

جامعة جيجل  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبية  
رقم التبريد : 12.18



Faculté des Sciences  
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



### Mémoire

De fin d'études En vue de l'obtention du Diplôme des Etudes Supérieures  
(D.E.S) en biologie

Option : Microbiologie

## Thème

Les bactéries lactiques du jabot du poulet de chair :  
Isolement, identification et propriétés probiotiques

Membres de jury :

Examineur : Mme Benhamada .W

Encadreur : Dr Idoui .T



Présenté par :

Melle Amira Meriem

Melle Benreguia Hadjer

Melle Roula Hanane



Promotion : 2007/2008

## *Remerciements*

*Nous remercions le bon dieu qui nous a doté du courage, de la patience et de la volonté pour être sur le bon chemin.*

*Nous tenons à formuler notre gratitude et nos sincères remerciements à notre compétent encadreur **Dr Idoui Tayeb** pour son encadrement précieux, sa confiance, sa patience, sa disponibilité et l'aide précieuse qu'il nous a toujours apporté avec bienveillance.*

*Nos remerciements vont également aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.*

*Nous tenons à remercier le groupe lactique de l'université d'Oran pour leur contribution à la finalisation de notre travail.*

*Sans oublier l'ensemble des enseignants qui ont contribué par leurs dévouements et leurs compétences à notre formation acceptant nos remerciements les plus sincères, et aussi les techniciennes du laboratoire qu'elles nous ont offert tout le long de notre stage de fin d'étude, qu'elle trouvent ici notre profonde gratitude et un grand respect.*

*Un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*A vous tous, notre profonde gratitude.*

# *sommaire*

# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Synthèse Bibliographique.....</b>	
<b>Chapitre I : Les bactéries lactiques.....</b>	
I.1. Définition et données générales.....	3
I.2. Propriétés générales.....	3
I.3. Origine.....	4
I.4. Classification.....	4
I.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	5
I.4.2. Le genre <i>Pediococcus</i> .....	7
I.4.3. Le genre <i>Streptococcus</i> .....	8
I.4.4. Le genre <i>Lactococcus</i> .....	8
I.4.5. Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	8
I.4.6. Le genre <i>Carnobacterium</i> .....	8
I.5. Importance des bactéries lactiques.....	9
I.5.1. Dans le domaine de la nutrition.....	9
I.5.2. Dans le domaine de l'agro-industrie.....	9
<b>Chapitre II : Les probiotiques</b>	
II.1. Historique , définition et principaux groupes de probiotiques.....	11
II.2. Critères de sélection des souches probiotiques.....	12
II.2.1. Choix de microorganismes.....	12
II.2.2. Origine humaine.....	12
II.2.3. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif.....	13
II.2.4. Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales.....	13
II.2.5. Activités antimicrobiennes.....	13
II.2.6. Propriétés technologiques : viabilité et stabilité des microorganismes.....	13
II.3. Mécanisme d'action des probiotiques.....	14
II.3.1. Inhibition des bactéries indésirables.....	14
II.3.2. Neutralisation des produits toxiques.....	15
II.3.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire.....	15
II.3.4. Effet sur la muqueuse intestinale.....	16
II.3.5. Influence sur la réponse immunitaire.....	16
II.3.6. D'autres effets bénéfiques sur la santé.....	16
II.4. Effet des probiotiques en alimentation animale.....	17
II.5. Effet des probiotiques en alimentation humaine.....	17
II.6. Les bactéries lactiques et leur action probiotique.....	18
<b>Chapitre III : La microflore digestive des volailles</b>	
III.1. L'appareil digestif des volailles.....	19
III.2. La microflore digestive des volailles.....	20



III.2.1. Description de la flore digestive du poulet.....	20
III.3. Variation de la microflore digestive.....	21
III.4. Production de métabolites par la flore digestive.....	22
III.5. Utilisation des probiotiques en aviculture.....	23
III.5.1. Efficacité sanitaire.....	23
III.5.2. Efficacité zootechnique.....	24

## Partie II : Etude expérimentale

### Matériel et Méthodes

II.1. Matériel.....	25
II.1.1. Matériel biologique.....	25
II.1.2. Milieux de culture.....	25
II.1.3. Produits chimiques et réactifs.....	26
II.1.4. Autres matériel.....	26
II.2. Méthodes.....	27
II.2.1. Préparation de l'échantillon, démembrement, isolement et purification.....	27
II.2.1.1. Préparation des dilutions.....	27
II.2.1.2. Flores dénombrées.....	27
II.2.1.3. Isolement.....	28
II.2.1.4. La purification.....	28
II.2.1.5. Testes d'identification des Entérobactéries.....	28
II.2.1.6. Testes d'identification des bactéries lactiques.....	32
II.2.2. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	34
II.2.2.1. Etude du pouvoir acidifiant.....	34
II.2.2.2. Etude du pouvoir protéolytique.....	35
II.2.2.3. Pouvoir texturant.....	35
II.2.3. Evaluation des aptitudes probiotiques « <i>in vitro</i> ».....	36
II.2.3.1. Estimation de la croissance.....	36
II.2.3.2. croissance sur milieu hostile.....	36
II.2.3.3. Résistance aux antibiotiques.....	36
II.2.3.4. pouvoir antagonistes des bactéries lactiques.....	37
II.2.4. Reconstitution de levain.....	37

### Résultats et Discussion

III.1. Evolution de la microflore cultivable du jabot du poulet de chair.....	39
III.2. constitution d'un soucier des Entérobactéries à partir du jabot de poulet de chair.....	40
III.2.1. Isolement et purification des entérobactéries.....	40
III.2.2. Tsts biochimiques.....	40
III.3. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques.....	43
III.3.1. Examen macroscopique et microscopique.....	43
III.3.2. Testes physiologiques et biochimiques.....	44
III.3.3. Identification par profil de fermentation des sucres et logiciel.....	48
III.3.4. Etude de quelques aptitudes technologiques.....	51
III.3.4.1. Pouvoir acidifiant.....	51
III.3.4.2. Pouvoir protéolytique.....	54
III.3.4.3. Pouvoir texturant.....	55
III.3.5. Evolution des aptitudes probiotiques « <i>in vitro</i> ».....	57

III.3.5.1.Croissance sur milieu acide.....	59
III.3.5.2.Croissance en présence de sels biliaires.....	60
III.3.5.3.Résistance aux antibiotiques.....	61
III.3.5.4.Aptitudes antagonistiques des bactéries lactiques.....	63
III.3.5.5.Effet surnageant des bactéries lactiques sur les Entérobactéries.....	66
III.3.6.Reconstitution de levain.....	68

<b>Conclusion générale.....</b>	<b>71</b>
---------------------------------	-----------

<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>72</b>
---	-----------

**Annexe**

# *Listes des abréviations*

**ADH** : Arginine déshydrogénase  
**°C** : degré Celsius  
**Citp** : Citrate perméase  
**cm** : Centimètre  
**CT** : Coliformes totaux  
**CTT** : Coliformes thermotolérants  
**°D** : Degré Dronick  
**D** : Dextrogyre  
**g** : gramme  
**GN** : Gélose nutritive  
**h** : heure  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène  
**L** : Levogyre  
**Lb** : *Lactobacillus*  
**LDC** : Lysine décarboxylase  
**ml** : millilitre  
**mn** : minute  
**NB** : Nombre  
**ODC** : Ornithine décarboxylase  
**ONPG** : Orthonitrophénol galactopyranose  
**pH** : potentielle Hydrogène  
**RM** : Réaction de rouge de Méthyle  
**T** : Température  
**UFC/g** : Unité formant colonie par gramme  
**V** : Volume  
**V NaoH** : Volume Du NaoH  
**VP** : réaction de Voges Proskawer  
**µl** : microlitre

# Listes des tableaux

Tableau N°	Page
<b>Tableau 01</b> : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales Caractéristiques.	5
<b>Tableau 02</b> : Principaux caractères des <i>Lactobacillus</i> .	7
<b>Tableau 03</b> : Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques.	12
<b>Tableau 04</b> : Les principaux facteurs influençant la composition et la fonction de la microflore intestinale.	22
<b>Tableau 05</b> : Métabolites produits chez la volaille.	23
<b>Tableau 06</b> : Résultats de la numération de la microflore cultivable du jabot.	39
<b>Tableau 07</b> : Résultats des tests d'identification des entérobactéries.	41
<b>Tableau 08</b> : utilisation des sucres par les souches isolées et identifiées.	42
<b>Tableau 09</b> : Profils biochimiques des souches de bactéries lactiques isolées.	47
<b>Tableau 10</b> : Profils fermentaires des sucres des souches isolées.	48
<b>Tableau 11</b> : Les noms scientifiques des espèces identifiées.	49
<b>Tableau 12</b> : Evaluation de l'acidité et du pH pendant 24h.	51
<b>Tableau 13</b> : pouvoir protéolytique des souches étudiées sur milieu YMA.	54
<b>Tableau 14</b> : Production de polysaccharides par les bactéries lactiques.	56
<b>Tableau 15</b> : Estimation de la population microbienne des Entérobactéries après 4h d'incubation.	58
<b>Tableau 16</b> : Estimation de la population microbienne des bactéries lactiques après 20h d'incubation.	58
<b>Tableau 17</b> : Croissance des bactéries lactiques en fonction du pH du milieu	59
<b>Tableau 18</b> : Croissance des bactéries lactiques en fonction des doses de sels biliaires.	60
<b>Tableau 19</b> : Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques.	62
<b>Tableau 20</b> : Résultats d'interaction entre quelques bactéries lactiques et les Entérobactéries.	63
<b>Tableau 21</b> : Effet des surnageants natifs des bactéries lactiques sur les Entérobactéries.	66
<b>Tableau 22</b> : Effet des surnageant neutres des bactéries lactiques sur les Entérobactéries.	68
<b>Tableau 23</b> : Résultats des interactions entre les bactéries lactiques.	69



# Listes des figures

---

Figure N°	page
<b>Figure 1</b> : Différents isomères de l'acide lactique.	3
<b>Figure 2</b> : Aspect des <i>Lactobacillus</i> sous microscope électronique.	6
<b>Figure 3</b> : Propriétés et critères de sélection des probiotiques.	14
<b>Figure 4</b> : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques.	17
<b>Figure 5</b> : Tube digestif du poulet.	19
<b>Figure 6</b> : évolution de la composition de la flore digestive iléale du poulet en fonction de l'âge déterminée par démembrement bactérien.	21
<b>Figure 7</b> : Effet des probiotiques sur la microflore.	24
<b>Figure 8</b> : Effet des probiotiques sur les barrières physiques.	24
<b>Figure 9</b> : Répartition des genres des entérobactéries en pourcentage.	43
<b>Figure 10</b> : Résultats de la croissance à différentes températures.	44
<b>Figure 11</b> : Résultat de la croissance sur bouillon hypersalé.	45
<b>Figure 12</b> : Résultats de la recherche de la réductase sur le lait tournesolé.	46
<b>Figure 13</b> : résultats du type fermentaire sur milieu Gibson Abdelmalek.	46
<b>Figure 14</b> : Répartition des espèces de bactéries lactiques en pourcentage.	50
<b>Figures 15a, 15b, 15c et 15d</b> : Evolution du pH pendant 24h d'incubation.	52
<b>Figure 16a, 16b, 16c et 16d</b> : Evolution de l'acidité après 24h d'incubation.	53
<b>Figure 17</b> : Pouvoir protéolytique sur le milieu YMA.	55
<b>Figure 18</b> : Pouvoir texturant sur milieu hypersaccharosé	56
<b>Figure 19</b> : Résistance et sensibilité de bactéries lactiques( <i>L. helveticus</i> et <i>L. viridescens</i> ) aux antibiotiques.	62
<b>Figure 20</b> : Aptitudes antagonistiques sur gélose Hecktoen.	64
<b>Figure 21</b> : Résultats de l'effet du surnageant natif.	67
<b>Figure 22</b> : Résultats des interactions entre les bactéries lactiques.	69

# *Introduction*

Les bactéries lactiques sont utilisées dans de nombreux produits laitiers dont les laits fermentés, les fromages et les yogourts. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments ainsi qu'à la production de composés aromatiques. Les bactéries lactiques inhibent la prolifération de micro-organismes par la production de composés inhibiteurs telles les bactériocines et en abaissant le pH par la production d'acide lactique [1,2].

Depuis une dizaine d'années, 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 yogourts, laits fermentés, fromages, laits 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 grande sensibilité à l'oxygène, de leur faible tolérance aux acides issus de leur métabolisme et de leurs exigences nutritionnelles [3].

Cependant, la stabilité physique et génétique des cellules ainsi que toutes les propriétés nécessaires pour exercer leurs bienfaits sur la santé doivent également être assurées. De plus, ces souches devraient être viables sans se multiplier pour ne pas provoquer d'effet indésirable sur le goût ou l'arôme du produit ni augmenter l'acidité. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que des cellules en phase stationnaire de croissance, plus tolérantes aux stress environnementaux que des cellules en phase exponentielle, devraient être privilégiées pour la confection de produits contenant des probiotiques en grand nombre [4,5].

Les interactions possibles entre bactéries lactiques et probiotiques devraient également être prises en compte pour sélectionner la meilleure combinaison de souches afin d'optimiser le procédé et la survie cellulaire dans le produit [6].

Bien que les probiotiques représentent seulement une faible proportion de la masse microbienne du système gastro-intestinal de l'hôte, il s'emble y jouer des rôles biologiques déterminants par des mécanismes qui doivent être élucidés. Ils établissent ainsi des interactions avec la barrière intestinale physique (interaction avec le mucus, action trophique sur la muqueuse, modulation de la perméabilité paracellulaire) et fonctionnelle (immunomodulation locale et systémique) [7].

Enfin, ces bactéries probiotiques devraient être capable de survivre en grand nombre aux conditions acides de l'estomac et aux sels biliaires de l'intestin lors de la consommation du produit, puis d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin afin de produire les effets bénéfiques désirés le plus longtemps possible [8].

Dans cette thèse, nous nous sommes proposés d'investir nos connaissances, en traitant le sujet intitulé : isolement, purification, identification des bactéries lactiques du jabot, et activité probiotiques.

Cette étude a été accomplie en deux parties :

- Une étude bibliographique qui a permis en un premier temps d'élargir nos connaissances sur les bactéries lactiques, les probiotiques, et la physiologie du poulet.
- Une étude expérimentale dans laquelle nous établirons des profils d'identification des bactéries lactiques et des entérobactéries, une étude des aptitudes probiotiques et technologiques des bactéries lactiques, par la suite on passe à l'étude des interactions entre les entérobactéries et les bactéries lactiques.  
Enfin pour la reconstitution des levains on étudiera les interactions des bactéries lactiques entre elles.

*Partie I*

*Syntèses bibliographiques*



*Chapitre I*  
*Les bactéries lactiques*

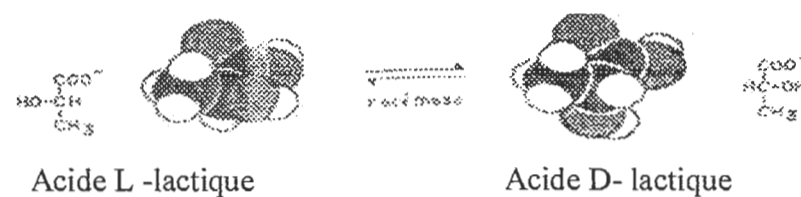
**I.1. Définition et données générales :**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes qui produisent de l'acide lactique (L) et ou (D), comme produit majeur durant la fermentation des carbohydrates [9].

Ce sont des microorganismes vivants qui une fois ingérés, vont conférer un effet physiologique bénéfique à leur hôte grâce à leurs propriétés microbiennes [7]. Elles constituent un groupe hétérogène avec un métabolisme exclusivement fermentaire et rassemblent un certain nombre de bactéries Gram<sup>+</sup> possédant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes, mais avec parfois peu d'homologie de leur acides nucléiques [10].

Une bactérie lactique est capable d'excréter l'acide lactique L (+), D (-) mais de nombreuses espèces tendent à faire les deux à la fois (**Figure 1**). Il arrive aussi que la présence des deux énantiomères dans le milieu de fermentation soit due à la présence d'une racémase (*Lactobacillus curvatus*, *L. sake*) [11].

Les bactéries lactiques sont impliquées dans de nouveaux types de produits en tant que « probiotique » [12].



**Figure 1 :** Différents isomères de l'acide lactique [11].

**I.2. Propriétés générales :**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes sphériques ou allongées à Gram<sup>+</sup>, non sporulantes, immobiles. Elles répondent aux caractéristiques suivantes [13, 14, 15, 16, 17] :

- Ne possédant aucune catalase (certaines souches possèdent une pseudo catalase), et donnant réaction de l'oxydase (-) ;
- Elles sont aéro-anaérobies facultatifs, micro aérophiles, généralement aéro-tollérantes, mais certaines espèces vivantes dans le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes ;
- Nitrate réductase négative;
- Elles sont dépourvus de cytochromes étant incapable d'effectuer la synthèse du noyau hème de porphyrines, de ce fait elles sont incapables de respirer mais peuvent seulement effectuer un métabolisme fermentaire ;
- Leur capacité de biosynthèse est faible ce qui explique leur poly-oxotrophie par divers acides aminés, base nucléique, vitamines et acides gras, les sels et les glucides fermentescibles.
- Leur caractère pathogène est en revanche exclusivement réduit puisque seules certaines espèces du genre *Streptococcus* et dans certaines conditions *Enterococcus* peuvent être impliquées dans les infections humaines.

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites [13,18] :

- a. **Homofermentaire** : l'acide lactique est le seul produit du métabolisme excrété à partir du substrat par la voie d'Embden Meyerhof Parnas.
- b. **Hétérofermentaire** : conduisant à l'acide lactique, du gaz carbonique et de l'éthanol, et d'autres molécules comme l'acide acétique et le formiate.

Si le lactate déshydrogénase (LDH) est très actif, la bactérie s'oriente vers la production massive de lactate); au contraire, toute inhibition de le LDH favorise l'orientation vers la fermentation hétérolactique [11].

Sous certaines conditions, quelques bactéries lactiques (*Lc.diacetylactis* ou *Leuconostoc cremoris*) sont capables de fermenter l'acide citrique en nombre de produits comme le dioxyde de carbone, l'acide acétique et le diacetyl or, ce dernier participant énormément à la flaveur des produits laitiers, ces bactéries sont communément appelées bactéries aromatiques [18].

### I.3. Origine :

Les bactéries lactiques ont de nombreux habitats en dehors des produits laitiers, on les rencontre en abondance dans les produits végétaux : ensilages, choucroutes, graines, jus, et moûts en fermentation,... Elles sont également présentes dans la peau, tube digestif et muqueuse vaginale de l'homme et des animaux où elles accomplissent de nombreuses fonctions, elles créent notamment un environnement hostile (milieu acide gras à la production de l'acide lactique) aux bactéries pathogènes [12].

### I.4. Classification :

La production d'acide lactique dans les produits de la fermentation anaérobie des sucres est un caractère biochimique important dans la classification des bactéries lactiques ainsi que les différences dans leurs morphologies. Le Bergey's Manuel est plus utile pour les microbiologistes qui s'occupent du lait et des fermentations, le tableau 01 résume cette classification [17].

La nouvelle classification des bactéries tient compte des apports modernes de la taxonomie moléculaire. Sept genres principaux constituent le groupe des bactéries lactiques ont été rapportés [9] :

- *Lactobacillus* ;
- *Carnobacterium* ;
- *Streptococcus* ;
- *Enterococcus* ;
- *Lactococcus* ;
- *Pediococcus* ;
- *Leuconostoc*.

Le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré par plusieurs auteurs comme un genre de bactéries lactiques.

**Tableau 01 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques [17].**

Genre	Morphologie	Fermentation	T°opt	NB espèces
<i>Lactobacillus</i>	bacilles	homofermentaires ou hétérofermentaires	thermophiles ou mésophiles	G.I : 23 G.II : 16 G.III : 22
<i>Carnobacterium</i>	bacilles	hétérofermentaires	psychrotrophes	6
<i>Lactococcus</i>	coques	homofermentaires	mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	coques	homofermentaires	mésophiles ou thermophiles	19
<i>Enterococcus</i>	coques	homofermentaires	mésophiles	13
<i>Vagococcus</i>	coques mobiles	homofermentaires	mésophiles	2
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	homofermentaires	mésophiles	7
<i>Tetragenococcus</i>	coques en tétrades	homofermentaires	mésophiles	1
<i>Leuconostoc</i>	coques	hétérofermentaires	mésophiles	11
<i>Oenococcus</i>	coques	hétérofermentaires	mésophiles	1
<i>Bifidobacterium</i>	forme irrégulière	acide acétique et lactique	mésophiles	25

T° opt : température optimale de développement.

NB espèces : nombre des espèces connues.

G : groupe.

#### I.4.1. Le genre *Lactobacillus* :

Le *Lactobacillus* est le genre de la famille des *Lactobacillaceae*. Il s'agit de bacilles allonger, souvent groupés en chaînettes, ayant une forte exigence en facteurs de croissance. Leur acidification du lait, moins rapide mais plus poussée qu'avec les streptocoque [12,19].

Dans ce groupe, on trouve une forte production d'acide lactique (jusqu'à 2,8%). La croissance des lactobacilles est bonne dans un milieu à pH (4,5-6,4) mais diminue à pH (4,0- 3,6) [20]. Ils ont une activité caséinolytique marquée en général du fait de la présence de la protéinase active [12].

Ce genre regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est illustrée par la variation du pourcentage (C+G) : 32 à 53%. Il a été subdivisé en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel [19] :

**a. Groupe des *Thermobacterium* :** Il comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Ce groupe est actuellement subdivisé en huit espèces [12].

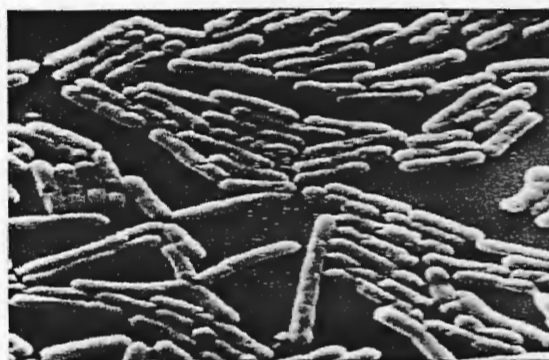
**b. Groupe des *Streptobacterium*** : Il regroupe les lactobacilles homofermentaires, mésophiles qui se développent à 15°C (ils peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat), c'est-à-dire capable d'utiliser la voie hétérofermentaires dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante [17, 19].

Il comprend trois complexes d'espèces [16] :

- Le premier « complexe » correspond à *Lb.plantarum*.
- Le second « complexe » est à *Lb.casei*.
- Le troisième « complexe » regroupe :

- 1.*Lb.sake*.
- 2.*Lb.curvatus*.
- 3.*Lb.bavaricus*.

**c. Groupe des *Betabacterium*** : Il comprend les lactobacilles hétérofermentaires obligatoire, se développent très lentement et produisent peu d'acide (0,5%) au maximum, il s'agit d'un mélange d'acides organiques : lactiques, acétiques et succiniques... etc. Ils produisent aussi peu d'alcool, leur caractéristique dominante est la production de gaz en quantité importante. C'est un groupe qui rassemble 18 espèces [12,16]. La figure 2, illustre la morphologie des *Lactobacillus*.



**Figure 2** : Aspect des *Lactobacillus* sous microscope électronique [21]

Le tableau 02 résume les principaux caractères des *Lactobacillus*.



Tableau 02 : Principaux caractères des *Lactobacillus* [16].

Espèces	15°C	45°C	Lac	Sac	Glu	Rib	Xyl	ADH
<i>Lb. delbruckii</i> ssp. <i>delbruekii</i>	-	+	-	+	-	-	-	+/-
<i>Lb. delbruckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Lb. delbruckii</i> ssp. <i>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</i> ssp. <i>casei</i>	+	-	+/-	+	+	+	-	-
<i>Lb. casei</i> ssp. <i>pseudopiantarum</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. casei</i> ssp. <i>tolerans</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Lb. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. sake</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. curvatus</i>	+	-	+/-	-	+	+	-	-
<i>Lb. bavaricus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. bifementatus</i>	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>Lb. brevis</i>	+	-	+/-	+/-	+	+	+/-	+
<i>Lb. buchneri</i>	+	-	+/-	+/-	+	+	+/-	+
<i>Lb. fermentum</i>	-	+	+	+	+	+	+/-	+
<i>Lb. kefir</i>	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>Lb. confus</i>	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. viridescens</i>	+	-	+	+/-	-	-	-	-

+ : Test positif    - : Test négatif    +/- : Résultat douteux    Xyl : Xylose.  
 Rib : Ribose    Glu : Gluconate    Sac : Saccharose    Lac : Lactose.

#### I.4.2. Le genre *Pediococcus* :

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est leur regroupement en tétrades, ils sont mésophiles et le plus souvent incapable d'utiliser le lactose ce qui les empêchent d'acidifier et de coaguler le lait, certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer des teneurs en sel élevées (*P. halophilus* tolère 18% de NaCl) [17].

Les espèces du genre *Pediococcus* sont caractérisées par l'homogénéité de la composition de l'ADN qui est à 42%. La classification ressort 8 espèces dans le genre [17] :

*Pediococcus damnosus* ;  
*Pediococcus parvulus* ;  
*Pediococcus inopinatus* ;  
*Pediococcus dextrinicus* ;

*Pediococcus acidilactici* ;  
*Pediococcus halophilus* ;  
*Pediococcus urinae* ;  
*Pediococcus pentosaceus*.

Ces bactéries n'ont pas de pouvoir pathogène et elles correspondent au *Tetracoccus* de la classification de Orla Jensen [17].

#### I.4.3. Le genre *Streptococcus* :

Les bactéries de ce genre sont ovoïdes ou quelque fois allongées en fuseaux, elles sont considérées comme des anaérobies aérotolérantes. Elles fermentent les glucides en produisant exclusivement de l'acide lactique dextrogyre, sans formation de gaz [22].

Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogène comme *S.pyogenes* et *S.agalactiae* [17].

Ces bactéries diffèrent principalement entre elles par la présence d'un antigène de groupe dit antigène de Lance Field et par leur capacité de croître à des températures extrêmes : 45°C pour les thermophiles, 10°C pour les mésophiles [9].

La seule espèce appartenant au groupe lactique est *Streptococcus thermophilus* qui se différencie par son habitat (laits et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ces propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique [17].

#### I.4.4. Le genre *Lactococcus* :

Le genre *Lactococcus* (Anciens streptocoques 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, 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 [9].

#### I.4.5. Le genre *Leuconostoc* :

Il rassemble les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes, anaérobies facultatifs, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub>, et d'éthanol [17,19]. Ils ont de grandes exigences nutritionnelles, vis-à-vis des vitamines et des acides aminés. Leur contenu en (C+G) % de l'ADN est compris entre 38 et 44 % [16,23].

#### I.4.6. Le genre *Carnobacterium* :

*Carnobacterium* est un lactobacille hétérofermentaire, mobile, peu acidifiant et psychrotrophe. Contenant les produits carnés emballés sous vide et stockés à basse température [24]. Morphologiquement proche des *Lactobacillus* (bacilles parfois très courts), ils s'en différencient par leur tendance psychrotrophe et leur production majoritaire de l'isomère (L) de l'acide lactique [17].

**I.5. Importance des bactéries lactiques :****I.5.1. Dans le domaine de la nutrition :**

Les fermentations lactiques nous apportent de nombreux bienfaits. Les prolongements économiques sont impressionnants (yaourts, fromages, beurre, divers produits de charcuteries, de boulangerie,...). Les principaux bienfaits se résument en [18] :

- Biodisponibilité du lactose et des protéines : les bactéries lactiques facilitent la digestion du lactose car elle contiennent une  $\beta$ -galactosidase en plus de la transformation d'une partie des protéines qui sont digérées, libérant les acides aminés qui les constituent, et facilitant ainsi leur assimilation ;
- Enrichissement en vitamines surtout du groupe (B) ;
- Effet probiotique : qui a beaucoup de bénéfices dont nous reviendrons dans le deuxième chapitre.

**I.5.2. Dans le domaine de l'agro industrie:**

Les bactéries lactiques ont des rôles fondamentaux dans les industries agroalimentaires. Leur contribution se résume en :

**I.5.2.1. Acidification :**

L'acidification est un moyen de conservation dont les bactéries lactiques ont un rôle fondamental. Elles contribuent à la coagulation du lait, activité déterminante en industrie laitière et fromagère. Par la production d'acides organiques, le pH devient acide, entravant la croissance des germes pathogènes responsables de putréfaction. Car un acide a fort pka (qui favorise la forme non dissocié) qui pénètre dans la bactérie libérant des protons  $H^+$ , va interférer avec le métabolisme bactérien et génère un effet bactéricide [18].

**I.5.2.2. Production de facteurs épaississants :**

Cette aptitude est liée à l'action conjuguée, acidification et production de polysaccharides. Les bactéries lactiques élaborent en outre, à partir de glucose et gluconate une foule de polysaccharides complexes qui contribuent d'une part à former les antigènes de la paroi et du matériel capsulaire et d'autre part à développer l'onctuosité du produit contenant ces souches [24].

**I.5.2.3. Production d'aromes :**

Les bactéries lactiques, utilisées comme ferments, contribuent à l'amélioration de la qualité sensorielle des produits alimentaires par la production de substances aromatiques. Parmi les aromes produits, le diacetyl et l'acétaldéhyde [25].

**I.5.2.4. Activité protéolytique :**

Les bactéries lactiques ont une action protéolytique limitée dans le temps de préparation et d'utilisation des levains. Il n'en va pas de même dans les caillés de fromageries, où l'action de leurs protéases s'ajoute à celle de la présure pour dégrader la caséine.

Les études sur l'activité protéolytique des bactéries lactiques se multiplient aussi bien pour les streptocoques que pour les lactobacilles, ces derniers pourvus d'un assez riche équipement enzymatique [12].

**I.5.2.5. Aptitude antagonistique :**

Les bactéries lactiques sont connues par leur pouvoir antagonistique. Cette activité est liée à la production de substances antimicrobiennes [26]. Parmi, les substance inhibitrice, figure les bactériocines dont les acidophilines produites par *Lb.acidophilus*, la bulgaricine produite par *Lb. bulgaricus*, l'helveticine produite par *Lb.helveticus*, et la lactocine S produite par *Lb.sake* [11].

Toutes ces substances, contribuent de manière significative à la conservation des produits alimentaires et évitent ainsi leur altération microbiologique.



## Chapitre II

# Les probiotiques



**Tableau 03.** Principaux microorganismes utilisés comme probiotiques [37].

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autre bactéries lactiques	Autres
<i>L.acidophilus</i>	<i>B.adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L.amylovirus</i>	<i>B.animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L.casei</i>	<i>B.bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L.crispatus</i>	<i>B.breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L.delbrueckii bulgaris</i>	<i>B.infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L.gallinarum</i>	<i>B.lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L.gasseri</i>	<i>B.longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L.johnssonii</i>			
<i>L.paracasei</i>			
<i>L.plantarum</i>			
<i>L.reuteri</i>			
<i>L.rhamnosus</i>			

**II.2. Critères de sélection des souches probiotiques :**

La majorité des définitions des probiotiques insistent sur le fait qu'un microorganisme probiotique doit obligatoirement être viable pour parvenir à l'occupation de son site d'action et par site exercer ses biens effets [36].

**II.2.1.Choix de microorganismes :**

Ce critère semble évident, mais il est important de le vérifier surtout si le choix de la bactérie administrée n'appartient pas à la microflore normale de l'hôte, celle-ci doit être exempt de toute pathogénicité [38].

**II.2.2.Origine humaine :**

Même si, certain probiotiques valables commercialement ne sont pas d'origine humain. Il est évident que si un probiotique est isolé à partir du tractus gastro-intestinal humain, il serait bénéfique pour la santé de l'homme et peut être plus efficace en colonisant la muqueuse intestinale [29].

**II.2.3. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif :**

Les bactéries probiotiques pour être efficaces doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin, et donc résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte. Les bactéries étant administrées par voie orale, Il est nécessaire qu'elles franchissent les obstacles majeurs du transit digestif [39]:

Elles doivent résister aux enzymes présents dans la cavité buccale dont la principale est le lysozyme, au pH acide de l'estomac dû à la présence de forte concentration d'acide chlorhydrique, aux sucs pancréatiques et aux concentrations de bile et de mucus présentes dans l'intestin grêle [39].

**II.2.4 Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales :**

Il semble a priori intéressant que les souches probiotiques puissent adhérer aux cellules de la paroi intestinale, d'une part pour faciliter la colonisation du tube digestif, et d'autre part pour obtenir un effet « barrière » optimal contre l'invasion de la muqueuse intestinale par des bactéries pathogènes [40].

**II.2.5. Activités antimicrobiennes :**

Pour jouer leur rôle d'amélioration de l'hygiène intestinal, un bon probiotique doit être capable d'inhiber le développement des germes indésirables [41, 42]:

- Soit par la production de substances antagonistes de type bactériocines ou autres tels que les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène ;
- Soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale.

**II.2.6. Propriétés technologiques : viabilité et stabilité des microorganismes :**

C'est peut être, un des critères de sélection le plus important. Pour que les probiotiques puissent exprimer ces diverses potentialités, il faut qu'ils atteignent leur site d'activité digestive dans les conditions les plus propices à leur efficacité, ce qui suppose qu'il soient vivants : cela induit des contraintes technologiques sévères au cours de la concentration et de la dessiccation pour une présentation en poudre, et interdit le passage dans une presse à granuler qui porte la température au dessus de 80°C à moins de faire appel à des souches sporulées ou à des enrobages thermorésistants [43].

L'ensemble des propriétés et critères de sélection des probiotiques sont présentés dans la figure 3.



Figure 3 : Propriétés et critères de sélection des probiotiques [44].

### II.3. Mécanisme d'action des probiotiques :

Les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer des principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, peptides immunomodulateurs, substances antimicrobiennes...) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tractus digestif. Le mode d'action des probiotiques reste encore à élucider parfaitement, et de nombreuses hypothèses subsistent encore. L'effet bénéfique provoqué par leur ingestion pourrait donc s'expliquer par plusieurs mécanismes [36 ,45].

#### II.3.1. Inhibition des bactéries indésirables :

La répression du développement de germes indésirables ou pathogènes peut se faire de plusieurs façons :

La production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire limite en abaissant le pH, le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella*. Le peroxyde d'hydrogène produit par des lactobacilli est inhibiteur : se serait la raison du rôle inhibiteur de ces bactéries contre les *Salmonella* dans le jabot des volailles. **Strompfova et al** [46] ont isolé à partir de jabot, une souche d'*Enterococcus faecium* EF55 ayant des propriétés de production de bactériocines et inhibant des bactéries Gram-positif (enterococci, staphylococci, lactococci, streptococci, lactobacilli, micrococci).de plus l'acidification favoriserait le péristaltisme intestinale [45].



Les souches probiotiques pourraient également réprimer la croissance des bactéries pathogènes par production des peptides antimicrobiennes de type bactériocine et reuterines capable d'inhiber les germes fréquemment responsables d'infection en élevage [39,40, 47, 48].

Certain souche possèdent également la capacité de déconjuguer les sels biliaires ; ces formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur important sur le développement des bactéries [49].

Les souches probiotiques pourraient également agir en inhibant l'implantation des germes pathogènes par compétition pour la colonisation, par inhibition compétitive [45].

### II.3.2. Neutralisation des produits toxiques :

Les probiotiques interviennent très certainement dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intra-digestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indoles) et diminuer les bios transformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques. Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser *in situ* certaines toxines bactériennes [39, 50].

Les probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser certaines toxines : *Saccharomyces boulardii* secrète une enzyme « protéase » empêchant l'absorption des toxines ochratoxicoles, ce qui améliore les paramètres hématologiques [51].

### II.3.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire :

Les souches probiotiques produisent des enzymes digestives, ce qui favoriserait la digestion des glucides et des protéines, ainsi les *Lactobacillus* qui excrètent la galactosidase souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, facilitent donc la digestion du lactose [44, 52,53].

Les probiotiques facilitent aussi la digestion de glucides plus complexes que le lactose : c'est le cas de certaines souches glycénolytiques. Ils améliorent ainsi l'utilisation de la ration alimentaire d'une manière indirecte en agissant sur la microflore intestinale ou au niveau des cellules épithéliales du tube digestif de l'hôte [36].

Les probiotiques stimulerait l'activité enzymatique des microorganismes endogènes, permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments. Elles stimulerait également les activités lactase, ou invertase des cellules épithéliales du tractus digestif [45].

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la prédigestion des facteurs antinutritionnels tels que l'acide phytique et les glucosinate en substrats assimilables par l'hôte. Ils améliorent aussi l'assimilation des acides aminés essentiels par l'hôte soit en les synthétisant soit en inhibant l'action des désaminases et des décarboxylases bactériennes excrétées par la microflore du tube digestif [36].

**II.3.4. Effet sur la muqueuse intestinale :**

L'altération de la perméabilité intestinale (fonction -barrière) causée par une infection, toxines ou autres facteurs favorise un transfert aberrant d'antigènes (y compris la microflore locale) à travers l'intestin en engendrant des réponses immunitaires inappropriées (réactions inflammatoires auto-immunes) [36].

L'administration de *L.rentri*, *L.plantarum* et d'autres lactobacilles s'est avérée capable de diminuer la translocation bactériennes et de moduler l'insuffisance hépatique, chez les rats atteints d'une insuffisance hépatique expérimentale induite par galactosamine [36].

**II.3.5. Influence sur la réponse immunitaire :**

Les bactéries lactiques auraient une action stimulante sur le système immunitaire, en agissant sur les cellules impliquées, soit dans l'immunité naturelle (innée); soit dans l'immunité spécifique [28, 54] :

- **Effet sur les cellules immunitaires impliquées dans les mécanismes de défense non spécifique :** la phagocytose, réalisée essentiellement par les macrophages est le principal mécanisme de défense non spécifique de l'organisme en réponse à la pénétration d'une substance étrangère [55].  
L'état d'activation des macrophages est donc une mesure de la réponse immunitaire naturelle de l'hôte. Les probiotiques stimuleraient l'activation des macrophages [55].
- **Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de réponses immunitaires spécifiques :** Le système immunitaire spécifique comprend en effet deux systèmes : l'un agit par l'intermédiaire des anticorps sécrétés par les lymphocytes B (immunité humorale) et l'autre agit par l'intermédiaire direct des lymphocytes T (immunité à médiation cellulaire). Les deux systèmes communiquent entre eux par l'intermédiaire de substances chimiques telle que les interleukines. Certains probiotiques agissent sur ce système, notamment sur le système immunitaire sécrétoire [56, 57,58].

**II.3.6. D'autres effets bénéfiques sur la santé :**

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques :

Une probiothérapie serait utile en traitement adjuvant de l'ulcère gastro -dudénole, et de la cirrhose, elle pourrait avoir un intérêt en prévention des cancers du colon, prévenir la diarrhée du voyageur, contre les allergies, diminution du taux de cholestérol dans le sang... ect [36].

La figure 4 illustre la diversité des effets bénéfiques sur la santé.



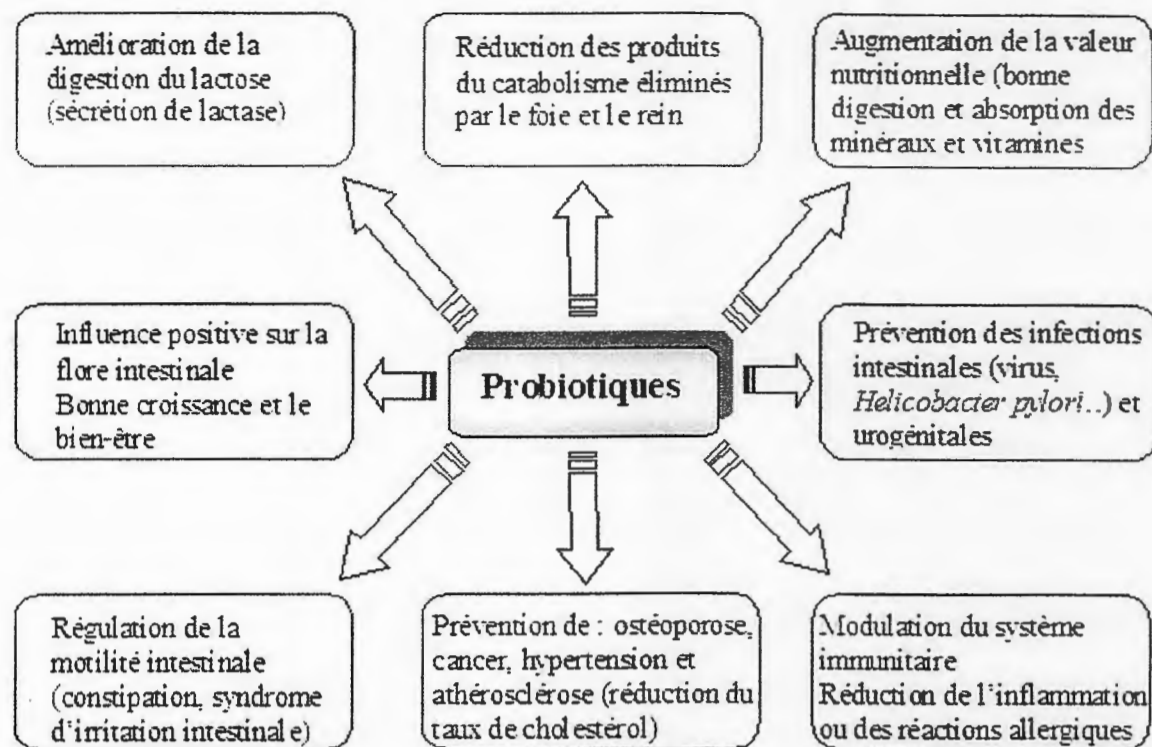


Figure 4 : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques [58].

#### II.4. Effet des probiotiques en alimentation animale :

Les souches ou espèces probiotiques sont des composants normaux de la flore intestinale. Ce sont des composés utilisés comme additif alimentaire antimicrobien, qui influencent l'équilibre de la population microbienne intestinale et augmentent ainsi la croissance et la production du cheptel [59].

Les probiotiques peuvent aider à surmonter les effets négatifs de certaines maladies qui modifient de façon nuisible la flore intestinale. Ils sont donc utiles dans certains cas pour réduire au minimum les troubles digestifs ou aider à surmonter le stress provoqué par le sevrage ou le transport des animaux [59].

En alimentation animale de nombreux genres bactériens et fongiques sont utilisés comme *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* et *Torulopsis* [60].

Les préparations à base d'autolysat de *Lactobacillus* et de *Saccharomyces* servent de support pour administration buccale d'*E.coli* non pathogène antibiorésistant et à prolifération rapide pour le traitement des entérites de carnivores [61].

#### II. 5. Effet des probiotiques en alimentation humaine :

En alimentation humaine les genres microbiens les plus utilisés comme probiotiques sont : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* en raison de [62] :

**a. effet nutritionnel :**

Dans les produits alimentaires fermentés les bactéries lactiques par l'acidification du milieu, la production d'acide lactique, leur activité protéolytique et lipolytique stimuleraient la digestion des aliments. Aussi les probiotiques facilitent la digestion du lactose [9].

**b. effet thérapeutique :**

Parmi les effets thérapeutiques des probiotiques, on a [36] :

- Amélioration du transit intestinale ;
- Maintient de l'équilibre de la flore intestinale ;
- Régulent la biosynthèse du cholestérol ;
- Inactivent les substances cancérogènes .

**II.6. Les bactéries lactiques et leur action probiotique :**

Les bactéries lactiques comptent parmi les principaux probiotiques, leur nom générique vient du fait qu'elles ont la propriété de produire de l'acide lactique [63].

Pour les animaux de fermes, de nombreuses variétés de préparation probiotiques sont mises sur le marché. Le but rechercher est souvent la stimulation de la croissance et la prévention des maladies et en particulier les diarrhées [63].

Les bactéries lactiques possèdent des propriétés antitumorales qui pourraient être dues à [64] :

- L'inactivation ou l'inhibition des composés carcinogènes dans le tractus gastrointestinal ;
- La stimulation de la réponse immunitaire ;
- La réduction des activités enzymatiques des bactéries intestinales.

Grâce à l'action qu'elles ont sur le système immunitaire, les bactéries lactiques pourraient être utilisées [38]:

- A des buts préventifs dans les infections intestinales ;
- Comme protection contre d'autres dommages impliquant le système immunitaire.

## *Chapitre III*

# *La microflore digestive des volailles*

### III.1. L'appareil digestive des volailles :

Le tractus digestif des volailles est totalement différent de celui des autres espèces animales en particulier avec un jabot, un intestin grêle très long, un gros intestin très complexe doté de deux caeca en « cul de sac » et d'un colon très court se terminant par le cloaque [65].

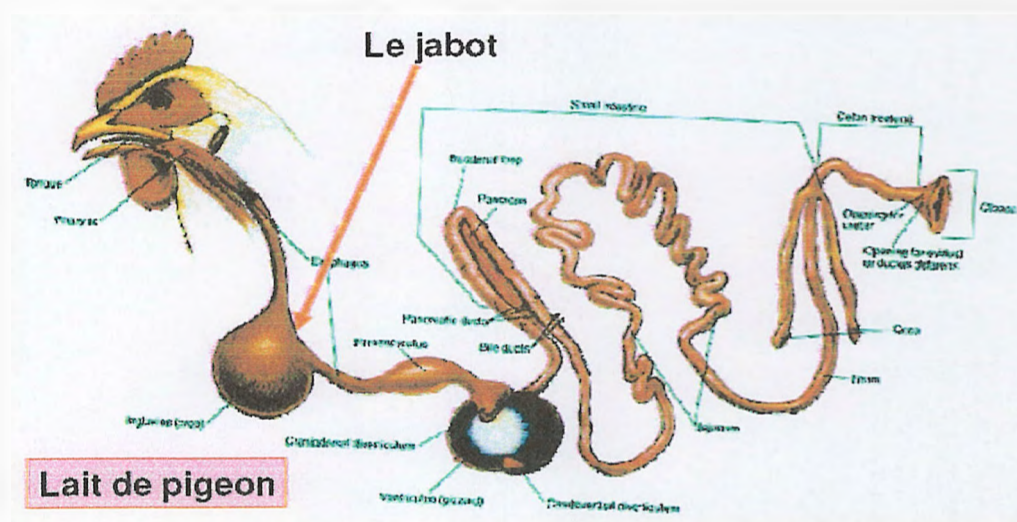
L'action d'ingestion des aliments fait intervenir la bouche et ses annexes : dans la bouche, les aliments sont imbibés de salive, elle assure la lubrification du bol alimentaire.

A l'entrée du thorax, les aliments peuvent soit continuer leur transit vers le ventricule succenturié soit aller au jabot qui possède de nombreuses glandes muqueuses qui complète le rôle lubrifiant de la salive. Ceci dépend de l'état de réplétion du ventricule et du gésier, lorsque le gésier est vide, les aliments passent dans le proventricule, s'il est plein, ils se collectent dans le jabot [66].

Le jabot est une poche oesophagienne extensible, il est très développé chez les oiseaux, il est sous forme d'un renflement constant placé devant la fourchette claviculaire, il est très variable dans sa forme et son activité glandulaire sécrétoire.

Les fonctions du jabot sont les suivant [67,68]:

- Mise en réserve des aliments, le stockage dans le jabot permet en particulier de « couvrir » l'absence de prise de nourriture pendant la période obscure du nyctémère ;
- Fragmentation des aliments les plus friables et imbibition par l'eau ;
- Digestion microbienne d'une partie de l'amidon avec formation de l'acide lactique. La concentration d'acide lactique s'élève à la suite du repas, phénomène antagonisé par la distribution d'antibiotiques.



**Figure 5:** Tube digestif du poulet (le jabot est une poche développée le long de l'oesophage notamment chez les oiseaux régurgitant leurs aliments) [72].



### III.2. La microflore digestive des volailles :

La microflore digestive des oiseaux a été très étudiée, et s'avère différente de celle des mammifères, probablement du fait de différences anatomiques et physiologiques. De nombreuses études ont fait appel aux cultures de bactéries sur milieu sélectif, or une proportion très élevée des bactéries, jusqu'à 90% selon les estimations n'est pas cultivable [69,70].

L'intérêt pour cette microflore s'explique par 3 facteurs [65] :

- Recherche d'une utilisation optimale des nutriments ;
- Prévention des pathologies aviaires ;
- La sécurité de l'alimentation de l'homme par élimination des pathologies.

#### III.2.1. Description de la flore digestive du poulet :

La microflore digestive au sens large du terme comprend les organismes unicellulaires situés dans le tractus digestif, c'est-à-dire, des bactéries, champignons, et protozoaires, on distingue [71] :

- Les bactéries dominantes ( $>10^6$  UFC/g) ;
- Les bactéries sous dominantes ( $10^3 - 10^5$  UFC/g) ;
- Les bactéries résiduelles ( $10^3$  UFC/g).

Chez le poulet, les sites principaux d'activité bactérienne sont : le jabot, le caeca et dans une moindre mesure l'intestin grêle, ainsi dans le caeca et l'iléon, on trouve  $10^{11}$  et  $10^9$  de bactéries/g de contenu respectivement, avec  $10^6-10^8$  UFC/g du type colibacille,  $10^4-10^6$  UFC/g de type entérocoque, et  $10^3-10^4$  UFC/g du type sulfitoréducteur, ce sont des germes anaérobies facteurs d'entérites nécrosante [67,72,73].

Les méthodes de microbiologie classiques (culture) montrent que la flore est constituée principalement de bactéries à gram positif et composée essentiellement d'anaérobies facultatif du jabot à l'iléon terminal, alors que le caeca contient des anaérobies strictes, ces dernières étant dominantes [72].

Dans le jabot, on trouve principalement des lactobacilles qui sont attachés à l'épithélium et présentent une couche continue. Lin et al [74] avait trouvé que *L. fermentum* était la majeure espèce bactérienne trouvée dans le tractus intestinal du poulet. On trouve aussi des streptocoques, des coliformes et des levures dans le gésier et le proventricule [71, 74].

Garriga et al [75] avaient isolés huit souches différentes de *Lactobacillus salivarius* qui avaient montrés une grande adhérence aux cellules épithéliales du poulet.

Aussi, Matsumoto et al [76] avaient trouvés une adhérence de *Bifidobacterium lactis* souche LKM512 qui pourrait inhiber l'adhérence de bactéries pathogènes à la muqueuse intestinale [74].

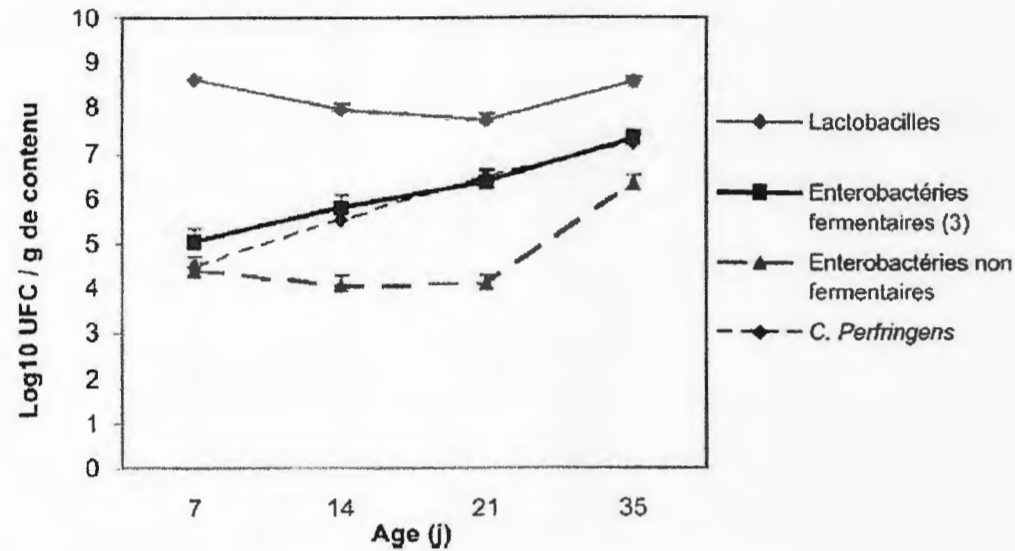
La présence de nombreux enzymes, forte pression d'oxygène, fortes concentrations tels que les sels biliaires et mouvement de reflux du jéjunum au gésier provoque la chute de la population microbienne du duodénum contrairement à l'intestin, ou on trouve principalement des bactéries anaérobies facultatifs et les anaérobies strictes [72].

Les méthodes de culture conventionnelles ont conduit à l'identification chez le poulet de 29 genres bactériens, chaque genre étant représenté par 3 à 4 espèces et chaque espèce par 3 à 4 types métaboliques différents, ce qui fait 200 souches différentes [72].

Des techniques de biologie moléculaire ont été développées, elles permettent de mettre en évidence, grâce à leur ADN ribosomal 16S, les microorganismes quelles que soit leur conditions de viabilité. Par exemple : en étudiant 1656 séquences Partielles du gène d'ARNr 16S bactérien issus de caeca **Zhu et al** [77] ont identifié 243 séquences différentes représentant 50 groupes ou sous groupes phylogénétiques de bactéries, avec 89% de séquences appartenant à 4 groupes phylogénétiques [77].

### III.3. Variation de la microflore digestive :

La flore digestive dépend de la souche, le sexe de l'individu, les caractères immunologiques de l'hôte, des récepteurs spécifiques pour les bactéries et du système de communication avec les bactéries. La figure 6, montre l'évolution de la flore digestive iléale du poulet en fonction de l'âge par dénombrement bactérien [77,78].



UFC : Unité Formant Colonie.

(1) Poulets de chair (mâle) à croissance rapide élevés au sol en conditions expérimentales (parquet), consommant un régime composé de blé, soja, pois, farine de poisson et graisse végétale, sans antibiotique.

(2) Nombre d'individus : 16, 10, 8 et 6 à 7, 14, 21 et 35 j respectivement.

(3) Fermentation du lactose

**Figure 6 :** évolution de la composition de la flore digestive iléale du poulet en fonction de l'âge déterminée par dénombrement bactérien [72].

La colonisation du tractus digestif des oiseaux débute quelques heures après l'éclosion des poussins. A l'éclosion, le tube digestif est stérile. La flore qui va s'installer dépend de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion.

Dès le 1<sup>er</sup> jour les coliformes, les streptocoques et les clostridies colonisent rapidement l'intestin, alors que les lactobacilles ne sont pas trouvés avant 3 jours et les bacteroides pas avant cinq jours.

La colonisation par les lactobacilles est retardées dans les milieux propres, au contraire, on peut trouver des lactobacilles dans le tube digestif de poussins mis en contact à l'éclosion avec les lactobacilles [73].



**Tableau 04** : Les principaux facteurs influençant la composition et la fonction de la microflore intestinale [79].

Facteurs médiés par l'hôte	Facteurs microbiens
<ul style="list-style-type: none"> <li>- pH, sécrétions (immunoglobulines, bile, sels, enzymes),</li> <li>- Motilité (péristaltisme),</li> <li>- Physiologie (variable selon les compartiments),</li> <li>- Cellules détachées, mucines, exsudats de tissus.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adhésion</li> <li>- Motilité</li> <li>- Flexibilité nutritionnelle</li> <li>- Spores, capsules, enzymes, composants antimicrobiens</li> <li>- Temps de génération.</li> </ul>
<b>Interactions microbiennes</b>	
<b>Synergie</b>	<b>Antagonisme/ stimulation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coopération métabolique</li> <li>- Excrétion de vitamines et facteurs de croissance</li> <li>- Changement de Eh (potentiel d'oxydo-réduction), pH et tension d'O<sub>2</sub>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acides gras de courte chaîne, amines.</li> <li>- Changement de Eh, pH et tension d'O<sub>2</sub></li> <li>- Composants antimicrobiens, siderophores,</li> <li>- Besoins nutritionnels, etc.</li> </ul>
<b>Régime alimentaire</b>	
Composition, fibres non digestibles, drogues, etc.	

Au cours de leur élevage, les poulets sont soumis à de nombreux stress tels que l'augmentation de la densité d'élevage ou les stress thermiques et les parasites intestinaux comme les coccidies qui semblent globalement augmenter les bactéries néfastes au détriment des bactéries bénéfiques [80].

Les antibiotiques dans l'aliment ont un effet modulateur de la flore digestive. Le type de céréales, en particulier la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles augmentent la population bactérienne anaérobie facultatif, dont les lactobacilles et les coliformes [81, 82].

#### III.4. Production de métabolites par la flore digestive :

Par fermentation des aliments, de nombreux composés sont produits par la flore digestive, ils peuvent être bénéfique ou néfaste à l'hôte [83, 84].



**Tableau 05 : Métabolites produits chez la volaille [79].**

<u>Produits bénéfiques</u>	<u>Produits néfastes</u>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vitamines (1)</li> <li>- Acide lactique</li> <li>- Bactériocine</li> <li>- Métabolites de l'oxygène</li> <li>- Peroxyde d'hydrogène</li> <li>- Radicaux libres</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acide cholique</li> <li>- Enzymes déconjuguant les sels biliaires</li> <li>- Indole et scatole</li> <li>- Mercaptan d'éthyl et de méthyl</li> <li>- Endotoxines</li> <li>- Entérotoxines</li> <li>- Substances mutagènes et carcinogènes</li> <li>- Oligopeptides potentiellement inflammatoires</li> </ul>
<u>Produits bénéfiques pouvant aussi avoir un effet négatif</u>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acides gras volatils : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Acétate</li> <li>- Propionate</li> <li>- Butyrate</li> <li>- Isobutyrate</li> <li>- Valérate</li> <li>- Isovalérate</li> </ul> </li> <li>- Ammoniac</li> <li>- Amines (putrescine, spermidine, spermine, histamine)</li> </ul>	

(1) Ne seraient pas disponibles pour l'animal, sauf l'acide folique.

#### **III.4. Utilisation des probiotiques en aviculture :**

Les probiotiques, en aviculture sont essentiellement utilisés dans le but d'apporter des microorganismes bénéfiques absents du tractus digestif pour que les poulets puissent bénéficier des effets favorables de ses microorganismes.

Il existe deux grandes catégories de préparation probiotiques [28,85] :

- 1- Celles qui ont une action efficace au niveau du jabot et de la partie antérieure de l'intestin grêle ;
- 2- Celles qui ont une action principalement dirigée au niveau du caecum.

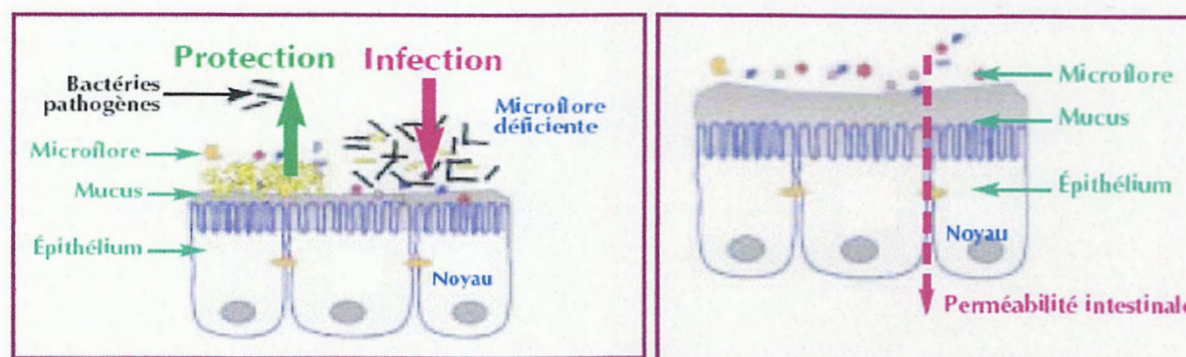
Ces préparations sont à base de lactobacilles, exemple : *L.salivacus*, *L.reuteri*, du fait de la production d'une toxine dite réuterine [72].

##### **III.4.1. Efficacité sanitaire :**

Les probiotiques modulent la composition et l'activité métabolique de la flore intestinale. Certaines bactéries probiotiques ont une action protectrice en limitant la colonisation, la reproduction et l'adhérence de bactéries pathogènes.

Sur le mucus, certaines souches bactériennes sont capables de stimuler la sécrétion de mucus. Les mucines pourraient empêcher l'adhésion de bactéries pathogènes sur l'épithélium [35].

Sur l'épithélium, certains probiotiques produisent des métabolites qui permettent de renforcer la perméabilité épithéliale ou de restaurer une perméabilité déficiente [35].



**Figure 7:** Effet des probiotiques sur la microflore[35].

**Figure 8 :** Effet des probiotiques sur les barrières physiques[35].

Les lactobacilles, hotes normaux de l'épithélium du jabot, sont utilisés comme probiotiques seuls ou associés à des *Lactobacillus lactis* ou des *Streptococcus thermophilus*. Ils améliorent la croissance et le développement des poulets mais cet effet est sensible seulement si ces animaux sont en conditions d'agression. Ils augmentent le taux de ponte mais seulement si les conditions climatiques sont défavorables. Le *Lactobacillus acidophilus* serait capable de protéger les poussins d'infections à *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* et permet de réduire le taux de mortalité des animaux et de diminuer le nombre de pathogènes présents dans le jabot. Par contre aucune diminution significative des *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* n'a été observée au niveau du caecum, ceci signifié que le probiotiques agit essentiellement au niveau du jabot [28, 9].

#### III.4.2. Efficacité zootechnique :

Les lactobacilles sont également efficaces du point de vue performances zootechniques. L'addition d'un probiotique à base de *Lactobacillus* a la ration alimentaire de poussins durant huit semaines améliore la croissance des animaux et l'indice de consommation ces bactéries pourraient avoir un rôle d'épargne à l'égard des acides aminés alimentaires, en effet, lorsque des poulets sont alimentés avec des régimes pauvres en acides aminés (lysine et méthionine), ces bactéries lactiques rétablissent les performances zootechniques des animaux au même niveau que celles obtenues chez les poulets recevant une ration alimentaire non carencée [28, 86].



*Partie II*

*Etude expérimentale*

# *Matériel et Méthodes*

## II. Matériel et Méthodes

L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel.

Notre travail avait pour objectifs de recouvrir les points suivants :

- Evaluation de la microflore cultivable du jabot, par dénombrement sur milieux solides ;
- Isolement, purification et identification de la microflore du jabot du poulet de chair, à savoir les bactéries lactiques et les entérobactéries ;
- Etude *in vitro* des interactions entre les souches d'entérobactéries déjà isolées et les bactéries lactiques ;
- Etude de l'effet des surnageants des bactéries lactiques sur les entérobactéries *in vitro* ;
- Evaluation des aptitudes probiotiques *in vitro*.

### II.1. Matériel :

Au cours de cette étude, nous avons utilisé le matériel suivant :

#### II.1.1. Matériel biologiques :

L'étude a été conduite sur la deuxième cavité du tube digestif du poulet de chair, le Jabot. Pour l'évaluation de la population de microorganismes cultivable, l'isolement et l'identification des entérobactéries et des bactéries lactiques, on a utilisé un échantillon global, composé de 2 Jabots de poulet de chair.

#### II.1.2. Milieux de culture :

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, on a utilisé les milieux de culture suivants :

- La gélose nutritive : Pour le dénombrement de la F.T.A.M ;
- La gélose VRBG : Pour le dénombrement des entérobactéries, des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants ;
- Gélose et bouillon MRS (Man Rogosa Sharpe): Pour la culture bactéries lactiques ;
- La gélose Hektoen : Pour l'étude des interactions ;
- La gélose PCA : Pour la réalisation de l'antibiogramme ;
- Milieu Gibson Abdelmalek : Pour la recherche de type fermentaire (préparé dans notre laboratoire) ;
- Milieu Y.M.A (Yeast Milk Agar): Pour la recherché de l'activité protéolytique (préparé dans notre laboratoire) ;
- Milieu MRS hypersaccharosé : Pour la recherche de la production de polysaccharides et le pouvoir texturant (préparé dans notre laboratoire) ;
- Milieu MRS contenant des doses (0,5 %, 2% de sels biliaries) : Pour tester la croissance à ces substances ;
- Gélose semi solide au lait citraté : Pour la recherche de la citratase (préparé dans notre laboratoire) ;
- Milieu M.E.V.A.G sans sucre (milieu de la voie d'attaque des glucides) : Pour la réalisation des profils de fermentation des sucres ;



- Bouillon hypersalé à 4% et 6,5% de NaCl : Pour éliminer les streptocoques fécaux (préparé dans notre laboratoire) ;
- Lait écrémé : Pour chercher la production d'acétoïne ;
- Lait écrémé additionné de teinture de tournosol : Pour le test de réductase ;
- Bouillon LB (Luria Bertani) et Bouillon nutritif : Pour la culture des entérobactéries ;
- Milieu TSI, Mannitol Mobilité, citrate de Simmons, Urée Indole, Clark et Lubs, milieu Moeller additionné de Lysine, Ornithine, Argénine : pour l'identification des entérobactéries ;
- Les sucres : Pour établir le profil fermentaire des souches isolées (Lactose, Galactose, Inositol, Mannose, Maltose, Adonitol, Cellobiose, l'Amidon).

### II.1.3. Produits chimiques et réactifs:

- Violet de Gentiane ;
  - Fuschie ;
  - Lugol ;
  - Alcool ;
- } pour réaliser la coloration de GRAM
- L'huile à immersion pour l'observation microscopique ;
  - Phénol phtaline (1%) et la soude Dornic (N/9) : pour la détermination de l'acidité Dornic ;
  - HCl (1N) et NaOH (1N) : pour l'ajustement du pH ;
  - Réactif de Kovacs ;
  - Rouge de méthyle ;
  - VpI : solution alcoolique d' $\alpha$  naphthol ;
  - VpII : solution aqueuse de soude 16% ;
- } pour la mise en évidence de la production de l'acétoïne.
- Teinture de tournosol ;
  - Tween 80 additionné au bouillon MRS ;
  - Disque ONPG ;
  - Eau oxygénée ;
  - L'huile de vaseline.

### II.1.4. Autres matériel : Le plus important est le suivant :

- Autoclave (SHI AVX electronic) ;
- Bain marie (GERHARDT) ;
- Balance (DENYER instrument Xp-600) ;
- Agitateur magnétique (MEIDOL pH, MR 3001) ;
- Vortex électrique ;
- pH mètre (MICRO PROCESSOR) ;
- Centrifugeuse ;
- Etuve (WTB binder) ;
- Four Pasteur : pour la stérilisation des verreries (CONTROLS) ;
- Microscope optique (OLYMPUS) ;
- Réfrigérateur (ENIEM) ;

- Un compteur de colonies ;
- Pipettes Pasteur, pipettes graduées, micropipettes, burette, bécher, anse de platine ;
- Pompe à vide ;
- Boîtes de pétri, tubes à essais, flacons, ependoff, cloche de Durhans, tubes à hémolyse ;
- Les disques de papier WATMAN N°4 ;
- Une membrane filtrante 0.20µm ;
- Ruban de pH.

## II.2.Méthodes :

### II.2.1.Préparation de l'échantillon, dénombrement, isolement et purification :

#### II.2.1.1.Préparation des dilutions [19]:

Après l'abattage du poulet on a récupéré le jabot et on a mesuré son pH, celui-ci est le point de départ pour l'isolement et l'identification de la flore existante mais cultivable à ce niveau.

Avant d'ensemencer les milieux on effectue des dilutions en cascade de la dilution  $10^{-1}$  à la dilution  $10^{-7}$ , pour réduire le nombre d'UFC.

A l'aide d'une balance on a fait la pesée de 1g du contenu du jabot. Le prélèvement est introduit aseptiquement dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation à l'aide d'un vortex électrique, on a réalisé des dilutions jusqu'à  $10^{-7}$ .

#### II.2.1.2. Flores dénombrées :

Pour avoir une idée globale sur la microflore du jabot, on a procédé aux dénombrements suivants :

##### a. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) [19]:

Le dénombrement est réalisé sur gélose nutritive fondue et solidifiée. L'ensemencement consiste à un étalement aseptique d'1 ml de la dilution  $10^{-4}$  sur cette gélose.

Après une incubation à 37°C pendant 24h, on dénombre toutes les colonies lenticulaires.

##### b. Dénombrement des entérobactéries [19] :

A partir de la dilution  $10^{-2}$  on a dispatché en double 1 ml au fond de chaque boîte de Petri, ensuite on a coulé aseptiquement la gélose VRBG fondu et refroidie à 47°C, suivie d'une homogénéisation, en imprimant à la boîte des mouvements circulaires. On laisse prendre en masse et on incube à 37°C/24h.

Après cette période d'incubation, on dénombre les colonies roses ou rouges.

##### c. Dénombrement des CT et CTT [19]:

Pour les CT et CTT, on a introduit au fond de chaque boîte de Petri, 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  puis on a coulé la gélose VRBL fondue et refroidie à 47°C.

On mélange et on laisse prendre en masse. Pour les CT, on incube à 37°C/24h alors que pour les CTT les boîtes sont incubées à 44°C/24h.

Toutes les colonies rouges diamètre minime de 0,5 mm en 24h sont considérées comme des entérobactéries -coliformes.

**d. Dénombrement des bactéries lactiques [19] :**

Pour le dénombrement de cette flore, on coule la gélose MRS dans deux boîtes de Pétri, on laisse solidifier puis on étale 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  sur la première boîte et 1 ml à partir de la dilution  $10^{-4}$  sur l'autre boîte, enfin on incube à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Après cette phase d'incubation, on dénombre les colonies translucides.

**II.2.1.3. Isolement :**

**Isolement des entérobactéries :** Deux boîtes de Pétri contenant la gélose VRBG préalablement coulée et séchée, sont ensemencées à partir de la dilution  $10^{-2}$  par étalement, l'incubation est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h [87].

**Isolement des bactéries lactiques :** Quatre boîtes de Pétri contenant la gélose MRS préalablement coulée, sont ensemencées à partir des dilutions  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  par étalement, l'incubation est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

Les bactéries lactiques ont une relative sensibilité à l'oxygène, les cultures sont donc incubées dans des conditions particulières, visant à diminuer la tension d'oxygène, il est donc souhaitable de fermer les boîtes hermétiquement en utilisant le ruban adhésif [88].

**II.2.1.4. La purification [19]:**

**La purification des entérobactéries :** A partir des boîtes déjà incubées, on a ciblé des colonies bien distinctes et on a repiqué sur le bouillon nutritive, ainsi 14 boîtes de gélose VRBG seront ensemencées par stries à partir des 14 tubes de bouillon nutritive inoculés et incubés à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Dès qu'on obtient des colonies homogènes (même taille, même forme et couleur) on arrête la purification et on conserve les souches.

**La purification des bactéries lactiques :** La purification se fait de la même manière que les entérobactéries sauf que le repiquage est réalisé sur le bouillon MRS ensuite on réisole sur gélose MRS et dès qu'on obtient des colonies homogènes on arrête la purification.

**II.2.1.5. Tests d'identification des entérobactéries :**

Les souches ainsi purifiées sont soumises aux tests d'identification classiques [87]:

**a. Examen macroscopique [89] :**

La culture sur gélose VRBG après incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h, avec obtention des colonies séparées permet de déterminer l'aspect, la forme et la taille de ces dernières.

**b. Coloration de Gram [45]:**

Cette coloration des cellules bactériennes nous permet à la fois de connaître la morphologie des bactéries, le mode de regroupement et elle nous permet aussi de les classer en deux groupes en fonction de leur capacité ou non à retenir la coloration violette du cristal violet dans les conditions opératoires.

On distingue alors le groupe des Gram négatif et celui des Gram positif qui retient le cristal violet même après un lavage avec l'alcool.

Le grammage a été effectué sur les 14 souches isolées, en utilisant la technique suivante :

- Etalement et fixation par la chaleur de la suspension bactérienne sur une lame porte objet ;
- Coloration pendant une minute au violet de Gentiane;
- Lavage à l'eau ;
- Ajout du mordant, le Lugol pendant une minute ;
- Lavage à l'eau ;
- Rinçage avec de l'alcool ;
- Contre coloration pendant 1 à 2 minutes par une solution de Fuschine diluée à 10% ou par une solution de Safranine ;
- Lavage à l'eau.

Après séchage, la lame est soumise à une observation microscopique avec objectif à immersion. Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose [90].

### c. Tests ~~physiologiques~~ et biochimiques :

**Recherche d'une catalase :** La catalase est une enzyme présente chez les bactéries aérobies ou aérobies anaérobies facultative, possédant des cytochromes. Elle a le rôle essentiel d'éliminer, dès sa formation chez les bactéries, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui est très toxique [90].

Sur une lame de verre, on a déposé une goutte d'eau oxygénée puis on a ajouté une ose de culture du germe à étudier. Un dégagement gazeux abondant sous forme de bulles d'oxygène indique la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase.



**Recherche d'uréase est la production d'indole [19] :** Certains germes élaborent une uréase extrêmement active, et peuvent utiliser l'urée comme seule source d'azote en produisant du  $CO_2$  et  $NH_3$ .



Cette réaction se traduit par une alcalinisation du milieu, décelable par un indicateur coloré.

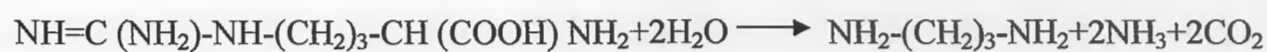
A partir de chaque milieu gélosé contenant la culture pure, on ensemence le milieu Urée indole par la culture bactérienne et on incube à  $37^\circ C/24h$ . Le virage de l'indicateur de pH au rouge et l'alcalinisation du milieu témoignent de la présence d'une uréase.

L'indole est issu de l'hydrolyse de tryptophane, il est caractérisé par le réactif de d'Erliche-Kovacs. Après culture, quelques gouttes du réactif sont ajoutées le long des parois du tube, on homogénéise et on laisse reposer.

La présence d'indole se manifeste par apparition d'un anneau rouge en surface (nitrosoindole).



**Recherche de l'Arginine- déshydrogénase (ADH) [19] :** L'arginine est décarboxylée en agmatine, puis hydrolysée en putrescine, selon la réaction suivante :



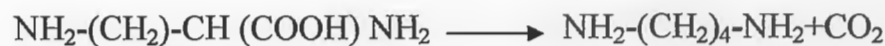
**Arginine**

**Putrescine**

On aensemencé le milieu Moeller, enrichi avec de l'arginine, par une culture fraîche et on l'a incubé à 37°C/18 a 24h.

L'activité enzymatique de l'ADH se traduit par le virage vers l'alcalinité de l'indicateur avec apparition d'une couleur violette.

**Recherche de l'Ornithine décarboxylase (ODC) [19] :** La décarboxylation de l'Ornithine conduit à la formation du putrescine et libération du CO<sub>2</sub>.



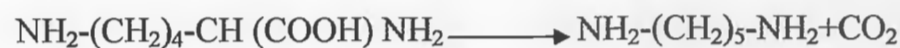
**Ornithine**

**Putrescine**

On aensemencé le milieu Moeller, enrichi de l'Ornithine, par la culture du germe à tester et on l'a incubé à 37°C/18 a 24h.

Le virage de la couleur au violet indique la présence d'une ODC (la réaction est positive) en revanche le virage de la couleur au jaune témoigne de l'absence de l'ODC (la réaction est négative) c'est-à-dire le milieu est acide.

**Recherche de la Lysine décarboxylase (LDC) [19] :** Certaines bactéries possèdent une décarboxylase qui agit sur un acide aminé particulier ; la Lysine, en produisant la Cadaverine qui réagit avec la Ninhydrine en donnant une coloration violette.



**Lysine**

**Cadaverine**

On aensemencé le milieu Moeller enrichi de Lysine par une ose de culture et on l'a incubé à 37°C/18 a 24h. La présence d'une LDC se traduit par une coloration violette.

**Utilisation du Citrate de SIMMONS [19] :** Il s'agit d'un milieu gélosé incliné, contenant un indicateur coloré (Bleu de Bromothimol). Le citrate étant la seule source de carbone, toute multiplication cellulaire implique son utilisation. De plus, cette croissance s'accompagne fréquemment d'une alcalinisation qui se traduit par le virage au bleu de l'indicateur.

On aensemencé le milieu Citrate de Simmons en surface par des stries longitudinales. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C/24h jusqu'à 7 jours. La croissance bactérienne s'accompagne avec le virage de la couleur du vert au bleu indiquant la présence d'une Citrate perméase.

**Attaque du Mannitol (Mannitol- Mobilité) [19] :** C'est un milieu faiblement gélosé qui contient du mannitol et un indicateur coloré, permettant ainsi de déceler l'attaque du mannitol avec formation d'acides à chaîne très courtes et virage de la couleur du rouge au jaune. Il permet aussi la mise en évidence de la mobilité d'une souche bactérienne.

On a réalisé un ensemencement par piqûre centrale au fil droit. Après 24h d'incubation à 37°C, la mobilité du germe est traduite par l'envahissement plus ou moins grand du milieu à partir de la piqûre de l'inoculation. L'utilisation du mannitol est observée lors du virage de la couleur vers le jaune. Dans le cas contraire, le milieu garde sa couleur initiale.

**Fermentation des sucres sur milieu TSI [19] :** Le milieu TSI est un milieu complexe, qui permet la mise en évidence de plusieurs enzymes qui sont responsables de la dégradation du glucose, du lactose et des acides aminés. L'utilisation des sucres acidifie de plus en plus le milieu qui est ensemencé par piqûre centrale dans le culot suivie de stries superficielles sur la pente du milieu. Après incubation à 37°C/24h, on a fait la lecture des résultats :

- Glucose fermenté : la culot pente vire au jaune ; pente
- Lactose et saccharose fermenté : le culot vire au jaune.
- Production du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) au dépens des acides aminés à radical soufré : la pente et le culot sont noirs ;
- Décollement de la gélose : il y a production de gaz ;
- Les peptones et les acides aminés sont dégradés : la pente vire au rouge.

**Recherche d'une β-galactosidase (ONPG) [19] :** Pour que le lactose soit attaqué par une bactérie, il faut qu'il pénètre dans la cellule microbienne. Cette pénétration va dépendre d'une enzyme lactose perméase et une autre enzyme intracellulaire β-galactosidase catalysant la scission du lactose en glucose et galactose au niveau de la liaison β-galactoside.

0,5 ml d'eau physiologique est ensemencé par la suspension dense d'une culture bactérienne et quelques gouttes de toluène pour libérer lactose perméase. Après, on a ajouté le disque ONPG et on a incubé à 37°C/2h. La solution devienne jaune si la bactérie possède une β-galactosidase.

**Recherche des dérivés de l'acide pyruvique sur milieu Clark et Lubs [19] :** Le but de ce test est de détecter la production d'acétoïne à partir de la fermentation du glucose. Ce métabolisme glucidique est mis en évidence par deux réactions :

- **Réaction au rouge de méthyle (RM) :** La réaction au rouge de méthyle permet de caractériser la fermentation acide mixte. Que se soit en aérobiose ou en anaérobiose, on obtient à partir de l'acide pyruvique des acides organiques à courtes chaînes. Lorsqu'ils sont produits, ces acides organiques maintiennent le pH de la culture à un degré suffisamment bas pour que le rouge de méthyle garde sa coloration rouge (pH inférieur à 5).



On aensemencé 5ml du milieu de Clark et Lubs. L'incubation se fait à 37°C. Après 48h d'incubation, on a prélevé 2ml du milieu, puis on a ajouté deux gouttes d'une solution de rouge de méthyle.

- La réaction positive : coloration rouge ; le milieu est acide avec un pH < 5,6.
- La réaction négative : coloration jaune, le milieu alcalin et le pH > 7.

- **Réaction de Voges-Proskauer (VP) :** La réaction de Voges-Proskauer permet de révéler la présence d'acétyl-méthyl-carbinol ou l'acétoïne qui est un corps intermédiaire dans la formation du butylène glycol (=2,3-butène-diol).

On a ajouté 0,5ml du réactif VPI ( $\alpha$ -naphthol à 6% dans l'alcool absolu) et 0,5ml du réactif VPII (une solution de potasse à 15% d'eau distillée) au 3ml de la culture sur milieu Clark et Lubs.

Les tubes sont agités énergiquement et laissés 15min au maximum à température ambiante. S'il y a apparition d'une coloration rose-rouge en surface, cela signifie qu'il y a production de l'acétoïne.

#### d. Profil fermentaire des sucres :

Ce test permet d'apprécier la capacité des souches à fermenter quelques sucres (TTC, mannose, xylose, l'amidon, cellobiose, arabinose, adonitol, galactose). Ce test est réalisé sur milieu MEVAG (milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides) dans des tubes à essai.

Pour effectuer ce test, on a ajouté au milieu fondu et refroidi à 37°C quelques gouttes (5 gouttes) du sucre à tester, on a homogénéisé puis on aensemencé nos souches bactériennes ensuite on a mis une goutte de l'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose. Après incubation à 37°C/24h, tous les tubes dont la couleur vire au jaune sont considérés comme positifs.

#### II.2.1.6. Tests d'identification des bactéries lactiques :

Les principaux tests utilisés pour l'identification (tests d'orientation) sont :

**a. Examen macroscopique [88] :** La culture en boîte de pétri après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, avec obtention des colonies séparées permet de déterminer l'aspect, la forme de ces dernières.

**b. Examen microscopique [88] :** Les 16 souches utilisées ont été soumises à la coloration de Gram ; dont la technique est citée précédemment.

#### c. Tests physiologiques et biochimiques [88] :

**Recherche de la catalase :** Les 16 souches ont été soumises à un test de catalase. La présence d'une catalase se manifeste par l'apparition des bulles abondantes dans l'émulsion.

**Test de croissance à différentes températures :** Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles, des bactéries lactiques thermophiles, après inoculation en milieu liquide (bouillon MRS) avec une culture pure

des germes à tester, les tubes sont incubés pendant 24h à 48h aux températures 15°C et 44°C, au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux. Les bactéries mésophiles poussent à 15°C alors que les bactéries thermophiles ne le font pas.

**Culture sur bouillon hypersalé :** La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium donne des renseignements précieux pour l'identification.

La culture à tester estensemencée sur bouillon à 4% et 6,5% de NaCl, après une incubation à 37°C/24h, on note l'aptitude à croître sur ces milieux par l'apparition de trouble.

**Recherche de la réductase [91]:** Le milieu est préparé à partir du lait écrémé stérile préparé lui-même à raison de 12% additionné de teinture de tournesol jusqu'à l'obtention d'une couleur violette, le pH est ajusté à 7,3. L'ensemencement est effectué à partir d'une culture dense de la souche étudiée, suivie d'une incubation à 37°C/24h.

Ce milieu permet d'observer plusieurs types de réaction :

- Attaque du lactose avec acidification (coagulation de la caséine et virage au rouge) ;
- Attaque de la caséine avec alcalinisation (virage au bleu) ;
- Peptonisation de la caséine après ou en dehors de toute coagulation (éclaircissement du milieu ou dégradation du coagulant) ;
- Réduction du colorant.

**Recherche de l'Argénine dihydrolase (ADH) :** La recherche de cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques, cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'argénine, pour réaliser ce test, onensemence le bouillon Moeller à argénine avec les germes à tester. La culture dans le milieu de base se manifeste par virage au jaune dû milieu du au métabolisme du glucose.

La dégradation de l'argénine et la libération d'ammoniac empêchent le virage au jaune.

**Production d'acétoïne :** Ce test permet de caractériser la capacité des bactéries lactiques à produire le diacetyl et l'acétoïne pour éviter les concentrations trop élevées de pyruvate qui est toxique, ce dernier peut résulter de l'utilisation des citrates en présence d'une source d'énergie comme le lactose [92].

Pour réaliser ce test, on a préparé des tubes contenant du lait écrémé à 9%. Les tubes utilisés subissent un traitement thermique de 5 minutes à 70°C au bain marie.

Ils sont ensuiteensemencés par les souches à tester, et incubés à 37°C/24h, ensuite on ajoute 5 gouttes de solution VPI et 5 gouttes de solution VPII dans chaque tube, suivi d'une agitation intense.

Après un délai de 10 minutes, une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol. Cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude (VPII) et se combine avec l' $\alpha$ -naphthol (VPI) en donnant un complexe de couleur rouge.

### Recherche de type fermentaire :

- **Méthode 1** : Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation de gaz CO<sub>2</sub>. On a préparé le milieu de culture Gibson Abdelmalek préalablement fondu, refroidi et solidifié en position verticale est ensemencé par les souches étudiées, puis on a coulé en surface un bouchon de gélose blanche stérile. L'incubation se fait à 37°C pendant plusieurs jours. Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de gélose. Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse au contraire le bouchon de gélose vers le haut du tube.

-**Méthode 2** : Cette méthode consiste à réaliser des cultures des germes à étudier sur bouillon MRS contenant des cloches, ensuite les tubes sont incubés à 37°C/24h. Les tubes présentant un trouble (culture) et du gaz dans la cloche (au moins 1/10 du volume de la cloche), indiquent que la souche est hétérofermentaire.

**La recherche de la citratase** : Cette enzyme est mise en évidence par culture sur gélose MRS additionné au citrate d'ammonium. La gélose est ensemencée dans la masse et incubée à 37°C pendant 3 à 5 jours.

La décomposition du citrate se manifeste par la production du gaz dans la masse du milieu, c'est la première réaction de transformation du citrate en diacétyle et acétoïne.

#### d. Profil fermentaire des sucres [19] :

La fermentation des sucres est recherchée par ensemencement des tubes de milieu MEVAG additionné de sucre à étudier et pour favoriser l'anaérobiose, on a versé une couche suffisante de l'huile de paraffine.

Après 24h d'incubation le développement de la culture et le virage de l'indicateur coloré due à l'acidification du milieu traduit l'utilisation du sucre.

A noté que ce test a été réalisé sur 8 sucres qui sont : galactose, dextrine, mannose, saccharose, lactose, glucose, xylose, et ribose.

#### e. Identification par logiciel :

Le traitement informatique des résultats est réalisé par logiciel API LAB au niveau du laboratoire de biologie des microorganismes et biotechnologie de l'université ES-SENIA ORAN.

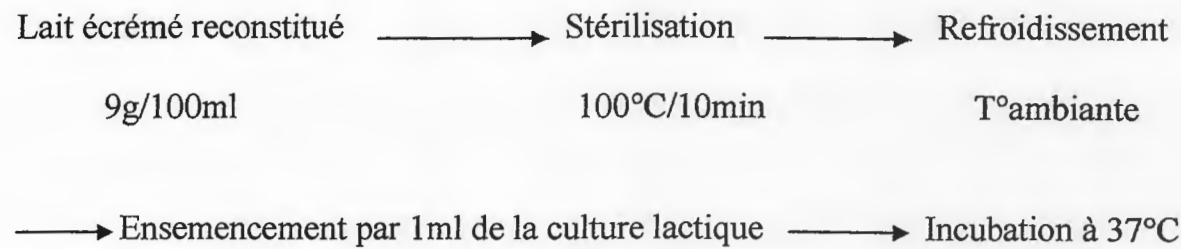
### II.2.2. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques :

#### II.2.2.1. Etude du pouvoir acidifiant :

Le métabolisme des bactéries lactiques a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable [93].

##### a. Préparation du lait :

Pour réaliser ce test, on a commencé tout d'abord à préparer le milieu à ensemencer selon le protocole suivant :

**b. Dosage de l'acide lactique [45,89] :**

La détermination de l'acidité d'un lait, permet d'apprécier la quantité d'acide lactique produite par les bactéries lactiques.

Le dosage de l'acide lactique par degré dornic correspond à la neutralisation de l'acide par solution de soude dornic en présence d'un indicateur coloré ; la phénophtaléine (5 gouttes/10ml).

Un flacon contenant 100 ml de lait écrémé à 9% est stérilisé et ensemencé par la souche lactique à tester. Il est ensuite incubé à 37°C. Après incubation à un intervalle du temps 2h, 4h, 6h et 24h ; 10 ml de lait est prélevé, ce volume de lait est titré par la soude dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénophtaléine, jusqu'au virage au rose pale .

L'acidité est déterminée par la formule : Acidité [°D]= V NaOH .10

V NaOH : volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique.

**c. Détermination de pH [45,89] :**

Le pH dépend de la concentration en ion hydronium ( $H^+$  ou  $H_3O^+$ ) d'un milieu, le pH égal a :

$$pH = \log_{10} 1/ [H_3O^+]$$

L'utilisation du pH mètre permet d'apprécier le pH de lait grâce à son électrode qui est très sensible aux ions  $H^+$  libérés dans le lait.

On plonge l'électrode du pH mètre dans un bécher contenant 10 ml de lait avec agitation, la valeur du pH est enregistrée sur l'écran.

**II.2.2.2. Etude de pouvoir protéolytique [94] :**

Pour la recherche de l'activité protéolytique sur milieu solide, on a imbibé des disques de papier Watman stérile dans des suspensions bactériennes à tester, ces dernières sont déposés à la surface de la gélose YMA déjà coulé et solidifiée. Les boites sont incubées à 37°C/24h.

La présence d'une activité protéolytique se traduit par l'apparition des zones claires autour des disques.

**II.2.2.3. Pouvoir texturant [17] :**

Ce test consiste à ensemencer en stries la gélose hypersaccharosée avec les différentes suspensions bactériennes.



L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h, la production de polysaccharides se manifeste par la présence des colonies larges et gluantes.

### II.2.3. Evaluation des aptitudes probiotiques *in vitro* :

#### II.2.3.1. Estimation de la croissance :

Pour l'évaluation des aptitudes probiotiques *in vitro* on a estimé utile d'évaluer le nombre de colonies dans un volume donné dont la technique est la suivante :

- On a préparé des cultures jeunes (âgées de 20h) : Elle se fait par ensemencement du bouillon MRS par chaque culture âgée de 24h avec un rapport de V/9V;
- La DO des cultures jeunes est déterminée à une longueur d'onde de 660nm ;
- Pour chaque souche on a réalisé des dilutions jusqu'à  $10^{-7}$ , ensuite on aensemencé par étalement sur la gélose MRS.
  
- Après incubation à 37°C/24h on a dénombré les UFC correspondant à chaque DO.

On a refait les mêmes étapes pour les 14 souches d'entérobactéries sauf que les cultures sont réalisées sur bouillon LB et l'incubation est faite à 37°C/24h.

Le dénombrement est réalisé sur gélose VRBG.

#### II.2.3.2. Croissance sur milieux hostiles :

**a. croissance sur milieu acide :** Pour réaliser ce test, on a abaissé le pH de la gélose MRS à différentes valeurs à savoir : pH3, pH4, pH5 par l'acide chlorhydrique, puis on aensemencé le milieu de culture à partir des dilutions  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  par étalement. Après incubation à 37°C/24h on a fait le dénombrement à l'aide d'un compteur de colonies [19].

**b. Croissance en présence de sels biliaires:** À partir de la culture bactérienne sur milieu liquide, on a réalisé des dilutions jusqu'à  $10^{-7}$ . Ensuite on aensemencé le milieu MRS contenant des doses de 0,5% et 2% de sels biliaires par étalement.

Le dénombrement s'effectue à l'aide d'un compteur de colonies après 24h d'incubation à 37°C [19].

**II.2.3.3. Résistance aux antibiotiques :** La gélose PCA est coulée dans des boîtes de Pétri et laissée prendre en masse, puis chaque boîte est inondée par l'inoculum (pour chaque souche) de la dilution  $10^{-5}$ , le surplus de la suspension est récupéré par une micropipette. Les boîtes sont laissées séchées à température de laboratoire.

Après séchage de la gélose on a déposé dans chaque boîte 5 disques d'antibiotiques {Tétracycline (T), Erythromycine (E), Penicillin-G (P), Streptomycine (S), Ampicilin (Am)}.

Après l'incubation à 37°C/24h on apprécie la sensibilité des souches par rapport aux antibiotiques et on mesure la zone d'inhibition.



**II.2.3.4. Pouvoir antagonistique des bactéries lactiques:**

Il s'agit d'étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques envers la microflore, entérobactéries du jabot. Pour mettre en évidence cette activité, on a utilisé la méthode de diffusion sur gélose décrite par Tagg et al [95].

Cette technique comporte les étapes suivantes :

- Préparation des suspensions bactériennes : pour chaque souche d'entérobactéries et de bactéries lactiques identifiées, on a préparé des cultures jeunes âgées de 20h pour les bactéries lactiques et de 4h pour les entérobactéries par ensemencement du bouillon MRS et LB par des cultures âgées de 24h (V/9V) ;
- Pour chaque souche d'entérobactéries, 50 µl est mélangé à 12 ml de gélose Hektoen fondu et refroidi à 47°C ;
- Ensuite la gélose est coulée dans des boîtes de Pétri stérile et laissée prendre en masse ;
- Après séchage de la gélose, chaque disque de papier Watman stérile (de 5 mm de diamètre) est imbibé par 20 µl de souche jeune de bactérie lactique, et déposé à la surface de la gélose déjà ensemencée ;
- Les boîtes sont incubées à 37°C/24h ;
- Après l'étuvage on mesure le diamètre des zones d'inhibition.

La symbiose est révélée par l'absence des zones d'inhibitions, par contre l'antagonisme est traduit par la présence de ces dernières.

**Etude de l'effet surnageant des probiotiques sur les entérobactéries [95] :**

L'activité inhibitrice du surnageant natif et celui ajusté à pH 7 a été également évalué par application de la même technique de diffusion sur gélose. Ce test a été appliqué pour chaque souche lactique ayant présentée un antagonisme (activité inhibitrice) envers les entérobactéries mis au test.

Pour se faire, on a préparé des cultures lactiques jeunes, âgées de 20h par ensemencement du bouillon MRS par des cultures âgées de 24h (V/9V).

Après une centrifugation à froid à 9400rp/minutes pendant 10 minutes, les surnageants sont récupérés et filtrés sur une membrane de porosité 0,22 µm (Millipore Minisart. SM 16584.Sartorius). Le pH de la moitié du filtrat ainsi obtenu est ajusté à pH 7 par NaOH 3N.

On a appliqué la même technique de diffusion sur disque, à raison de 6 disques par boîtes.

**II .2.4.Reconstitution de levain :****a.Pouvoir antagonistique :**

Il existe entre les souches de bactéries lactiques utilisées en industrie laitière des interactions positives regroupées sous le terme de coopération, là on parle de symbiose, et des interactions négatives ou inhibition et dans ce cas on parle d'antibiose [17].

Pour l'étude de ces interactions, on a utilisé la méthode des puits qui comprend les étapes suivantes [96] :

- La gélose MRS est préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de pétri stérile ;
- A l'aide d'une cloche stérile, on a réalisé des puits à raison de 9 puits par boîtes ;
- Chaque souche est ensuite mélangée à un apport de gélose MRS par du quelle on a rempli les puits préalablement préparés ;
- La souche à tester est mélangée à un autre apport de gélose MRS (1ml de la culture/7ml de gélose) puis coulée à la surface de la gélose contenant les puits ;
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

L'antagonisme fait apparaître autour des puits des zones d'inhibitions alors que la symbiose se traduit par l'absence de ces dernières.

# Résultats et discussion

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Evaluation de la microflore cultivable du jabot du poulet de chair :

Les résultats du dénombrement de la flore cultivable du jabot du poulet de chair, sont portés dans le tableau 06. Le contenu du jabot a fait l'objet d'un dénombrement de son contenu, en flore totale, Entérobactéries, coliformes totaux, coliformes thermo tolérants et en bactéries lactiques.

Tableau 06: Résultats de la numération de la microflore cultivable du jabot.

	FTAM UFC/g	Entérobactéries UFC/g	CT UFC/g	CTT UFC/g	Bactéries lactiques UFC/g
Jabot	$88 \times 10^5$	$8,5 \times 10^2$	$7 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$	$58 \times 10^4$

**Dénombrements de la F.T.A.M :** Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter tous les microorganismes présents dans le jabot. Il s'agit de microorganismes qui se développent bien sur milieu ordinaire, ce qui exclut un nombre important de germes, cependant la grande majorité de la flore banale et pathogène pourra se développer.

Lors de l'évaluation de cette flore cultivable, une moyenne de  $88 \times 10^5$  UFC/g du contenu du jabot a été dénombrée, la numération de la flore totale permet d'estimer l'effet des probiotiques administrés aux volailles, cette flore est d'une importance grandissante, car sa perturbation fait apparaître des maladies, suite aux changements qui deviennent en faveur de la croissance de la flore pathogène.

**Dénombrement des entérobactéries :** Les entérobactéries font partie de la flore endogène aéro- anaérobies facultative du tube digestif du poulet. Le dénombrement de cette flore sur la gélose VRBG, a montré sa présence avec un nombre moyen de  $8,5 \times 10^2$  UFC/g du contenu du jabot.

**Dénombrement des CT et CTT :** Les techniques de colimétrie ont pour objectif de dénombrer et éventuellement identifier des coliformes. L'intérêt de ces manipulations est d'estimer le nombre des coliformes car ces derniers sont des bactéries vivantes principalement dans les intestins.

Après incubation à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 h, on a dénombré sur gélose VRBL, une moyenne de  $7 \times 10^2$  UFC de coliformes/g du contenu du jabot, cependant, une incubation de l'inoculum sur la même gélose à  $44^\circ\text{C}$  pendant une même période a montré la croissance d'un nombre moyen de coliformes thermo tolérants, estimé à  $5,5 \times 10^2$  UFC/g du contenu du jabot.

**Dénombrement des bactéries lactiques :** Les bactéries lactiques font partie de la flore majoritaire présente dans le tube digestif du poulet et surtout au niveau du jabot, le dénombrement de la totalité des colonies apparues sur gélose MRS, nous a permis d'apprécier le nombre initial des bactéries lactiques présentes dans 1g de contenu du jabot qui est égale à  $58 \times 10^4$  UFC/g.

A noter que le pH du jabot était de pH 3,5.

### **III.2. Constitution d'un soucier des entérobactéries à partir du jabot du poulet de chair :**

#### **III.2.1. Isolement et purification des entérobactéries:**

14 souches d'entérobactéries ont été isolées à partir du jabot, la purification de chaque souche sur gélose VRBG a donné des colonies bien distinctes de même taille, même forme et même couleur.

L'examen microscopique des préparations, soumise à la coloration de Gram nous a permis de distinguer des bâtonnets, de formes coccobacillaires de couleur rose (Gram -).

#### **III.2.2. Tests biochimiques :**

Les résultats des tests biochimiques sont regroupés dans le tableau 07. D'après ces résultats, toutes les souches obtenues sont à catalase négatif, la majorité ne fermentent ni le lactose ni le glucose et ne produisent pas d'H<sub>2</sub>S ni de gaz, sauf pour quelques unes (lactose +, glucose -, gaz +).

Certaines souches sont à fermentation mixte, dépourvues d'uréase et ne dégradent pas le tryptophane jusqu'au stade indole.

Toutes les souches ont une activité enzymatique vis-à-vis de l'utilisation du citrate, en plus, les souches sont mobiles et mannitol négatif. La majorité possède une activité décarboxylante vis-à-vis de la lysine et de l'ornithine, ainsi qu'une déshydrogénase pour l'arginine.



Tableau 07 : Résultats des tests d'identification des entérobactéries.

Souches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Gram	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Morphologie	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille	coccobacille
Catalase	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ONPG	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	+	.	+
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gaz	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	+	.	+
Lactose	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	+	.	+
Glucose	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	+	.	+
Uréase	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Indole	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
VP	.	.	+	.	+	+	.	.	.	.	.	.	+	.
RM	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H <sub>2</sub> S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Citrate	±	±	±	±	±	±	.	+	.	.	+	+	±	+
Mannitol	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
LDC	+	+	.	+	.	.	+	+	+	+	.	+	.	.
ODC	+	+	.	+	.	.	+	+	+	+	.	+	.	.
ADH	+	+	.	+	.	.	+	.	+	+	.	.	.	.
Souches à Identifier	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>Erwinia</i> spp	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>Erwinia</i> spp	<i>Erwinia</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>Obsumbacterium</i> spp	<i>enterobacter</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Erwinia</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp

+ : test positif

- : test négatif

± : test douteux

Cependant, le tableau 08, illustre les résultats des profils d'utilisation des sucres par les mêmes souches. L'analyse de ces résultats montre qu'il y a une variabilité entre les souches à l'égard de l'utilisation des sucres. Ainsi, *Erwinia* spp codée 3 ne fermente pas le xylose alors que *Erwinia* spp codée 5 a le pouvoir de le faire, cela témoigne qu'on a soit deux espèces de même genre ou on a deux biotypes.

A noter que d'autres différences similaires ont été notées à l'égard des autres souches de même genre.

**Tableau 08** : utilisation des sucres par les souches isolées et identifiées.

Souches / sucres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Amidon	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
Arabinose	V	V	V	V	V	V	+	V	V	V	+	+	-	+
Galactose	V	V	V	V	V	V	+	V	+	+	+	+	+	+
Xylose	V	V	V	V	+	V	+	V	V	V	+	+	V	+
Cellobiose	-	-	-	-	-	V	+	-	-	-	+	+	-	+
Mannose	V	V	V	V	V	V	+	V	V	V	V	+	+	+
TTC	-	V	V	V	V	V	V	V	V	-	-	V	V	V
Adonitol	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	V	V	V

- : test négative

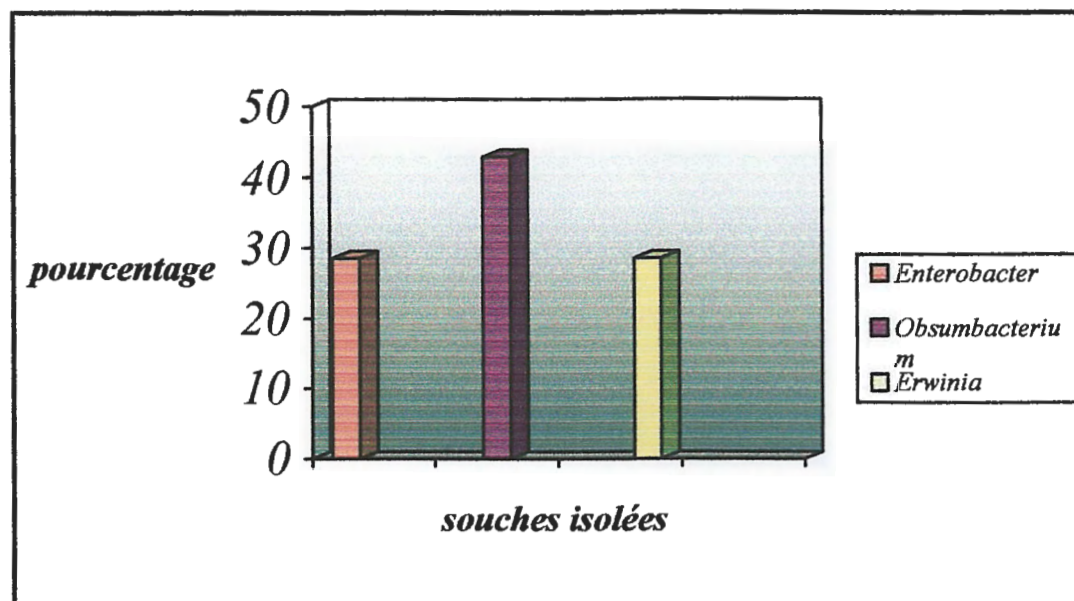
V : résultat variable

+ : test positive

Les résultats des tableaux 07 et 08, nous ont permis de conclure quant à l'appartenance de ces souches à la famille des *Enterobacteriaceae*. Par ailleurs, la comparaison des profils biochimiques obtenus à ceux de références, nous a permis d'identifier les genres suivants :

- 04 souches d'*Enterobacter* sp ;
- 04 souches d'*Erwinia* sp ;
- 06 souches d'*Obsumbacterium* sp.

De ce fait, le souche est composé de 28,57% du genre *Enterobacter*, 28,57% d'*Erwinia* et 42,86% d'*Obsumbacterium*. Cependant, la figure ci-dessous illustre clairement que le genre *Obsumbacterium* est le dominant, il représente les 42,86% de la collection identifiée, *Erwinia* et *Enterobacter* sont présents à un taux équitable de 28,57%.



**Figure 9 :** Répartition des genres des entérobactéries en pourcentage.

Reste à noter que le soucier est composé à 28,57% de coliformes, cela est étroitement lié aux conditions écologiques de cette flore caractéristique du tube digestif humain et animal.

Par ailleurs, ces résultats coïncident à ceux rapportés par la littérature de sorte que quelques heures après l'éclosion des poussins, la colonisation du tractus digestif débute et se sont les entérocoques et les entérobactéries qui s'y développent [28].

Toutefois, tous les résultats obtenus nous laissent penser que la flore digestive évolue en fonction de l'âge des poussins et les facteurs régulateurs de cette flore tels que les ingestats, l'environnement, les conditions de stress, l'antibiothérapie... [28].

### III.3.1. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques:

Notre travail a aboutit à l'obtention de 16 souches de bactéries lactiques issus du jabot du poulet de chair.

#### III.3.1. Examen macroscopique et microscopique :

Les colonies isolées sur gélose MRS sont des colonies de différentes tailles, bien isolées et distinctes de couleurs blanchâtres, transparentes, brillantes, à pourtour régulier, d'un diamètre très minime, certaines présentent des formes circulaires et lenticulaires.

Toutefois, sur chaque boîte, on a observé des colonies distinctes de même taille et même couleur témoignant de la pureté des souches.

Après coloration de Gram, les observations microscopiques ont montré que toutes les cellules bactériennes retiennent la couleur bleu violacée de violet de gentiane, ce qui semble confirmé qu'on est devant une collection des Gram+.

Toutefois, ces observations microscopiques révèlent une forme des bactéries : des bâtonnets disposés en chaînettes plus ou moins longues, ce sont des lactobacilles qui représentent 100% de l'ensemble.

### III.3.2. Tests physiologiques et biochimiques :

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques couplé aux profils de fermentation des sucres sont portés dans les tableaux 09 et 10. Les résultats documentés dans le tableau 09 révèlent le suivant :

- ↗ La croissance à des températures différentes permet de noter que 15 souches isolées sont des thermophiles, puisque elles se développent bien à 44°C, alors qu'une souche est capable de pousser à la température de 15°C qui est réservée aux espèces mésophiles représenté par l'espèce *Lactobacillus plantarum*.

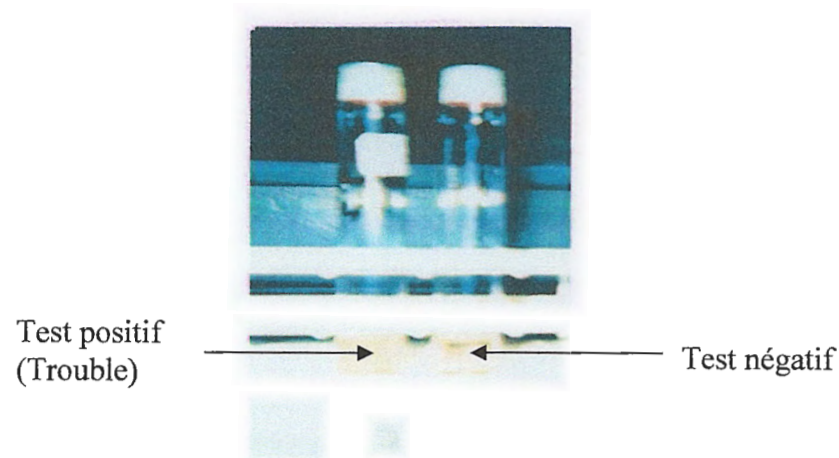


**Figure 10** : Résultats de la croissance à différentes températures.

Pour l'utilisation industrielle, c'est une caractéristique importante, les fournisseurs des ferments lactiques précisent la zone de température d'emploi : les souches à 20-22°C pour les crèmes et les fromages frais, les souches thermophiles pour les fromages à pâte cuite et les yaourts [ 12].

- ↗ Pour la croissance sur bouillon hypersalé aux différentes concentrations de NaCl, on a remarqué que toutes les souches sont capables de pousser et de tolérer la concentration 4% mais en augmentant la concentration à 6,5%, aucune souche n'a poussé, ce qui indique que toutes les souches sont incapables de tolérer les fortes pressions osmotiques.





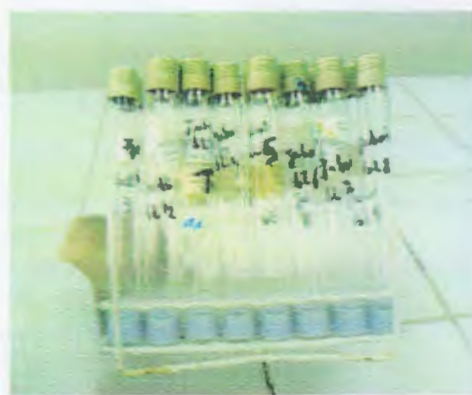
**Figure 11** : Résultat de la croissance sur bouillon hypersalé.

- ↪ D'après les résultats du test ADH, on a remarqué que neuf souches donnent des résultats positifs, c'est-à-dire capables de dégrader l'arginine et libérer l'ammoniac (couleur violette) et rendre le milieu basique, sept souches sont ADH négatives, il est à noter aussi qu'il existe des résultats intermédiaires représentés par la souche J<sub>6</sub>: *Lactobacillus helveticus* biotype de la souche J<sub>14</sub>, et la souche J<sub>7</sub>: *Lactobacillus delbrueckii* ssp *delbrueckii* biotype de la souche J<sub>12</sub>.
- ↪ La recherche de l'acétoïne sur le lait écrémé donne des résultats qui varient largement d'une souche à l'autre, entre le positif, le négatif et le résultat intermédiaire. Ainsi on observe un résultat positif c'est-à-dire formation d'un anneau rouge après avoir effectué la réaction de Voges-Proskauer, chez dix souches, un résultat négatif chez quatre souches, et les deux espèces restantes donnent un résultat intermédiaire.

La production de l'acétoïne chez les souches concernées semble très importante dans le domaine agro-alimentaire surtout la production d'arôme dans les produits fermentés, dans le cas des *Leuconostoc*, cette production d'acétoïne ne commence que lorsque le milieu est acidifié [97].

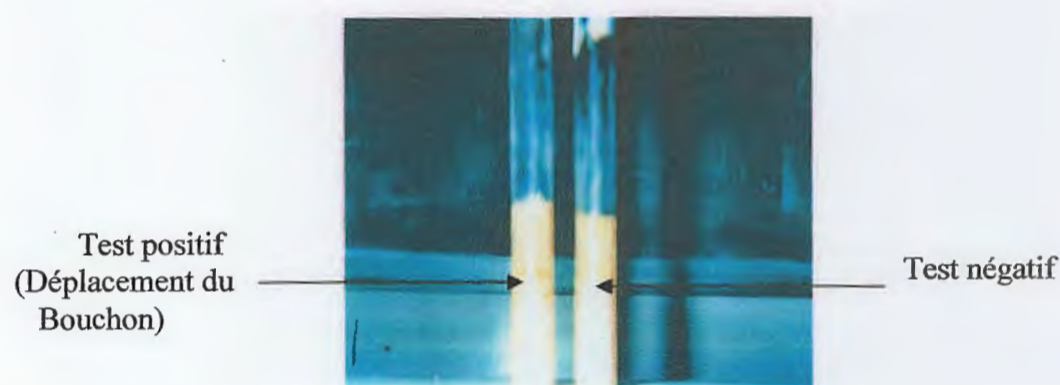
- ↪ En analysant les résultats relatifs à la recherche de la réductase sur le lait tournesolé, on a pu remarquer que toutes les souches testées sont incapables de réduire la teinture de tournesol, et sont capables de coaguler le lait (Figure 12), en effet, la coagulation du lait est le résultat de l'acidification du milieu suite à l'accumulation de l'acide lactique produit par les bactéries lactiques [91].





**Figure 12 :** Résultats de la recherche de la réductase sur le lait tournesolé.

⇨ La recherche de type fermentaire sur le milieu Gibson-Abdelmalek permet de noter que 93,75% des souches testées sont à type homofermentaire (il n'y a pas un déplacement du bouchon de la gélose vers le haut), exception faite la souche J<sub>7</sub>: *Lactobacillus delbrueckii* ssp *delbrueckii* qui était hétérofermentaire.



**Figure 13 :** résultats du type fermentaire sur milieu Gibson Abdelmalek.

Sur bouillon MRS + cloche il y a eu apparition de gaz dans la cloche pour la souche J<sub>7</sub> et absence de gaz pour huit souches (homofermentaire), il faut noter qu'il y a eu des résultats douteux pour le reste des souches.

⇨ Quand à l'utilisation du citrate, il apparaît que dix souches sont incapables d'utiliser le citrate, trois souches dégradent le citrate J<sub>3</sub>, J<sub>5</sub>, J<sub>8</sub>, représentées successivement par *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus bifermens* et *Lactobacillus fermentum*, les souches possèdent donc un mécanisme supplémentaire lié au métabolisme du citrate.

Les trois souches restantes représentent un résultat douteux. **Haddad et al [98]** ont rapporté qu'avant d'être métabolisé, le citrate est transporté à l'intérieur de la cellule grâce à une enzyme, la citrate perméase (citp).

Le gène codant pour citp, localisé sur un plasmide est exprimé durant l'acidification naturelle du milieu par la population bactérienne. A des pH proches de la neutralité, la voie de fermentation du citrate est constitutive.

L'inaptitude du reste des souches à utiliser le citrate peut donc être expliquée par la perte de gène codant pour la citrate perméase [99,100,101].

Tableau 09 : Profils biochimiques des souches de bactéries lactiques isolées

Caract-ères	Souche	Gram	forme	catalase	Culture à 44°C	Culture à 15°C	Cul-ture en NaCl		ADH	Acétoïne	Lait tourne-solé		Type fermen-taire		citratase
							4%	6,5%			coagulation	réduction	G.a.malek	MRS+cloche	
J <sub>1</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	-	+	-	homo	±	±	
J <sub>2</sub>	+	Bac	-	-	+	+	-	-	-	+	-	homo	homo	-	
J <sub>3</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	-	+	-	homo	homo	+	
J <sub>4</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	±	+	-	homo	homo	-	
J <sub>5</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	-	+	-	homo	±	+	
J <sub>6</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	+	+	-	homo	homo	-	
J <sub>7</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	±	+	-	hétéro	hétéro	-	
J <sub>8</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	+	+	-	homo	±	+	
J <sub>9</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	+	+	-	homo	homo	-	
J <sub>10</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	+	+	-	homo	±	-	
J <sub>11</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	+	+	-	homo	homo	±	
J <sub>12</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	+	+	-	homo	homo	-	
J <sub>13</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	-	+	+	-	homo	±	-	
J <sub>14</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	+	+	-	homo	homo	-	
J <sub>15</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	+	+	-	homo	±	-	
J <sub>16</sub>	+	Bac	-	+	-	+	-	+	+	+	-	homo	±	±	

Bac : bacille  
+ : test positif

hétéro : hétérofermentaire  
- : test négatif

homo : homofermentaire  
± : résultat intermédiaire

Tableau 10 : Profils fermentaires des sucres des souches isolées.

Sucres	Lactose	Saccharose	Glucose	Xylose	Galactose	Ribose	Dextrine	Mannose
souches	Lactose	Saccharose	Glucose	Xylose	Galactose	Ribose	Dextrine	Mannose
J <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>2</sub>	+	+	-	-	-	V	-	-
J <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	+	-	-
J <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>6</sub>	+	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>7</sub>	V	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>8</sub>	+	+	-	V	-	V	-	-
J <sub>9</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>10</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>11</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>12</sub>	-	+	+	V	-	-	-	-
J <sub>13</sub>	-	+	+	-	-	-	-	-
J <sub>14</sub>	V	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>15</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
J <sub>16</sub>	-	+	+	-	-	-	-	-

+: test positif

- : test négatif

V: résultat variable

### III.3.3. Identification par profil de fermentation des sucres et logiciel:

Les profils fermentaires obtenus, illustrés dans les tableaux 09 et 10, sont traités par un logiciel API LAB au niveau du laboratoire de biologie des microorganismes et biotechnologie, de l'université ES\_SENIA, qui a confirmé les résultats en donnant le nom de l'espèce bactérienne correspondante à chaque profil fermentaire.

Les noms des espèces données par logiciel API LAB sont résumés dans le tableau 11.



Tableau 11 : Les noms scientifiques des espèces identifiées.

Le code	Les espèces identifiées
J <sub>1</sub>	<i>Lactobacillus bifementans</i>
J <sub>2</sub>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
J <sub>3</sub>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
J <sub>4</sub>	<i>Lactobacillus brevis</i>
J <sub>5</sub>	<i>Lactobacillus bifementans</i>
J <sub>6</sub>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
J <sub>7</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>
J <sub>8</sub>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
J <sub>9</sub>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
J <sub>10</sub>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
J <sub>11</sub>	<i>Lactobacillus bifementans</i>
J <sub>12</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>
J <sub>13</sub>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
J <sub>14</sub>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
J <sub>15</sub>	<i>Lactobacillus bifementans</i>
J <sub>16</sub>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>

En analysant la morphologie des souches bactériennes on a pu noter une dominance de la forme bacillaire représentée par le genre *Lactobacillus* qui occupe 100% du totale.

La forme bacillaire englobe les espèces suivantes :

- *Lactobacillus bifementans* occupant 25% ;
- *Lactobacillus viridescens* occupant 25% ;
- *Lactobacillus delbrueckii* ssp *delbrueckii* occupant 18,75% ;
- *Lactobacillus helveticus* occupant 12,5% ;
- *Lactobacillus plantarum* occupant 6,25% ;
- *Lactobacillus brevis* occupant 6,25% ;
- *Lactobacillus fermentum* occupant 6,25%.

La collection de souches des bactéries lactiques nous à permis donc d'obtenir sept espèces différentes, leurs distributions selon le pourcentage d'apparition est résumée dans la figure 14. On remarque la dominance de *Lactobacillus bifementans* et *Lactobacillus viridescens* avec un pourcentage équitable de 25%.



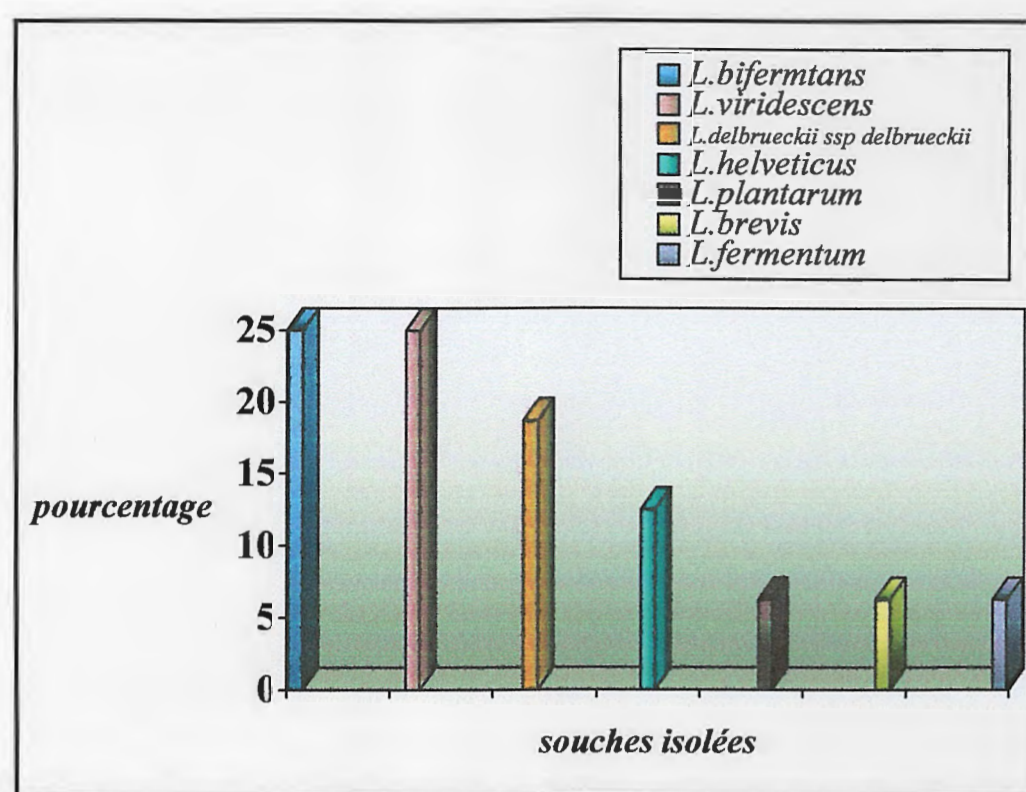


Figure 14 : Répartition des espèces des bactéries lactiques en pourcentage.

En comparant le profil des sucres, on trouve des différences intra -espèces, certaines ont l'habilité de fermenter des sucres, d'autres ne le font pas, ainsi, on a remarqué que l'espèce *L. bifermians* codée J<sub>1</sub>, ne diffèrent pas des biotypes J<sub>5</sub>, J<sub>11</sub> et J<sub>15</sub> car elles n'ont pas pu fermenter tous les sucres. Même chose pour l'espèce codée J<sub>3</sub> de *L. viridescens* et ces biotypes J<sub>9</sub>, J<sub>10</sub>; seul la souche J<sub>13</sub> est différentes étant capable de fermenter le saccharose.

En ce qui concerne l'espèce J<sub>6</sub>: *L. helveticus*, elle est capable de fermenter le lactose par rapport à la même espèce codée J<sub>14</sub> qui n'arrive pas à le faire, Cependant pour l'espèce J<sub>7</sub>: *L. delbrueckii ssp delbrueckii* deux biotypes existent : le premier est représenté par J<sub>12</sub> et le deuxième par J<sub>16</sub> ces deux biotypes présentent des différences distingués dans la fermentation du saccharose et du glucose, par contre l'espèce J<sub>7</sub> ne fermente aucun sucre. Par ailleurs, l'espèce J<sub>2</sub> de *L. plantarum* est capable de fermenter uniquement le lactose et le saccharose.

L'espèce J<sub>4</sub> de *L. brevis* est capable de fermenter uniquement le ribose, enfin l'espèce J<sub>8</sub>: *L. fermentum* est capable de fermenté uniquement le saccharose et le lactose.

D'une manière générale, il y a une hétérogénéité intra espèce qui prouve probablement la présence des variants génétiques, issues de pression de sélection liée aux facteurs biotiques ou abiotiques.

La variabilité des espèces de lactobacilles dans le jabot a été démontrée par **Smith et al [69]** qui ont trouvé que les lactobacilles sont majoritaires dans le jabot avec  $8,7 \log_{10} /g$  du contenu comparativement aux autres anaérobies facultatifs dont le nombre ne dépasse pas  $4,0 \log_{10}/g$ . Ainsi **Knarreborg et al [102]** et **Lu et al [103]** ont trouvé qu'avec l'âge de Poulet, différentes espèces de lactobacilles s'installent et ceux en proportions importantes dès l'âge de 3 jours.

Quant à **Garriga et al [75]**, ils ont isolé 8 souches différentes de *Lactobacillus salivarius* qui ont montré une bonne adhérence aux cellules épithéliales du poulet.

Aussi, **Lin et al [74]** ont trouvé que *L.fermentum* été l'une des majeures espèces isolées du poulet, ce qui prouve que nos résultats sont en concordance avec les données bibliographiques.

### III.3.4. Etude de quelques aptitudes technologiques :

#### III.3.4.1. Pouvoir acidifiant :

Pour des objectifs technologiques notamment en laiterie et en fromagerie, il est très intéressant de préciser le pouvoir acidifiant des souches lactiques [19]. Le tableau 12 illustre les résultats de ce test.

**Tableau 12** : Evaluation de l'acidité et du pH pendant 24h.

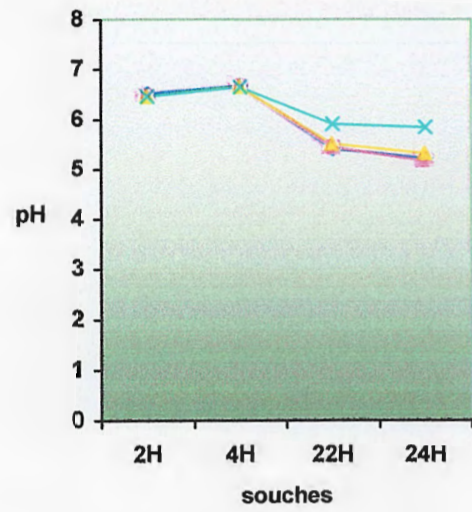
Durée d'incubation espèces	2h		4h		22h		24h	
	pH	°D	pH	°D	pH	°D	pH	°D
J <sub>1</sub>	6.50	20.00	6.67	04.00	5.41	40.00	5.24	44.00
J <sub>2</sub>	6.46	18.00	6.66	16.00	5.43	42.00	5.16	46.00
J <sub>3</sub>	6.46	18.00	6.66	12.00	5.51	36.00	5.32	38.00
J <sub>4</sub>	6.45	17.00	6.65	23.00	5.90	27.00	5.84	30.00
J <sub>5</sub>	6.54	21.00	6.55	15.00	5.40	38.00	5.22	44.00
J <sub>6</sub>	6.54	14.00	6.54	16.00	5.34	71.00	4.27	76.00
J <sub>7</sub>	6.54	23.00	6.54	17.00	5.23	42.00	5.08	49.00
J <sub>8</sub>	6.53	15.00	6.55	17.00	5.42	39.00	5.00	44.00
J <sub>9</sub>	6.55	16.00	6.55	16.00	5.43	40.00	5.21	42.00
J <sub>10</sub>	6.56	16.00	6.56	16.00	5.20	40.00	4.85	45.00
J <sub>11</sub>	6.66	13.00	6.61	15.00	4.36	65.00	4.30	67.00
J <sub>12</sub>	6.58	17.00	6.56	07.00	4.10	68.00	4.09	105.00
J <sub>13</sub>	6.60	13.00	6.66	49.00	4.10	74.00	4.11	74.00
J <sub>14</sub>	6.58	16.00	6.50	16.00	4.19	71.00	4.18	82.00
J <sub>15</sub>	6.60	15.00	6.58	15.00	4.24	65.00	4.21	79.00
J <sub>16</sub>	6.58	14.00	6.60	15.00	4.30	60.00	4.29	69.00



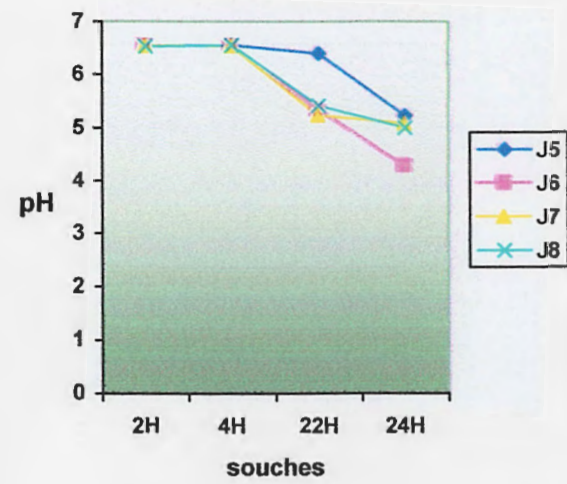
L'évolution de l'acidité et les variations de pH au cours de la croissance des souches identifiées dans le lait écrémé stérile, démontrent une différence importante et une hétérogénéité entre ces dernières. La quantité d'acide lactique produite, varie chez la seule espèce dans le temps, et elle augmente d'une façon considérable.

Après 2 heures d'incubation, les valeurs de pH varient entre pH 6,45 et pH 6,66, en parallèle, la quantité de l'acide lactique produite se situe entre 1,3g d'acide lactique par litre du lait et 2,3g/l.

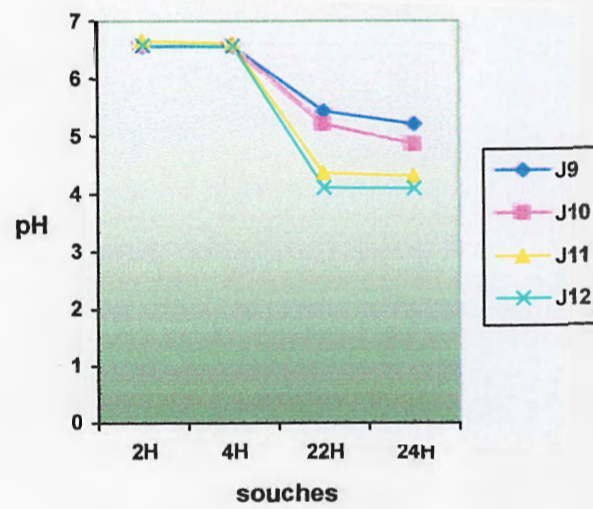
Au bout de 24 heures d'incubation, ces valeurs de pH s'abaissent et se trouvent situées entre pH 4,09 et pH 5,84, de même, la quantité de l'acide lactique produite se situe entre 3g/l et 10,5g/l dont le maximum est produit par l'espèce J<sub>12</sub>: *L.delbrueckii* ssp *delbrueckii*.



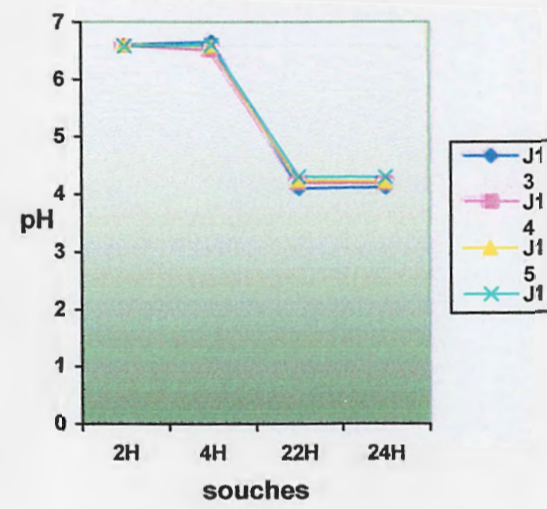
15a



15b



15c



15d

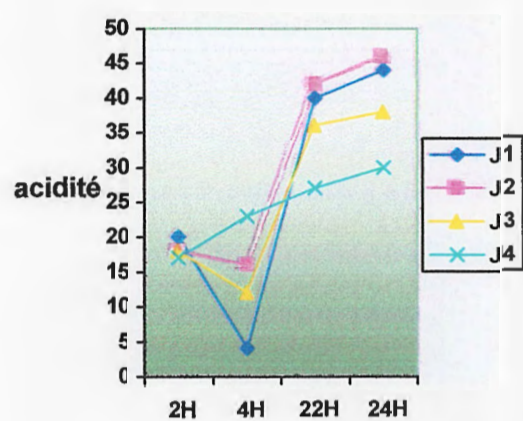
Figures 15a, 15b, 15c et 15d : Evolution du pH pendant 24h d'incubation.

Par ailleurs, on a noté une hétérogénéité dans la production d'acide lactique au sein des biotypes de la souche J<sub>5</sub> : *L.bifermentans* ainsi, les souches J<sub>11</sub>, J<sub>15</sub> produisent de grande quantité d'acide lactique variant de 6,7g/l à 7,9g/l de lait, alors que, la souche J<sub>5</sub> comme J<sub>1</sub> semble avoir un faible pouvoir acidifiant dont il y a production uniquement de 4,4g/l.

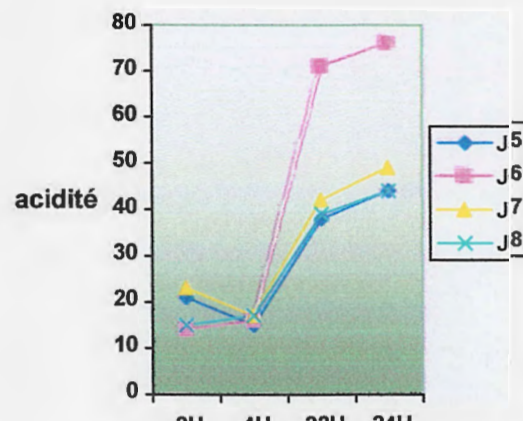
La même constatation a été enregistrée avec les souches de *L.viridescens* où la production d'acide lactique est variable, ainsi, la souche J<sub>13</sub> produit une quantité importante d'acide lactique estimée à 7,4g/l.

On a remarqué que les souches de *L.helveticus* produisent une grande quantité de l'acide lactique, ainsi la souche codée J<sub>6</sub> produit 7,6g/l et son biotype codé J<sub>14</sub> produit 8,2g/l. Les souches de *L.delbrueckii ssp delbrueckii* présentent une grande hétérogénéité à l'égard de la production d'acide lactique, avec une production variant entre 4,9 g/l et 10,5g/l.

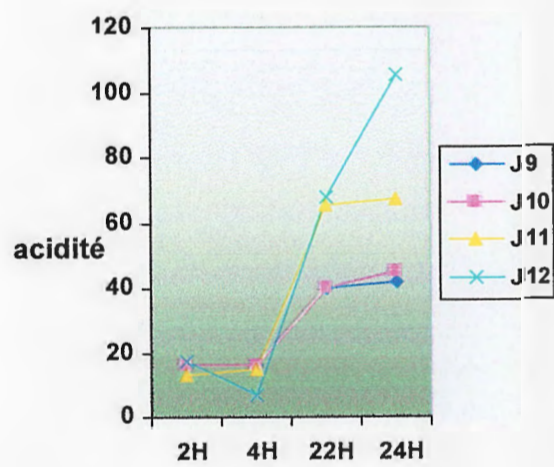
Les espèces de *L.plantarum*, *L.brevis*, *L.fermentum* semblent être peu acidifiantes puisqu'elles produisent des petites quantités d'acide lactique qui varie entre 3g/l et 4,6g/l.



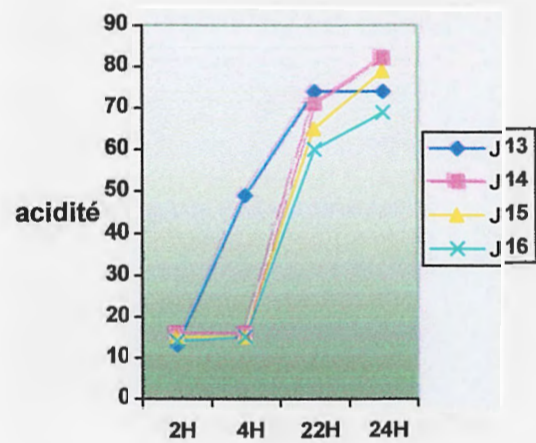
16a



16b



16c



16d

Figures 16a, 16b, 16c et 16d : Evolution de l'acidité après 24h d'incubation.



Toutefois, nous pouvons dire que nos souches testées possèdent une bonne activité acidifiante dont les résultats obtenus en témoignent.

La vitesse d'acidification est un critère important en technologie qui vise à sélectionner les souches rapidement acidifiantes. En effet, **Mc. Kayl [104]** a rapporté que cette propriété est étroitement liée à la présence de plasmides dans la cellule.

Finalement, il est à noter que ce test permet de faire une corrélation entre la quantité d'acide lactique produite et la vitesse d'abaissement du pH, ce dernier constitue un facteur hostile pour la croissance des bactéries lactiques et constitue aussi la première barrière lors du passage de ces lactiques dans le tube digestif.

#### III.3.4.2. Pouvoir protéolytique :

Les résultats de l'hydrolyse des protéines par les souches lactiques sur le milieu YMA sont résumés dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** pouvoir protéolytique des souches étudiées sur milieu YMA.

souches	Zone de protéolyse	Observation
J <sub>1</sub>	00mm	Croissance sans protéolyse
J <sub>2</sub>	10mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>3</sub>	17mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>4</sub>	14mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>5</sub>	12mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>6</sub>	12mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>7</sub>	13mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>8</sub>	12mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>9</sub>	8mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>10</sub>	8mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>11</sub>	14mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>12</sub>	13mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>13</sub>	14mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>14</sub>	9mm	Croissance avec protéolyse
J <sub>15</sub>	00mm	Croissance sans protéolyse
J <sub>16</sub>	12mm	Croissance avec protéolyse

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une croissance des bactéries autour des disques, les zones de protéolyse sont présentes chez la majorité des souches qui font apparaître un diamètre large de la zone d'hydrolyse des protéines autour des disques et qui varie entre 8mm et 17mm.

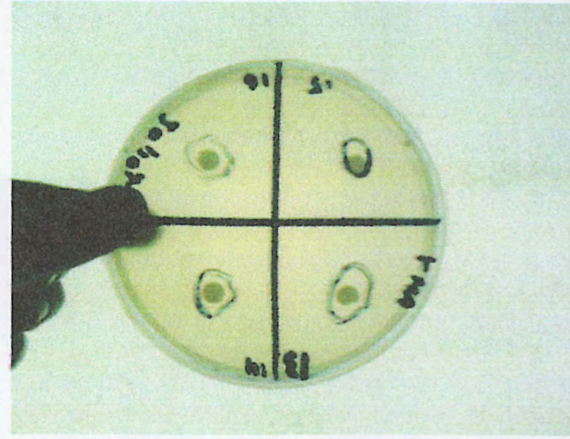


Figure 17 : Pouvoir protéolytique sur le milieu YMA.

Seule la souche  $J_1$  de *L. bif fermentans* présente une homogénéité avec son biotype  $J_{15}$ , ne montrant pas des zones de protéolyse par contre les biotypes  $J_5$  et  $J_{11}$  montrent bien un pouvoir protéolytique.

En effet, de nombreux travaux portant sur les aptitudes protéolytiques des bactéries lactiques sont actuellement disponibles. Ils ont montré que les bactéries lactiques sont dotées de systèmes protéolytiques complexes par leur nature et leur localisation, elles possèdent des endopeptidases dans le cytoplasme ou liées aux parois et des exopeptidases liées aux parois [105,106].

On peut ainsi attribuer l'absence de l'activité protéolytique des souches étudiées à l'absence des exopeptidases surtout liés à la paroi car il est bien établi que les protéines et grâce à leur charge et leur poids moléculaire ne peuvent traverser les enveloppes microbiennes, donc pour être utilisées, les protéines doivent être au préalable hydrolysées par des enzymes protéolytiques soit exocellulaires, soit liées aux enveloppes [92].

Dans le même sens, Desmazeaud [101] a attribué la variation de l'activité protéolytique des souches lactiques aux facteurs génétiques en plus des facteurs physicochimiques du milieu. Enfin, Schmidt et al [106] ont pris en compte également le stade physiologique de croissance, ainsi, le temps d'incubation prolongé peut se traduire par une diminution de certaines activités protéolytiques.

#### III.3.4.3. Pouvoir texturant :

Les résultats de ce test sont portés sur le tableau 14. La production d'exopolysaccharide par les bactéries lactiques est un phénomène favorable à de nombreux processus industriels alimentaires, mais les systèmes enzymatiques impliqués sont complexes [24].



**Tableau 14 : Production de polysaccharides par les bactéries lactiques.**

souches	observation	conclusion
J <sub>1</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>2</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>3</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>4</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>5</sub>	Colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J <sub>6</sub>	Colonies de taille moyenne et peu gluantes	Test douteux
J <sub>7</sub>	Colonies de taille moyenne et peu gluantes	Test douteux
J <sub>8</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>9</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>10</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>11</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>12</sub>	Colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J <sub>13</sub>	Colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J <sub>14</sub>	Colonies de taille moyenne et peu gluantes	Test douteux
J <sub>15</sub>	Colonies régulières	Test négatif
J <sub>16</sub>	Colonies régulières	Test négatif

Sur la gélose hypersaccharosée, un résultat positif se traduit par l'apparition de colonies larges et gluantes avec aspects brillants, sur cette base de données on a pu remarquer quelques espèces à pouvoir texturant plus ou moins marqué parmi toutes les souches étudiées il y a seulement 03 souches qui ont la faculté de produire des polysaccharides et d'apparaître sous forme de colonies large, gluante avec aspect brillant, elles représentent environ 12,5% de la collection des bactéries lactiques isolées et identifiées. Ce sont les souches codées J<sub>5</sub>, J<sub>12</sub> et J<sub>13</sub>. La figure ci-dessous illustre la production de polysaccharides.

**Figure 18 : Pouvoir texturant sur milieu hypersaccharosé.**

On a pu remarquer aussi que 10 souches codées J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub>, J<sub>4</sub>, J<sub>8</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>10</sub>, J<sub>11</sub>, J<sub>15</sub> et J<sub>16</sub> représentées par les espèces *L.bifermantans*, *L.plantarum*, *L.viridescens*, *L.brevis*, *L.fermentum* et *L.delbrueckii* ssp *delbrueckii* ont un pouvoir texturant négatif, elles ne peuvent pas produire de polysaccharides à partir du saccharose existant dans le milieu, qui représentent environ 68,78%, mais cela ne prouve pas qu'elles ne peuvent carrément produire de polysaccharide, peut être elles ont cette activité de produire les polysaccharides sur d'autres milieux.

En ce qui concerne les 3 souches restantes codées J<sub>6</sub>, J<sub>7</sub>, J<sub>14</sub> représentées par les espèces *L.helveticus* et *L.delbrueckii* ssp *delbrueckii* ont un pouvoir texturant douteux qui représentent 18,75%, car les colonies sont un peu de grande taille mais la forme observée ne suffit pas pour leur attribuer le caractère épaississant à cause de l'absence de colonies suffisamment larges et gluantes, donc même s'il y a production des polysaccharides, elle est très faible.

En effet, le pouvoir filant ou épaississant dépend d'un nombre de facteurs, notamment de la nature des souches et des conditions de culture, ainsi, il a été montré que la production des polysaccharides est un caractère plus ou moins instable chez certaines bactéries lactiques, pour les souches mésophiles, plusieurs auteurs ont attribué cette instabilité à la perte de plasmide codant pour les enzymes intervenant pour la biosynthèse des polysaccharides [106,107,108].

Les souches épaississantes confèrent des caractères rhéologiques particuliers portant notamment sur la viscosité [106].

### III.3.5. Evaluation des aptitudes probiotiques « in vitro » :

Les résultats de l'estimation de la croissance de nos souches, entérobactéries et bactéries lactiques sont portés dans les tableaux 15 et 16 en Annexe 01 et 02.



**Estimation de la croissance :****Tableau 15 :** Estimation de la population microbienne des Entérobactéries après 4h d'incubation.

code	genre	D.O	NB des bactéries (UFC/ml)
1	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.308	1560
2	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.320	3064
3	<i>Erwinia</i> sp.	0.285	208
4	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.335	456
5	<i>Erwinia</i> sp.	0.285	208
6	<i>Erwinia</i> sp.	0.317	93
7	<i>Enterobacter</i> sp.	0.703	401
8	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.295	53
9	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.317	1200
10	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.275	1496
11	<i>Enterobacter</i> sp.	0.662	808
12	<i>Enterobacter</i> sp.	0.735	48
13	<i>Erwinia</i> sp.	0.255	305
14	<i>Enterobacter</i> sp.	0.498	151

D.O : densité optique.

NB de bactéries : nombre des bactéries.

**Tableau 16 :** Estimation de la population microbienne des bactéries lactiques après 20h d'incubation.

code	espèce	D.O	NB des colonies (UFC /ml)
J <sub>1</sub>	<i>L.bifermantans</i>	0.442	5440
J <sub>2</sub>	<i>L.pluntarum</i>	0.493	62
J <sub>3</sub>	<i>L.viridescens</i>	0.797	2320
J <sub>4</sub>	<i>L.brevis</i>	0.280	1280
J <sub>6</sub>	<i>L.helviticus</i>	0.284	206
J <sub>7</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.161	112
J <sub>8</sub>	<i>L.fermentum</i>	0.404	2160
J <sub>12</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.205	105
J <sub>13</sub>	<i>L.viridescens</i>	0.751	21
J <sub>14</sub>	<i>L.helviticus</i>	0.245	1024
J <sub>16</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.830	1816

**III.3.5. 1. Croissance sur milieu acide :**

Les résultats de la croissance des bactéries lactiques sur milieu acide sont représentés dans le tableau 17.

Les résultats consignés dans le tableau ci dessous montrent qu'il y a une notable croissance des bactéries lactiques sur les milieux à différent pH, mais il est clair que la croissance sur la gélose à pH 5 l'emporte sur les autres. De même, il y a une nette différence de la croissance entre les souches lactiques testées.

**Tableau 17 :** Croissance des bactéries lactiques en fonction du pH du milieu.

pH	Espèces	Nombre de colonies (UFC/ml)			Pourcentage d'abaissement
		pH3	pH4	pH5	
J <sub>1</sub>	<i>L.bifermuntans</i>	5,48. 10 <sup>5</sup>	20. 10 <sup>5</sup>	192. 10 <sup>5</sup>	-97,14%
J <sub>2</sub>	<i>L.plantarum</i>	7,40. 10 <sup>5</sup>	28. 10 <sup>5</sup>	232. 10 <sup>5</sup>	-96,81%
J <sub>3</sub>	<i>L.viridescens</i>	6,76. 10 <sup>5</sup>	64. 10 <sup>5</sup>	272. 10 <sup>5</sup>	-97,51%
J <sub>4</sub>	<i>L.brevis</i>	3,32. 10 <sup>5</sup>	32. 10 <sup>5</sup>	240. 10 <sup>5</sup>	-92,81%
J <sub>6</sub>	<i>L.helviticus</i>	3,60. 10 <sup>5</sup>	58. 10 <sup>5</sup>	228. 10 <sup>5</sup>	-98,42%
J <sub>7</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	2,96. 10 <sup>5</sup>	42,8. 10 <sup>5</sup>	200. 10 <sup>5</sup>	-98,52%
J <sub>8</sub>	<i>L.fermantum</i>	3,72. 10 <sup>5</sup>	80,8. 10 <sup>5</sup>	120. 10 <sup>5</sup>	-96,9%
J <sub>13</sub>	<i>L.viridescens</i>	3,00. 10 <sup>5</sup>	44. 10 <sup>5</sup>	240. 10 <sup>5</sup>	-98,75%
J <sub>14</sub>	<i>L.helviticus</i>	5,68. 10 <sup>5</sup>	54,4. 10 <sup>5</sup>	160. 10 <sup>5</sup>	-96,45%

On note aussi que les souches offrent une sensibilité très marquée sur le milieu à pH 3, mais tolèrent mieux le pH4, avec une estimable croissance des colonies bactériennes sur la gélose à pH 5. Cependant, la meilleure performance de croissance est notée avec la souche *L.viridescens*.

D'après les résultats obtenus, on a déduit que le degré de résistance à l'acide par les bactéries lactiques s'accompagne d'une réduction de la croissance bactérienne avec l'abaissement du pH. Les résultats montrent qu'il y a une chute de croissance de -92,8% à -98,75% sur le milieu à pH 3 comparativement au milieu à pH 5.

Toutefois, il apparaît clairement que l'espèce *L.plantarum* J<sub>2</sub> manifeste une bonne croissance qui se tend à ralentir sur la gélose à pH 3, cela dit, il est possible que notre souche a développé cette résistance à ce stress de son accoutumance à croître sur son biotope naturel dont elle est isolée, en l'occurrence le jabot.

Nos résultats sont en concordance avec les données bibliographiques dont l'étude du rôle de pH sur la croissance des bactéries lactiques a montré que ces dernières ont une croissance maximale dans une zone de pH comprise entre pH 5 et pH 7. Plus le pH est acide, la croissance est plus faible [109], les études similaires de **Dunne et al** [110] ont montré la réduction de croissance de *L.plantarum* sur MRS à pH3 comparativement à pH6. Aussi Les résultats de **Hood et Zottola** [111] et **Charteris et al** [112] ont montré que les espèces de *Lactobacillus* entériques peuvent tolérer le pH 2 pendant plusieurs minutes, elles sont détruites à pH 1, tandis que le pH basique affecte leur viabilité.

De même, **Lin et al** [74] ont trouvé que *L.acidophilus* et *L.bulgaricus* isolés du poulet étaient moins stable à pH 2,6 par contre *L.acidophilus* isolée d'autres origine, comme par exemple le tube digestif humain, montre une bonne tolérance à pH2,5 du jus gastrique environnant.

Reste uniquement à signaler que nos souches tolèrent les pH acides, dont elles sont probablement capables de passer à travers l'estomac pour regagner leurs sites d'action.

### III.3.5.2. Croissance en présence de sels biliaires :

Les sels biliaires du tube digestif animal sont un facteur important qui affecte la viabilité des lactobacilles [113].

La capacité de survivre sous l'action des sels biliaires est un critère important de sélection des souches probiotiques. Les résultats trouvés sont portés dans le tableau 18.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré une diminution de la croissance de certaines souches sur le milieu contenant les sels biliaires comparativement à leur croissance sur le milieu témoin avec une tolérance plus ou moins marquée de 12,5% à 72,25%.

**Tableau 18 :** Croissance des bactéries lactiques en fonction des doses de sels biliaires.

Espèces	Sels biliaires	Nombre de colonies (UFC /ml)			Pourcentage de tolérance
		Sans bile	0,5%	2%	
J <sub>1</sub>	<i>L.bifermentans</i>	5440	160	1316	75,80%
J <sub>2</sub>	<i>L.plantarum</i>	62	160	960	100%
J <sub>3</sub>	<i>L.viridescens</i>	2320	352	480	79,31%
J <sub>4</sub>	<i>L.brevis</i>	1280	22	1120	12,5%
J <sub>6</sub>	<i>L.helviticus</i>	206	384	1104	100%
J <sub>7</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	112	336	768	100%
J <sub>8</sub>	<i>L.fermentum</i>	2160	176	448	72,25%
J <sub>13</sub>	<i>L.viridescens</i>	21	480	688	100%
J <sub>14</sub>	<i>L.helviticus</i>	1024	192	800	21,18%



Il faut noter qu'il y a une augmentation comparable de la croissance de nos souches lactiques en fonction de la dose de bile introduite dans le milieu de culture avec une différence de croissance nette entre les différentes souches.

Cependant, il apparaît clairement, d'après les résultats du même tableau que les souches de *L.delbrueckii* ssp *delbrueckii*, *L.helveticus*, et *L.viridescens* ont enregistré une augmentation de la croissance avec une tolérance de 100%.

Ces résultats sont confirmés par les travaux de **Conway et al [114]** qui ont rapporté que le comportement des bactéries en présence des sels biliaires révèle des sensibilités très différentes d'une souche à l'autre. Les études similaires de **Gilliand et al [115]** ont conclu à la variabilité de *L.acidophilus* isolé des intestins à résister et à tolérer la présence de sels biliaires.

Nos résultats ne sont pas en concordance avec les données bibliographiques. Ainsi, **Wen-Hsin et al [74]** ont trouvé une tolérance comprise entre 0,86 et 85,74% aux sels biliaires de *L.fermuntum* isolés de différentes localisations du tube digestif du poulet. Cependant, les mêmes auteurs avaient trouvés une tolérance de 100% aux sels biliaires de la souche SG<sub>2</sub> de *L.fermentum* isolée à partir de tube digestif du porc.

Cette résistance de ces souches isolées du jabot peut être expliquée par la présence de gène de résistance ou bien liée à une adaptation de ces souches à ce facteur inhibiteur.

Toutefois, les résultats de ce test montrent une survie de nos souches en présence de la forte dose de sels biliaires, donc une possibilité de survie « *in vivo* » au niveau du duodénum ou diverse ces substances pour une émulsification des graisses alimentaires.

#### **III.3.5.3. Résistance aux antibiotiques :**

Les résultats de l'application de l'antibiogramme sur milieu solide pour nos souches lactiques sont portés sur le tableau 19.

Nos résultats indique que nos souches sont résistante à 3 sur 5 d'antibiotiques testés dans le diamètre est  $\geq 15\text{mm}$  qui est en concordance avec plusieurs travaux [116].



Tableau 19 : Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques.

Antibiotiques espèces	Erythro- mycine (30µ g)	Ampicilline (10µ g)	Streptomy- cine (10µ g)	Tétracyc- line (30µ g)	Pénicilline G (6µ g)
J <sub>1</sub> : <i>L. bifementans</i>	R	R	S	S	R
J <sub>2</sub> : <i>L. pluntarum</i>	R	R	S	S	R
J <sub>3</sub> : <i>L. viridescens</i>	R	R	S	S	R
J <sub>4</sub> : <i>L. brevis</i>	R	R	S	S	R
J <sub>6</sub> : <i>L. helviticus</i>	R	R	S	S	R
J <sub>7</sub> : <i>L. delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	R	R	S	S	R
J <sub>8</sub> : <i>L. fermentum</i>	R	R	S	S	R
J <sub>13</sub> : <i>L. viridescens</i>	R	R	S	S	R
J <sub>14</sub> : <i>L. helviticus</i>	R	R	S	S	R

R : résistante

S : sensible

La figure 19 illustre l'activité antibiotique de Streptomycine et Tétracycline vis à vis des bactéries lactiques J<sub>3</sub> : *L. viridescens* et J<sub>6</sub> : *L. helviticus* où des zones d'inhibition apparaissent nettement, parallèlement, la résistance des mêmes souches aux antibiotiques : Erythromycine, Ampicilline et Tétracycline est observée.

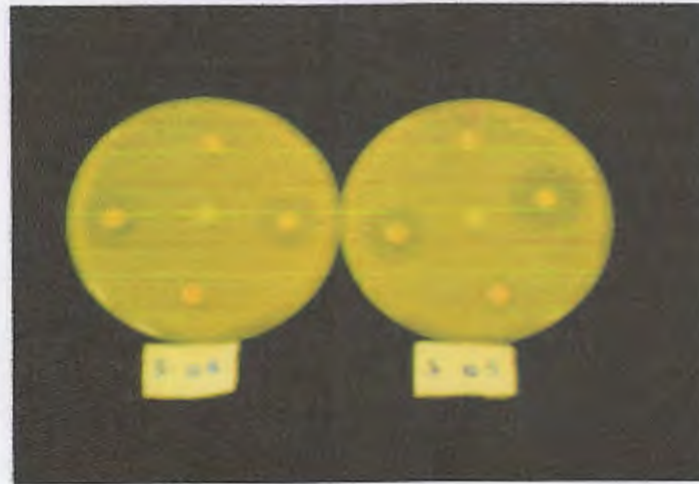


Figure 19 : Résistance et sensibilité des bactéries lactiques (*L. helveticus* et *L. viridescens*) aux antibiotiques.

**Halami et al [117]** ont rapporté que les bactéries lactiques étaient résistantes aux principaux antibiotiques.

Il faut noter que la résistance stable « *in vitro* » peut être perdue « *in vivo* » comme c'est le cas de *L.salivarius* CTC 2197, qui est un bon marqueur génétique pour la détection de sa présence dans le tractus gastro- intestinal du poulet [75 , 118,119].

#### III.3.5.4. Aptitude antagonistique des bactéries lactiques:

Les résultats relatifs à ce test sont représentés dans le tableau 20.

Le pouvoir antagoniste des bactéries lactiques résulte généralement d'une compétition pour les substrats, et si les conditions de développement sont favorables, de l'élaboration de substances inhibitrices comme la nisine [91].

Cette aptitude de croissance en association des espèces étudiées, montre leur caractère symbiotique, et leur pouvoir de culture sans qu'il y ait production de facteurs inhibiteurs nuisant à la croissance de certaines souches entre elles.

**Tableau 20 :** Résultats d'interaction entre quelques bactéries lactiques et les Entérobactéries.

B.lactique	J <sub>1</sub>	J <sub>2</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>4</sub>	J <sub>6</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>8</sub>	J <sub>13</sub>	J <sub>14</sub>
Ø d'inhibition (mm)									
1 : <i>Obsumbacterium</i> sp	14	18	21	0	17	17	21	0	0
2: <i>Obsumbacterium</i> sp	19	17	18	0	12	18	20	0	0
3 : <i>Erwinia</i> sp	11	13	13	0	12	12	12	0	0
4 : <i>Obsumbacterium</i> sp	13	19	19	0	12	12	18	0	0
5 : <i>Erwinia</i> sp	14	14	17	0	8	13	10	0	0
6 : <i>Erwinia</i> sp	8	14	18	0	13	14	14	0	0
7 : <i>Enterobacter</i> sp	19	13	8	0	13	8	8	0	0
8 : <i>Obsumbacterium</i> sp	7	13	7	0	16	8	14	0	0
9: <i>Obsumbacterium</i> sp	13	7	15	0	7	14	17	0	0
10 : <i>Obsumbacterium</i> sp	10	0	0	0	13	7	11	0	0
12 : <i>Enterobacter</i> sp	10	11	12	0	10	12	13	0	0
13 : <i>Erwinia</i> sp	7	9	14	0	0	0	0	0	0

Nous avons observé l'absence de zones d'inhibition pour la souche J<sub>4</sub> représentée par l'espèce *L.brevis* lorsqu'elle est mise en contact avec l'ensemble des souches entérobactéries. Cependant, la souche J<sub>13</sub> représenté par l'espèce *L.viridescens* ne manifeste aucune activité inhibitrice à l'égard de la même collection entérobactéries contrairement à son biotype J<sub>3</sub> qui inhibe la totalité de la collection mise à l'épreuve, mis à part la souche 10 d'entérobactéries représentée par *Obsumbacterium* sp. Cette bactérie lactique a montré des zones d'inhibitions allant de 7mm de diamètre avec *Obsumbacterium* sp à 21 mm de diamètre avec une espèce du même genre codée 1.

Par ailleurs, il est bien établi d'après ces résultats qu'il y a un comportement intra -espèce différent, ainsi les souches codées J<sub>14</sub> et J<sub>6</sub> représentées par l'espèce *L.helviticus* présentent une activité antagoniste contradictoire pour laquelle la souche J<sub>14</sub> a manifesté une symbiose totale à l'égard des entérobactéries, en revanche celle codée J<sub>6</sub> inhibe 12 souches d'entérobactéries parmi les 13 mises au test avec des diamètres d'inhibition de 7 à 17mm.

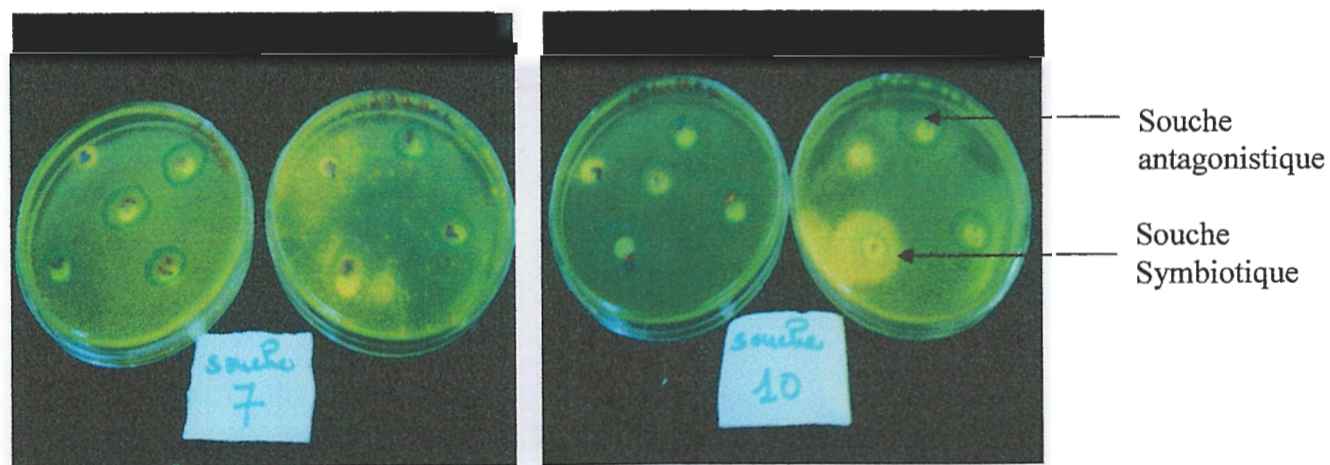
Il est clair que le reste des souches manifestent un antagonisme prononcé vis-à-vis des entérobactéries dont les bactéries lactiques codées J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>7</sub> présentent des zones d'inhibition plus assez large.

En général, les diamètres des zones d'inhibition sont inclus entre 7mm et 21mm, dont le plus grand diamètre est obtenu avec l'espèce *L.fermentum*, et *L.veridensces* avec la souche 1 d'entérobactéries représentée par *Obseumbacterium* sp.

La figure ci-dessous illustre des effets d'antagonisme et de symbiose entre les bactéries lactiques et quelques entérobactéries. Ces résultats nous permettent de mettre en évidence deux types d'interactions :

- L'absence des zones d'inhibition qui se traduit par une symbiose qui est le résultat d'une interaction positive qui s'exprime par la stimulation de la croissance des souches mise en contact.
- La présence des zones d'inhibition se traduit par un hétéro antagonisme qui est le résultat d'une interaction négative indirecte entre deux souches différentes cultivées ensemble.

Il apparaît clairement que les bactéries lactiques exercent un hétéroantagonisme très marqué sur 91,66% de la collection des entérobactéries. Cependant, il y a une présence à la fois des deux phénomènes hétéroantagonisme et symbiose envers des souches de même espèce.



**Figure 20** : Aptitudes antagoniste sur gélose Hecktoen.



La souche *Erwinia* sp a présenté une résistance de 66,66% vis-à-vis des bactéries lactiques contrairement aux autres biotypes de cette espèce qui peut être expliqué par la présence de gènes de résistance vis-à-vis des métabolites excrétés par les bactéries lactiques.

Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant des activités antibactériennes sur les bactéries à Gram négatif. Ainsi ces substances agissent différemment sur les souches sensibles, parmi ces substances il existe celles qui sont généralement de nature protéique [120, 121, 122].

Par ailleurs, les bactéries lactiques sont connues par la production de :

❖ composés toxiques : bactériocines, antibiotiques et autre métabolites tel que l'acide lactique, les acides organiques, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène. Ces composés se manifestent par une inhibition de différents microorganismes indésirables et en particulier les bactéries Gram négatif [16].

❖ L'acidité du milieu : la modification des conditions physicochimique du milieu, responsable de phénomène d'inhibition est très certainement le gradient de proton dû à la production d'acide lactique ce dernier inhiberait le métabolisme oxydatif, diminuer le pH intracellulaire et finalement serait bactéricide [123, 124].

Si le pH n'est pas maintenu constant, c'est l'ion  $H_3O^+$  qui est inhibiteur.

❖ Compétition vis-à-vis du substrat : lorsque plusieurs souches sont mise en culture dans un même milieu, elles entrent nécessairement en compétition si elles utilisent le même substrat [96].

Il faut cependant noter que nos souches lactiques ont un grand pouvoir antagonistique vis-à-vis de la collection isolée du jabot des volailles.

Nos constatations sont en accord avec ceux de **Brink et al** [125] qui ont confirmé que les lactobacilles exercent une forte activité antagonistique sur de nombreux microorganismes à partir de la production de métabolites primaires. L'acide lactique contribuant à la diminution du pH, est le facteur principal de la prévention des aliments fermentés. En plus, certaines souches contribuent à cette prévention en présence des autres substances, tels que les bactériocines [125].

Des études ont rapporté que les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* exercent un pouvoir antagoniste très appréciable envers les bactéries à Gram négative aussi bien qu'aux Gram positive [126, 127].

La capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des entérobactéries semble être une bonne propriété probiotique. On commençant par l'activité antimicrobienne qui peut être transférée dans des conditions *in vitro*, il semble être bénéfique pour la maintenance de la flore intestinale [128, 129].



**III.3.5.5. Effet surnageant des bactéries lactiques sur les entérobactéries :**

L'utilisation des surnageants des bactéries lactiques contre la collection des entérobactéries fait partie des tests d'appréciation des aptitudes probiotiques des souches bactériennes.

Le tableau 21 représente l'effet des surnageants natifs sur la collection entérobactéries. D'après ces résultats, on constate que l'activité des surnageants natifs n'étant pas semblable envers cette collection, ainsi, les diamètres d'inhibition varient entre 6mm et 25mm.

Il apparaît que le surnageant des souches codées J<sub>1</sub> et J<sub>3</sub> sont les plus efficaces, ils inhibent 12 souches parmi les 13 mises au test, ainsi, le surnageant de la souche *L.bifermentans* : J<sub>1</sub> donne des diamètres de zones d'inhibition très large avec un maximum enregistré avec la souche *Obsumbacterium* sp codée 8, estimé à 25mm, le plus faible diamètre de 7mm est obtenu avec la souche *Obsumbacterium* sp codée 4.

Cependant, les mêmes observations ont été enregistrées avec le surnageant de *L.helveticus* : J<sub>3</sub> mais avec des diamètres d'inhibitions plus importants. En revanche, le surnageant des souches de *L.plantarum* et *L.helveticus*, J<sub>2</sub> et J<sub>6</sub> était inefficace.

**Tableau 21:** Effet des surnageants natifs des bactéries lactiques sur les entérobactéries.

	B L	J <sub>1</sub>	J <sub>2</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>6</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>8</sub>
<b>Ø d'inhibition (mm) entérobactéries</b>							
1 : <i>Obsumbacterium</i> sp		17	0	22	0	14	0
2 : <i>Obsumbacterium</i> sp		17	0	16	0	7	0
3 : <i>Erwinia</i> sp		17	0	17	0	17	0
4 : <i>Obsumbacterium</i> sp		7	0	20	0	7	8
5 : <i>Erwinia</i> sp		17	0	20	0	6	10
6 : <i>Erwinia</i> sp		10	0	15	0	8	6
7 : <i>Enterobacter</i> sp		0	0	0	0	0	0
8 : <i>Obsumbacterium</i> sp		25	0	20	0	15	0
9 : <i>Obsumbacterium</i> sp		15	0	20	0	0	0
10 : <i>Obsumbacterium</i> sp		17	0	20	0	0	0
12 : <i>Enterobacter</i> sp		15	0	18	0	0	0
13 : <i>Erwinia</i> sp		17	0	18	0	0	0

D'une manière générale, l'activité inhibitrice des surnageants atteint 91,66% pour les souches *L.bifermentans* et *L.viridensces* et 58,33% pour *L.delbrueckii* et 25% pour *L.fermentum*.

La figure ci-dessous, illustre l'activité inhibitrice de surnageant natif de  $J_1$ : *L.bif fermentans*,  $J_3$ : *L.viridensces*,  $J_7$ : *L.delbrueckii* et  $J_8$ : *L.fermentum* envers les entérobactéries *Obsumbacterium* sp codée 4 et *Enterobacter* sp codée 7, Cette figure, montre clairement des zones d'inhibitions bien délimitées. Sur un autre plan, elle montre que certain surnageant n'ont aucune activité inhibitrice.



**Figure 21** : Résultats de l'effet du surnageant natif.

**Effet du surnageant neutre:** Après la neutralisation des acides organiques et particulièrement l'acide lactique, il y a eu lieu de constater une disparition presque totale de l'activité inhibitrice des surnageants et cela nous laisse supposer que le facteur inhibiteur est représenté par les acides organiques produits par nos souches lactiques.

**Tableau 22 :** Effet des surnageants neutres des bactéries lactiques sur les Entérobactéries.

BL Ø d'inhibition (mm) Entérobactéries	J <sub>1</sub>	J <sub>2</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>6</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>8</sub>
1 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
2 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
3 : <i>Erwinia</i> sp	0	0	0	0	0	0
4 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
5 : <i>Erwinia</i> sp	0	0	7	7	7	14
6 : <i>Erwinia</i> sp	0	0	0	0	0	0
7 : <i>Enterobacter</i> sp	0	0	0	0	0	0
8 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
9 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
10 : <i>Obsumbacterium</i> sp	0	0	0	0	0	0
12 : <i>Enterobacter</i> sp	0	0	0	0	0	0
13 : <i>Erwinia</i> sp	0	0	0	0	0	0

La présence des zones d'inhibition est liée à la présence des métabolites ayant une action antimicrobienne sur les souches des entérobactéries mais la neutralisation des surnageants par une base forte (NaOH) a éliminé l'acide lactique et les autres acides organiques, et de ce fait nous avons observé une diminution, voir une absence de l'activité inhibitrice des surnageants des souches lactiques.

L'apparition de l'activité antagonistique, après élimination de l'acide lactique, confirme l'existence des autres substances antibactériennes tel que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diacetyl et les bactériocines [130].

Les variations de la sensibilité sont dues aux caractères des souches indicatrices (présence ou absence des sites de réception ou immunoprotéines) et au niveau d'action causée par ces facteurs inhibiteurs [131, 132,133, 95].

### III.3.6. Reconstitution de levain :

Les levains mixtes sont formés d'un mélange de souches en nombre et en proportions indéfinies, contenant des souches acidifiantes et des souches aromatisantes, les souches appartenant à différents types lysotypiques et ont une activité acidifiante.

Du fait des fortes variations de l'activité protéolytique d'une souche à une autre, une coopération entre souches peut intervenir [134].

Le tableau 23 illustre les résultats des interactions entre les bactéries lactiques.



Pour la reconstitution de levain, les souches utilisées doivent être symbiotiques entre elles.

Les résultats montrent une symbiose de 100% entre toutes les souches testées sauf pour l'espèce *L.plantarum* qui a marqué un isoantagonisme et hétéroantagonisme avec toutes les souches.

On a remarqué aussi l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puit de *L.plantarum* pour la souche J<sub>6</sub> représentée par l'espèce *L.helveticus*. Cela permet de déduire que la souche *L.plantarum* ne peut pas être utilisée avec ces souches testées pour la reconstitution d'un levain.

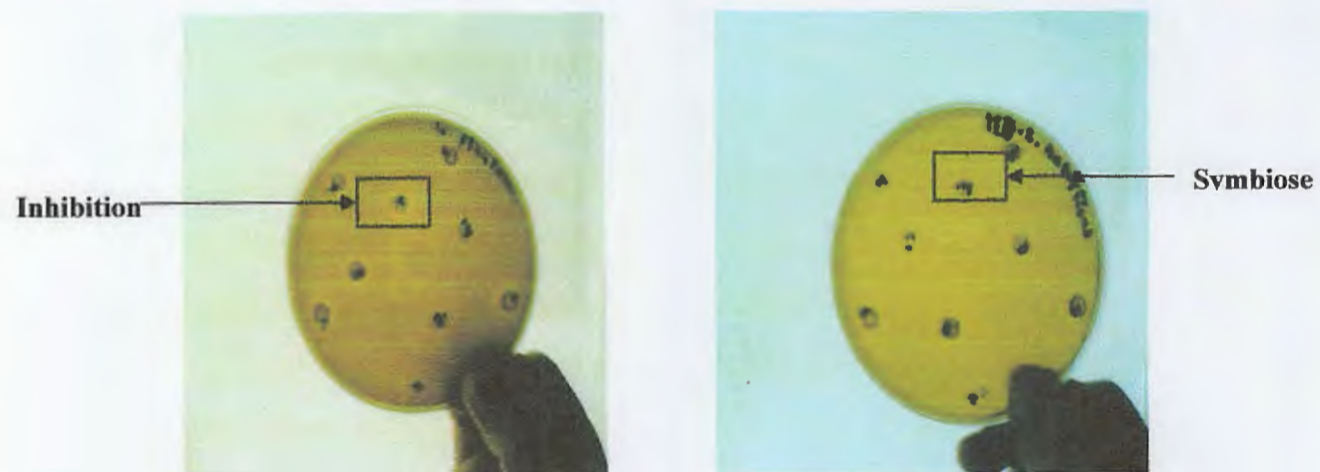
**Tableau 23** : Résultats des interactions entre les bactéries lactiques.

En masse En puit	J <sub>1</sub>	J <sub>2</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>4</sub>	J <sub>6</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>8</sub>	J <sub>13</sub>	J <sub>14</sub>
J <sub>1</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>2</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>3</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>4</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>6</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>7</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>8</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>13</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
J <sub>14</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+

+ : symbiose

- : antagonisme

Toutefois, cette figure illustre d'une part l'activité inhibitrice de *L.plantarum* envers les autres bactéries lactiques et d'autre part, la symbiose entre les souches de la collection lactique.



**Figure 22** : Résultats des interactions entre les bactéries lactiques.



La coopération positive ou négative entre souches peut être expliquée de plusieurs façons :

- L'oxydation des groupes sulfhydryles libres par l'oxygène est catalysée par le métabolisme des bactéries lactiques. Les différences entre les cinétiques de diminution de l'oxygène d'une part et la sensibilité des souches aux facteurs toxiques d'oxygène d'autre part peuvent être à l'origine d'une coopération entre souches.
- L'addition d'agents réducteurs comme la cystéine réduit le peroxyde d'hydrogène et annule donc l'inhibition, l'activité protéolytique des lactobacilles peut donc interférer avec ce composé( on a vu qu'il y avait augmentation du taux d'acides libres sous leur action), et cela faisait lever l'inhibition [135].
- Une bactérie produisant peu de peroxyde d'hydrogène peut être inhibée par le système lactoperoxydase-thiocyanate qui a été activé par une autre souche [136].
- Production dans le milieu d'acides aminés à partir de caseinate de sodium par les lactobacilles qui possèdent une aminopeptidase, ainsi Sandine *et al* [137] et Desmazeaud [101] ont expliqué la stimulation de croissance par rapport aux acides aminés ou de peptides de *Streptococcus thermophilus*, ces derniers n'ayant pas d'enzymes protéolytiques extracellulaires.
- Lorsque plusieurs souches sont mises en culture dans un même milieu, elles entrent nécessairement en compétition, si elles utilisent le même substrat [138].

# *Conclusion générale*

Depuis les travaux de Metchnikoff, les critères de sélections *in vitro* des lactobacilles pour l'utilisation dans le domaine de la santé, comme ingrédient probiotique dans les aliments et dans les préparations pharmaceutique ont posé problème.

Certains scientifiques ont pu déterminer quelques critères en tenant compte de l'origine écologique des bactéries, leur tolérance aux conditions hostiles stomacales, de l'intestin grêle, et leur capacité à adhérer aux cellules intestinales.

Au cours de la réalisation de ce mémoire de fin d'études, 16 souches de bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* ont été isolé, purifié et identifié à partir du jabot de poulet.

L'étude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées à savoir le pouvoir acidifiant, la protéolyse, l'aptitude texturante et le pouvoir antagonistique, a montré que toute les espèces sont bonne acidifiantes avec une production maximale de 10,5g d'acide lactique par litre du lait, possèdent un bon pouvoir protéolytique et que quelques souches sont aptes à produire des polysaccharides.

Pour les aptitudes probiotiques, nos souches ont montré une résistance aux conditions hostiles vis-à-vis du pH dont l'espèce *L. plantarum* a montré une résistance très appréciable à pH3.

La survie en présence de différentes concentrations de sels biliaires (0,5% et 2%) a révélé une tolérance allons parfois jusqu'à 100%. De même, nos souches testées ont montré une résistance à 3/5 des antibiotiques testés.

L'étude des interactions bactériennes *in vitro* nous a permis de voir les effets de stimulation et d'inhibition, la mise en évidence de la production des substances inhibitrices sur les milieux solide par la mesure d'une zone d'inhibition, ainsi, il apparaît que nos souches lactiques testées sont actives vis-à-vis des 14 souches entérobactéries.

La majorité de nos souches testées présentent un caractère symbiotique entre elles.

L'étude de l'activité du surnageant natif et celui à pH 7 des bactéries lactiques sur les souches isolées d'entérobactéries, a révélé leur capacité d'inhiber ces bactéries, mais avec une différence entre leur spectre d'action. Toutefois, les surnageants natifs étaient les plus efficaces contre les entérobactéries.

Ce travail aura donc permis d'améliorer nos connaissances sur les caractères probiotiques des bactéries lactiques. Toutefois, d'autres travaux *in vivo* seront nécessaires pour évaluer l'intérêt nutritionnel des probiotiques et révéler leur effet sur la flore endogène.

# *Références bibliographiques*



- [1]-Piard J.C, Desmazeaud MJ (1991). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria.1.Oxygen metabolites and catabolism end products. *Lait*. 71:525-541.
- [2]-Piard J.C, Desmazeaud MJ (1992). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria.2.Bacteriocins and other antibacterial substances. *Lait*. 72:113-142.
- [3]-Modler H.W, McKellar R.C et Yaguchi M (1990). Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can.Inst. Food Sci. Technol. J.* 23:29-41.
- [4]-Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.* 12:173-182.
- [5]-Heller K.J (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:374-379.
- [6]-Vinderola C.G, Mocchiutti P et Reinheimer J.A (2002). Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J. Dairy Sci.* 85:721-729.
- [7]-Fuller R (1991). Probiotic in humain medecin. *GUT*. 32: 439-442.
- [8]-Tamime A.Y, Marshall V.M.E et Robinson R.K (1995). Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *J. Dairy Res.* 62:151-187.
- [9]-Leveau J.Y et bouix M (1993). Microbiologie industriel, les microorganismes d'intérêt industriel. Collection science et techniques agroalimentaires. Paris Cedex : 172-181.
- [10]-Pilet M.F, Magras C et Federighi M (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. *Polytechnica* : 235-254.
- [11]-Pelmont G (1995). Bactéries et environnement, adaptation physiologiques, volume I. *Office des Publications Universitaires* : 300-301.
- [12]-Alais C (1975). Science du lait : principes des techniques laitiers, 3<sup>ème</sup> édition:343-375.
- [13]-Bourgeois C.M, Larpent J.P (1996). Microbiologie alimentaire aliments fermentés et fermentations alimentaires, Tome 2. *Tec et Doc*, Lavoisier : 7-18.
- [14]-Leon L et Michel V (1989). Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> édition. *Masson.Paris*: 42-50.
- [15]-Florent J.M et Roberton (1997). L'action bénéfique des probiotiques chez le poulet de chair. *Revue Filière avicole*. 18 : 61-83.

- [16]-Leveau J.Y, Bouix M et Deroissart H (1991).La flore lactique. Technique d'analyse et de contrôle dans les I.A.A.Tome 03. 2<sup>ème</sup> édition. *Tec et Doc. Lavoisier* : 1-20.
- [17]-Leveau J.Y, Bouix M et Deroissart H (1991).Manuel de bactériologie alimentaire : 2-40.
- [18]- Perdigon G (2005). Danone nutritopics, les laits fermentés du monde. **33** :7-11.
- [19]-Guiraud J.P (1998). Microbiologie alimentaire. 1<sup>ère</sup> édition. *DUNOD Paris* : 190-200.
- [20]-Bourgeois C.M, Larpent J.P (1989). Microbiologie alimentaire. *Tec et Doc. Lavoisier* : 7-16.
- [21]-Lie befeld (2002). Microbiologie des cultures, unité de recherche, lait, fromage : 50-55.
- [22]-Lecler H, Gaillard J.L et Simonet M (1995).Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien. Paris : 440-445.
- [23]-Leminovr L et Veron M (1982).Bactériologie médicale. *Masson. Paris* : 550-557.
- [24]-Waling E.G, Indreau E et Lonvaud et Funel A (2001). La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin ; mise au point d'outils moléculaires de détection. *INRA* : 289-300.
- [25]-Bourgeois C.M et Leveau J.Y (1991).Techniques d'analyse et de contrôle dans les I.A.A : le contrôle microbiologique.*Tec et Doc. Lavoisier* : 152-186.
- [26]-Laboui H, Elmondji L, Elyachioui M et Ouhssine M (2005).Selection de souche des bactéries lactiques antibactériennes. *Bull.soc.pharm.Bordeaux* .**140** : 273-250.
- [27]- Metchnikoff E (1907). The prolongation of life. In *Optimistic Studies* (Heinemann W., Ed.). G. P. Putnam and Sons, *London, UK*: 1-100.
- [28]-Gournier-château N, Larpent J.P, Castillanos M.I et Larpent J.L (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine. *Tec et Doc.Lavoisier* : 1-192.
- [29]-Kolida S, Saulnier D.M et Gibson G.R. Gastro intestinal microflora probiotics. *Food microbial sciences* : 161-212.
- [30]-Andrieu V (1995). Intérêt des probiotiques dans le gavage du canard. Application a la région des land. Thèse Docteur vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes : 1-30.

- [31]-Catanzaro J.A et Green L (1997). Microbial Ecology and Probiotics in human Medicine (part II) .*Rev. Alternative. Medicine.* 4:11-15.
- [32]-Parker R (1974). Probiotics, the other half of antibiotic story. *Anim Nutr Health.*29:4-8.
- [33]-Fuller R (1989). Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 66:36-78.
- [34]-FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London Otario, Canada:40-42.
- [35]-Hoebler C et Nicol G (2004). La barrière intestinale et l'action des probiotiques. *INRA:* 150-160.
- [36]- Robin J.M et Rouchy A (2001). Les pobiotiques. *Nutrithérapie.Info* :200-220.
- [37]-Coppola M.M et Turnes C.G (2004). Probiotics and immune reponse. *Ciencia. Rural. Santa Maria.* 34 (4): 1297-1303.
- [38]-Survana V.C et Boby V.U (2005). Probiotics in human health: A current assessment. *Current.Science.* 88 (11):1-10.
- [39]-Percival M (1997). Choosing a Probiotic Supplement. *Clinical. Nutrition. Insights.* 6 (1): 95-100.
- [40]- Secretin M.C. Pro, prébiotique: Developpment et mise au point dans les formulas infantiles : 50-52.
- [41]-El-nagger M.Y.M (2004). Comparative study of probiotic cultures to control the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Biotechnology:* 173-180.
- [42]-Lima E.T et Andreatti Filho, R.L (2005). Bactériocins: nomenclatures detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *J. Food, Agri. Enviro.* 3(2):62-66.
- [43]-Percival M (1999). Intestinal Health. ANSR. *Appli Nutr Sci Reports.* 5(5):48-52.
- [44]- Salmimen S, Von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassard D, de vos W. M, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland S. E, et Mattila Sandholm T (1998). Demonstration of safety of probiotics- a review. *Int J Food Microbiology.* 44: 93- 106.
- [45]- Larpent J.P et Gourgaud M.L (1997). Mémento technique de microbiologie. 3<sup>ème</sup> édition. *Tec et Doc* : 256-555.

- [46]-Strompfova V, Lankova A, et Mudronova D (2003). Effect of Bacteriocin-Like Substance Produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the composition of Avian Gastrointestinal Microflora. *Acta. Vet. Brno.*72:59-64.
- [47]-Salminen S (1999). Probiotics: scientific Support for Use. *Food Technology.* 53(11):223-225.
- [48]-Casas I.A et Dobrogoz W.J (2000). Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection disease. 12: 247-285.
- [49]-Marteau P (2001). Safety aspects of probiotic products.*Scand.J.Nutr.* 45:8-12.
- [50]-Schrezenmeir J et de Vrese M (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am. J. Clin Nutrition.* 73 : 361- 364.
- [51]-Agawane S.B (2004). Effet of probiotics containg *Saccharomyces boulardii* on experimental ochratoxycosis in broiler: hematobiochemical studies. *J.Vet.Sci.* 5(4):359-367.
- [52]-Ghadaban G.S (2002). Probiotics in broiler production. *Rev. Arch. Gelflu gelk.* 66(2):49-58.
- [53]-Lee K.W, Lee S.K et Lee B.D (2006). *Aspergillus oryzae* as Probiotic in Poultry. *Poult.Sci.* 5(1):01-03.
- [54]-Moreau M.Ch (2001). Les probiotiques: des microorganismes bénéfiques pour notre système immunitaire. *INRA.* 63:299-301.
- [55]-Herich R et Levkut M (2002). Lactic acid bacteria, probiotics and immunesystem. *Vet.Med.* 47 (6):196-180.
- [56]-Corpet D.E (2000). Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additives alimentaires antibiotiques. *Méd. Vét.* 151(2) :99-104.
- [57]-O'Sullivan G.C , Kelly P, O'Halloran S, Collins C, Collins J.K, Dunne C et Shanahan F (2005). Probiotics: An Emerging Therapy. *Curr. Pharm. Design.*11:3-10.
- [58]-Mercenier A, Pavan S, et Pot B (2002). Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design.* 8 : 99-110.
- [59]-Merk (1996). Manuel vétérinaire Merk, 1<sup>ère</sup> édition française, Paris traduction de l'édition original Américaine du Merk. *Veterinary Mannuel* 7<sup>ème</sup> édition, 293-300.
- [60]-Tannock G.W (1997). Probiotic properties of lactic acid bacteria: plenty of scope for fundamental R et D. *Trends in Biotechnology.* 15:270-274.



- [61]-Mollerceau H, Porcher Ch et Nicolas E (1973). Vade Mecum du vétérinaire. 4<sup>ème</sup> édition. VIGOT Frères : 250-251.
- [62]-Berg R.D (1998). Probiotics, prebiotics "conbiotics". *Trends in Microbiology*. 6: 89-92.
- [63]-Sander M.F (1999). Probiotics. *Food. Technol.* 53(11):11-50.
- [64]-Brady L.Y, Gallaher D.D et Buta F.F (2000). The Role of Probiotic Cultures in the Prevention of Colon Cancer *J. Nutr.* 130:410- 414.
- [65]-Donald E.C (2004). Communication sur la flore pathogène des volailles. *Newsletter*. 10 :38- 40.
- [66]-Brugere H (1992). Particularités de la physiologie des oiseaux, dans Brugere-picoux J ; Silim A. Manuel de pathologie aviaire. *Maison alfort, France* : 15-24.
- [67]-Didier V (2001). Les maladies des volailles, édition France Agricole, 2<sup>ème</sup> édition. *J.B.Bailliere* .23 :20-25.
- [68 ]-Ivorec- Szytit O et Szytit M (1985). Contribution à l'étude de la dégradation des glucides dans le jabot du coq.*Ann.Biol.Anim.Bioch;Biophys.* 5:353-360.
- [69]-Smith H.W (1965).Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathol. Bacteriol.*89: 95-122.
- [70]-Lan P.T, Hayashi H, Sakamoto M et Benno Y (2002). Phylogenetic analisis of cecal microbiota in chicken by the use of 16 S Rdna clone libraries.*Microbiol.Immunol.*46: 371-382.
- [71]-Gabriel M, Mallet S et Sibill P (2005). La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA, Nouzilly* : 309-322.
- [72]-Fuller R (1984). Microbial activity in the alimentary tract of birds. *Proc.Nutr.*43: 55-61.
- [73]-Apajalahti J, Kettunen A et Graham H (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World Poult, Sci, J.*60: 223-232.
- [74]-Lin W.H, Yu B, Jang S.H et Tsen H.Y (2007). Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*. 13: 107-113.
- [75]-Gariga M, Pascual M, Monfort J.M et Hugas M (1998). Selection of lactobacilli for chicken probiotic adjuncts. *J Appl Microbiol.* 84:125-32

- [76]-Matsumoto M, Tani H, Ono H, Ohishi H et Benno Y (2002). Adhesive property of *Bifidobacterium lactis* LKM512 and predominant bacteria of intestinal microflora to human intestinal mucin. *Curr Microbiol.* 44:212-215.
- [77]-Zhu X.Y, Zhong T, Pandya Y et Jorger R.D (2002). 16 S rRNA-based analysis of microbiota from the caecum of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 :124-137.
- [78]-Zoetendat E.G , Akkermans A.D.L, Akkermans- Van Vliet W . M. de visser J.A.G.M et de Vos W.M (2001). The host genotype affects the bacterial community in the human gastro- intestinal tract. *Microb. Ecol. Health Dis.*13:129-134.
- [79]-Holzapfel W. H, Haberer P, Snel J, Schillinger U et Huis in't Veld J.H.J (1998). Overview of gut flora and probiotics. *Int. J Food Microbiology.* 41: 85-101.
- [80]-Suzuki K, Kodam Y et Mitsuoka T (1989). Stress and intestinal flora. *Bifidobacter. Microflora.* 8:23-38.
- [81]-Knarreborg A, Simon M.A, Engberg R.M, Jensen B.B et Tannock G.W (2002). Effets of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl. Environ. Microbiol.*68:5918-1924.
- [82]-Mathlouthi N, Mallet S, Saulnier L, Quemener B et Larbier M (2002). Effet of xylanases and b-gluconase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chicken fed a wheat and barley-based diet. *Anim. Res.*51:395-406.
- [83]-Coates M.E (1980). The gut microflora and growth In: Growth in animals. (Ed).T.L.J. Lawrence. Butterworths, London, UK: 175-188.
- [84]-Furuse M, Okumura J (1994). Nutritional and physiological characteristics in germ-free chickens. *Comp.Biochem. Physiol.* 109:547-556.
- [85]-Fuller R, Turvey A (1997). Bacteria associated with intestinal wall of the fowl. *J. Applied. Bacteriology.*44:75-80.
- [86]-Marteau P et Seksik P (2004). Place des probiotiques dans la prevention et le traitement des diarrhées post- antibiotiques. *Revue Française des Laboratoires* 368 :73-76.
- [87]-Cowan S. T et Steel K.J (1993). Manuel for identification of medical bacteria .Cambridge Univ. Press, UK: 128-148.
- [88]-Sharpe M.E (1979). Identification of the lactic acid bacteria .In: F/A/ Skinner and DW Lovelock (editors), identification methods for microbiologists. Academic Press, London: 233-259.
- [89]-Guirand. J.P Galzy (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. *Tec et Doc* : 60-70.

- [90]-Bousseboua H (2002). Eléments d microbiologie générale. *Edition de l'université Mentouri constantine* : 148-171.
- [91]-Lambin S (1969). Précis de microbiologie. Tome1 *Masson et Cie, Paris* : 1-52.
- [92]-Collins E.B (1972). biosynthèse of flavor compounds by micro organisms. *J. Dairy Sci.* **55**: 102-108.
- [93]-Sutra L, Federighi M et Jouve J.L (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. *Polytechnica* : 235-251.
- [94]-Vuilleumard J.C (1986). Microbiologie des aliments volume 3. Évolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec et doc, Lavoisier* : 1-65.
- [95]-Tagg J.R, Dajani A.S et Wannamaker L.W (1976). Bacteriocins of gram positive bacteria. *Bacterial. Rev.* **40**: 722-756.
- [96]-Juillard V, Spinler N, Desmazeaud M.J et Boquin C.Y (1987). Phénomène de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industries laitières dans la revu, lait, interactions entre bactéries lactiques. *INRA.* **67(2)** :1-46.
- [97]-Boubekri C, Tantaoui Elaraki A, Berranda M , et Benkerroum N (1984) . Caractérisation physiologique du lben marocain . *Lait.* **64** : 436-447.
- [98]-Haddad S, Sodini I, Monnet C, Latrille E et Corrien G, 1997. Effect of citrate on growth of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* in milk. *Appl Microbiol Biotechnol.* **48** : 236-241.
- [99]-Garcia-Quintans N, Magni C, De Mendoza D et Lopez P, 1998. The citrate transport system of *Lactococcus lactis* subsp biovar diacetylactis in induced by acid stress. *Appl Environ Microbiol.* **64** : 850-857.
- [100]-Magni C, De Mendoza D, Konings W.N et Lolkema J.S, 1999. Mechanism of citrate metabolism in *Lactococcus lactis*: resistance against lactate toxicity at low pH. *J Bacteriol.* **181** : 1451-1457.
- [101]-Desmazead M.J, 1983. L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Lait.***63**: 263-316.
- [102]-Knarreborg A, Simon M.A, ngberg R.M, Jensen B.B et Tannock G.H, (2002).Effects of dietary fat source and subtherapntic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chichens at various ages *Appl. Environ.Microbiol.***68**: 5918-5924.
- [103]-Lu J, Idris U, Harmon B,Hofarce C, Maurer J et Le M, (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken *Appl.Environ. Microbiol.* **69**: 6816-6824.

- [104]-Mc Kayl L (1983). Functional properties of plasmids in lactic Streptococci. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 49 : 259-274.
- [105]-Eck A et Gillis J.C, (1997). Le fromage, de la science à l'assurance qualité, 3<sup>ème</sup> édition, *Tec. et Doc. Lavoisier. Paris* : 165-194.
- [106]-Schmidt J.L, Tourneur C et Lenoir J, (1994). Fonctions et choix des bactéries lactiques en technologie laitières. Dans : *Bactéries lactiques*, volume 2 ; De Roissart H et Luquet FM. Ed. *Lorica , Uriage* :37-53.
- [107]-Lonvaud-Funel A, GUilloux Y et Joyeux A ( 1993). Isolation of a DNA probe for identification of glucan producing *Pediococcus domnosus* in wines. *J. Appl Bacteriol*. 74: 41-47.
- [108]-Van kranenburg R et De Vos W.M (1998). Characterization of multiple regions involved in replication and mobilization of plasmid PNZ4000 coding for exopolysaccharide production in *Lactococcus lactis*. *J Bacteriol*. 180: 5285-5290.
- [109]-Hemme D. H, Schamel V et Auclair J.E (1981) .Effect of addition of thermophilic lactobacilli on acid production by *Streptococcus thermophilus* in milk. *Journal. Dairy Res*.48: 139-148.
- [110]-Dunne C, O'Mahony L, Murphy L, Thornton G, Morrissey D , O'Halloran S, Feeney M, Flynn S, Fitzgerald G, Daly C, Kiely B, O'sullivan G.C, Shanahan F et Collins J .K (2001) . "In vitro". Slection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with "in vivo" findings. *American Journal of Clinical Nutrition* . 73: 3865-3925.
- [111]-Hood S. K et Zottola A (1988). Effect of Low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J Food Science*. 53: 1514-1516.
- [112]-Charteris W.P (1998). Development and application of an "in vitro" methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Bacteriology*.84 : 759-768.
- [113 ]-Gilliland S.E ,Walker D.K (1990). Factors to consider when selecting a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci*. 73: 905-911.
- [114]-Conway P.L, Gorbach S.L,Goldin B.R (1987) . Survival of lactic acid bacteria in the human stomach an adhesion to intestinal cells. *J.Dairy Sci*. 70: 1-12.
- [115]-Gilliland S.E, Staley T.E et Bush L.J (1984). Importance of bil tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as dietary adjunct. *Journal of Dairy Science* .67 : 3045-3051.



- [116]-Karam N E et Karam H (1994). Isolement et caractérisation de bactéries lactiques de laits crus d'Algérie. In : Alimentation, Génération et santé de l'enfant, Eds. J.F. des jeux et M. Touhami, L'Harmattan (Paris) :257-264.
- [117]-Halami P.M, Chandrashekar A, et Nand (2002). *Lactobacillus farciminis* MD, a newer strain with potential for bactericin and antibiotic assay. *Letters in Applied Microbiology* 30:197-202.
- [118]-Pedersen K et Tannoock G.W (1989) Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. *Applied Environmental Microbiology*.50 : 25-29.
- [119]-Salvat G, Lalande F, Humbert F et Lahellec C (1992). Use of competitive exclusion product (Broil act) to prevent *Salmonella* colonization of hatched chicks. *International Journal of Food Microbiology*. 15: 307-311.
- [120]-Jimenez-Diaz R, Rios-Sanchez R. M, Desmazeaud M, Ruiz-Barba J.L et Piard J.C (1993). Pleanataricin S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO 10 isolated from a green olive fermentation. *APP. Environ. Microbiol.* 59 : 1416-1424.
- [121]-Lecerf Y, Boita R et Verger M (1983). Guide pratique de l'éleveur des oiseaux de basse-cour et des lapins. *Solar*. 94: 83-86.
- [122]-Vandenberg P. A (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:221-238.
- [123]-Hermier J, Lenoir J et Weber F (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. *CIPIL* : 9-559.
- [124]-Desmazeaud M (1996). Les bactéries lactiques. *I.N.R.A.*: 50-53.
- [125]-Brink ten B, Minekns M, Vander Vossen, JMBM, Leer RJ, et Huis in't Veld JHJ (1994) . Antimicrobial activity of Lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*77: 140-148.
- [126]-Ogunbanwo A, Kot B et Bukowski K (2002). The antagonistic activity of lactic acid bacteria against selected bacteria. *Med Weter.* 56: 53-57.
- [127]-Soomro A .H, Masud T et Kiran A (2002). Role of lactic acid bacteria in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*. 1(1): 20-24.
- [128]-Jin L.Z, Ho Y.W, Abdullah N, Ali M.A et Jalaludin S (1996). Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolated on pathogens of chicken. *Letters in Applied Microbiology*. 21: 137-141.
- [129]-Chang Y, Kin J, Kim W, Kim Y et Park Y (2001). Selection of potential *Lactobacillus* strain and subsequent "in vivo" studies. *Antonie Van Leeuwenhoe*. 80:193-199.

- [130]-Ligocka A et Paluszak Z (2005) . Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage sludge subjected to biotechnological processes. *Bull Vet et Inst Pulawy*. **49** : 23-27.
- [131]-Daeschel M.A , et Klaenhamner T.R ( 1985). Association of a 13, 6 mega Dalton plasmid in *Pediococcus pentosaeus* with bacteriocin acidity. *Appl . Environ .Microbiol.* **50**: 1538-1541.
- [132]-Muriana P.M et Klaenhamer T.R (1991). Purification and partial characterization of lactacin F , a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088, *Appl. Environ .Microbiol.* **57**: 114-121.
- [133]-Sanni A. L, Onilude A.A, Ogunbanwo S.T et Smith S. I (1999). Antagonistic activity of bacteriocin produced by *Lactobacillus* species from Ogi, an indigenous fermented food. *J. Basic, Microbiol.* **39**: 189-196.
- [134]-Law B. A, Kolstad J (1983). Proteolytic systems in lactic acid bacteria produced by lactic Streptococci. *J. Daory Res.* **45**:247-257.
- [135]-Reiter B (1978). Bacterial inhibitors in milk and other biological secretions, with special reference to the complement / antibody, transferring/ lactoferrin, and lactoperoxidase / thiocyanate / hydrogen peroxide systems. In: Streptococci, skinner F.A et Quesnel L. B., ed., *Academic Press Inc, London* : 31-60.
- [136]-Gilliland S.E, Speck M.L (1968). D-leucine as auto- inhibitor of lactic acid Streptococci. *J. Dairy Sci.* **51**:1573-1578.
- [137]-Sandine W.E, Radker-Mitchellil (1984). Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* ., *J. Food Prot.* **47**: 245-248.
- [138]-Hugenholtz J, Veldkamp H (1985). Competition between different strains of *Streptococcus cremoris* . *FEMS Microbiol. Ecol.* **31**:57-62.

# *Annexe*

## Composition des bouillons et géloses

### ❖ Gélose nutritive ordinaire. (pH=7,2)

• Peptone	10g
• Extrait de viande	5g
• Chlorure de sodium	5g
• Gélose	15g
Autoclave 20mn à 120°C	

### ❖ Gélose VRBG (Gélose Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre). (pH=7,4)

• Peptone	7g
• Extrait de levure	5g
• Sels biliaires	1,5g
• Glucose	10g
• Chlorure de sodium	5g
• Rouge neutre	30mg
• Cristal violet	2mg
• Gélose	12g

### ❖ Gélose MRS. PH=6,2

Il s'agit du bouillon MRS gélosé à 1,5

### ❖ Milieu YMA : pH 7,1

• Peptone	2,5g
• Extrait de levure	1,5g
• Lait écrémé	0,5g
• Agar	7,5g
• Eau distillée	500ml

### ❖ Gélose HEKTOEN : pH 7, 6

• Protéose-peptone	12g
• Extrait de levure	3g
• Chlorure de sodium	5g
• Thiosulfate de sodium	5g
• Sels biliaires	9g
• Citrate de fer ammoniacal	1,5g
• Salicine	2g
• Lactose	12g
• Saccharose	12g
• Fushine acide	0,1g
• Bleu de bromothymol	65mg
• Gélose	13mg



❖ **Gélose hyper saccharosé : pH 6,2**

- Saccharose 10g
- Agar 7,5g
- Eau distillée 500ml

❖ **Milieu Gibson Abdel Malek : pH 7**

- Lait écrémé à 0.01% 800ml
- Teinture de tournesol qq gouttes
- Glucose 55g
- Peptone 2g
- Extrait de viande 2g
- Nacl 1g
- Agar 4g
- Eau distillée 200ml
- Jus de tomate 100ml
- Extrait de levure 2,8g

❖ **Milieu TSI : pH 7,4**

- Peptone 20g
- Extrait de bœuf 3g
- Extrait de levure 3g
- Chlorure de sodium 5g
- Glucose 1g
- Lactose 10g

❖ **Milieu MEVAG : pH 7,7**

- Extrait de viande 3g
- Chlorure de potassium 5g
- Rouge de phénol 20mg
- Gélose 3g

❖ **Milieu Citrate de SIMMONS : pH 7**

Formule en gramme par litre d'eau distillée

- Sulfate de magnésium 0,2g
- Citrate de sodium 2g
- Chlorure de sodium 5g
- Phosphate d'ammonium 0,2g
- Bleu de bromothymol 0,08g
- Agar 15g

❖ **Milieu Mannitol mobilité : pH 8,2**

- Peptone 20g
- Nitrate de potassium 1g
- Mannitol 2g
- Rouge de phénol 40mg
- Gélose 4g

❖ <b>Bouillon nutritif : pH 7,2</b>	
• Peptone	10g
• Extrait de viande	5g
• Chlorure de sodium	5g
Autoclaver 20mn à 120°C	
❖ <b>Milieu Urée-Indole : pH 7</b>	
• L-tryptophane	3g
• Phosphate mono potassique	1g
• Phosphate bipotassique	1g
• Chlorure de sodium	5g
• Urée	20g
• Alcool à 95°	10ml
• Rouge de phénol	25mg
❖ <b>Milieu Clark et Lubs : pH7,5</b>	
• Peptone	10g
• Phosphate de potassium	2g
• Glucose	5g
Autoclaver 20mn à 120°C	
❖ <b>Milieu Moeller : pH 6</b>	
• Peptone	5g
• Extrait de viande	5g
• Pourpre de bromocrésolé	0,1g
• Rouge de crésol	5mg
• Pyridoxal	5mg
• Glucose	0,5g
❖ <b>Bouillon Hyper Salé : pH7,5</b>	
• Extrait de viande	5g
• Peptone	15g
• Glucose	5g
• Eau distillée	1000ml
Autoclaver 20mn à 120°C	
❖ <b>Bouillon Luria Bertani : pH 7</b>	
• Bactopeptone	5g
• Extrait de levure	2,5g
• Nacl	2,5g
• Eau distillée	500ml

❖ Milieu MRS. PH=6,2

• 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 <sub>2</sub> O	0,2g
• Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O	0,05g
• Glucose	20g
• Tween 80	1ml
• Eau distillée qsp	100ml

# Les réactifs

- ❖ **Catalase :**
  - Eau oxygénée 10 volumes
  
- ❖ **Kovacs :**
  - Alcool amylique ou isoamylique 150ml
  - P-diméthylaminobenzaldéhyde 10g
  - Acide chlorhydrique concentré 50ml
  
- ❖ **Réactifs de voges proskaer :**
  - VP<sub>I</sub> :**
    - Hydroxyde de potassium 40g
    - Eau déminéralisée 100ml
  - VP<sub>II</sub> :**
    - Alpha naphthol 6g
    - Ethanol 100g



# Les colorants

❖ Violet de Gentiane :

- Violet de Gentiane 1g
- Ethanol à 90% 10ml
- Phénol 2g
- Eau distillée 100ml

❖ Lugol :

- Iode 1g
- Iodure 2g
- Eau distillée 300ml

## Les tableaux

**Tableau 1:** Estimation de la population microbienne des Entérobactéries après 4h d'incubation.

code	genre	D.O	Nbre de bactéries (UFC/ml)
1	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.308	1560
2	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.320	3064
3	<i>Erwinia</i> sp.	0.285	208
4	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.335	456
5	<i>Erwinia</i> sp.	0.285	208
6	<i>Erwinia</i> sp.	0.317	93
7	<i>Enterobacter</i> sp.	0.703	401
8	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.295	53
9	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.317	1200
10	<i>Obsumbacterium</i> sp.	0.275	1496
11	<i>Enterobacter</i> sp.	0.662	808
12	<i>Enterobacter</i> sp.	0.735	48
13	<i>Erwinia</i> sp.	0.255	305
14	<i>Enterobacter</i> sp.	0.498	151

DO : densité optique.

**Tableau 2:** Estimation de la population microbienne des bactéries lactiques après 20h d'incubation.

code	espèce	D.O	Nbr de colonies (UFC /ml)
J <sub>1</sub>	<i>L.bifermantans</i>	0.442	5440
J <sub>2</sub>	<i>L.pluntarum</i>	0.493	62
J <sub>3</sub>	<i>L.viridescens</i>	0.797	2320
J <sub>4</sub>	<i>L.brevis</i>	0.280	1280
J <sub>6</sub>	<i>L.helviticus</i>	0.284	206
J <sub>7</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.161	112
J <sub>8</sub>	<i>L.fermentum</i>	0.404	2160
J <sub>12</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.205	105
J <sub>13</sub>	<i>L.viridescens</i>	0.751	21
J <sub>14</sub>	<i>L.helviticus</i>	0.245	1024
J <sub>16</sub>	<i>L.delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	0.830	1816



Tableau 3 : Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques.

Antibiotiques Ø :diametre d'inhibition (mm) espèces	Erythro- mycine (30µg)	Ampicilline (10µg)	Streptomy- cine (10µg)	Tétracyc- line (30µg)	Pénicilline G (6µg)
J <sub>1</sub> : <i>L. bif fermentans</i>	9	0	19	19	0
J <sub>2</sub> : <i>L. pluntarum</i>	9	0	20	18	0
J <sub>3</sub> : <i>L. viridescens</i>	10	0	20	23	0
J <sub>4</sub> : <i>L. brevis</i>	8	0	17	15	0
J <sub>6</sub> : <i>L. helviticus</i>	7	0	18	18	0
J <sub>7</sub> : <i>L. delbrueckii</i> ssp <i>delbrueckii</i>	8	0	18	19	0
J <sub>8</sub> : <i>L. fermentum</i>	8	0	18	19	0
J <sub>13</sub> : <i>L. viridescens</i>	7	0	20	18	0
J <sub>14</sub> : <i>L. helviticus</i>	1	0	20	19	0



<b>Présenté par :</b> Amira Meriem Benreguia Hadjer Roula Hanane	<b>Le thème:</b> Les bactéries lactiques du jabot du poulet de chair: Isolement, identification et propriétés probiotiques.	<b>Soutenu le:</b> 01 /07 /2008  <b>Encadré par:</b> Dr Idoui.T
---	--	---

### Résumé

Notre étude a été menée sur la microflore du jabot de poulet de chair dont 16 souches de bactéries lactiques et 14 souches d'Entérobactéries ont été isolées et identifiées. Les résultats des aptitudes technologiques ont montré que nos souches possèdent un bon pouvoir acidifiant, protéolytique et une faible activité texturante. L'étude du pouvoir probiotique a montré que nos souches peuvent résister aux conditions hostiles à savoir le pH acide, la présence de sels biliaries et des antibiotiques. Les interactions « *in vitro* » révèle une bonne aptitude inhibitrice de nos bactéries lactiques vis-à-vis des 14 souches d'entérobactéries, de même, le surnageant natif a une activité remarquable vis-à-vis de la même collection. Enfin une bonne symbiose a été notée à l'égard de souches lactiques.

**Mots Clés :** Probiotique, Bactéries Lactiques, Microflore, jabot, Entérobactéries, interactions.

### Abstract

Our study was done on the microflora crop chicken chair, wish 16 strains of lactic acid bacteria and 14 strains of Enterobacteria were isolated and identified. Results of technological traits have shown that our strains have a good acidifying potential, proteolysis activity and produce some exopolysaccharides. Study of probiotic criteria has shown that our strains can resist to hostile conditions, such as acid pH, the bile salts and antibiotics. The interaction « *in vitro* » disclose an inhibitory activity of lactic acid bacteria as regards the 14 strains of Enterobacteria, and a good symbiosis between them.

**Keys words:** Probiotic, Lactic Acid bacteria, microflora, crop chicken chair, Enterobacteria Interaction.

### ملخص

لقد تمت دراستنا على الفلورة الدقيقة لحويصلة الدجاجة بحيث تم عزل و تعريف 16 ارومة للبكتيريا اللبنية و 14 ارومة تنتمي ال عائلة Entérobactéries. نتائج الاختبارات حول القابلية التكنولوجية اظهرت ان الارومات المعزولة لها قدرة حامضية عالية و قدرة على التحلل البروتيني. دراسة القدرة البروبيوتكية بينت ان البكتيريا اللبنية تستطيع تحمل الظروف الغير ملائمة : القدرة الهيدروجينية pH , الصفراء و المضادات الحيوية. ان التداخلات « صناعيا » بينت ان البكتيريا اللبنية لديها قابلية عالية غير متجانسة مضادة ل14 نوع من Entérobactéries و تكافل جيد فيما بينها.

الكلمات المفتاحية: من اجل الحياة ,البكتيريا اللبنية ,الفلورة الدقيقة, حويصل الدجاجة , التداخلات,Entérobactéries.