont contrôlées par les probiotiques, *Lactobacillus GG* améliore l'état des patients dans ces cas [118-120]. Ils sont efficaces dans les inflammations associées aux arthrites rhumatoïdes [121]. *Saccharomyces boulardii* peut également être utilisée dans le cas de maladie Crohn, aussi une formule contient des espèces de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* peut être utilisée dans ces cas [103].

II.3.6.5. Probiotiques contre l'*Helicobacter pylori* :

L'association entre l'infection à *Helicobacter pylori* et le développement d'ulcères duodénaux et gastriques a été connue ces dernières années, les traitements antibiotiques usuels n'étant pas toujours efficaces et souvent associés à des effets secondaires, l'utilisation de probiotiques constitue une autre solution, le *Lactobacillus salivarius* capable de produire une grande quantité d'acide lactique qui inhibe le développement du germe *in vitro* [121]. Les probiotiques n'ont pas pu éradiquer totalement le germe, l'utilisation du *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus acidophilus* ont réduit l'inflammation gastrique mais ils n'ont pas pu éradiquer la

bactérie [103,122]. Une efficacité accrue constatée d'un traitement médicamenteux lorsqu'il était associé à la consommation du lait fermenté [123].

II.3.6.6. Probiotiques dans la prévention du cancer :

Selon certaines études, les bactéries probiotiques ont la capacité d'inhiber les processus conduisant à la formation du cancer du colon chez des modèles expérimentaux [121]. Il a été constaté qu'il y a une réduction du cancer du colon dans le cas d'utilisation des lactobacilles, comme l'utilisation de *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, ainsi l'administration de *Bifidobacterium longum* a également un effet sur les tumeurs du colon [77, 123], *Lactobacillus casei shirota* a un effet contre les tumeurs colorectales [124], le *Lactobacillus helveticus* R389 a également un effet positif au cas du cancer du sein [125], également les bactéries du yaourt peuvent intervenir directement dans la modulation des marqueurs de risques du cancer colique [126].

II.3.6.7. Probiotiques dans l'intolérance du lactose :

La mauvaise digestion du lactose est un problème très fréquent. Plusieurs auteurs ont constaté que l'absorption du lactose à partir du yaourt était mieux que du lait, ceci dû à la digestion du lactose par la lactase des microorganismes du yaourt [78,93]. La déficience en lactase est due à une faible activité en lactase intestinale, donc la lactase bactérienne peut intervenir dans ce cas. Les bactéries lactiques est une solution dans le cas de mauvaise digestion du lactose, comme l'utilisation des bactéries du yaourt et d'autres lactobacilles, comme *Lactobacillus acidophilus* [78].

Trois hypothèses ont été proposées sur cet effet bénéfique :

- digestion du lactose dans la lumière intestinale par la lactase bactérienne,
- ralentissement de vidange gastrique et de transit gastro-intestinal, ceci laisse à la lactase intestinale et bactérienne d'agir,
- stimulation de l'activité lactasique de la muqueuse intestinale par les bactéries [127].

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes :

Ce travail était réalisé au niveau de laboratoire de recherche de pharmacologie et de phytochimie à l'université de Jijel (Algerie).

III.1. Matériel :

III.1.1. Animaux :

Dans notre étude on a utilisé des rats Albinos souche Wistar d'origine de l'institut Pasteur d'Alger, un totale de 18 rats étaient utilisés pour l'ensemble de la partie expérimentale.

III.1.2. Herbe verte :

Pour la mise en place d'un souchier de bactéries lactiques on a utilisé comme niche écologique une plante qui s'appelle *Cynodon dactylon* récoltée de la région de Jijel.

III.1.3. Saumures d'olives :

Un deuxième substrat a été utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques, c'est la saumure d'olive commerciale (*Olea europea*).

III.1.4. Caecum du rat :

Ce segment a été utilisé pour l'isolement de la microflore caractérisant cette partie intestinale.

III.1.5. Milieux de cultures utilisés :

Dans notre étude on a utilisé plusieurs milieux de cultures à savoir : Le milieu MRS (De MAN, ROGOSA. SHARP) [128], pour la culture et le développement des lactobacilles, le milieu M17 [129], pour le développement des coques lactiques, le milieu YMA (Yeast Milk Agar) pour l'étude du pouvoir protéolytique des bactéries lactiques, la gélose hypersaccharosée pour l'étude de la capacité des bactéries à produire des exopolysaccharides, la gélose héктоène et désoxycholate à 0.1% pour le développement des entérobactéries.

Plus de ces milieux solides on a utilisé des milieux de cultures liquides comme les bouillons MRS et M 17 pour les bactéries lactiques, le bouillon nutritif et SFB (Bouillon de selinite acide de sodium et cystine) pour les entérobactéries et le milieu Clark et Lubs pour la recherche d'acétoïne. Ces milieux sont fournis par l'institut Pasteur d'Alger.

III.2. Méthodes :

III.2.1. Isolement des bactéries lactiques :

La première partie expérimentale était consacrée à la mise en place d'une collection de bactéries lactiques à partir d'une plante qui s'appelle *Cynodon dactylon* et le jus de conservation d'olive. Pour ce faire, la plante utilisée est préparée sous forme d'un ensilage et laissée fermentée pendant quelques jours, le jus issu de la fermentation est utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques. Concernant le deuxième substrat d'isolement nous l'avons récupéré d'une épicerie. Pour l'isolement de la flore lactique de deux substrats, on dépose quelques gouttes des dilutions de chaque échantillon sur les géloses M17 et MRS et on étale par un râteau stérile. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. La composition du M17 et MRS est en ANNEXE.

III.2.1.1. Purification des souches :

Après 24 heures d'incubation on obtient des colonies sur les deux milieux le M17 et le MRS, à partir de ces derniers on prend chaque colonie libre et on l'ensemence sur un milieu liquide, le bouillon M17 ou MRS et on incube à 37 °C pendant 24 heures. Après 24 heures on fait un repiquage à partir du bouillon qui contient la souche sur milieu M17 ou MRS solide. On refait la même opération jusqu'à l'obtention sur boîtes de Pétri des colonies homogènes, donc des souches pures.

III.2.1.2. Identification des bactéries :

L'identification des souches se base sur l'étude des caractères morphologiques, physiques et biochimiques [20].

a. Examen macroscopique :

Dans ce test on note après 24 heures d'incubation, la taille des colonies, leurs couleurs et leurs formes sur boîtes de Pétri.

b. Examen microscopique :

Ce test nous permet de classer les bactéries en GRAM + et GRAM- les bactéries qui se colorent en rose sont des GRAM- alors que les bactéries qui prennent la couleur violette sont des GRAM+.

c. Tests biochimiques :

*** Recherche de la catalase :**

Pour mettre en évidence cette enzyme, nous avons émulsionné la culture bactérienne à tester dans l'eau oxygénée, la présence d'une catalase se manifeste par l'apparition des bulles d'oxygène, les bactéries lactiques sont des bactéries qui ne possèdent pas cette enzyme, il y a d'autres qui ont une pseudo catalase.

*** Test de croissance à différentes températures :**

Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles et les bactéries lactiques thermophiles, après ensemencement des tubes contenant un milieu liquides (M17 ou MRS) avec une culture pure de l'organisme à tester, les tubes sont incubés 7 à 10 jours à 10°C et 24 à 48 heures aux autres températures (45°C et 50°C), au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux, le trouble du bouillon témoigne d'une croissance.

*** Test de croissance en milieux hostiles :**

- Lait de SHERMAN :

Ce test donne l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène. Pour obtenir un lait à 0,1% de bleu de méthylène, nous avons ajouté au moment de l'emploi à 9ml de lait stérilisé en tube, 1 ml de bleu de méthylène à 1%. Ce test est surtout intéressant pour différencier les streptocoques et les lactocoques. La même chose est fait avec 0,3% de bleu de méthylène. Ainsi *Lactococcus lactis* est capable de pousser à 0,3% de bleu de méthylène. Les streptocoques fécaux se développent en présence de 0,1% quant à *Streptococcus thermophilus*, il est très sensible au colorant utilisé dans ce test, le test est positif, lorsqu'il y a réduction du bleu de méthylène avec coagulation du lait.

- Bouillon hypersalé :

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux pour l'identification, pour cela nous avons préparé des milieux à 4% et 6,5% de NaCl. Les germes à tester sont inoculés dans les deux milieux et incubés à 37°C pendant 24 heures. La croissance est appréciée par l'apparition de trouble, seul les streptocoques fécaux poussent à 6,5% de NaCl. La composition du milieu est donnée en ANNEXE.

*** Recherche de la réductase:**

Pour réaliser le test nous avons préparé des tubes contenant du lait écrémé stérile, à pH 7, additionné de teinture de tournesol de façon à obtenir une coloration bleue. Après l'ensemencement des tubes par les germes à tester, on incube à 37°C pendant 24 heures. La disparition de la couleur bleue veut dire qu'il y a présence de la réductase. Les Lactocoques proprement dits réduisent le tournesol avant de coaguler le lait, par contre le *Streptococcus thermophilus* acidifie et coagule le lait sans réduction antérieure, le test est positif lorsqu'il y a réduction du tournesol avec coagulation du lait.

*** Production de l'acétoïne:**

Pour réaliser ce test nous avons utilisé le milieu CLARK et LUBS puis nous avons ensemencé des tubes qui contiennent le milieu et nous les avons incubés à 37°C pendant 24 heures. Puis après la durée d'incubation, nous avons effectué sur la culture la création de VOGES-PROSKAUER qui consiste à ajouter dans la culture les réactifs:

VP I (0,5 ml d' α naphтол à 6% dans l'alcool absolu).

VP II (0,5 ml d'une solution de potasse à 15% d'eau distillée).

On agite énergiquement et on laisse reposer 10 minutes à température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un complexe rouge (anneau rouge). La composition du milieu CLARK et LUBS est décrite en ANNEXE.

*** Utilisation de citrate :**

Ce test permet d'établir l'utilisation spécifique du citrate comme seule source de carbone par certaines espèces bactériennes, ce qui provoque l'alcalinisation du milieu indiquée par le virage d'un indicateur coloré de pH, nous avons utilisé le milieu citrate de SIMMONS dans des tubes sous forme inclinée, l'ensemencement se fait par des stries longitudinales, le test est positif si la couleur verte du milieu vire vers le bleu (citrate+).

*** Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH):**

La mise en évidence de cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques, cette enzyme libère l'ammoniac (NH_3) et la citruline à partir de l'arginine. Pour la détermination proprement dite, on ensemence des tubes qui contiennent le milieu de base (milieu Moeller+ADH) par les germes à tester et on incube à 37°C pendant 24 heures, la culture dans le milieu de base se manifeste par un virage au jaune du milieu dû au métabolisme du glucose

(ADH-). La dégradation de l'arginine et la libération d'ammoniac empêchent le virage au jaune (ADH+).

*** Recherche le type fermentaire :**

Ce test permet d'apprécier le type fermentaire ou métabolique par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation du gaz (CO₂). Ce test est réalisé sur le milieu GIBSON- ABDELMALEK. Nous avons ensemencé des tubes qui contiennent le milieu solide, puis nous avons ajouté un bouchon de la gélose blanche et nous avons incubé à 37°C pendant quelques jours. Le développement des bactéries homofermentaires ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose. Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse au contraire le bouchon de la gélose vers le haut du tube (Figure 09). La composition du milieu est mentionnée en ANNEXE.

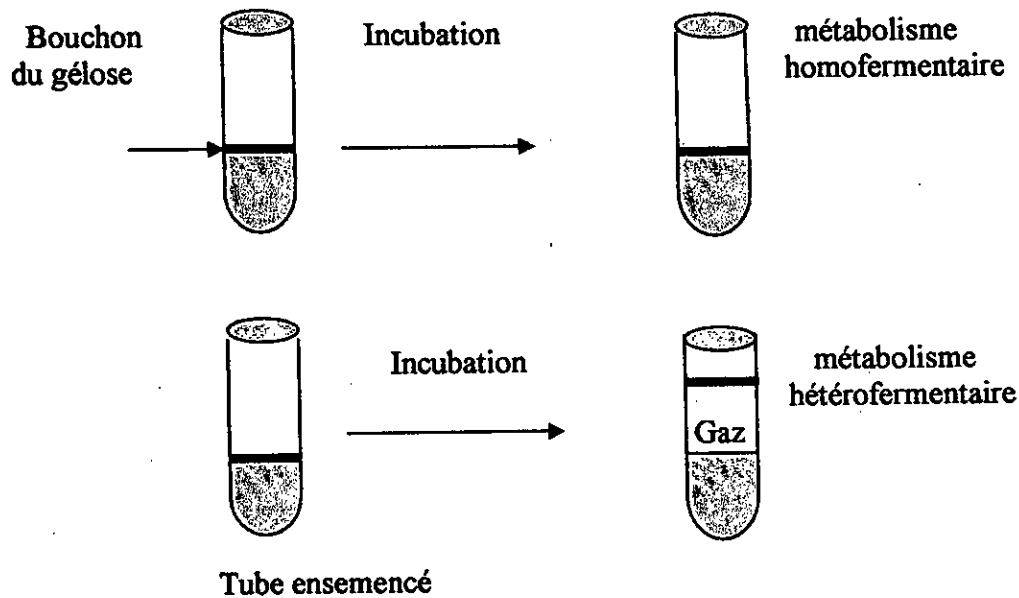


Figure 09: Technique de recherche du type fermentaire

*** Fermentation des sucres :**

Ce test consiste à étudier la fermentation des différents sucres, nous avons utilisé le milieu MEVAG (Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides) où l'on le mélange avec le sucre à tester et nous avonsensemencé ce dernier par la souche à étudier puis on incube à 37°C pendant 24 heures. Le test est positif, s'il y a virage de la couleur rouge du milieu vers le jaune [20]. Les résultats des différents tests morphologiques et biochimiques sont traités par le logiciel API ATB et les bactéries sont identifiées par ce dernier au niveau de laboratoire de biologie des micro-organismes et biotechnologie à l'université d'ES-SENIA-ORAN.

III.2.2. Isolement et identification des bactéries du caecum du rat :

Après le sacrifice d'un rat nous avons prélevé des échantillons élémentaires à partir du caecum de l'animal et nous avons fait un enrichissement sur le bouillon SFB. Après incubation à 37°C pendant 24 heures nous avons fait une série de dilution sur l'eau distillée stérile. A partir de la dernière dilution 10^{-7} , nous avonsensemencé par étalement les géloses hektoène et aux desoxycholate 0.1% que l'incube à 37°C pendant 24 heures, après l'obtention des colonies bactériennes, nous avons fait la purification des souches et puis l'identification, celle ci se fait comme celle des bactéries lactiques en se basant sur les principaux caractères morphologiques et biochimiques.

III.2.3. Etude des aptitudes technologiques des souches :

Dans cette partie on va étudier quelques propriétés technologiques des souches identifiées tel que l'aptitude acidifiante, le pouvoir protéolytique, le pouvoir épaississant, la croissance dans les milieux à différents pH, et les aptitudes antagonistes.

III.2.3.1. Pouvoir protéolytique:

Ce test consiste à étudier la capacité des bactéries à dégrader les protéines, pour cela nous avons utilisé le milieu YMA où, pour tester les souches, ces derniers sontensemencées en utilisant des disques stériles (méthode de diffusion par disque), le pouvoir protéolytique se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour du disque [20] (figure10). La composition du milieu YMA est décrite en ANNEXE.

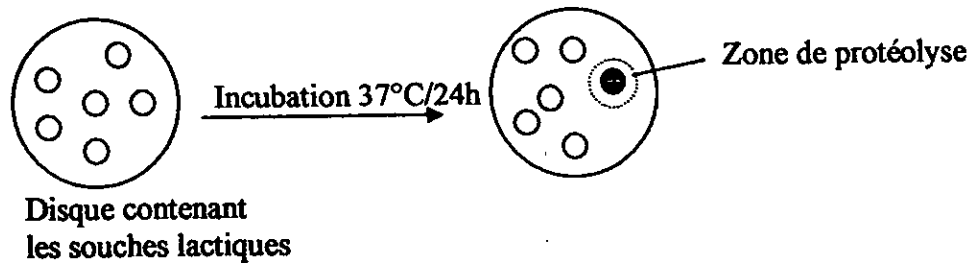


Figure 10: Pouvoir protéolytique

III.2.3.2. Pouvoir épaississant:

Certaines couches de bactéries lactiques ont la faculté de synthétiser des exopolysaccharides, glucanes (dextranes) et fructosanes (levanes) qui constituent la capsule cellulaire.

Pour étudier la capacité de nos bactéries lactiques à produire ces composés nous avons utilisé la gélose hypersaccharosée. L'ensemencement des souches se fait par des stries sur la surface du milieu, les souches productrices d'exopolysaccharides se présentent sous forme de colonies larges et gluantes après 24 heures d'incubation [20]. La composition de la gélose hypersaccharosée est décrite en ANNEXE.

III.2.3.3. Pouvoir acidifiant:

Ce test consiste à étudier la capacité de la souche bactérienne à produire de l'acide lactique au cours de leur métabolisme, l'acidité est déterminée par titration d'un échantillon de 10ml de lait fermenté par la soude doronic (N/9) en présence de 4 à 5 gouttes d'indicateur coloré (phénol phtaléine) jusqu'à virage à la couleur rose pâle qui doit persister au moins 10 secondes, l'acidité est mesuré en 0h, 2h, 6h, et 24h.

L'acidité (°D) = V NaOH * 10. (V NaOH : volume de la soude utilisée) [8].

III.2.4. Croissance sur des milieux à différents pH :

Les souches bactériennes sont ensemencées sur des milieux à pH différents, pH 2 et pH 4, pour cela nous avons utilisé le milieu MRS et nous avons diminué le pH de ce dernier. nous avons choisi une dizaine de souches à étudier et qui sont : O23, O19, O11, O6, O16, O19, O12, O7, O5 et O24. Pour étudier ces souches nous avons fait une série de dilution jusqu'à 10^{-4} , la gélose à pH 2 est ensemencée par étalement de quelques gouttes de la dilution 10^{-2} et celle du

pH 4 estensemencée à partir de la dilution 10^{-3} . La résistance de la bactérie lactique aux milieux acides est appréciée par la croissance après 24 heures [26].

III.2.5. Interactions bactériennes :

C'est l'étude des interactions entre les bactéries, qui peuvent être une symbiose ou les souches peuvent vivre ensemble, une stimulation ou un effet antagoniste, où une souche peut inhiber la croissance d'une autre souche.

III.2.5.1. Interactions entre les bactéries lactiques:

Pour étudier les interactions entre les bactéries lactiques on a choisi une dizaine de lactobacilles qui sont: O23, O19, O11, O6, O16 O21, O12, O7, O5 et O24, et deux souches de coques lactiques qui sont P125 et P117. Pour étudier ces interactions les souches sontensemencée en touche sur le milieu MRS, lorsque les dépôts sont bien secs nous les a incubé à 37°C pendant 24 heures on note la croissance des souches puis on couvre la culture avec 7ml de gélose molle contenant une culture jeune de souche indicatrice (P125 ,117), après solidification du milieu, les boites sont incubées à 37° pendant 24 heures, l'effet antagoniste se manifeste par des zones d'inhibitions au tours de la culture.

III.2.5.2. Interaction entre les bactéries lactiques et les entérobactéries:

Dans ce cas les interactions des bactéries lactiques vont se faire avec des entérobactéries isolées à partir du cæcum de l'animal sur lequel on va travailler, dans notre cas c'est le rat. nous avons utilisé la méthode de diffusion par disques (figure 11), où nous avonsensemencé sur milieu MRS les lactobacilles étudiés (O5, O21, O24, O16, O19) par étalement et nous avons incubé à 37°C pendant 3 heures, puis les disques imbibés par les autres souches (entérobactéries) sont déposés à la surface de la gélose déjàensemencée, puis nous avons incubé le tous à 37°C pendant 24 heures, l'effet antagoniste se manifeste par l'apparition des zones d'inhibitions autour des disques[130].

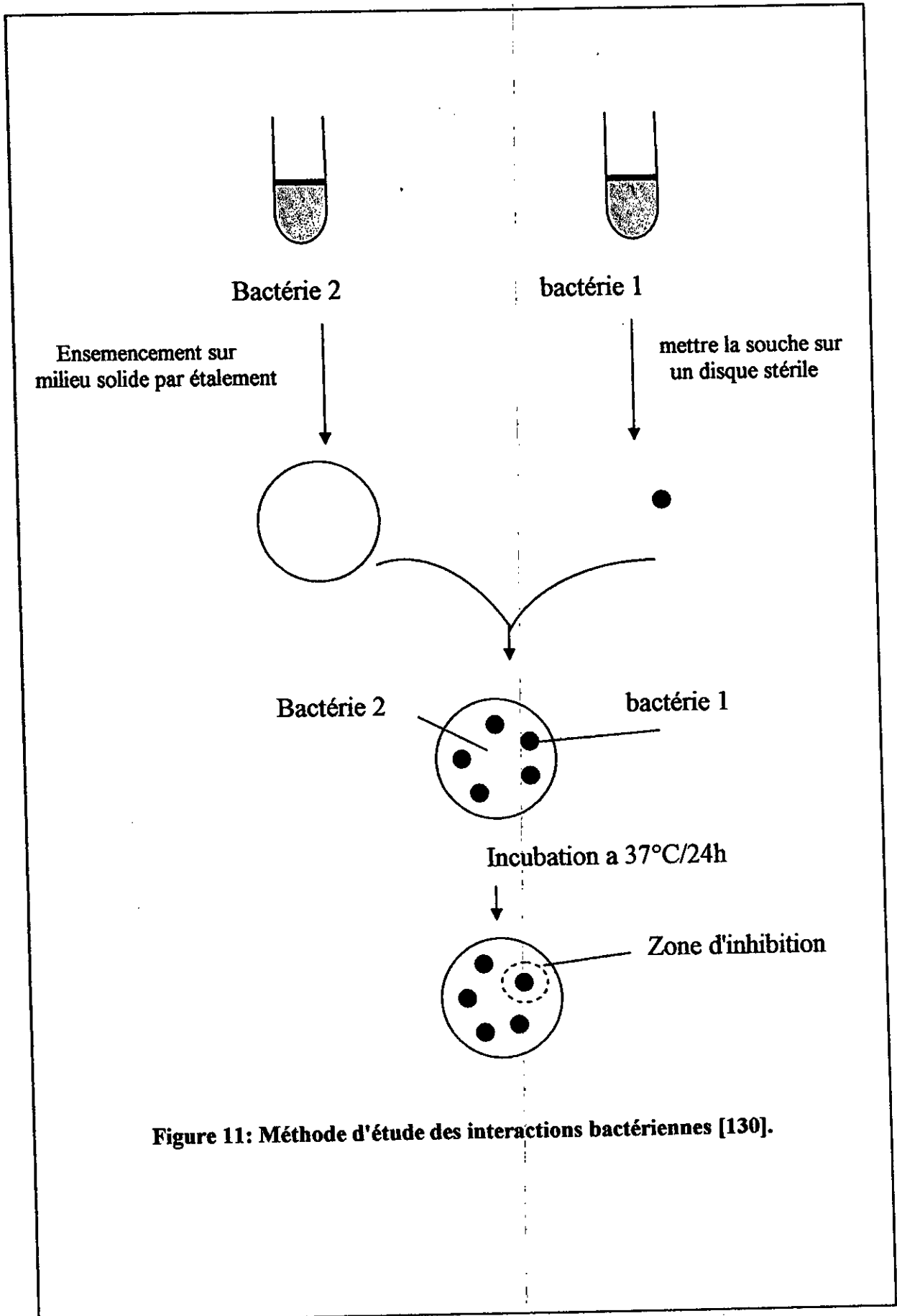


Figure 11: Méthode d'étude des interactions bactériennes [130].

III.2.6. Etude de l'effet des surnageants des cultures de bactéries lactiques sur les entérobactéries:

Les bactéries lactiques ont la capacité de produire des composés antibactériens parmi, l'acide lactique, les bactériocines, H_2O_2 ... etc. Pour récupérer les surnageants des cultures, nous avons fait une incubation des souches à étudier (O5, O19, O16, O5, O24) dans le bouillon MRS à 37°C pendant 24 heures, puis nous avons fait une centrifugation de 10 000 tours/minute pendant 20 minutes à 4°C, après nous avons récupéré le surnageant. Pour déterminer l'activité antimicrobiennes nous avons utilisé la méthode de diffusion par disques (figure 11) où nous avons imbibé les disques dans le surnageant et nous l'avons met sur la surface du milieu solide déjàensemencée par la bactérie à tester (entérobactérie) puis nous avons incubé le tous à 37°C pendant 24 heures. L'effet inhibiteur du surnageant se manifeste par l'apparition des zones d'inhibitions autour des disques [130].

III.2.7. Etude de l'effet probiotique d'une souche bactérienne :

III.2.7.1. Etude de la survie et l'installation des bactéries dans le tube digestif :

Pour réaliser cette partie, nous avons choisi les souches *Lactobacillus plantarum* O16 et O19 qu'on va les administrer aux rats avec une dose journalière de 10 ml avec une charge d'environ 10^{10} bactéries/ml pour *Lactobacillus plantarum* O16, et environ 10^{11} bactéries/ml pour *Lactobacillus plantarum* O19, puis nous avons cherché la présence de la souche dans les différents étages de tube digestif chaque deux jours.

L'administration de la bactérie *Lactobacillus plantarum* O16 est arrêtée le 7^{ème} jour, la recherche de cette souche est faite le 9^{ème} et le 11^{ème} jours. La souche *Lactobacillus plantarum* O19 est recherchée dans le tube digestif du rat après 24 heures de l'administration.

Les bactéries sont administrées avec le fermenté (lait stérileensemencé par la souche bactérienne à étudier et incubé à 37°C jusqu'à la coagulation (après 18 heures)) (figure12).

III.2.7.2. Effet de *Lactobacillus plantarum* O19 sur les paramètres zootechniques :

Dans cette étude nous avons suivi l'évolution de certains paramètres zootechniques. Pour cela, un lot de 5 rats va recevoir la souche sous forme de lait fermenté pendant quatre semaines, chaque semaine on prend les résultats [131].

***Quantité d'aliment ingérée :**

C'est la quantité d'aliment consommée par les animaux tous le long de l'expérience :

Quantité consommée (g) = quantité distribuée – la quantité recyclée.

***Indice de consommation (IC):**

C'est le rapport entre la quantité consommée et le gain de poids :

$$\text{IC} = \frac{\text{Quantité d'aliment consommée}}{\text{Gain de poids}}$$

***Poids vif (PV):**

C'est le rapport entre l'ensemble des pesés et le nombre de sujets dans le lot.

$$\text{PV moyen (g)} = \frac{\text{Ensemble des pesés (P)}}{\text{Nombre des sujets dans le lot}}$$

***Gain moyen quotidien (GMQ):**

C'est la différence entre les poids moyens au début et à la fin de la semaine sur 7 jours.

$$\text{GMQ} = \frac{\text{Poids moyen 1} - \text{poids moyen 2}}{7}$$

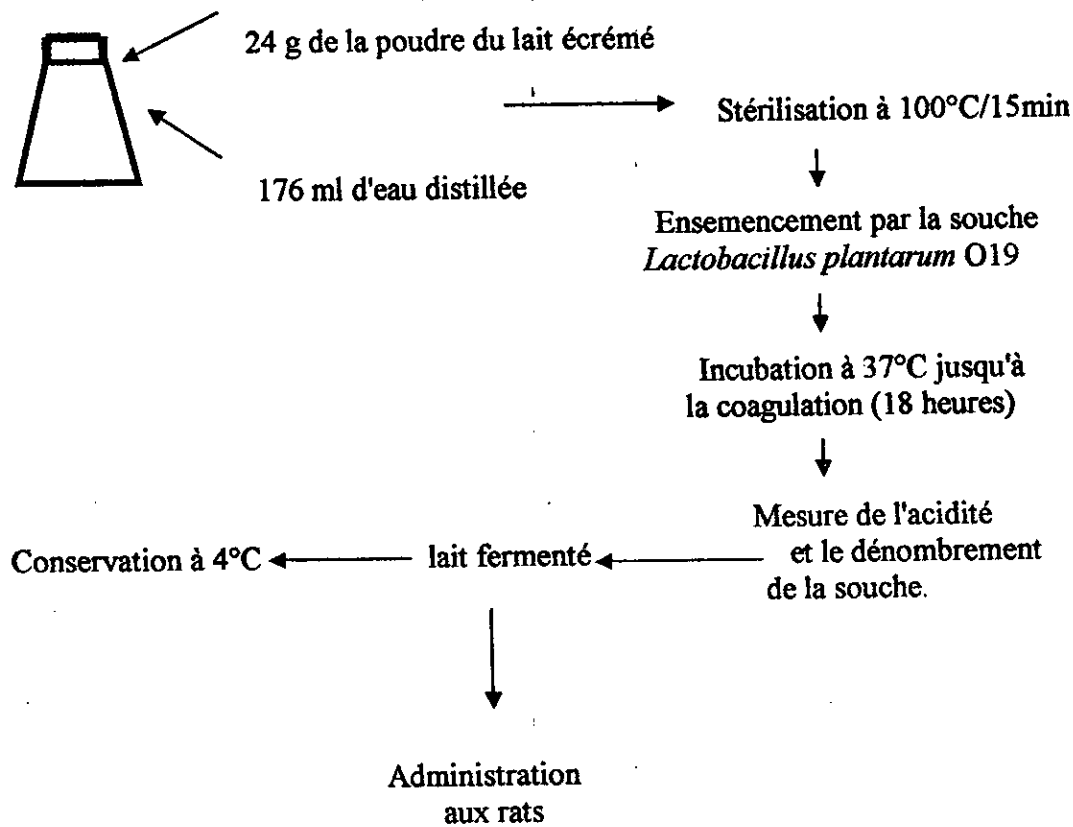


Figure 12: préparation de probiotique.

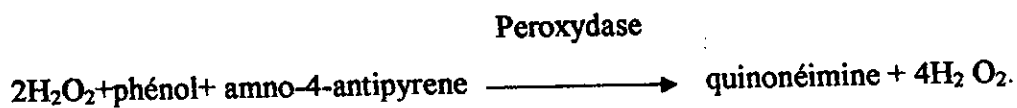
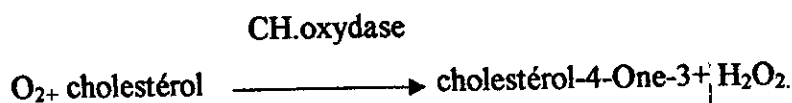
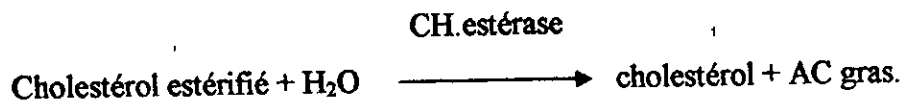
III.2.7.3- Etude de l'effet de *Lactobacillus plantarum* O19 sur les paramètres plasmatiques:

Pour cette étude nous avons choisi deux paramètres plasmatiques à étudier, le taux du cholestérol total et les triglycérides, pour cela on utilise 10 rats divisés en deux lots 5 rats pour chacun, un lot témoin et l'autre va recevoir la bactérie sujet d'étude qui est *Lactobacillus plantarum* O19. La bactérie va être administrée avec du lait fermenté (figure 12), les rats vont recevoir une dose journalière moyenne de 5ml pour chacun. A la fin de chaque semaine nous avons fait un prélèvement du sang, ce dernier se fait à partir du sinus rétro orbital du rat, le sang est récupéré dans des tubes héparinés puis centrifugés avec une vitesse de 2000 tours/minute pendant 10 minutes. Après l'obtention du sérum nous passons au dosage des paramètres plasmatiques.

a- Dosage du cholestérol total:

***Principe :**

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique, le cholestérol présent dans l'échantillon, et donné selon les réactions couplées décrites ci-dessus. Le complexe coloré qui va se former est quantifiable par spectrophotométrie.



La quantité de quinonéimine formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol.

***Réactifs :**

Réactif 1: solution tampon	Pipes pH=6,9 Phénol Chlorate de sodium	50 mmol/l 24 mmol/l 0,5 mmol/l
Réactif 2: enzymes	Amino-4-antipyrine Cholestérol estérase Cholestérol oxydase Peroxydase	0,5 mmol/l ≥ 200 U/l ≥ 250 U/l ≥ 1 000 U/l
Réactif 3: étalon	cholestérol	200 mg/dl 2g/l 5,17 mmol/l

***mode opératoire:**

L'échantillon et l'étalon sont mis en présence de la solution de travail suivant les volumes indiquée ci-dessous:

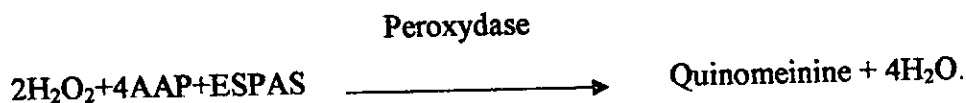
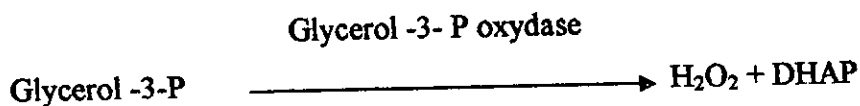
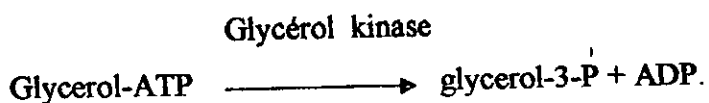
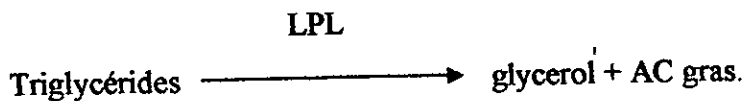
	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml
Eau distillée	10µl	-	-
Etalon	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl

Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante 6-25°C, puis on passe à la lecture de la concentration de l'échantillon à 500 nm.

b- Dosage des triglycérides :

***Principe :**

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et acides gras par l'action de lipoprotéinelipase (LPL), le glycérol libéré est ensuite transformé selon les réactions suivantes :



***Réactifs:**

Réactif 1: solution de travail	Tampon pipes pH 7,50 ESPAS	50mmol/l 1mmol/l
Réactif 2: enzymes	Lipoprotéinelipase. Glycérol kinase. Glycéro-3-phosphate oxydase. Peroxydase. Amino-4-antipyrine. ATP.	≥ 11 000 U/l 800 U/l ≥ 5 000 U/l ≥ 350 U/l 0,7 mmol/l 0,3 mmol/l
Réactif 3: étalon	Glycerol (équivalent) Triglycerides	200 mg/dl 2,8 mmol/l

La solution de travail est obtenue en mélangeant les deux réactifs 1 et 2 par retournement successif.

***Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml
Eau distillée	10µl	-	-
Etalon	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl

Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-25°C), puis on passe à la lecture au spectrophotomètre à 546 nm en déterminant la concentration.

III.2.8. Traitement statistique :

Certains résultats ont fait l'objet d'un traitement statistique, ceci se fait par la comparaison entre les moyennes des valeurs du lot témoin et le lot consommant le lait fermenté, en utilisant le test de Student.

- * $p < 0.05$: peu significatif.
- ** $p < 0.01$: significatif.
- *** $p < 0.001$: très significatif.

Résultats

IV. Résultats

IV. 1. Résultats et interprétation :

IV.1.1. Identification des souches de bactéries lactiques :

Les résultats des différents tests biochimiques réalisés sur les souches de bactéries

lactiques isolées sont représentés dans les tableaux 07 et 08.

Tableau 07: Différents caractères biochimiques des lactobacilles.

Code de la souche	Morphologie	Gram	Catalase	Culture à 45°C	Lactose	Saccharose	Ribose	ADH	Type fermentaire	Culture à 37°C	NaCl à 6,5%	Rafinose	Salicine	Inositol	Cellulose	Galactose	Maltose	Dulcitol	Dextrine	Softose	Mannose
05	Bacille	+	-	-	-	-	-	-	Homo	+	±	-	-	-	-	-	+	-	±	±	±
011	Bacille	+	-	-	+	±	-	-	Homo	+	±	-	-	±	-	-	+	±	±	±	±
01	Bacille	+	-	-	-	+	-	-	Homo	+	+	-	-	-	+	-	+	+	±	±	+
019	Bacille	+	-	-	+	+	±	-	Homo	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	±	+
08	Bacille	+	-	-	-	+	-	-	Homo	+	+	-	-	-	±	-	±	+	+	±	+
021	Bacille	+	-	-	-	+	+	±	Homo-F	+	+	-	-	-	±	+	±	+	+	±	+
03	Bacille	+	-	-	-	±	-	±	Homo	+	±	-	-	-	+	-	±	-	+	±	+
026	Bacille	+	-	+	-	+	-	-	Homo	+	±	-	-	-	±	-	±	+	+	±	+
06	Bacille	+	-	+	-	+	-	±	Homo	+	+	-	-	-	±	-	+	-	-	±	+
014	Bacille	+	-	+	-	-	-	±	Homo	+	+	-	-	-	±	-	±	-	+	±	+
09	Bacille	+	-	+	-	+	-	±	Homo	+	+	-	-	±	±	-	±	-	+	±	+
025	Bacille	+	-	-	-	-	-	±	Homo	+	+	-	-	-	±	-	+	-	-	±	±
023	Bacille	+	-	-	-	±	+	+	Homo	+	+	-	-	-	±	±	+	-	-	±	±
07	Bacille	+	-	-	-	±	-	+	Homo-F	+	+	-	-	±	-	+	-	±	+	±	+
024	Bacille	+	-	-	+	±	±	-	Homo	+	+	-	-	±	-	-	+	±	+	±	±
022	Bacille	+	-	+	-	+	-	±	Homo	+	+	-	-	-	±	-	±	+	+	±	+
016	Bacille	+	-	-	+	+	-	-	Homo-F	+	+	-	±	±	±	+	±	+	+	±	+
013	Bacille	+	-	+	-	-	-	±	Homo	+	+	-	-	-	±	-	-	+	+	±	±
012	Bacille	+	-	-	+	-	-	-	Homo	+	±	-	-	-	±	-	±	±	±	±	±

Tableau 08 : Caractères biochimiques des coques lactiques.

Code de la souche	Morphologie	Gram	Culture à 40°C	Culture à 45°C	Lait au BM à 0.1%	Culture à 45°C	Gram	Morphologie	Type fermentaire	Culture à 39°C	Culture à 37°C	ADH	Acétoïne	Citrate	Réductase	NaCl à 6.5%	NaCl à 4%	Lait au BM à 0.3%	Lait au BM à 0.1%	Culture à 45°C	Culture à 40°C	Gram	Morphologie	
P16	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	Cocci	
P125	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	Cocci	
P124	Cocci	+	+	+	-	-	±	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	+	±	±	-	-	+	+	+	Cocci
P111	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cocci
P115	Cocci	+	+	-	+	+	±	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	±	±	+	+	+	+	Cocci
P114	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	±	±	+	+	+	+	Cocci
P112	Cocci	+	+	-	+	+	±	Cocci	Hetero	+	+	-	-	±	±	-	-	±	±	+	+	+	+	Cocci
P121	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cocci
P14	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P15	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P18	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	±	±	+	+	+	+	Cocci
P120	Cocci	+	+	+	-	-	±	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	±	±	+	+	+	+	Cocci
P13	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P12	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P123	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P113	Cocci	+	+	-	+	+	-	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P119	Cocci	+	+	+	-	-	+	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P118	Cocci	+	+	-	-	-	+	Cocci	Homo	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P116	Cocci	+	+	+	-	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P117	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci
P19	Cocci	+	+	-	+	+	+	Cocci	Hetero	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Cocci

Concernant l'identification des souches de bactéries lactiques, et vu les résultats des tests biochimiques mentionnés dans les tableaux 07 et 08 et après le traitement de ces résultats par le logiciel API ATB, on a pu déterminer le nom de 37 souches bactériennes dont 17 sont des lactobacilles isolés à partir d'*Olea europea* et 20 sont des coques lactiques isolés à partir de *Cynodon dactylon*, les résultats sont représentés dans le tableau 09.

Tableau 09 : Noms des bactéries identifiées.

Les coques lactiques	Les lactobacilles
P111: <i>Leuconostoc lactis</i>	O5 : <i>Lactobacillus curvatus</i>
P114: <i>Leuconostoc lactis</i>	O11: <i>Lactobacillus casei ssp tolerans</i>
P112: <i>Leuconostoc lactis</i>	O7 : <i>Lactobacillus viridescens</i>
P121: <i>Leuconostoc lactis</i>	O12: <i>Lactobacillus brevis</i>
P14: <i>Leuconostoc lactis</i>	O16: <i>Lactobacillus plantarum</i>
P15: <i>Leuconostoc lactis</i>	O19: <i>Lactobacillus plantarum</i>
P18: <i>Leuconostoc lactis</i>	O21: <i>Lactobacillus plantarum</i>
P13: <i>Leuconostoc lactis</i>	O23: <i>Lactobacillus plantarum</i>
P12: <i>Leuconostoc lactis</i>	O24: <i>Lactobacillus plantarum</i>
P123: <i>Leuconostoc lactis</i>	O3 : <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P113: <i>Leuconostoc lactis</i>	O26: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P117: <i>Leuconostoc lactis</i>	O6 : <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P19: <i>Leuconostoc lactis</i>	O14: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P115: <i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i>	O9 : <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P16: <i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i>	O22: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P125: <i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i>	O13: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P124: <i>Streptococcus thermophilus</i>	O25: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
P120: <i>Streptococcus thermophilus</i>	
P118: <i>Streptococcus thermophilus</i>	
P116: <i>Streptococcus thermophilus</i>	

Les pourcentages des bactéries sont : le *Leuconostoc lactis* 34,21% puis *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii* avec 20,05%, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus plantarum* 13,15%, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 7,5% et enfin, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus casei ssp talerans* et *Lactobacillus curvatus* avec 2,63% du total des bactéries identifiées (figure 13).

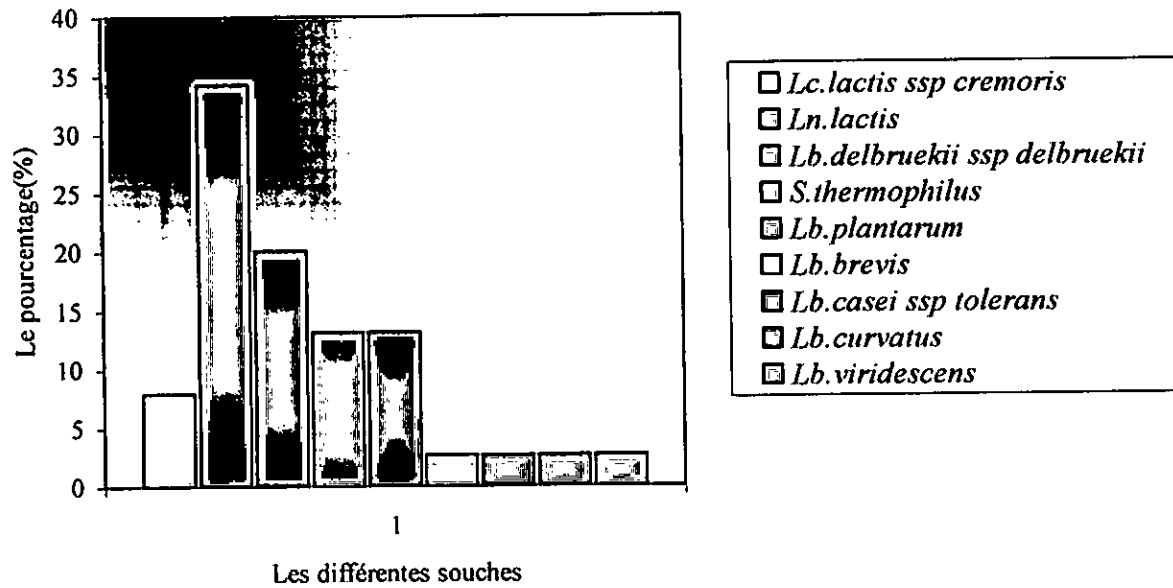


Figure 13 : Pourcentages des différentes souches lactiques identifiées.

IV.1.2. Identification des bactéries du caecum du rat.

Les résultats des différents tests biochimiques réalisés sur les bactéries issues du caecum du rat sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10: Identification des entérobactéries de tube digestif du rat.

Identifier à	<i>Enterococcus spp.</i>		<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Escherichia spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Escherichia spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>
	1a	1b											
Mannitol	+	+	+	-	+	+	+	-	±	-	-	-	-
Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+
Inositol	+	±	±	-	±	±	±	±	±	±	±	-	±
Raffinose	+	+	+	-	±	+	+	+	+	+	-	-	-
Saccharose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	±
Lactose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	±
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±
ADH	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
ODC	+	+	+	+	-	+	+	+	+	±	-	±	+
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
GAZ	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	±	±
H ₂ S	-	-	-	-	-	+	+	+	+	±	+	-	-
Uréase	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	±
Indole	±	-	-	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-
Citrate	-	±	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Code de la souche	1a	1b	2b	3a	4	5	6a	6b	7a	7b	9	13	14

Vu les résultats des différents tests représentés dans le tableau 10 nous avons pu identifié 13 souches bactériennes de la flore caecale du rat. Les bactéries identifiées sont : 02 souches appartenant au genre *Enterococcus spp*, 04 souches du genre *Escherichia spp*, 01 souche *Enterobacter spp*, 02 souches du genre *Salmonella spp*, 02 souches du genre *Serratia spp* et 02 souches du genre *Proteus spp*.

VI.1.3. Résultats de l'étude du pouvoir protéolytique des bactéries lactiques:

Pour les résultats de l'étude de l'activité protéolytique des souches nous avons constaté que les coques lactiques isolés, ne sont pas protéolytiques, malgré qu'ils ont la capacité de croître sur le milieu YMA. Egalement pour les souches de *Lactobacillus*, elles ne sont pas protéolytiques, ces dernières ont également la capacité de se développer sur le milieu YMA sans produire des zones de protéolyse, donc ces souches n'ont pas un pouvoir protéolytique.

VI.1.4. Résultats d'étude du pouvoir épaississant des bactéries:

Tableau 11: Pouvoir épaississant des coques lactiques.

Souches	Pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P111	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P114	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P112	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P121	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P14	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P15	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P18	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P13	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P12	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P123	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P117	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Leuconostoc lactis</i> P19	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P115	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P16	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P125	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Streptococcus thermophilus</i> P124	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Streptococcus thermophilus</i> P120	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Streptococcus thermophilus</i> P118	Croissance sans pouvoir épaississant
<i>Streptococcus thermophilus</i> P116	Croissance avec pouvoir épaississant
<i>Streptococcus thermophilus</i> P119	Croissance sans pouvoir épaississant

Le pouvoir épaississant des bactéries se manifeste par des colonies larges et gluantes sur la gélose hypersaccharosée. L'étude du pouvoir épaississant montre que la majorité des coques lactiques ont une capacité de produire des exopolysaccharides qui leur donne un pouvoir épaississant et qui leur donne un aspect gluant sur le milieu de culture (tableau 11). Contrairement aux coques lactiques, les lactobacilles n'ont pas la capacité de produire et de synthétiser des exopolysaccharides, les colonies se manifestent avec une croissance normale sur la gélose hypersaccharosée sauf une souche de *Lactobacillus plantarum* (O21) qui a un léger pouvoir épaississant.

VI.1.5. Pouvoir acidifiant:

Les résultats de la production d'acide par les souches bactériennes sont représentés dans les tableaux 12 et 13.

Tableau 12: Production d'acide lactique par les lactobacilles (°D).

Souches	0h	2h	4h	6h	24h
<i>Lb. plantarum</i> O16	17	22	24	25	65
<i>Lb. plantarum</i> O19	17	22	25	28	72
<i>Lb. plantarum</i> O21	17	22	24,5	27	73
<i>Lb. plantarum</i> O23	17	20,5	22	24	69,5
<i>Lb. plantarum</i> O24	17	22	24	25	75
<i>Lb. viridescens</i> O7	17	22	23	24,5	61
<i>Lb. curvatus</i> O5	17	20,5	24,5	25,5	69,5
<i>Lb. brevis</i> O12	17	20	21	24,5	41,5
<i>Lb. casei ssp tolerans</i> O11	17	19,5	21	23	51
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O3	17	21	22	24,5	44
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O26	17	20,5	24,5	25,5	33
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O6	17	22	23,5	24,5	65,5
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O14	17	21,5	23	24	37,5
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O9	17	21	22	24,5	47
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O22	17	21	22	24,5	35
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O13	17	21,5	23	24	44
<i>Lb. delbrueckii spp delbrueckii</i> O25	17	20	23	24	52

Au vu de ces résultats, la majorité des souches sont moins performante notamment les coques lactiques, sauf la souche *Lactococcus lactis ssp cremoris* P125 (58°D) qui est plus ou moins acidifiante. Pour les lactobacilles, il y a des souches qui sont plus performantes que les autres a savoir, *Lb. plantarum* O16 (65°D), *Lb. plantarum* O19 (72°D), *Lb. plantarum* O21

(73°D), *Lb.plantarum* O23 (69.5°D), *Lb.plantarum* O24 (75°D), *Lb. viridescens* O7 (61°D), *Lb.casei ssp tolerans* O11 (51°D) et *Lb.delbrueckii ssp delbrueckii* O6 (65.5°D).

Tableau 13: Production d'acide lactique par les coques lactiques (°D).

Souches	0h	2h	4h	6h	24h
<i>Leuconostoc lactis</i> P111	17	21	22	24	43
<i>Leuconostoc lactis</i> P114	17	20	22	23,5	44
<i>Leuconostoc lactis</i> P112	17	22	23	24	45
<i>Leuconostoc lactis</i> P15	17	20	21	22,5	36
<i>Leuconostoc lactis</i> P18	17	21	23	24,5	45,5
<i>Leuconostoc lactis</i> P13	17	20	21	23,5	41
<i>Leuconostoc lactis</i> P12	17	20	22	23,5	46,5
<i>Leuconostoc lactis</i> P123	17	21	24	25	44
<i>Leuconostoc lactis</i> P113	17	21	22	24	40
<i>Leuconostoc lactis</i> P117	17	21	22	24	47,5
<i>Leuconostoc lactis</i> P19	17	20	21,5	24	45
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P115	17	20	22	24,5	45,5
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P16	17	20	21	24	41
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P125	17	17	18	23	58
<i>Streptococcus thermophilus</i> P124	17	21	22	24	42
<i>Streptococcus thermophilus</i> P120	17	21	23	24,5	44
<i>Streptococcus thermophilus</i> P118	17	20	21	22	42
<i>Streptococcus thermophilus</i> P116	17	20	21	24	41
<i>Streptococcus thermophilus</i> P119	17	20	22	24	42

VI.1.6. Croissance des bactéries lactiques sur des milieux à pH bas:

Pour cette étude nous avons choisi 10 souche, à savoir *Lactobacillus plantarum* O23, *Lactobacillus plantarum* O24, *Lactobacillus plantarum* O16, *Lactobacillus plantarum* O19, *Lactobacillus plantarum* O21, *Lactobacillus viridescens* O7, *Lactobacillus curvatus* O5, *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii* O6, *Lactobacillus brevis* O12, et *Lactobacillus casei ssp tolerans* O11, où nous les aensemencés sur des géloses à pH 2 et à pH 4, les résultats sont représentés dans le tableau 14.

Tableau 14: Croissance des bactéries lactiques sur les milieux à différents pH (germes /ml).

Souche \ pH	pH 2	pH 4
<i>Lb. plantarum</i> O23	16.10 ²	25.10 ⁴
<i>Lb. plantarum</i> O19	48.10 ²	96.10 ⁴
<i>Lb. casei ssp tolerans</i> O11	12.10 ²	4.10 ⁴
<i>Lb. delbrueckii ssp delbrueckii</i> O6	20.10 ²	240.10 ⁴
<i>Lb. plantarum</i> O16	72.10 ²	201.10 ⁴
<i>Lb. plantarum</i> O21	52.10 ²	305.10 ⁴
<i>Lb. brevis</i> O12	24.10 ²	2.10 ⁴
<i>Lb. viridescens</i> O7	20.10 ²	244.10 ⁴
<i>Lb. curvatus</i> O5	136.10 ²	246.10 ⁴
<i>Lb. plantarum</i> O24	36.10 ²	148.10 ⁴

D'après les résultats cités dans le tableau 14 et illustrés par les figures 14 et 15, nous constatons que les lactobacilles étudiés ont la capacité de se développer à des pH bas, donc ils peuvent résister ultérieurement aux conditions d'acidité de l'estomac du rat où le pH gastrique est très bas.

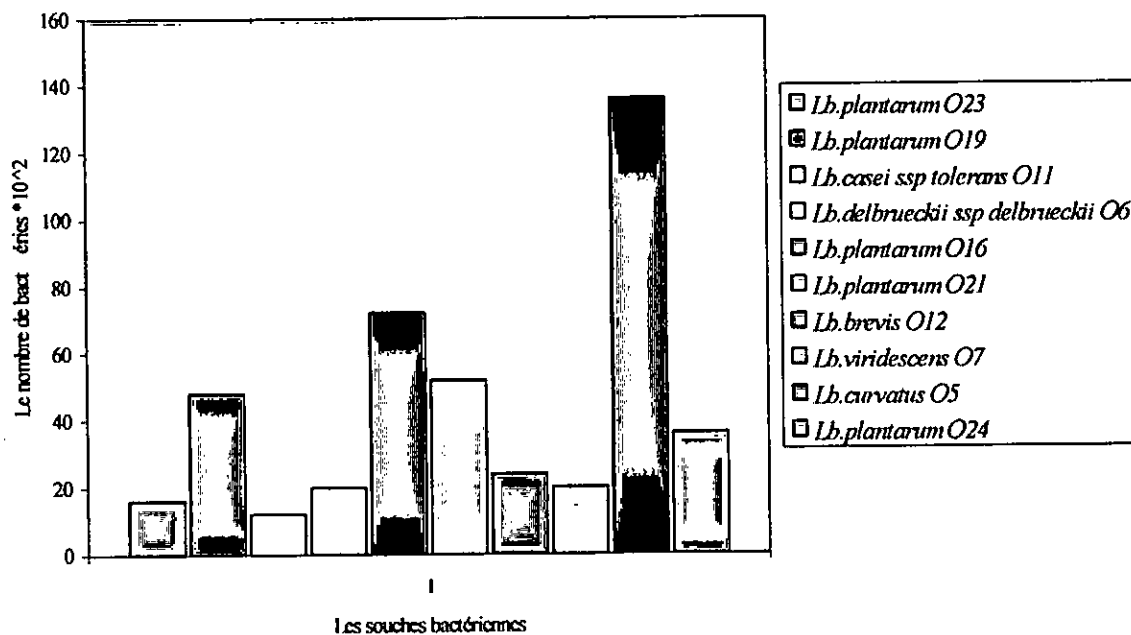


Figure14: Croissance des lactobacilles à pH 2.

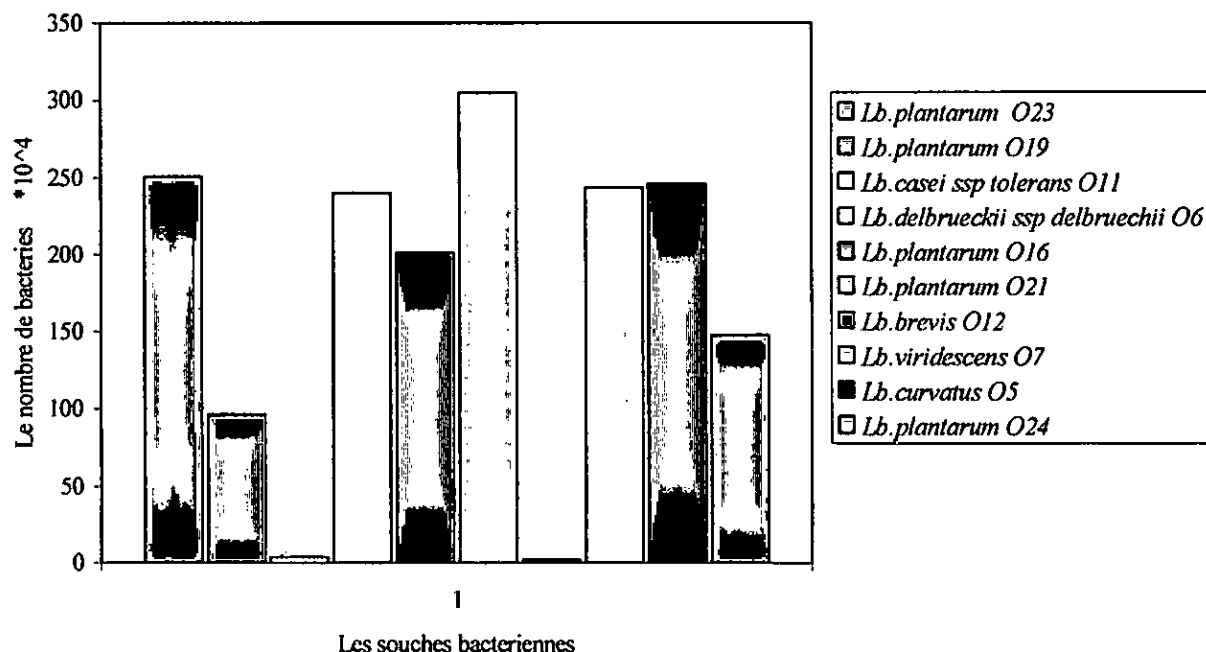


Figure 15: Croissance des lactobacilles à pH 4.

VI.1.7. Interactions bactériennes :

VI.1.7.1. Interaction entre les bactéries lactiques :

Les résultats de l'interaction entre les lactobacilles et deux lactocoques sont représentés dans le tableau 15.

Tableau 15: Interaction entre quelques lactobacilles et deux lactocoques.

	Diamètre de zone d'inhibition	
	<i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> P125	<i>Lactococcus lactis</i> P117
<i>Lb. plantarum</i> O24	09 mm	05 mm
<i>Lb. plantarum</i> O23	-	12 mm
<i>Lb. plantarum</i> O16	05 mm	08 mm
<i>Lb. plantarum</i> O21	-	10 mm
<i>Lb. plantarum</i> O19	06 mm	05 mm
<i>Lb. viridescens</i> O7	-	07 mm
<i>Lb. curvatus</i> O5	10 mm	10 mm
<i>Lb. brevis</i> O12	-	05 mm
<i>Lb. casei ssp tolerans</i> O11	-	05 mm
<i>Lb. delbrueckii ssp delbrueckii</i> O6	09 mm	09 mm

D'après ces résultats nous constatons que les lactobacilles ont un pouvoir inhibiteur des autres souches de coques lactiques, ceci nous donne une idée sur le pouvoir de ces souches à produire des molécules inhibitrices, qui peuvent être des acides ou d'autres molécules protéiques

qui ont la capacité d'arrêter le développement des autres germes (bactériocines). Les bactéries lactiques sont connues et utilisées pour les influences antagonistes qu'elles développent.

VI.1.7.2. Interaction entre les bactéries lactiques et les entérobactéries :

Pour cette étude nous avons utilisé 5 souches de bactéries lactiques qui sont *Lactobacillus curvatus* O5, *Lactobacillus plantarum* O21, *Lactobacillus plantarum* O24, *Lactobacillus plantarum* O16 et *Lactobacillus plantarum* O19, avec des entérobactéries isolées et identifiées à partir de caecum du rat (tableau10), les résultats des interactions sont représentés dans les tableaux 16 et17.

Tableau 16: Effet des bactéries lactiques sur les entérobactéries.

	Diamètre de la zone d'inhibition				
	o5	o21	o24	o16	o19
<i>Salmonella spp.</i> 9	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp.</i> 1a	-	-	-	-	7mm
<i>Enterococcus spp.</i> 1b	-	-	-	-	-
<i>Salmonella spp.</i> 4	-	-	-	8mm	-
<i>Serratia spp.</i> 14	-	-	-	-	-
<i>Escherichia spp.</i> 7b	-	-	-	8mm	-
<i>Escherichia spp.</i> 3a	-	-	-	-	8mm
<i>Proteus spp.</i> 7a	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter spp.</i> 2b	-	-	-	8mm	-
<i>Proteus spp.</i> 6a	-	-	-	-	-
<i>Serratia spp.</i> 13	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 5	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 6b	-	-	-	7mm	-

Tableau 17: Effet du croisement inverse.

	Diamètre de la zone d'inhibition				
	o5	o21	o24	o16	o19
<i>Salmonella spp.</i> 9	7mm	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp.</i> 1a	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp.</i> 1b	-	-	-	-	-
<i>Salmonella spp.</i> 4	-	-	-	-	-
<i>Serratia spp.</i> 14	-	-	-	-	-
<i>Escherichia spp.</i> 7b	-	-	-	-	-
<i>Escherichia spp.</i> 3a	-	-	-	-	-
<i>Proteus spp.</i> 7a	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter spp.</i> 2b	-	-	-	-	-
<i>Proteus spp.</i> 6a	-	-	-	-	-
<i>Serratia spp.</i> 13	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 5	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> 6b	-	-	-	-	-

Du tableau 16 on constate que les bactéries lactiques peuvent inhiber des souches d'entérobactéries, le *Lactobacillus plantarum* O19, et le *Lactobacillus plantarum* O16 ont pu arrêter le développement des souches qui appartiennent aux genres *Salmonella*, *Escherichia*, ainsi que *Enterobacter* (figure 16 et 17).

Du tableau 17 on constate que les différentes entérobactéries n'ont pas un effet sur les lactobacilles sauf la souche appartenant au genre *Salmonella* qui a pu inhiber la croissance du *Lactobacillus curvatus* O5.

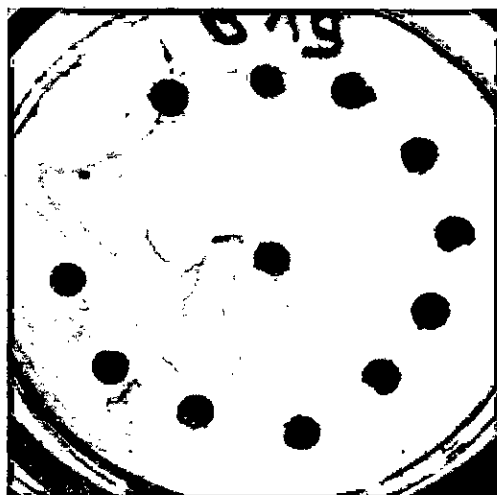


Figure 16: Effet de *Lb plantarum* O19 sur les entérobactéries.

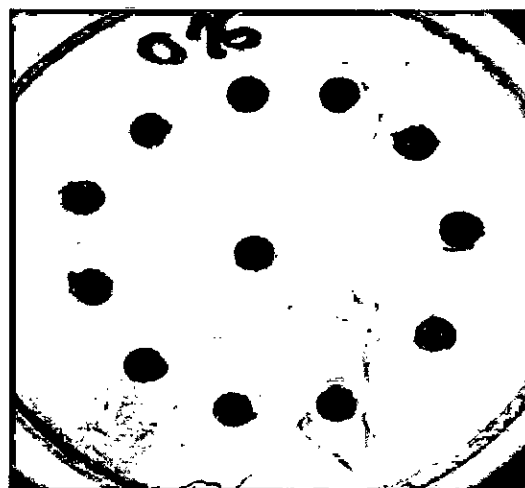


Figure 17: Effet de *Lb plantarum* O16 sur les entérobactéries.

VI.1.7.3. Effet de surnageant des bactéries lactiques sur les entérobactéries :

Les résultats de l'effet du surnageant des lactobacilles sur les entérobactéries sont représentés dans le tableau 18.

Tableau 18: Effet de surnageant sur les entérobactéries.

	Diamètre de la zone d'inhibition				
	O5	O21	O24	O16	O19
<i>Salmonella spp.</i> 9	10mm	9mm	11mm	9mm	9mm
<i>Enterococcus spp.</i> 1a	10mm	8mm	8 mm	9mm	8mm
<i>Enterococcus spp.</i> 1b	11mm	9mm	9 mm	11mm	8mm
<i>Salmonella spp.</i> 4	-	-	-	-	-
<i>Serratia spp.</i> 14	8mm	9mm	9 mm	9mm	8mm
<i>Escherichia spp.</i> 7b	8mm	9mm	9 mm	10mm	7mm
<i>Escherichia spp.</i> 3a	9mm	8mm	8 mm	9mm	7mm
<i>Proteus spp.</i> 7a	10mm	9mm	9 mm	10mm	10mm
<i>Enterobacter spp.</i> 2b	9mm	10mm	10mm	9mm	10mm
<i>Proteus spp.</i> 6a	10mm	8mm	8 mm	10mm	9mm
<i>Serratia</i> 13	8mm	9mm	9 mm	8mm	8mm
<i>E .coli</i> 5	10mm	8mm	10mm	10mm	10mm
<i>E .coli</i> 6b	10mm	7mm	10mm	9mm	8mm

D'après les résultats enregistrés dans le tableau 18 et illustrés par les figures de 18 à 25 on marque que les surnageants des bactéries lactiques ont un effet inhibiteur des entérobactéries se qui prouve que les bactéries lactiques ont la capacité de produire et de synthétiser des molécules qui inhibent le développement des autres microorganismes.

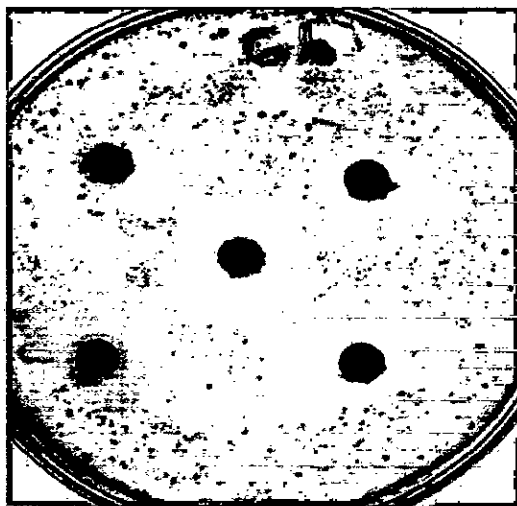


Figure 18: Effet du surnageant des Lactobacilles sur *E. coli* 6b.

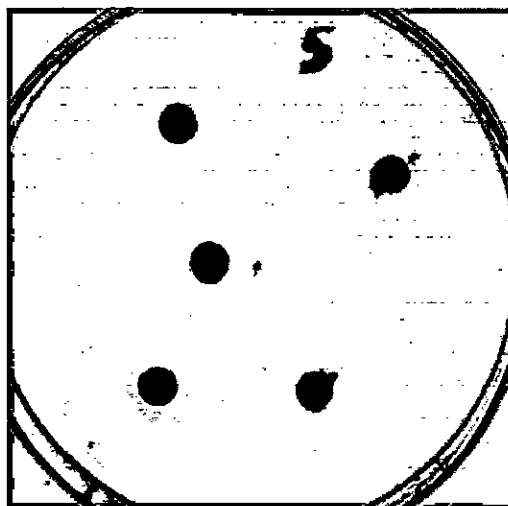


Figure 19: Effet du surnageant des lactobacilles sur *E. coli* 5.

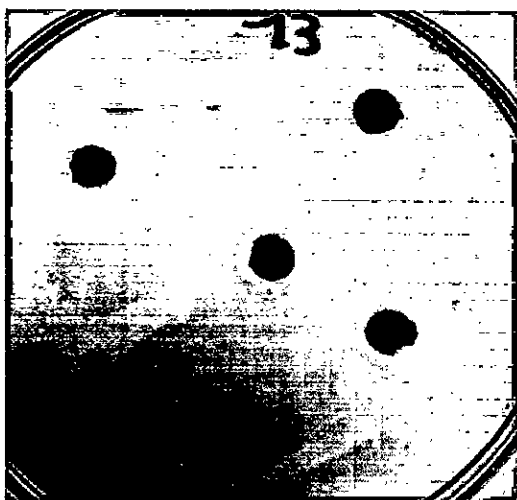


Figure 20: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Serratia* spp. 13.

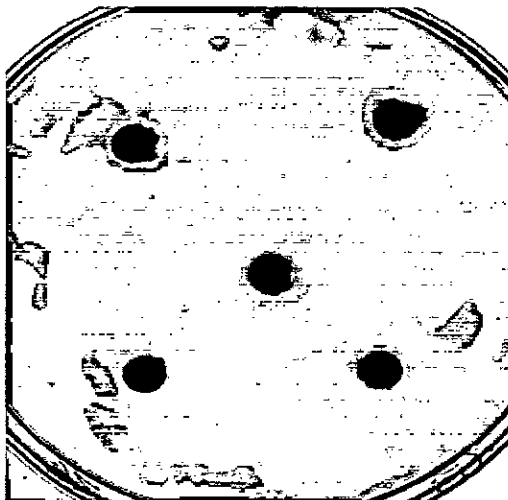


Figure 21: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Enterococcus* spp. 1a.

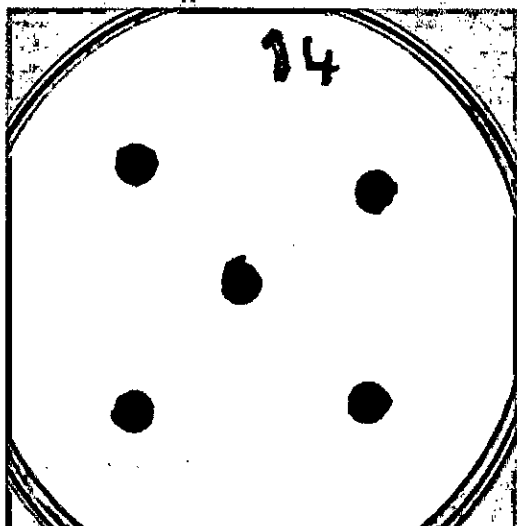


Figure 22: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Serratia spp.* 14.



Figure 23: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Escherichia spp.* 7b.

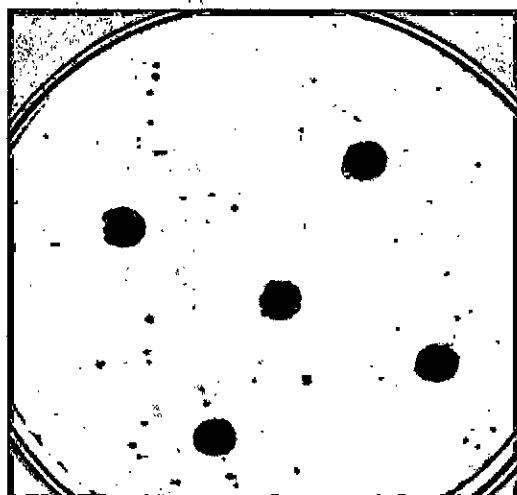


Figure 24: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Enterobacter spp.* 2b.

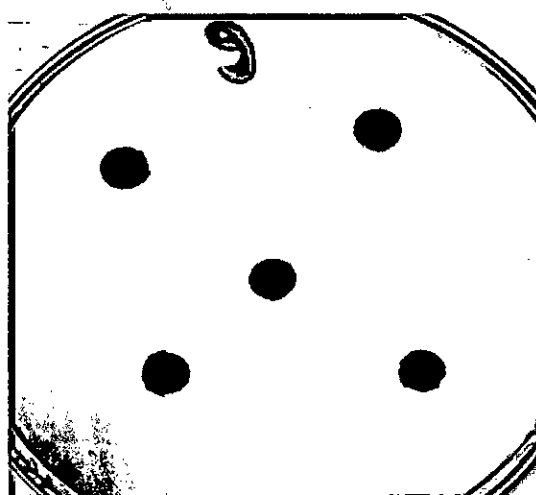


Figure 25: Effet du surnageant des lactobacilles sur *Salmonella spp.* 9.

VI.1.8. Effet probiotique des bactéries lactiques :

VI.1.8.1. Présence de *Lb.plantarum* O16 et O19 plus les *Lactobacillus spp* dans le tube digestif du rat:

L'étude de la survie de *Lb.plantarum* O16 et O19 dans le tube digestif du rat, consiste à chercher ces souches plus les *Lactobacillus spp* de la flore normale du rat dans les différents segments de tube, dont les résultats sont représentés dans le tableau 19 et 20.

Tableau 19: Présence du *Lactobacillus plantarum* O16 plus *Lactobacillus spp* dans le tube digestif du rat.

Les organes Jours après l'administration	Estomac	Duodénum	Colon	Rectum	Matière fécale
Premier jour	+	+	+	+	+
Troisième jour	+	+	+	+	+
Cinquième jour	+	+		+	+
Septième jour (arrêt de l'administration)	+	+	+	+	+
Neuvième jour	+	+	+	+	+
Onzième jour	+	+	+	+	+

Tableau 20: Présence du *Lactobacillus plantarum* O19 plus *Lactobacillus spp* dans le tube digestif du rat.

	Estomac	Duodénum	Colon	Rectum	Matière fécale
Premier jour après l'administration	+	+	+	+	+

D'après les résultats enregistrés dans les tableaux 19 et 20 nous constatons qu'il y a présence des lactobacilles dans les différents segments de tube digestif ceci se manifeste par la présence des colonies de ces bactéries sur milieu MRS ensemencé par des échantillons de différentes parties de tube digestif, ces colonies représentent probablement nos souches administrées (O16 et O19) plus les lactobacilles (*Lactobacillus spp*) trouvés déjà dans le tube digestif et qui appartiennent à la flore normale du rat, donc les lactobacilles peuvent survivre dans le tube digestif de l'animal.

V.1.8.2. Effet des bactéries lactiques sur les paramètres zootechniques et plasmatiques :

Nous avons suivi l'effet de la souche *Lactobacillus plantarum* O19 sur quelques paramètres zootechniques et plasmatiques (cholestérol et triglycérides) le long de quatre semaines.

a. Effets du *Lb.plantarum* O19 sur les la consommation d'aliment:

Tableau 21: Effet du *Lb.plantarum* O19 sur la consommation d'aliment.

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
S1	424.3g	486.3g
S2	424g	447g
S3	464g	452g
S4	460.8g	438g

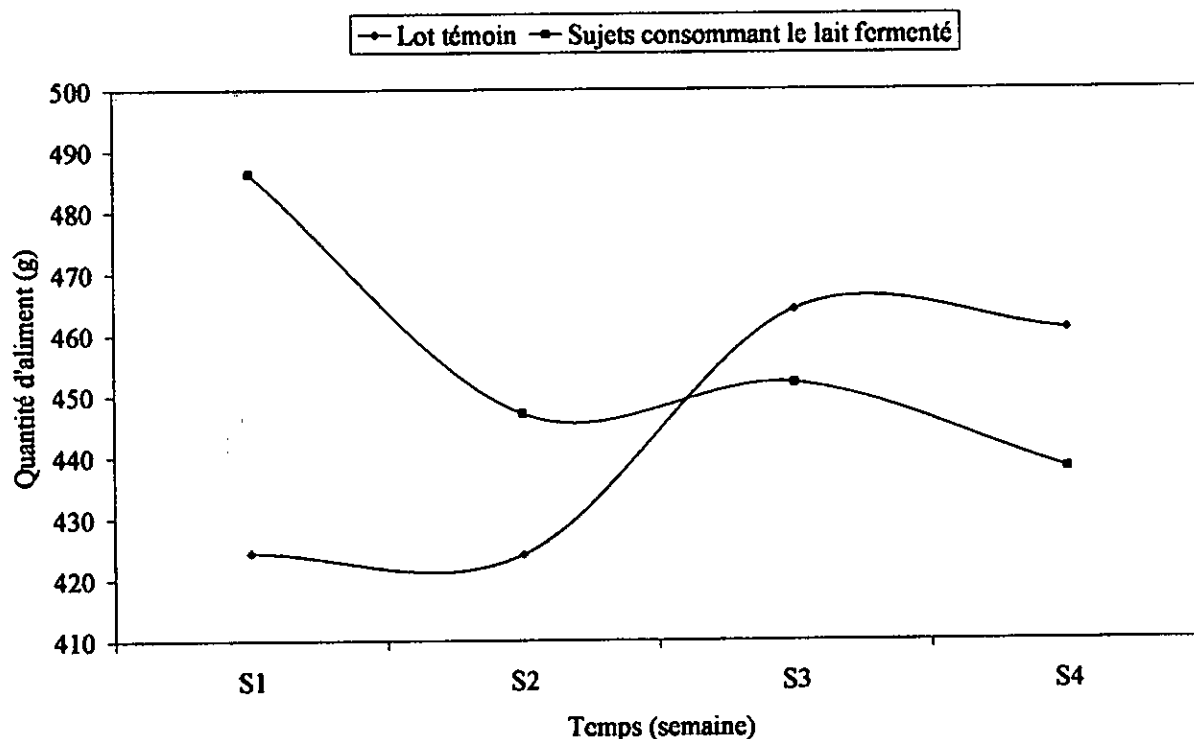


Figure 26: Effet du *Lb.plantarum* O19 sur la consommation d'aliment.

D'après les résultats enregistrés dans le tableau 21 et représentés par la figure 26, on constate qu'il y a une diminution de la quantité d'aliment consommée chez les sujets consommant le lait fermenté, où l'on constate qu'elle était supérieure à celle chez le lot témoin dans les deux premières semaines, alors qu'au cours de la troisième et la quatrième semaine la

quantité d'aliment consommée par les animaux du lot qui prend le lait fermenté était moins à celle consommée par le lot témoin.

b. Effets de *Lb.plantarum* O19 sur la consommation d'eau:

Tableau 22: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur la consommation d'eau.

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
S1	650ml	640ml
S2	750ml	897ml
S3	805ml	1125ml
S4	675ml	310ml

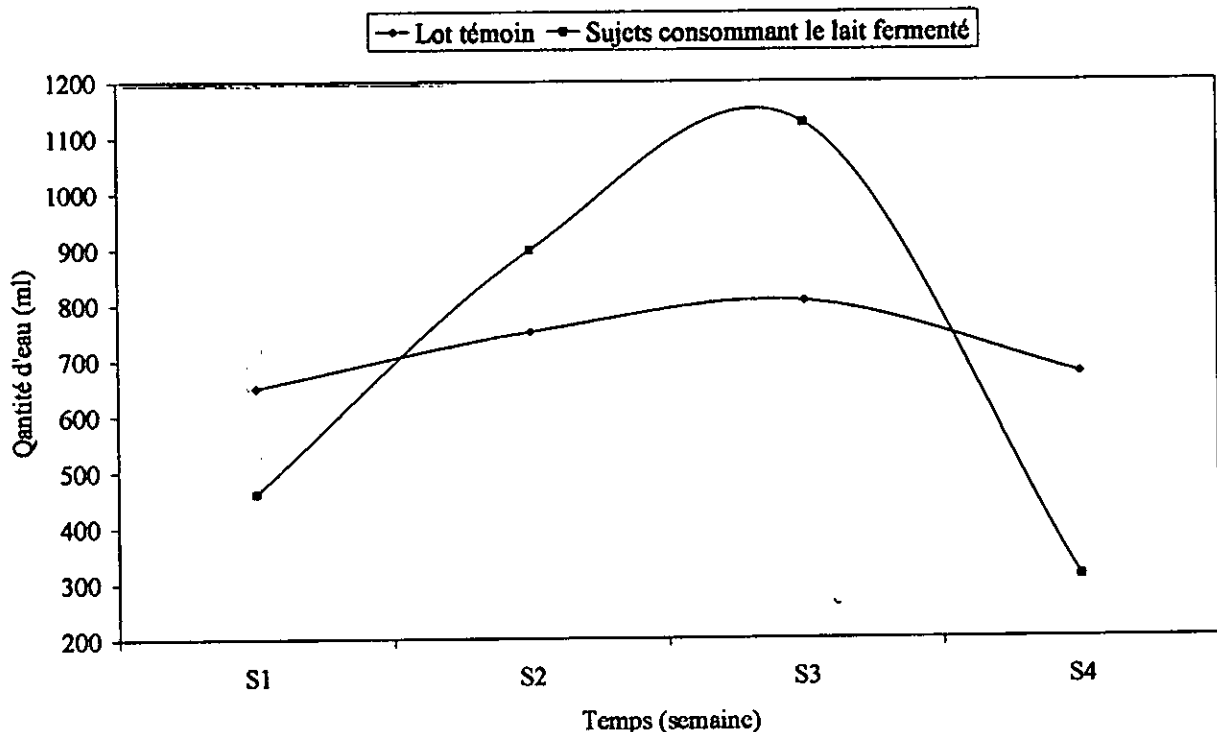


Figure 27: Effet du *Lb.plantarum* O19 sur la consommation d'eau.

D'après les résultats de la consommation de l'eau représentés dans le tableau 22 et illustrés par la figure 27, on constate que la quantité de l'eau consommée par les animaux du lot supplémenté par le lait fermenté est plus grande que celle des animaux du lot témoin, sauf pour la dernière semaine, où le volume d'eau consommé la quantité consommée par les animaux qui prennent le lait fermenté est moins importante que celui consommée par le lot témoin.

c. Effets de *Lb.plantarum* O19 sur le poids des animaux:

Tableau 23: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le poids des animaux.

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
T0	132.8±12.14	137.6±12.93
S1	150.8±11.90	157.54±15.96
S2	163±12.32	180±17.36
S3	175.6±16.31	201.5±19.90
S4	187.24±18.65	220±19.20 *

* P<0.05

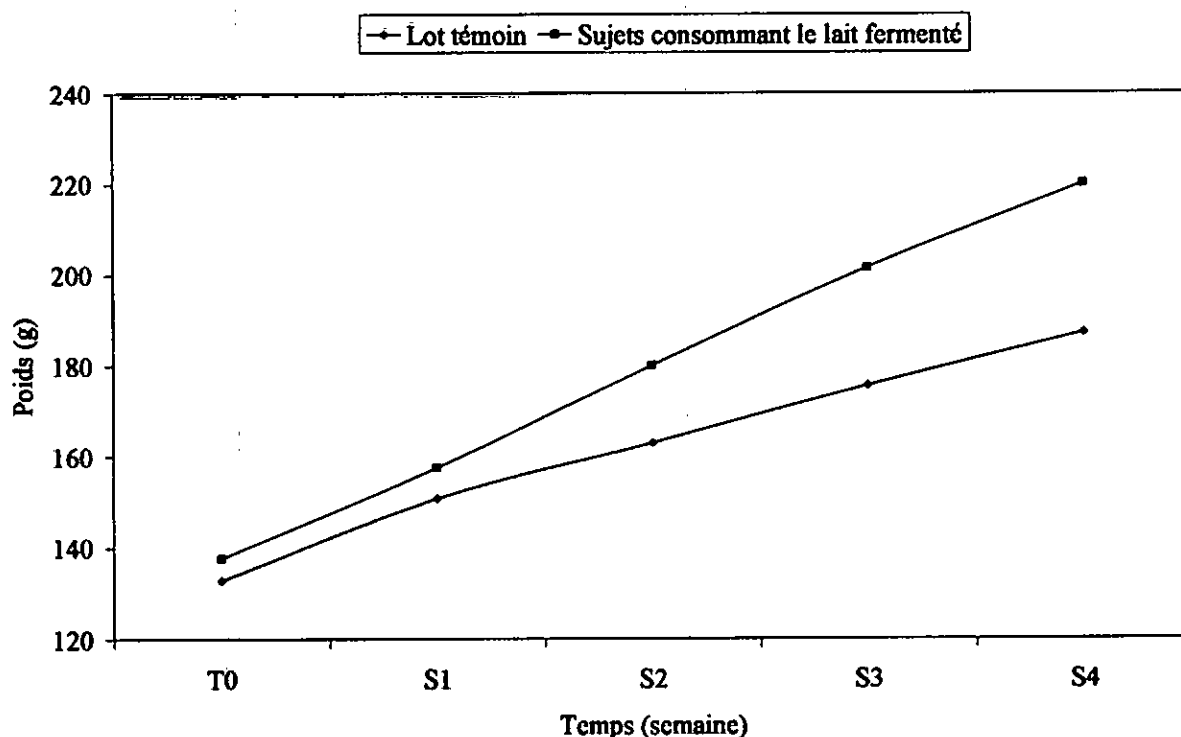


Figure 28: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le poids des animaux.

Pour le poids des animaux dont les résultats sont représentés dans le tableau 23 et illustrés par la figure 28, on constate que le poids des animaux qui prennent le lait fermenté est supérieur au poids des animaux du lot témoin, et ceci le long des quatre semaines. Cela prouve que l'apport de la bactérie lactique dans la ration du rat, agit en faveur de la protéogénèse.

d. Effets de *Lb.plantarum* O19 sur les l'indice de consommation:

Tableau 24: Indice de consommation.

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
S1	4.32	4.96
S2	7.11	3.96
S3	7.33	4.20
S4	7.89	4.80

On constate d'après les résultats enregistrés dans le tableau 24 et illustrés par la figure 29 que les valeurs de l'indice de consommation chez les animaux du lot supplémenté par le lait fermenté sont moins que celles trouvées chez les animaux du lot témoin durant les trois dernières semaines de l'étude. Alors que la valeur de la première semaine est plus élevée que celle du lot témoin. Ces résultats témoignent que la présence de la bactérie lactique dans le tube digestif du rat améliore l'état de digestion, donc aide l'animal à mieux valoriser sa ration.

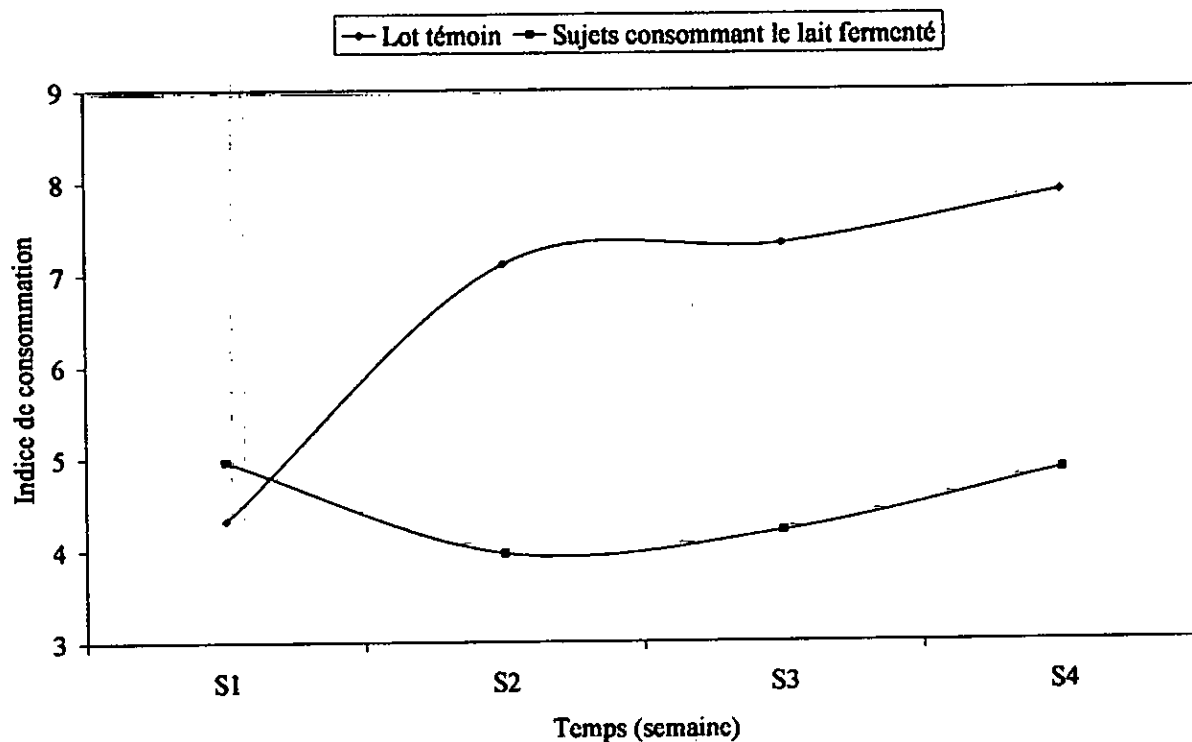


Figure 29: Indice de consommation.

e. Effet de *Lb.plantarum* O19 sur les paramètres plasmatiques :

Les résultats de l'effet du *Lb.plantarum* O19 sur les paramètres plasmatiques, le cholestérol et les triglycérides sont représentés dans les tableaux 25 et 26.

Tableau 25: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le taux du cholestérol dans le sang (g/l).

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
S1	0.64±0.11	0.77±0.07
S2	0.56±0.06	0.45±0.09
S3	0.71±0.13	0.66±0.06
S4	0.78±0.10	0.76±0.07

Tableau 26: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le taux des triglycérides dans le sang (g/l).

	Lot témoin	Sujets consommant le lait fermenté
S1	0.71±0.18	0.53±0.25
S2	0.70±0.20	0.62±0.22
S3	0.85±0.36	0.50±0.10
S4	1.06±0.45	1.18±0.38

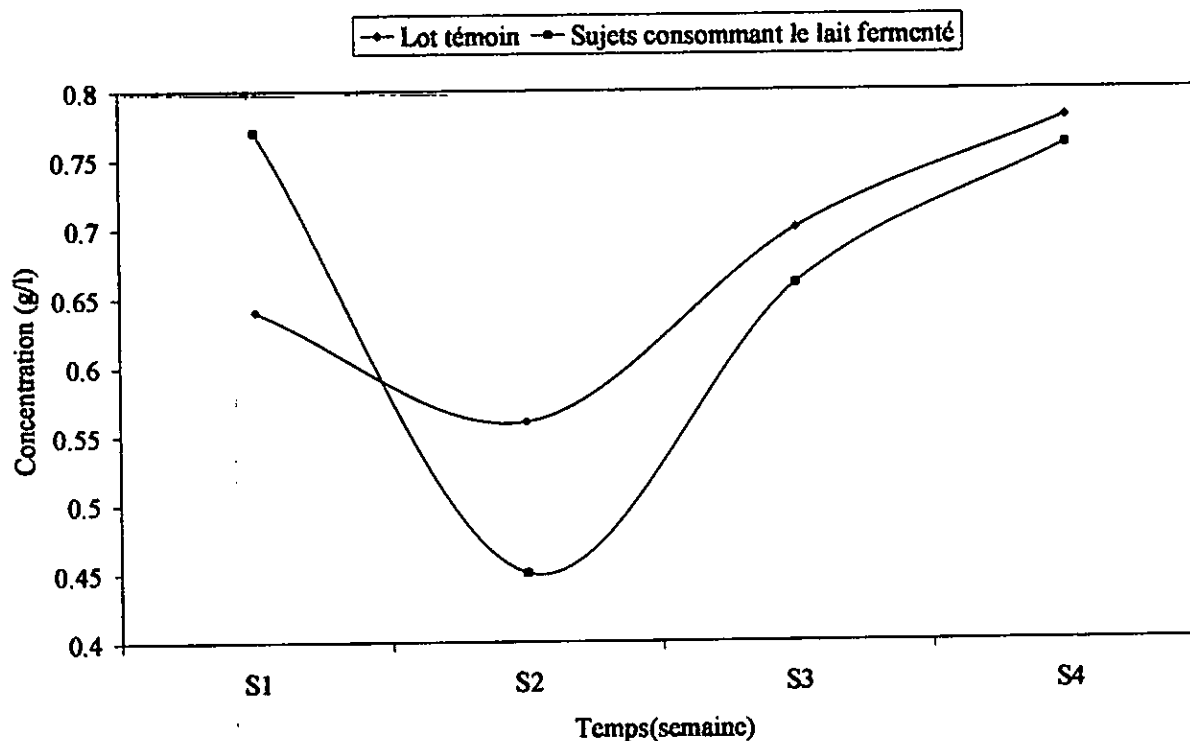


Figure 30: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le taux du cholestérol.

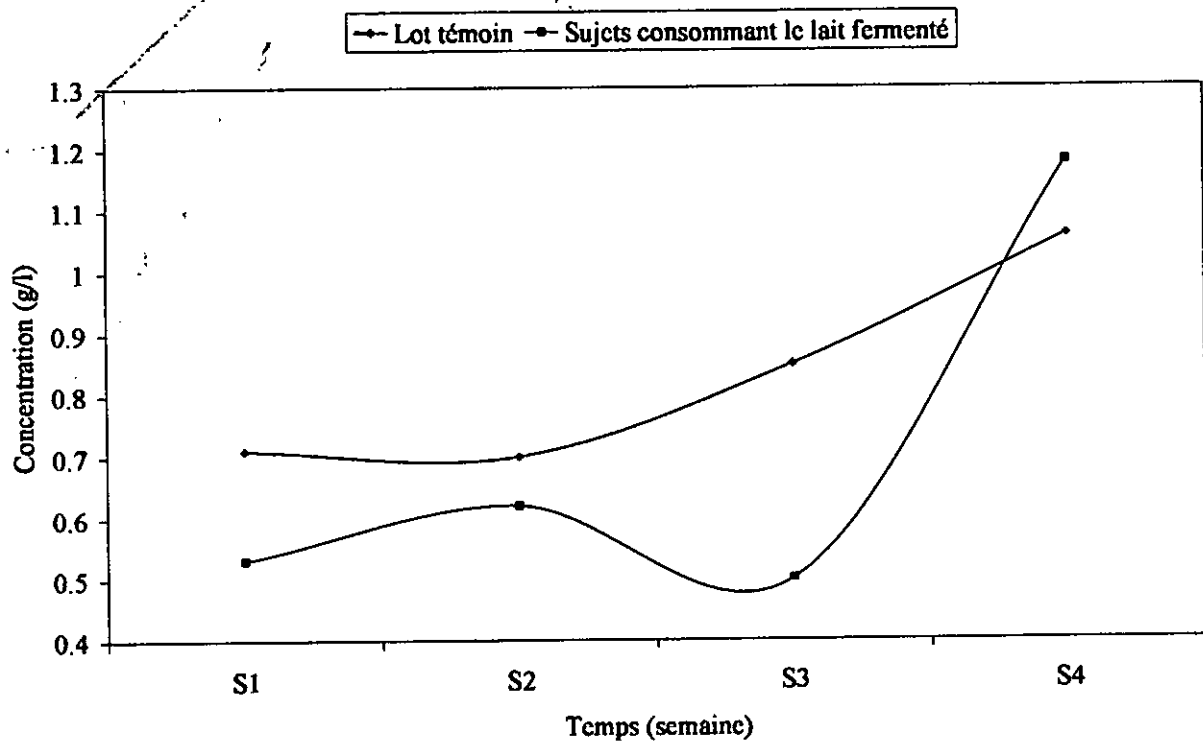


Figure 31: Effet de *Lb.plantarum* O19 sur le taux des triglycérides.

Concernant l'étude des taux du cholestérol et les triglycérides, on constate d'après les résultats mentionnés dans le tableau 25 et représentés par la figure 30 que les concentrations du cholestérol dans le sérum des animaux du lot qui prend le lait fermenté sont moins importantes que celles enregistrées chez les sujets du lot témoin, ceci pendant les trois dernières semaines de l'étude. On constate que la concentration commence à diminuer à partir de la première semaine, au début de laquelle, elle était plus élevée à celle du lot témoin. Egalement les résultats mentionnés dans le tableau 26 et illustrés par la figure 31 montrent que, pendant les trois premières semaines de l'étude, le taux des triglycérides dans le sérum était faible chez le lot recevant le lait fermenté, comparativement à ceux des sujets du lot témoin, en revanche il apparaît clairement qu'au cours de la dernière semaine, le sang des sujets supplémentés avec le lait fermenté est plus riche en triglycérides. Le traitement statistique des résultats montre qu'ils ne sont pas significatifs ($P > 0.05$).

Discussion

V. Discussion:

Des travaux plus en plus nombreux étudient les effets santé des bactéries lactiques chez l'homme et chez l'animal et essaient de cerner leur mécanisme d'action dans le tractus digestif. Les effets potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tel que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tel que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation des tumeurs. Dans le but d'étudier l'effet bénéfique des bactéries lactiques nous avons isolé des souches puis étudié leurs effets sur un animal de laboratoire, rat Albinos souche Wistar.

Les souches isolées et identifiées sont morphologiquement classées en deux groupes, les lactobacilles isolés à partir d'*Olea europea* et des coques lactiques isolés à partir de *Cynodon dactylon*. Nous avons identifié 17 souches qui appartiennent au genre *Lactobacillus* et 20 coques lactiques appartiennent aux genres *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus*. La présence des bactéries lactiques dans les olives est confirmée par KACEM M et al. [132], qui ont pu isoler des bactéries lactiques à partir d'olive vert algérien dont les espèces isolées sont *Lc.lactis*, *Lb.plantarum* et *Enterococcus sp*, DELGADO et al.[133], ont pu également isoler l'espèce *Lb.plantarum* à partir d'olive. LEVEAU J.Y et al. [3] rapportent que les plantes sont probablement le biotope naturel des bactéries lactiques.

Concernant les propriétés technologiques, les résultats de l'étude de pouvoir acidifiant montrent que les souches identifiées sont peu acidifiantes dont la quantité d'acide exprimée en degré dornic ne dépasse pas 50°D, sauf pour quelques souches comme *Lb.plantarum* O19, O21, O24 et O23 dont le degré dornic atteint 75°D, ces souches ont une performance acidifiante plus ou moins intéressante. La vitesse de la production d'acide est un critère important en technologie où l'on cherche les souches les plus acidifiantes.

L'étude du pouvoir protéolytique des souches montre qu'elles ont la capacité de croître sur le milieu YMA sans produire des zones de protéolyse, donc les souches n'ont pas le pouvoir protéolytique, ceci est confirmé par LARETA G.V et al. [21] qui rapportent que les bactéries lactiques sont peu protéolytiques.

Concernant l'activité texturante ou la capacité de produire des exopolysaccharides (EPS), les résultats montrent que la majorité des coques lactiques ont la capacité de les produire où on a observé que les leuconostocs (*Leuconostoc lactis*) les lactocoques (*Lactococcus lactis ssp cremoris*) possèdent l'aptitude à produire des EPS. Ces résultats sont confirmés par VAN

KRANENBURG R *et al.* [134] qui montrent que les leuconostocs et les lactocoques sont des bactéries productrices des EPS. Contrairement aux coques lactiques, les lactobacilles n'ont pas la capacité de produire les EPS, sauf la souche *Lb.plantarum* O21 où l'on a observé une légère production d'EPS, donc nos lactobacilles n'ont pas la capacité texturante qui pourrait être influée par les conditions de cultures, comme ils montrent GAMAR-NOURANI L *et al.* [135] et qui démontrent que les conditions de cultures influent sur la production des EPS chez *Lb.rhamnosus* C83 (sucres utilisés température, pH, O₂ ... etc.).

Dans l'étude des interactions bactériennes, nous avons étudié l'effet de quelques souches de lactobacilles sur les coques lactiques, également l'effet de quelques souches des lactobacilles (*Lb.plantarum* O16, O19, O21, O24 et *Lb.curvatus* O5) sur les bactéries isolées à partir du caecum du rat, et également leur effet de ces dernières sur les lactobacilles. On a constaté que les lactobacilles ont pu inhiber le développement des coques lactiques, ainsi ils ont pu inhiber le développement des entérobactéries isolées du caecum du rat, alors que celles-ci n'ont aucun effet sur les lactobacilles. D'autre part les surnageants de certains lactobacilles peuvent inhiber le développement des bactéries de tube digestif. Ces résultats nous permettent de dire que nos souches ont la capacité de produire des composés antibactériens. Ces résultats sont confirmés par plusieurs travaux, SAVADOGO A *et al.* [130] ont isolé des bactéries lactiques à partir du lait fermenté et qui sont *Lb.fermentum*, *Pediococcus sp*, *Lc.mesenteroides ssp mesenteroides* et *Lactococcus sp*, ces bactéries ont une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et les bactéries à Gram négatif comme *E.coli*, OBADINA A.O *et al.* [136] ont pu établir une activité antibactérienne d'une souche de *Lb.plantarum* contre *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *E.coli*, TODOROV S.D *et al.* [137] montrent l'effet antibactérien de deux types de bactériocines, ST194BZ (a) et ST194BZ (b) obtenus à partir de *Lb.plantarum* ST194BZ contre les bactéries lactiques (*Lb.casei*, *Lb.sakei*, *Lb.delbruekii ssp bulgaricus*) et d'autres bactéries comme *E.coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Également le développement de *Clostridium perfringens* dans des échantillons de viande cuite de poulet est arrêté en utilisant une plantaricine (plantaricine UG1) obtenue à partir de *Lb.plantarum* comme il montre ENAN G [138] dans son étude. Le mécanisme par lequel les bactéries lactiques inhibent le développement des autres bactéries est la production des molécules inhibitrices, d'après SAVADOGO A *et al.* [139], les bactéries lactiques peuvent produire des différents types de bactériocines comme la nisine produite par *Lc.lactis ssp lactis*, la pédiocine A produite par *Pc.pentosaceus* FBB61 et L-7230... etc. Ces molécules ont la capacité d'inhiber le développement des autres germes.

L'étude de la survie de deux souches de *Lb.plantarum* (O16 et O19) montre qu'elles ont probablement la capacité de survivre dans le tube digestif du rat, où nous avons pu déterminer l'existence dans les différentes parties de tube (estomac, duodenum, colon, rectum et la matière fécale) des souches de *Lactobacillus spp* qui présentent probablement nos souches plus les lactobacilles de la flore normale du rat, après l'ingestion de ces souches sous forme de lait fermenté. Ceci montre que ces souches ont pu résister aux conditions hostiles du tube digestif. Ces résultats sont confirmés par OYETAYO V.O et *al.* [140] qui montrent que la souche *Lb.plantarum* peut survivre dans le tube digestif du rat, également CLARINE B et *al.* [141] montrent que la souche *Lb.plantarum* 299v peut survivre dans le tractus gastro-intestinal et coloniser la muqueuse intestinale de l'homme. Le plus important critère de sélection des souches à pouvoir probiotique est la capacité de survivre dans le tractus gastro-intestinal, les deux souches étudiées répondent à ce critère donc on peut les utiliser comme probiotique.

L'étude de l'effet probiotique de la souche *Lb.plantarum* O19 sur les paramètres zootechniques montre que l'administration de la souche sous forme de lait fermenté influe positivement sur la quantité d'aliment ingéré, le poids des animaux et l'indice de consommation où l'on constate une diminution de la quantité d'aliment ingéré chez les animaux qui prennent le lait fermenté par rapport aux animaux du lot témoin, également les poids moyens chez le lot consommant le lait fermenté est supérieurs à ceux du lot témoin dont la différence est significative ($p < 0.05$) dans la dernière semaine de l'étude. Les animaux supplémentés par le lait fermenté marquent des valeurs plus faibles de l'indice de consommation par rapport aux animaux témoin, la quantité de l'eau n'est pas affectée. Les mêmes résultats ont été trouvés par plusieurs auteurs, DJOUVINOV D et *al.* [142] montrent que l'administration d'un mélange de bactéries lactiques (LACTINA^R) qui se constitue de *Lb.bulgaricus*, *Lb.acidophilus*, *Lb.helveticus*, *Lb.lactis*, *S.thermophilus* et *Enterococcus faecium* au poulet influe positivement sur les paramètres zootechniques (IC, poids vif, consommation d'aliment). FOO H.L et *al.* [143] montrent que l'addition des métabolites de la souche *Lb.plantarum* I-UL4 à l'eau influe positivement sur les paramètres zootechniques chez les rats. Selon PARVEZ S et *al.* [144] les bactéries lactiques peuvent produire plusieurs enzymes et vitamines dans la lumière intestinale ce qui influe sur la digestion, comme la production du lactase (intolérance du lactose). L'hydrolyse enzymatique bactérienne augmente la quantité des protéines et les acides gras, augmente également la quantité des acides aminés libres et les acides gras à courte chaîne, qui sont absorbés et utilisés comme source d'énergie, ces facteurs peuvent avoir un effet bénéfique sur l'organisme.

Concernant l'effet de la souche sur les paramètres plasmatiques, nous constatons que l'administration du lait fermenté par *Lb.plantarum* O19 aux rats engendre une diminution du taux du cholestérol total sanguin des animaux du lot qui prend le lait fermenté par rapport au témoin, ainsi que le taux des triglycérides chez le même lot est moins par rapport au témoin, sauf au cours de la dernière semaine de l'étude. La différence entre les valeurs trouvées chez les sujets consommant le lait fermenté et celles du lot témoin n'est pas significative ($p>0.05$), aussi bien pour le cholestérol que pour les triglycérides.

La diminution du taux des paramètres sanguins est due à l'administration du lait fermenté. Des études similaires confirment l'effet positif des bactéries lactiques sur les paramètres plasmatiques, OYETAYO V.O et al. [145] montrent que l'utilisation de *Lb.acidophilus* et *Lb.casei* comme probiotique provoque une réduction du taux de cholestérol sanguin chez les rats, FUKUSHIMA M et al. [146] montrent aussi qu'un composé probiotique constitué de *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto*, *Bacillus megaterium*, *Lb.acidophilus*, *Lb.plantarum*, *Lb.brevis*, *Lb.casei*, *S.faecalis*, *S.lactis*, *S.thermophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida utilis* provoque la réduction du taux du cholestérol sanguin chez les rats, également l'étude de XIAO J.Z et al. [147] montrent que l'utilisation d'un lait fermenté par *Bifidobacterium longum* réduit significativement le taux du cholestérol et les triglycérides chez les rats et chez l'homme, KAWASE M et al. [148] démontrent que l'utilisation d'un lait fermenté par les souches *Lb.casei* MTCO409 et *S. thermophilus* MTC1543 engendre la réduction du taux du cholestérol et les triglycérides dans le sang des rats.

Les mécanismes par lesquels les bactéries lactiques réduisent le taux des lipides sanguins sont mal connus, XIAO J.Z et al. [147] proposent que les bactéries lactiques ont la capacité d'assimiler le cholestérol et de le lier avec les acides biliaires au niveaux de l'intestin, ce qui inhibe l'absorption du cholestérol et par conséquent la réduction du cholestérol sanguin. FOO H.L et al. [149] proposent le même mécanisme, dont les bactéries lactiques font une déconjugaison des acides biliaires et les précipitent avec le cholestérol à pH <5.5, après, le cholestérol est converti à des nouveaux acides biliaires et excrété à l'extérieur du tractus gastro-intestinal se qui diminue leur concentration sanguine.

Les résultats de l'études de l'activité probiotique peuvent être influencés par divers facteurs intervenant durant la période expérimentale, comme le climat chaleureux durant une période près d'une semaine pendant la durée d'étude, la mort d'un sujet du lot qui prend le lait fermenté, la présence des males et de femelles dans le même lot, également la présence d'une gestante dans chaque lot à la fin de la dernière semaine de l'étude. Ces facteurs peuvent influencer les résultats, aussi bien pour les paramètres zootechniques que les paramètres plasmatiques.

Conclusion

VI. Conclusion :

En vue de rechercher et de sélectionner des souches de bactéries lactiques locales à activité probiotique, nous avons utilisé deux niches écologiques à savoir la plante *Cynodon dactylon* et le produit d'*Olea europea* comme source d'isolement puis effectué une série d'études sur ces bactéries, commençant par les propriétés technologiques, l'effet antibactérien et l'effet probiotique.

L'étude relative à l'isolement et l'identification des bactéries lactiques locales sous a permis d'isoler 37 souches, 17 lactobacilles et 20 coques lactiques appartiennent aux trois genres, *Lactococcus* (*Lc.lactis ssp cremoris*), *Streptococcus* (*S.thermophilus*) et *Leuconostoc* (*Ln.lactis*).

L'étude des propriétés technologiques de ces souches a montré que :

- les bactéries n'ont pas la capacité protéolytique,
- la majorité des souches sont peu acidifiantes, sauf quelques lactobacilles qui possèdent un pouvoir acidifiant relativement important,
- la production des EPS est importante chez les coques lactiques, alors que les lactobacilles n'avaient pas cette propriété.

L'étude des interactions bactériennes et l'activité antibactérienne ont montré que les souches étudiées ont la capacité d'inhiber le développement d'autres souches de bactéries lactiques ainsi que les bactéries isolées de tube digestif des rats. Un effet antibactérien de surnageant des bactéries lactiques qui contient des bactériocines est également observé. Vu ces résultats, on peut dire que nos souches synthétisent des composés antimicrobiens, d'autres études sont nécessaire donc pour isoler purifier et identifier ces molécules.

Il semble également que l'administration de la souche *Lb.plantarum* O19 avec le lait fermenté exerce un effet positif sur les paramètres zootechniques et plasmatiques. Nous avons observé un effet positif sur le taux de consommation d'aliment, le poids des animaux et l'indice de consommation, également l'ingestion du lait fermenté provoque une réduction du taux du cholestérol et les triglycérides plasmatiques.

D'après ces résultats il semble que la souche utilisée est douée d'un effet probiotique, il est donc nécessaire également d'approfondir l'étude en utilisant un effectif plus grand que l'effectif utilisé dans notre étude, également d'étudier l'effet probiotique de la souche en utilisant des cultures mixtes avec d'autres souches comme les pédiocoques ou les bifidobactéries afin de bien confirmer ces hypothèses.

Bibliographie

Bibliographie

- [1]- Amrouche T., 2005. Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries : analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués. Thèse de doctorat PhD, Faculté des études supérieures de l'Université Laval, Québec, Canada.
- [2]- Sutra L., Fedringhi M., Jouve J.L., 1996. Manuel de bactériologie alimentaire, édition Polytechnica, paris, pp 235-259.
- [3]- Leveau J.Y., bouix M., 1993. Microbiologie industrielle, édition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp 170-192, 309-318.
- [4]- Prescott L., Harley J., Klein D., 2003. Microbiologie, 2^e ed, édition, deboeck et larsier s.a. Bruxelles. p 703, 1045.
- [5]- Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L., 2003. Introduction a la microbiologie, édition De Renouveau pédagogique INC, Saint-LAURENT, Québec, CANADA.
- [6]- Drouault S., Corthier G., 2001. Effet des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet. Res.*, 32: 101-117.
- [7]- Kandler O., Weiss N., 1986. In bergey's manual of systemetic bacteriology, vol 2, Williams and Wilkins (eds) Baltimore, pp 1208-1234.
- [8]- Guiraud J.Y., 1998. Microbiologie alimentaire, édition DUNOD, paris, pp 288-294.
- [9]- Tasier H., 1900. Recherche sur la flore intestinale (état normale et pathologique) des nourrissons, thèse de doctorat, université de médecine, Paris, France.
- [10]- Hekmat S., McMahon D.J., 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic. *J. Dairy Sci.*, 75: 1415-1422.
- [11]- Curk M.C., Boeufgras J.M., Gavini F., Kersters K., Larpent P., Le Bourgeois P., Renault P., de Rossart H., Rouvier G., 1984. Méthodes d'identification des bactéries lactiques. Dans : bactéries lactiques, vol 1, De Roissart H et Luguet FM., ed. *Larica : uriage* : 141-168.
- [12]- Modler H.W., McKellar R.C., Yaguchi M., 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 32: 29-41.
- [13]- Blanchette L., Roy D., Belanger G., Gauthier S., 1996. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*, 72: 8-15.
- [14]- Shah N.P., 1997. Bifidobacteria: characteristics and potential for application in fermented milk products. *Milchwissen*, 52: 16-21.
- [15]- Gobitti M., Corsetti A., Smacchi E., Zocchetti A., deAngelis M., 1998. Production of crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*, 8: 37-47.

- [16]- Scordovi v., 1986. Genus *Bifidobacterium*, dans *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 9e edition, vol 2, seath, Mai SN., Sharp ME., Holt JG(ed). Williams and Wilkins, publ. Baltimore: 1418-1434.
- [17]- Daly C and Davis R., 1998. The bacteriology of lactic acid bacteria with emphasis on application in food safety and human health. *Agri. and Food Sci. in Finland*, 7(2): 251-264.
- [18]- Dodd H.M., and Gasson M.J., 1994. Bacteriology of lactic acid bacteria, in: Gasson M.G, de Vos W.M., (ed), *Genetics and bacteriology of lactic acid bacteria*, Glasgow, Black Academic and Professional: 211-251.
- [19]- Jack R.W., Tag J.R., and Ray B., 1995. Bacteriocins of gram positive bacteria. *Microbiology Reviews*, 59: 171-200.
- [20]- Leveau Y.J., Bouix M., Roissart H., 1991. La flore lactique, technique d'analyse et de contrôle dans IAA. 2^e ed., Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 152-177.
- [21]- Larreta garde V., 1997. *Enzymes en alimentation*, édition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 56.
- [22]- Schaafsma G., 1996. State of the art concerning probiotic strains in milk products. *Int. Dairy Fed. Nutr. news*, 5: 23-24
- [23]- Korkeala H., Alanko t., Makela P., and Lindroth S., 1989. Shelf-life of vacuum packed cooked ring sausages at different chill temperature. *Int. J. Food Microbiol.*, 9: 237-247.
- [24]- Borch E., Kant-Muermans M.L., and Blix y., 1996. Acterial spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 33: 103-120.
- [25]- Rongguang Y., Ray B., 1994. Prevalence and biological control of bacteriocin producing psychrotrophic *Leuconostoc* assoiated with spoilage of vacuum packaged processed meats. *J. Food Product*, 57: 09-217.
- [26]- Oyetayo V.O., Oyetayo F.L., 2005. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune sustem. *African Journal of Biotechnology*, 4(2): 123-127.
- [27]- Maikela P., Schillinger U., Korkeala H., and Holzapfel W.H., 1992. Classification of ropy slim producing lactic acid bacteria based on DNA DNA homology, and identification of *Lactobacillus sake* and *Leuconostoc amelibiosum* as dominant spoilage organisms in meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 9: 167-172.
- [28]- Samelis J., Kakouri A., Georgiadou K.G. and Metaxopoulos J., 1998. Evaluation of the extent and type of bacterial contamination and different stages of processing of cooked ham. *J. Appl. Microbiol.*, 84: 649-660.

- [29]- Brook I., Barrett G., Brinkman C., Martin W., Finegold S., 1979. Aerobic and anaerobic bacterial flora of the maternal cervix and new born gastric fluid and conjunctiva: a perspective study. *Pediatrics*, 63: 451-455.
- [30]- Lennox-King S.M.J., o'Farell S.M., Bettelheim K.A., Shooter R.A., 1976. Escherichia coli isolated from babies delivered by caesarian section and their environment. *Infection*, 4: 39-145.
- [31]- Salminen S., Isolauri E., Onnela T., 1995. Gut flora in normal and disordred states. *Chemotherapy*, 41(1): 5-15.
- [32]- Ducluzeau R., Raibaud P., 1979. Ecologie microbienne du tube digestif : ces microbes qui nous protègent. Masson, paris, P 95.
- [33]- Holtzapfel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in't Veld J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 14: 85-101.
- [34]- Mc Cracken V.J., Lornez R.G., 2001. The gastrointestinal ecosystem: aprecaious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cellular Microbiology*, 3: 1-11.
- [35]- Hooper L.V., Gordon J.I., 2001. Comensal host-bacterial benefits. *Food Technology june* 120-124.
- [36]- Kagnoff M.F., Eckmann L., 1997. Epithelial cells as sensors for microbiol infection. *Journal of Clinical Infection*, 100: 6-10.
- [37]- Roberfroid M.B., Bornet F., Bouley C., Cumming J.H., 1995. Colonic microflora: nutrition and health. *Nutrition Reviews*, 53: 127-130.
- [38]- Isolauri E., Kirjainen P.V., Salimen S., 2002. Probiotics: a role in treatment of intestinal infection and inflammation. *Gut*, 50: 54-59.
- [39]- Macfarlane S., Macfarlane G.T., 2003. Regulation of short-chainefatty acid production. *Proeeding Nutr. Society*, 62: 67-72.
- [40]- Pryde S.E., Duncan S.H., hold G.L., Stewart C.S., Flint H.J., 2002. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol. Letters*, 217: 133-139.
- [41]- Moore W.E.C. and L.V., 1974. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japaneese-Hawaicans. *Applied Microbiology*, 27: 961-979.
- [42]- Bjorksten B., 2004. Effect of intestinal microflora and the environment of the devoppement of asthma and allergy. *Springer Siminrasin Immunopathology*, 25: 257-270.
- [43]- Oowhand A.C., Vesterlund S., 2003. Health aspects of probiotics. *Drugs*, 6: 573-580.
- [44]- Hao W.L., Lee Y.K., 2004. Microflora of the gastrointestinal tract: a review. *Methods in Molecular Biology*, 268: 491-502.

- [45]- Cummings J.H., Gibson G.R., Macfarlane G.T., 1998. Quantitative estimates of fermentation in the hind gut man. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 86: 76-82.
- [46]- Gournier-chateau N., Larpent J.P., Gastillanos M.L., Larpent J.L., 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Eddition Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 1-192.
- [47]- Isolauri E., Salimen S., Ouwehand A.C., 2004. Probiotics, Best practice and Research. *Clinical Gastroenterology*, 18: 299-313.
- [48]- Gibson GR., Robertfroid Holza M.B., 1995. Dietary modulation of human colonic microbiota introducing the concept of probiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
- [49]- Schiffrin E.J., Blum S., 2002. Interaction between the microbiota and the intestinal mucosa. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56: 60-64.
- [50]- Rastall R.A., 2004. Bacteria in the gut: friends and foes and haw to alter the balance, *Journal of Nutrition*, 134: 2022-2026.
- [51]- Zoetendal E.G., Collier C.T., Koik S., Mackie R.L., Askins H.R., 2004. Molecular ecology analysis of the gastro-testinal microbiota: Areview. *Journal of Nutrition*, 134: 465-472.
- [52]- Mitsuoka T., 1989. Microbe in intestine. Ed., Yakuta CO., Tokyo, Japan.
- [53]- Hopkins M.J., Sharp R., Macfarlance GT., 2002. Variation in human intestinal microbiota with age. *Digestive and Liver Disease*, 34: 12-18.
- [54]- Holzapfel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in't Neld J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of food Microbiology*, 41: 85-101.
- [55]- Bousseboua H., 2005. Eléments de microbiologie, 2^e ed, édition, Compus Club, Constantine, P 246.
- [56]- Metchnikoff E., 1907, The production of life, in optimistic studies (Heinemann W., Ed), pp.1-100.G.P, Putnam and Sons, London, UK.
- [57]- Vergin F., 1954. Anti-und probiotica (anti-and probiotics), *Hipokrates*, 25(4): 116-119.
- [58]- Lilly D.M., Stillwell R.H., 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by micro-organisms. *Science*, 33(4): 253-255.
- [59]- Polman D.S., Danielson D.M., Peo J., 1980. Effect of microbiol feed additive on performance of starter and growing finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 51: 577-581.
- [60]- Garvie E.L., Cole C.B., Fuller R., Hewitt D., 1984. The effect of yoghurt on some componements of the gut microflora and metabolism of lactose in the rat. *J. Appl. Bacteriol.*, 56: 237-245.
- [61]- Gilliland S.E., Nelson C.R., Maxwell C., 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 337-381.

- [62]- Manisha N., Ashar., Prajapati J.B., 2001. Role of probiotics cultures and fermented milks in combating blood cholesterol. *Indian J. Microbiol.*, 41: 75-86.
- [63]- Reddy G.V., Shahini K.M., Baner M.R., 1993. Inhibitory effect of yoghurt on Ehrlich ascites tumour cell proliferation. *J. Natl. Cancer Res. Inst.*, 50: 815-817.
- [64]- Ronald I.R., Grasso P., 1975. Degradation of N-nitrosamine by intestinal bacteria. *Appl. Microbiol.*, 29: 7-12.
- [65]- Szajewska H., Kotowska M., Mrukowicz J.Z., Armansk M., Mikotajczyk W., 2001. Efficacy of *Lactobacillus* GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *Journal of Pediatrics*, 138: 361-365.
- [66]- Oberhelman R.A., Gilman R.H., Sheen P., Taylor D.N., Black R.E., Cabrera L., 1999. A placebo controlled trial of *Lactobacillus* GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *Journal of Pediatrics*, 134: 15-20.
- [67]- Arvola T., Laiho K., Torkkeli S., Mykkanen H., Salinen S., Maunula L., 1999. Probiotics *Lactobacillus* GG reduce antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infection: a randomized study. *Pediatrics*, 104: 64.
- [68]- Vanderhoof J.A., 1999. *Lactobacillus* GG on antibiotic-associated diarrhea in children. *Journal of Pediatrics*, 135: 564-568.
- [69]- Thomas R.M., Litin S.C., Osmon D.R., Corr A.P., Weaver A., Lohse C.M., 2001. Lack of effect of *Lactobacillus* GG on antibiotics-associated diarrhea: a randomized placebo-controlled trial. *Mayo Clinic Pediatrics*, 76: 883-889.
- [70]- Sarawics C.M., Elmer G.W., Speelman P., Mc Farland L.V., Chinn J., Van Belle G., 1989. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a perspective study. *Gastroenterology*, 96: 981-988.
- [71]- Mc Farland L.V., Sarawics C.M., Greenberg R.N., Elmer G.W., Moyer K.A., Melcher S.A., 1995. Prevention of β -lactam-associated-diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *American Journal of Gastroenterology*, 36: 171-174.
- [72]- Jukna C., Jukna V., Simkus A., 2005, The effect of probiotics and phytobiotics on meat properties and quality in pigs. *VETERINARIJA IR ZOOTECHNIKA*, 29 (51): 80-84.
- [73]- Parker R.B., 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Animal Nutrition and Health*, 29: 4-8.
- [74]- Fuller R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- [75]- Report of FAO/WHO, 2002. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting for the evaluation of probiotics in food. London. Ontario, Canada, April 30 and May 1, pp 1-11.

- [76]- Anuradha S., Rajeshwari K., 2005. Probiotics in health and disease. *JLACM*, 6 (1): 67-72.
- [77]- Sauvarna VG., Boby V.U., 2005. Probiotics in human health: A current assessment. *Current Science*, 88 (11): 1744-1748.
- [78]- Marteau P., Seksik P., Jian R., 2002. Probiotics and intestinal health effects: a clinical perspective. *British Journal of Nutrition*, 88 (suppl 1): S51-S57.
- [79]- Kelly P., Patrica B.M., Bannette M., Desmond J.F., et al., 2005. Correlation of probiotics *Lactobacillus salvarius* growth phase with its cell wall-associated proteome. *FEMS Microbiology Letters*, 52: 153-159.
- [80]- Dunne C., O' Mhony L., Murphy L., Thornton G., Morrissay O., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly., KIELY B., O'Sullivan G.C., Shanahan F., and Clins J.K., 2001. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with *in vivo* findings. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 386-392.
- [81]- Gill HS., Rutherford K.J., Parasad J., and Gopal P.K., 2000. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001) *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *British Journal of Nutrition*, 83: 167-176.
- [82]- Kimura K., Mc Cartny AL., Mc Connell M.A., Tannock G.W., 1998. Analysis of fecal population of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to the predominant strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3394-3398.
- [83]- Braegger C.P., 2002, Le rôle des probiotiques dans la prévention et le traitement de la gastroentérite aiguë chez l'enfant. *Paediatrica Erschienen*, 13 (5): S29-S33.
- [84]- Gionchetti P., Rzele F., Venturi A., Campieri M., 2000. Probiotics in infected diarrhea and inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 15: 489-493.
- [85]- Bengmark S., 2000. Colonic food: pre and probiotics. *Am J. Gastroenterol.*, 95: S5-S7.
- [86]- Sarem-Damerdjji J., Sarem F., Marchal L., Nicolas J.P., 1995. *In vivo* colonisation ability of human colon mucosa by exogenous *Lactobacillus* strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, 131: 133-137.
- [87]- Marteau P., Shanahan., 2003. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side effects. *Best Practices and Research Clinical Gastroenterology*, 17: 725-740.
- [88]- Blehaut H., Massot J., Elmer G., Levy R.H., 1989. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 10: 353-364.
- [89]- Marteau P., Vesa T., 1998. Pharmacokinetics of probiotics and biotherapeutic agents in humans. *Biosciences Microflora*, 17: 1-6.

- [90]- Godward G., Sultanak, Kailasapathy K., Peiris P., Arumugaswamy R., Reynolds N., 2000. The importance of strain selection on the viability and survival of probiotic bacteria in dairy foods. *Milchwissenschaft Milk Science International*, 55: 441-445.
- [91]- Apostolu E., Kirjen P.V., Saxilin M., Rautelin H Valtonen V., Salminen S., Ouwehand A., 2001. Good adhesion properties of probiotics: a potential risk for bacteremia. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 31: 35-39.
- [92]- Melmed G., Arditi M., Thomas L.S., Lee N. et al., 2003. Human intestinal epithelial cells are broadly unresponsive to toll-like receptor 2-dependant bacterial ligands; implication for host-microbiol interaction in the gut. *J. Immunol.*, 170: 1406-1415.
- [93]- Chermesh I., Eliakim R., 2006. Probiotics and gastrointestinal tract; where are we in 2005. *World Gastroenterol.*, 12 (6): 853-857.
- [94]- Yan F., Polk D.B., 2002. Probiotics bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J. Biolchem*, 277: 50959-50965.
- [95]- Datan I., Rachmitwitz D., 2005. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 21: 426-430.
- [96]- Prioult G., 2003. Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez la souris et étude de leur mécanisme d'action. Thèse de doctorat, faculté des sciences de l'agreculture et de l'alimentation, université de Laval, Québec, CANADA.
- [97]- Mercenier A., Pavan S., Pot B., 2002. Probiotics as biotherapeutic agent: present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design*, 8: 99-110.
- [98]- Marteau PR., de Vrese M., Cellier CJ., Schrezenmeir J., 2001. Protection from gastrointestinal disease with the use of probiotics. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73: 430S-436S.
- [99]- Percival M., 1997. Choosing a probiotic supplement. *Clin. Nutr. Insights*, 5: 1-6.
- [100]- Bengmart S., 2000. Clonic food: pre-and probiotics. *Am. J. Gastroenterol.*, 95: S5-S7.
- [101]- Levy J., Kelly C.P., 2001. Recurrent *Clstridium difficile* diarrhea. *Gut*, 49 : 152-153.
- [102]- Aiba Y., Susuki N., Kabir A.M., 1998. Lactic acid- mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as probiotic in gnotobiotic murine model. *Am. J. Gastroenterol.*, 93: 2097-2101.
- [103]- Sullivan A., Nord C.E., 2002. Probiotics in human infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50: 625-627.
- [104]- Sanders M.E., Klaenhammer T.R., 2001. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as probiotic. *J. Dairy s.a.*, 84: 319-331.

- [105]- Buck L.M., Gilliland S.E., 1994. Comparison of freshly isolated strains *Lactobacillus acidophilus* of human intestine origin for ability to assimilate cholesterol during growth. *Journal of Dairy science*, 77: 2925-2933.
- [106]- Klaver F.A.M., Vander Meer R., 1993. The use assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjug activity. *Appl. Microbiol.*, 59: 1120-1124.
- [107]- Weizman Z., Asli G., Alsheikh A., 2005. Effect of probiotics in infant formula on infection in child care centers: comparison of two probiotics agents. *Pediatrics*, 115: 5-9.
- [108]- Meier R.F., 2005. Probiotics: A new treatment for antibiotic associated diarrhea. *Digestion*, 72: 49-60.
- [109]- Cremonini F., Dicaro S., Nista E.C., Bartolozzi F., Capelli G., Gasbarrini G., Gasbarrini A., 2002. Meta analysis: The effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhea. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 16 (8): 1461-1467.
- [110]- Isolauri E., Juntunen M., Rautanen T., Sillanpää P., Koivula T., 1991. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*, 88 (1): 90-97.
- [111]- Rosenfeldt V., Michalsen K.F., Jacobsen M., Larsen C.N., Møller P.L., Tvede M., Weyrehter H., Valerius N.H., Paerregaard A., 2002. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of non hospitalized children attending day care-centers. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 21 (5): 417-419.
- [112]- Rosenfeldt V., Michaelsen K.F., Jakobsen M., Larsen C.N., et al., 2002. Effect of probiotic *Lactobacillus* strain in young children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 21 (5): 411-416.
- [113]- Kaila M., Isolauri E., Saxelin M., Arvilommi H., Vesikari T., 1995. Viable versus inactivated *Lactobacillus* GG in acute rotavirus diarrhea. *Arch. Dis. Child*, 72: 51-53.
- [114]- Allen S.J., Okoko B., Martinez E., Gregorio G., Dans LF., 2004. Probiotics for treating infectious diarrhea. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2: CD003048.
- [115]- Sarker S.A., Kotowska S., Fuchs G.J., Alom N.H., Azim T., Brussow H., Hommarstrom L., 2005. *Lactobacillus casei* strain ST11 has no effect on rotavirus but ameliorate the outcome of non rotavirus diarrhea in children from Bangladesh. *Pediatrics*, 116: 221-228.
- [116]- Black FT., Andersen PL., Orskov J., 1989. Prophylactic efficacy of *Lactobacilli* on traveler's diarrhea. *Travel. Med.*, 7: 333-335.

- [117]- Oksanen P.J., Salminen S., Saxilin M., 1990. Prevention of traveler's diarrhea by *Lactobacillus GG*. *Ann. Med.*, 22: 53-56.
- [118]- Guandalini S., 2002. Use of *Lactobacillus GG* In pediatric Crohn's disease. *Digestive and Liver Disease*, 3: 63-65.
- [119]- Gosselink M.P., schouter W.R., Leishout L., HOP W.C., Laman J.D., Ruseler Van Embden J.G., 2004. Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Disease of Colon Rectum*, 47: 876-884.
- [120]- Bousvaros A., Guandalini S., Beldassano R.N., Botelho., et al., 2005. Arandomized, double blind trial of *Lactobacillus GG* versus placebo in addition to standard maintenace therapy for children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.*, 11: 833-839.
- [121]- Drisko J.A., Giles C.K., Bischoff B.J., 2003. Probiotics in health maintenance and disease prevention. *Alternative Medecine Review*, 8: 143-155.
- [122]- Myllyluma E., Veijola L., Ahtroos T., Tenkkynen S., Kankuri E., Vapaatalo H., Rautelin H., Korpela R., 2005. Probiotic supplementation improves tolerans to *Helicobacter pylori* and eradication therapy: a placebo conrolled, double-blind randomized pilot stady. *Aliment. pharmacol.*, 15: 1263-1272.
- [123]- Sykora J., Valeckova K., Amlerova., Oedek P., Watkins S., Varvarovs S.K., Stozicky F., Schwarz., 2005. Effect of specially designed fermented milk product containing probiotic *Lactobacillus casei* DN-114001 and the eradication of *H. pylori* in children: a perspective randomized double-blind study. *J. Clin. Gastroenterol.*, 39: 692-698.
- [124]- Ishkawa H., Akebo L., Otani T., Nakamura T., et al., 2005. Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of corectal tumors. *Int. J. Cancer*, 116: 162-167.
- [125]- De Moreno de Leblanc A., Matar C., Le Blanc N., Perdigon G., 2005. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on a murine breast cancer model. *Breast Cancer Research*, 7: R477-R486.
- [126]- De Moreno de le Blanc A., Perdigon G., 2005. Reduction of beta-gluronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model. *Biocelle*, 29: 15-24.
- [127]- Drouault S., Corthier G., 2001. Effet des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet. Res.*, 32: 101-117.
- [128]- De Man J.C., Rogosa M., Shaarpe M.E., 1960. A medium of cultivation of *Lactobaccilli*. *J. Appl. Bacterio.*, 23: 130.
- [129]- Terzaghi B.E., Sandine W.E., 1975. Improved medium for lactic streptococci aand their bacteriophage. *Appl. Microbiol.*, 29: 807-813.

- [130]- Salvadogo A., Cheik A.T., Ouattara Imael H.N., Alfred S.T., 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3 (3): 174-179.
- [131]- Chateau N.G., Larpent J.P., Castellanol M.I et Larpent J.L., 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp125-141.
- [132]- Kacem M., Zadi-Karem H., Karam N., 2004. Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green olives. *Grasasy Aceites*, 55 (4): 385-393.
- [133]- Delgado A., Brito D., Fevereiro P., Peres C., Figueirerdo Marques J., 2001. Antimicrobial activity of *Lb.plantarum* isolated from traditional lactic acid fermentation of table olives. *Lait*, 81: 203-215.
- [134]- Van Kranenburg R., Van Swan I.I., Kleerebezem M., De Vos W.M., 1998. Expression, disruption, and complementation of *eps* genes essential for exopolysaccharide biosynthesis in *L. lactis*. Pages 45-46, ASM Conference on Streptococcal Genetics, Vichy, France.
- [135]- Gamar Nourani L., Blodeau K., Simonet J.M., 1998. Influence of culture condition on exopolysaccharids production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 664-672.
- [136]- Obadina A.O., Oyewole O.B., Sanni L.O., Tomlins K.L., 2006. Bio-preservative activities of *Lb.plantarum* strains in fermentating Cassava 'fufu'. *African journal of biotechnology*, 5 (8): 620-623.
- [137]- Todorov S.V., Theodore Dicks L.M., 2005. Effect of growth medium on bacteriocine production by *Lb.plantarum* ST194BZ, a strain isolated from Bosa. *Food Technol. Biotechnol.*, 43 (2): 165-173.
- [138]- Enan G., 2006. Inhibition of *Clostridium perfringens* LMG11264 in meat samples of chicken turkey and beef by the bacteriocin plantaricin UG1. *International Journal of Poultry Science* 5 (2): 196-200.
- [139]- Savadogo A., Ouattara Cheik A.T., Bassol Imael H.N., Alfred S traore, 2006. Bacteriocins and acid lactic bacteria – a mini review. *African Journal of Biotechnology*, 5(9): 678-383.
- [140]- Oyetayo V.O., Osho B., 2004. Assessment of probiotic properties of a strain of *Lb.plantarum* isolated from fermenting Corn staryy (Ogi). *Food, Agriculture and Environment*, 2 (1): 132-134.

- [141]- Klarin B., Johansson M.L., Molin G., Larsson A., Jeppsson B., 2005. Adhesion of probiotic bacterium 299v on to the gut mucosa in critically ill patients: a randomised open trial. *Critical Care*, 9: R258-R293.
- [142]- Djouvinov D., Biocheva S., Simeonova T., Vlaikova T., 2005. Effect of feeding LACTINA^R probiotic of performance, some blood parameters, and faecal microflora of mule ducklings. *Trakia Journal of Science*, 3 (2): 22-28.
- [143]- Foo H.L., Loh T.C, Lai P.W., Lim Y.Z., Kufli C.N., Rusul G., 2003. Effect of adding *Lb.plantarum* I-ULA metabolites in drinking waters of rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (5): 283-288.
- [144]- Parvez S., Malik K.A., Ah Kang S., Kim H.Y., 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 1171-1185.
- [145]- Oyetayo V.O., Adetuyi F.C Akinyosyie F.A., 2003. Safety and protective effect of *Lb.acidiphilus* and *Lb.casei* probiotic agent in vivo. *African Journal of Biotechnology*, 2 (11): 448-452.
- [146]- Fukushima M., Nakano M., 1995. The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. *British Journal of Nutrition*. 73: 701-710.
- [147]- Xiao J.Z., Kondo S., Takahashi N., Miyoji K., Oshidat K., Hiramatsu A., 2003. Effect of milk products fermented by *Bifidobacterium logum* on blood lipids in rats and adult male volunteers. *J. Dairy sci.*, 86: 2452-2461.
- [148]- Kawasse M., Hashimoto H., Hosoda M., Morita H., Horsono A., 2000. Effect of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure. *J. Dairy sci.*, 83: 255-263.
- [149]- Foo H.L., Loh T.C., Lim Y.Z., Shukriyah M., Kufli C.N., Law F.L., 2003. Effect of fermented fruits on growth performance, shedding of Enterobacteriaceae and lactic acid bacteria and plasma cholesterol in rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (4): 288-233.

Annexe

Annexe

Les milieux de cultures utilisés :

Milieu MRS (de MAN ROGOSA, SHARPE, 1960)

Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Acétate de sodium	5g
Phosphate bipotassique	2g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	2g
Sulfate de manganèse, 4H ₂ O	0.05g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Agar	15g
Eau distillée qsp	1000ml
pH= 6.2	
Stérilisation 15 min à 120°C	

Milieu M17

Peptone tryptique de caséine	2.5g
Peptone pepsique de viande	2.5g
Peptone papainique de soja	5g
Extrait de levure déshydraté	2.5g
Extrait de viande	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0.25g
Acide ascorbique	0.5g
Agar	9à18g
Eau	950ml
pH= 7,1-7,2	
Stérilisation 20min à120°C	

Bouillon hypersalé

Glucose	5g
Extrait de viande	5g
Peptone	15g
NaCl	65g (6.5%) ou 40g (4%)
Eau distillée	1000ml

pH= 7,5

Stérilisation 20min à 120°C

Milieu Gibson Abdel Malek

1-lait écrémé à 0,01%de teinture de tournesol	1600ml
Glucose	110g
2-Agar	8g
Peptone	4g
Extrait de viande	4g
NaCl	2g
Eau distillée	400ml

Dessoude par chauffage doux

3-Jus de tomate	200ml
Extrait de levure	5,6g

Dissoudre par chauffage doux

Mélanger les 3 liquides obtenus.

Ajuster le pH à 7.repartir en tubes, stériliser en vapeur

fluente 3jours consécutifs et solidifier en position verticale

Milieu YMA (Yeast Milk Agar)

Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Lait écrémé	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH=7,1	
Stérilisation 20 min à 120°C	

Gélose hypersaccharosée

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	3g
Bactopeptone	2,5g
Saccharose	150g
K ₂ HPO ₄ NaCl	2g
NaCl	1g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2g
Agar	1,5g
Eau distillée qsp	1000ml
pH= 6,8-7	
Stérilisation 20 min 120°C	

Arginine dihydrolase (ADH)

Peptone	5g
Extrait de viande	5g
Pyridoxal	0.005g
Solution aqueuse de pourpre de bromocrésol	
à 2%	5ml
Glucose	0.5g
Eau distillée qsp	1000ml
pH=6,4	
Stérilisation 15min à 120°C	

La réductase

Lait écrémé stérilisé en tube (15%)

Teinture de tournesol

Autoclavage 15min à 121°C

Lait de Sherman

Lait écrémé stérilisé en tubes (9%)

Bleu de méthylène 0,1% et 0.3%

(9ml de lait+1ml de bleu de méthylène)

Milieu Clark et lubs

Peptone tryptique

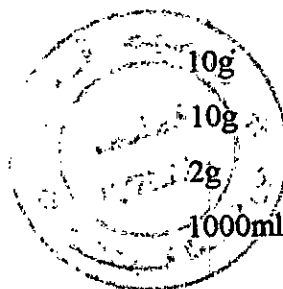
Glucose

Phosphate bipotasique

Eau distillée qsp

pH=6,9

Stérilisation 15min à 120°C



Encadreur: Leghouchi Essaid	Présenté par: Khennouf Tarek	Date de soutenance : le : 04 / 11 / 2006
Etude de l'activité probiotique des bactéries isolées à partir de <i>Cynodon dactylon</i> et <i>Olea europea</i>.		
<p>Résumé:</p> <p>Les vertus probiotiques des bactéries lactiques sont admises et reconnues depuis long temps. Ces vertus se manifestent par l'inhibition des pathogènes, on attribue également à certaines souches le pouvoir anticholestérolémiant antitumoral...etc.</p> <p>Notre étude porte sur l'isolement des souches de bactéries lactiques à partir de <i>Cynodon dactylon</i> et <i>Olea europea</i>, l'étude de quelques aptitudes technologiques, l'effet antimicrobien et l'effet probiotique sur les paramètres zootechniques et plasmatiques (cholestérol et triglycérides), pendant quatre semaines.</p> <p>Certaines souches de ces bactéries ont la capacité de produire des polysaccharides, d'inhiber la croissance des entérobactéries, comme il semble ainsi que le <i>Lactobacillus plantarum</i> O19 exerce un effet favorable sur les paramètres zootechniques ainsi que sur les paramètres plasmatiques.</p> <p>Mots clefs: bactéries lactiques, probiotique, <i>Lactobacillus plantarum</i>, cholestérol, triglycérides, paramètres zootechniques.</p>		
<p>Summary:</p> <p>The probiotic virtues of the lactic acid bacteria is admitted and recognized since a long time. These virtues appear by the inhibition of the pathogenic, one also assigns to some stumps the power anticholesterolemic antitumoral...etc.</p> <p>Our study is about the isolation of the stumps of lactic bacteria from <i>Cynodon dactylon</i> and <i>Olea europea</i>, the study of some technological faculties, the antimicrobial effect and the probiotic effect on the zootechnic and plasmatic parameters (cholesterol and triglycerides), during four weeks.</p> <p>Some stumps of these bacteria have the capacity to produce the polysaccharides, to inhibit the growth of the gut bacteria, as he/it seems that the <i>Lactobacillus plantarum</i> O19 exercises a favorable effect on the zootechnic parameters as well as the plasmatic parameters.</p> <p>Words keys: lactic bacteria, probiotic, <i>Lactobacillus plantarum</i>, cholesterol, triglycerides, zootechnic parameters</p>		
<p style="text-align: right;">ملخص:</p> <p>إن التأثير الإيجابي للبكتيريا البنية معروف منذ مدة طويلة، هذا التأثير يظهر جليا في تثبيط البكتيريا الضارة من التكاثر، كذلك لها فعل إيجابي على بعض الأمراض الأخرى مثل تقليل نسبة الكولسترول في الدم، لها فعل مضاد لبعض المرطانات... الخ.</p> <p>يتمثل العمل الذي قمنا به، نجازه في عزل و تعريف بعض الاثواع البكتيرية انطلاقا من نبات <i>Cynodon dactylon</i> و <i>Olea europea</i> (الزيتون) ثم دراسة بعض الخصائص التكنولوجية لهذه البكتيريا كذلك دراسة المفعول الإيجابي (بروبيوتيك) لها على الصحة أين اخترنا دراسة تأثير هذه البكتيريا على نسبة الكولسترول و كذا نسبة التريغليسيريدات في الدم أيضا دراسة بعض الخصائص الزووتقنية.</p> <p>النتائج أظهرت أن بعضا من هذه البكتيريا لها القدرة على إنتاج السكريات المتعددة، لها القدرة أيضا على تثبيط نمو البكتيريا المعوية كما أن النوع <i>Lactobacillus plantarum</i> O19، يبدو أن له تأثير إيجابي على الخصائص الزووتقنية وكذا خفض نسبة الكولسترول و، التريغليسيريدات في الدم.</p> <p>الكلمات المفتاح: البكتيريا البنية، بروبيوتيك، <i>Lactobacillus plantarum</i>، الكولسترول، التريغليسيريدات، الخصائص الزووتقنية.</p>		