

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة محمد السادس
مكتبة علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجرد : 1459



Université de JIJEL
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire
De fin d'études en vue de L'obtention du Diplôme d' Etudes Supérieures
(D.E.S) En Biologie
Option : Microbiologie

Thème

Propriétés probiotiques des
Lactobacillus isolés du Jabot du
poulet de chair ISA 15.

Membres de jury :

Examinatrice: Dr Ouled Haddar H.
Encadreur : Dr Idoui T.

Réalisé Par :

Keddam Nedjla
Zaioune Nawel
Meghaichi Yamina



Promotion : Juillet 2009

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'université de Jijel dans le cadre du mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Microbiologie, pour le thème : « Propriétés probiotiques des Lactobacillus isolés du Jabot du poulet de chair ISA 15 », dirigé par le docteur Idoui Tayeb, vif chef de département de biologie moléculaire et cellulaire.

Nos remerciements s'adressent avant tout à Allah, qui nous a soutenu le long de nos études et nous a accordé à la chance d'accomplir notre travail dans de bonnes conditions.

Nous somme très reconnaissantes envers notre encadreur docteur Idoui Tayeb, qui a su nous entourer de ses connaissances, de sa disponibilité, nous le remercions également pour le temps précieux qu'il nous consacré, ainsi que, pour sa compétence, ses conseils, ses encouragements et ses suggestions. Nous trouvons ici l'occasion de lui exprimer notre respect et notre gratitude les plus sincères.

Nos plus vifs remerciements à nos enseignants de la faculté des sciences, pour leurs enseignants, leurs conseils et leurs rigueurs, nous leurs somme reconnaissantes.

Nous tenons à remercier également le jury M^e Ouled Haddar .H pour nous avoir honoré en acceptant de jurer notre travail.

Toutes nos gratitude vont aussi à nos chers parents pour leur soutien tout au long de nos études et durant ce mémoire.

A toute personne, qui nous a aidé à accomplir ce travail, soit directement ou indirectement, nous disons Merci.

Nedjla, Yamina et Nawel.

Sommaire

Sommaire

Introduction	1
Partie I: synthèse bibliographique	
Chapitre I: Les bactéries lactiques	
I.1. Définition et origine.....	3
I.2. Propriétés générales.....	3
I.3. Classification.....	3
I.4. Caractéristiques générales.....	5
I.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	5
I.4.2. Le genre <i>Leuconostoc</i>	5
I.4.3. Le genre <i>Pediococcus</i>	6
I.4.4. Les genres <i>Lactococcus</i> et <i>Streptococcus</i>	6
I.4.5. Le genre <i>Enterococcus</i>	7
I.4.6. Le genre <i>Carnobacterium</i>	7
I.4.7. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	7
I.5. Rôle technologique des bactéries lactiques.....	8
I.5.1. Production de ferments lactiques	8
I.5.2. Bactéries lactiques et conservation des aliments.....	10
Production d'acide.....	10
Production de bactériocines.....	10
Production d'autres substances inhibitrices.....	10
I.5.3. Bactéries lactiques et biopréservation.....	10
I.5.4. Bactéries lactiques et nutrition.....	10
I.6. Altération des aliments par des bactéries lactiques.....	11
I.6.1. Altération par production de l'acide lactique et d'autres acides organiques....	11
I.6.2. Altérations par production de polysaccharides.....	11
I.6.3. Altérations par production de gaz.....	12
I.6.4. Altérations par production de peroxyde d'hydrogène.....	12
I.6.5. Altération par production de composés aromatiques.....	12
I.6.6. Altération par production d'amines biogènes.....	12
Chapitre II: Les probiotiques	
II.1. Historiques et définition.....	14
II.2. Principaux groupes de probiotiques	14
II.2.1. Les ferments lactiques	14
II.2.2. Les bifidobactéries	14
II.2.3. Les différentes levures de genre <i>Saccharomyces</i>	14
II.2.4. Les autres bactéries sporulées	14
II.3. Les probiotiques et la pharmacie.....	14
II.4. Critères de sélection des probiotiques	15
II.4.1. Choix de microorganismes	15

II.4.2. Origine humaine	15
II.4.3. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif	15
II.4.4. Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales	15
II.4.5. Activités antimicrobiennes	15
II.4.6. Propriétés technologiques (viabilité et stabilité)	15
II.5. Mécanisme d'action des probiotiques	16
II.5.1. Inhibition des bactéries indésirables	16
II.5.2. Le rôle antitoxique des probiotiques	17
II.5.3. Effets sur le transit et sur la flore intestinale	17
II.5.4. Amélioration de l'intolérance au Lactose	17
II.5.5. Effet sur la réponse immunitaire	17
II.5.6. Rôle antitumeurs	17
II.5.7. Effets des probiotiques sur la santé.....	18
II.6. Les bactéries lactiques probiotiques chez les animaux ,.....	18

Chapitre III: Les probiotiques chez le poulet

III.1.Appareil digestif du poulet	20
III.1.1. Le bec et la cavité buccale	20
III.1.2. L'Oesophage	20
III.1.3. Le jabot	20
III.1.4. Le gésier	20
III.1.5. Le duodénum	20
III.1.6. L'iléon	20
III.2. La digestion chez le poulet.....	21
III.3. La microflore digestive des volailles	21
III.3.1. Description de la flore digestive du poulet.....	22
III. 3.2. Variation de la microflore digestive	23
III.4. Production des métabolites par la flore digestive	23
III.5. L'utilisation des probiotiques en aviculture	24
III.5.1. Efficacité sanitaire	15
III.5.2. Efficacité zootechnique	25

Partie II: Etude expérimentale

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel	28
II.1.1. Le jabot du poulet de chair	28
II.1.2. Les souches bactériennes	28
II.1.3. Disques d'antibiotiques	28
II.1.4. Les sels biliaires.....	28
II.1.5. Le tissu iléal	28
II.1.6. Milieux de culture	29
II.1.7. Produits chimiques et réactifs	29

II.1.8. Autres matériel	29
II.2. Méthodes	30
II.2.1. Evaluation de la microflore cultivable du jabot.....	30
II.2.1.1. Récupération des échantillons et préparation des dilutions	30
II.2.1.2. Flores dénombrées	30
II.2.2. Mise en place d'un soucier de bactéries lactiques du jabot	31
II.2.2.1. Isolement et purification des bactéries lactiques	31
II.2.2.2. Tests d'identification des bactéries lactiques.....	31
II.2.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactique	34
II.2.3.1. Etude du pouvoir acidifiant	34
II.2.3.2. Etude du pouvoir protéolytique	34
II.2.3.3. Pouvoir texturant	34
II.2.4. Evaluation des aptitudes probiotiques <i>in vitro</i>	35
II.2.4.1. Collection du jus gastrique et tolérance aux acides.....	35
II.2.4.2. Croissance en présence de sels biliaires	35
II.2.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne	35
II.2.4.4. Activité inhibitrice des surnageants.....	36
II.2.4.5. Résistance aux antibiotiques	36
II.2.4.6. Adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliale.....	36
III. Résultats et Discussion	
III.1. Evaluation de la microflore cultivable du jabot du poulet de chair.....	38
III.2. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques	39
III.2.1. Examen macroscopique et microscopique	39
III.2.2. Tests biochimiques.....	39
III.2.3. Profil de fermentation des sucres	43
III.2.4. Identification par logiciel.....	44
III.3. Etude de quelques aptitudes technologiques	45
III.3.1. Pouvoir acidifiant.....	45
III.3.2. Pouvoir protéolytique.....	47
III.3.3. Pouvoir texturant	47
III.4. Evaluation des aptitudes probiotiques	49
III.4.1. Croissance sur milieu acide.....	49
III.4.2. Croissance en présence de sels biliaires	50
III.4.3. Résistances aux antibiotiques	51
III.4.4. Interaction entre bactéries lactiques et entérobactéries.....	53
III. 4.5. Activité inhibitrice des surnageants natifs.....	55

III.4.6. Activité inhibitrice des surnageants neutre.....	57
III.4.7. Pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales.....	58
Conclusion.....	61

Références bibliographiques

Annexe

Listes des figures

N° des Figures	Page
Figure 01: Aspect microscopique des cellules de genre <i>Lactobacillus</i> . (a): <i>Lactobacillus delbruekii</i> subsp. <i>delbruekii</i> (b): <i>Lactobacillus delbruekii</i> subsp. <i>lactis</i>	5
Figure 02: Aspect microscopique des cellules de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> .	6
Figure 03: Aspect microscopique des cellules de <i>Pediococcus</i> sp.	6
Figure 04: Aspect microscopique des cellules de (a): <i>Streptococcus thermophilus</i> (b): <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	7
Figure 05: Aspect microscopique des cellules de <i>Bifidobacterium animalis</i> .	8
Figure 06: Tube digestif de poulet.	21
Figure 07: Répartition des espèces des bactéries lactiques en pourcentage.	45
Figure 08: Evolution de l'acidité après 12 h d'incubation.	47

Listes des photos

N° des Photos	Page
Photo 01: Résultat du test de l'ADH.	41
Photo 02: Résultat positif du test réductase.	41
Photo 03: Le type fermentaire sur milieu Gibson Abdel Malek.	42
Photo 04: Test citratase sur gélose MRS.	42
Photo 05: La fermentation des sucres par les bactéries lactiques.	43
Photo 06: Pouvoir texturant sur milieu hypersaccharosé.	49
Photo 07: Résistance et sensibilité des bactéries lactiques aux antibiotiques.	53
Photo 08: Activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis les entérobactéries.	55
Photo 09: Résultat de l'effet du surnageant natif.	56
Photo 10: Adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales	58
Photo 11 : Absence d'adhésion des bactéries à l'épithélium (Témoin).	59

Introduction

Les bactéries lactiques constituent l'un des groupes incontournables de la microbiologie alimentaire. Connues depuis longtemps pour leur capacité de fermentation lactique associée à de nombreux aliments fermentés (yaourts, saucisson, choucroute...), leur participation à l'acquisition des propriétés nutritionnelles ou de la qualité sanitaire de l'aliment est plus récemment utilisée (**Federighi, 2005**).

La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de levains, simple récupération d'une partie du milieu de fermentation, les bactéries lactiques interviennent dans la préparation des laitages fermentés et sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saucissage des poissons, des viandes et des salaisons. Elles améliorent la conservation et agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celle de l'aliment à son état original (**Leveau et Bouix 1993**).

Depuis une dizaine d'années un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de culture lactique à effet bénéfique pour la santé ou probiotique pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale (**Modler et al., 1990**).

Les probiotiques sont des microorganismes qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet théoriquement bénéfique sur la santé de l'hôte. Les probiotiques sont des bactéries ou levures, ajoutés comme compléments à certains produits alimentaires, comme les yaourts et les céréales par exemple, et qui aident à la digestion des fibres, stimulent le système immunitaire et préviennent au traitement de la diarrhée (**Robin et Rouchy, 2001**).

Ces bactéries intestinales ou non doivent être résistantes aux enzymes digestives des cavités buccales et gastriques, aux pH acides de l'estomac, aux sels biliaires et avoir éventuellement la capacité d'adhésion sans perturber la flore intestinale normale. Des critères spécifiques pour ces ferments contenant des bactéries d'origine intestinale sont précisés par **Fonden (1989)** en particulier leur non-cariogénéicité et leur non- pathogénéicité (**Leveau et Bouix 1993**).

Toutes les données bibliographiques nous étaient très intéressantes, ainsi nous avons opté à mener un travail qui aura le but de mettre en évidence les propriétés probiotiques des bactéries lactiques.

Ce travail a été accompli en deux parties :

- Une synthèse bibliographique qui a permis en premier temps d'élargir nos connaissances sur les bactéries lactiques, les probiotiques et les probiotiques chez le poulet.
- Une deuxième partie portant sur l'étude expérimentale dont laquelle nous avons établi des profils d'identification des bactéries lactiques du jabot de poulet de chair ISA15, ensuite on est passé à l'étude de quelques aptitudes technologiques et on a finalisé le travail par l'évaluation des aptitudes probiotiques *in vitro*.

Partie I :
Synthèse
Bibliographique

Chapitre I :
Les bacteries lactiques

I. Les bactéries lactiques

I.1. Définition et origine :

Comme toutes les bactéries, les bactéries lactiques (BL) sont des microorganismes vivants et unicellulaires (procaryotes), elles peuvent avoir des formes de bâtonnets ou de coques, appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques qui ont en commun la capacité de produire l'acide lactique (Soustre, 2009).

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (Drouault et Corthier, 2001).

I.2. Propriétés générales :

Les bactéries lactiques regroupent des bactéries à coloration de Gram positive, généralement immobiles, asporulées, dépourvues de catalase et de cytochrome oxydases.

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XX^e siècle, elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini de point de vue taxonomique. Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres (Federighi, 2005). Leur capacité de biosynthèse est faible, ce qui explique leur polyauxotrophie pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des vitamines et des acides gras mais aussi leur métabolisme fermentaire : incapables de synthétiser le noyau hème des porphyrines, elles sont normalement dépourvues de cytochromes et en conséquence inaptés à toute respiration aérobie ou anaérobie; ce sont des bactéries anaérobies facultatives : microaérophiles, uniquement capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose (Leveau et Bouix, 1993).

La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents : acide acétique, éthanol, CO₂ ... Selon le mode de fermentation obligatoire ou préférentiel, on parle de bactéries homofermentaires ou hétérofermentaires. Certaines bactéries homofermentaires sont aussi capables de fermentation hétérolactique dans des conditions de croissance non optimales ou selon la nature de sucre utilisé (Leveau et Bouix, 1993).

I.3. 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 leurs morphologies. Le Bergey's Manuel est plus utile pour les microbiologistes qui s'occupent du lait et de la fermentation Leveau et al., (1991) (b). Le tableau 01 donne un récapitulé sur les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques.

Tableau 01: Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi, 2005 ; Leveau et al., 1991 (b)).

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire ou hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	Homme, produits laitiers, carnés, végétaux
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	hétérofermentaire	Psychrotrophes peu acidotolérants	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles, croissance à 10 °C et non à 45°C	Produits laitiers, végétaux
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Coques	Homofermentaire	thermophiles	Produits laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10 °C, thermoresistance	Intestin de l'homme et des animaux. Produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaire	Mésophiles, halotolérants	Bière, produits végétaux, saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaire	Mésophiles, halophiles	saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coques	hétérofermentaire	Mésophiles	Produits végétaux, produits laitiers
<i>Oenococcus</i>	Coques	hétérofermentaire	Mésophiles	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux.

La nouvelle classification des bactéries lactiques tient compte des apports modernes de la taxonomie, sept genres principaux constituent le groupe des bactéries lactiques ont été rapportés :

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

Le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré par plusieurs auteurs comme un genre de bactéries lactiques (Leveau et Bouix, 1993).

I.4. Caractéristiques des principaux genres:

I.4.1. Le genre *Lactobacillus*:

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants (Guiraud, 2003). Ils sont isolés d'habitats variés : cavité buccale, tractus digestif, organes génitaux chez l'homme, produits végétaux, lait et produits laitiers, produits carnés, poissons marinés ou fumé, eaux usées, sol... ce sont des bacilles acidotolérants (Federighi, 2005).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Guiraud, 2003) :

- Groupe « *Thermobacterium* » : il comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C.
- Groupe « *Streptobacterium* » : il regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles qui se développent à 15°C (ils peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat).
- Groupe «*Betabacterium*» : il comprend les lactobacilles hétérofermentaires

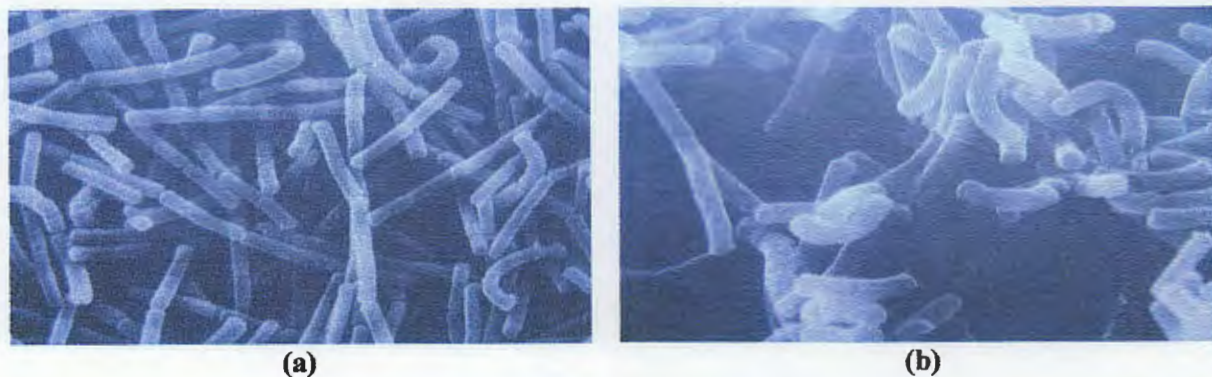


Figure 01. Aspect microscopique des cellules de genre *Lactobacillus* (Leveau et Bouix, 1993).

(a): *Lactobacillus delbruekii* subsp. *delbruekii* (x4000)

(b): *Lactobacillus delbruekii* subsp. *lactis* (x6000)

I.4.2. Le genre *Leuconostoc* :

Il rassemble les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes (Figure 02), mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), du CO₂ et de de l'éthanol. Certaines espèces sont capables de fermenter le citrate ce qui leur confère une activité aromatique importante. D'autres synthétisent des dextrans en présence de saccharose (Devoyode et Poullain, 1988). Ce genre comporte 6 espèces présentes majoritairement dans les produits végétaux, mais elles sont également isolées des produits laitiers (Dicks et al., 1995).



Figure 02 : Aspect microscopique des cellules de *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (x 6000) (Leveau et Bouix, 1993).

I.4.3. Le genre *Pediococcus* :

Les *Pediococcus* sont des coques (Figure 03), homofermentaires dont la particularité est le groupement en tétrades. Ils sont mésophiles et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose. Par contre certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sel très élevées, comme *P. halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus*, qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Collins et al., 1990). Ils sont souvent présents dans la bière, le vin, les produits végétaux (ensilages) et les saumures (anchois salés) et participent à la fermentation des saucissons (Federighi, 2005).



Figure 03 : Aspect microscopique des cellules de *Pediococcus* sp. (X7000) (Leveau et Bouix, 1993).

I.4.4. Les genres *Lactococcus* et *Streptococcus* :

Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement micro-aérophiles et très exigeants au point de vue nutritionnel. Leur fermentation est homolactique et donne de l'acide lactique surtout dextrogyre. Ils ont fréquemment un pouvoir hémolytique et peuvent être groupés par des tests sérologiques (Guiraud, 2003).

Le genre *Lactococcus* (streptocoques de groupe N) représente les streptocoques dits «lactiques», car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun pouvoir pathogène. Ils sont mésophiles, se développent à 10°C et non pas à 45°C. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers.

Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*; d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*), ces espèces étant rarement rencontrées dans les aliments. L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques seules cette espèce est considérée comme appartenant aux bactéries lactiques (Federighi, 2005).

La figure 04 présente l'aspect microscopique des cellules des genres *Streptococcus* et *Lactococcus*.

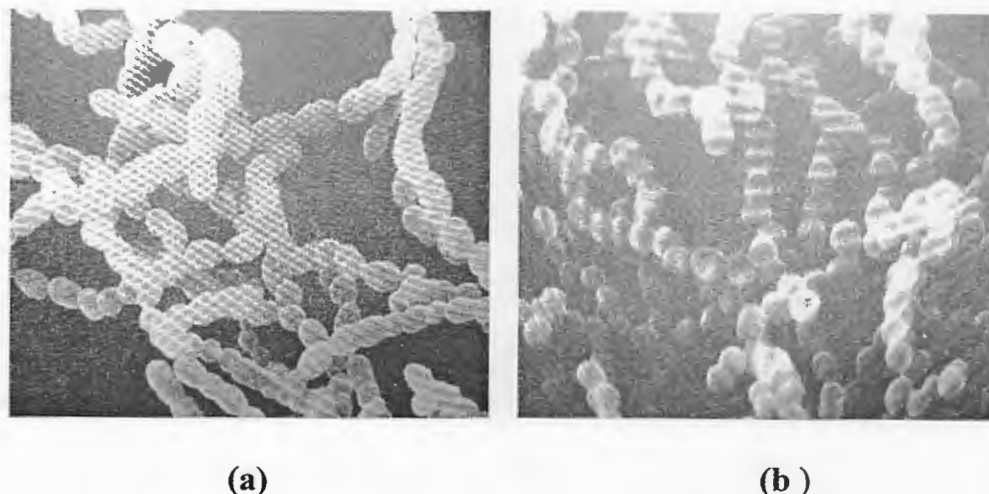


Figure 04 : Aspect microscopique des cellules de (Leveau et Bouix, 1993)

(a): *Streptococcus thermophilus* (x 4000)

(b): *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (x6000)

1.4.5. Le genre *Enterococcus*:

Le genre *Enterococcus* rassemble la plupart des espèces du groupe sérologique D et comprend notamment les espèces anciennement désignées sous le terme «streptocoques fécaux», comme *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Ce sont également des coques homofermentaires qui se caractérisent par leur développement à 10 et 45°C, leur aptitude à croître en présence de 6,5% de NaCl, et à pH 9.6 et leur grande résistance aux facteurs de l'environnement, en particulier la température (30 min à 60°C). Leur habitat est très varié : intestin de l'homme et des animaux, produits végétaux, sol et produits laitiers (Federighi, 2005).

1.4.6. Le genre *Carnobacterium* :

Des études menées sur les produits carnés ont conduit à isoler des bactéries lactiques décrites comme des *Lactobacillus* atypiques, peu acidifiants (Federighi, 2005). Ils ont un métabolisme hétérofermentaire et se développent à 10°C et non à 45°C. En ce sens, ils sont proches des '*Betabacterium*' (Guiraud, 2003). Les *Carnobacterium* n'interviennent pas dans les fermentations alimentaires, ils tolèrent difficilement un pH inférieur à 5, en revanche ils sont souvent producteurs de substances inhibitrices (Federighi, 2005).

1.4.7. Le genre *Bifidobacterium* :

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V (Figure 05), mais pouvant être coccoïdes. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C% élevé et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase (Scardovi, 1986). Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation «lactique» a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Ils sont isolés de l'homme et des animaux et sont surtout utilisés pour leurs propriétés nutritionnelles (Federighi, 2005).

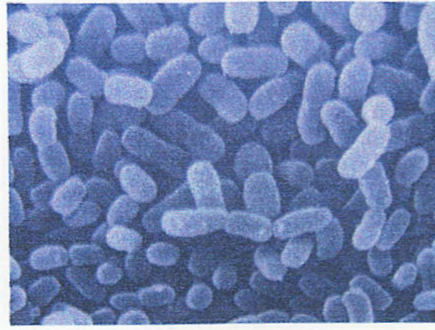


Figure 05: Aspect microscopique des cellules de *Bifidobacterium animalis* (x6000) (Leveau et Bouix, 1993).

I.5. Rôle technologique des bactéries lactiques :

I.5.1. Production de ferments lactiques :

L'importance technologique et industrielle des bactéries lactiques est considérable. Ces microorganismes sont en effet très largement utilisés comme auxiliaires technologiques dans les industries alimentaires, pour transformer des matières premières très diverses, soit d'origine animale (lait, viandes, poissons), soit d'origine végétale (fruits, légumes, céréales) (Corrieu et Luquet, 2008).

Ces transformations aboutissent à une grande diversité de produits, parmi lesquels on peut citer les fromages (dans lesquels les bactéries lactiques sont associées à d'autres micro-organismes tels que des bactéries de surface, des bactéries propioniques, des levures et des moisissures) les laits fermentés (yaourts, laits fermentés probiotiques), les produits carnés et végétaux fermentés (notamment : saucisson, choucroute, olives, soja), les pains au levains et certains vins (fermentation malolactique). Ils ont également des applications non alimentaires importantes, dans les domaines médicaux (traitement de dysfonctionnements intestinaux) et pharmaceutiques (production de médicaments à base de sels d'acide lactique) et dans l'industrie chimique (production d'acide lactique). Enfin, du fait de leur totale innocuité, certaines de ces bactéries constituent de bonnes candidates pour de futures applications dans le domaine médical : production d'antimicrobiens et de protéines hétérologues, vecteurs de vaccins, propriétés probiotiques (Corrieu et Luquet, 2008).

La plupart des aliments fermentés font intervenir des bactéries lactiques soit en tant qu'agent principal de la fermentation, soit en tant qu'agent secondaire. Dans ces produits le rôle principal des bactéries lactiques est l'acidification qui participe à la flaveur et à la texture des produits mais elles exercent au travers de leur métabolisme d'autres rôles sur les caractéristiques organoleptiques et technologiques des aliments fermentés ou non (Federighi, 2005).

Les tableaux 02 et 03 fournissent plus de renseignements sur le rôle des bactéries lactiques.

Tableau 02 : Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles (Federighi, 2005 ; Leveau et al., 1991 (b)).

	Produits	Bactéries lactiques	Rôles principaux
fermentés	Yaourt	<i>Lb.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>St.thermophilus</i>	Acidification / texture / aromes (acétaldéhyde)
	Enrichis en bactéries	Idem yaourt + <i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> ou <i>Lb.casei</i>	Rôles nutritionnels
Laits	Kéfir, koumiss	<i>Lb.brevis</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lc.lactis</i>	Acidification / texture / aromes
	Lait ribot, butter milk	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>	texture /aromes
Beurre et crème		<i>Lc.lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	Arômes (diacétyle)
fromages	Frais ou à pâte molle	<i>Lc.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc.lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc.lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	Acidification : formation du caillé
	A pâte persillés	<i>leuconostoc</i>	Formation d'ouvertures facilitant la croissance de <i>Penicillium</i>
	A pâte pressée	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>	Aromes au cours de la maturation
	A pâte pressée cuite (gruyère, emmental)	<i>St.thermophilus</i> , <i>Lb.helverticus</i> , <i>Lb.delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	Acidification : production d'acide lactique utilisé par les bactéries ropioniques/protéolyse

Tableau 03 : Participation des bactéries lactiques aux autres produits fermentés (Federighi, 2005 ; Leveau et al., 1991 (b)).

Produits	Bactéries lactiques	Principales activités
Produits carnés: Saucisson, saucisses	<i>Lb .sake</i> <i>Lb.curvatus</i> <i>Lb.plantarum</i> <i>Pediococcus</i>	Acidification Aromes
Levains de panification	<i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.brevis</i> <i>P.damnosus</i>	Acidification (acide lactique et acétique)
Vinification cidrerie	<i>Oenococcus oeni</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Pediococcus</i>	Fermentation malo-lactique
Choucroute et légumes fermentés	<i>Lb.brevis</i> <i>Lb.plantarum</i> <i>P.pentosaceus</i>	Acidification, aromes

I.5.2. Bactéries lactiques et conservation des aliments :

L'une des principales caractéristiques des produits fermentés est leur stabilité par rapport à la matière première à partir de laquelle ils sont issus. Ce rôle sur la conservation des produits est lié à la présence quantitative des bactéries lactiques dans les produits fermentés ou elles dépassent généralement 10^6 bactéries/g d'aliment, exerçant ainsi un phénomène de compétition vis-à-vis des autres flores (Caplice et Fitzgerald, 1999 ; Piard et Desmazeaud, 1992) :

- **Production d'acide:** le métabolisme principal des bactéries lactiques a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable. Le pH final dépend de la matière première fermentée et des souches utilisées (plus ou moins acidifiantes). A ces valeurs de pH le développement de la plupart des flores d'altération et des flores pathogènes est inhibé ce qui participe à la stabilité des produits fermentés (Federighi, 2005).
- **Production de bactériocines :** les bactéries lactiques sont de très bons producteurs de ces substances antibactériennes de nature peptidique ou protéique (Drouault et Corthier, 2001). Ils sont généralement thermorésistants, actifs surtout sur des bactéries à Gram positif. Avec un spectre d'activité étroit. La nisine est l'une des premières bactériocines caractérisée et la plus étudiée. Elle est produite par différentes souches de *Lactococcus lactis* et exerce ses effets inhibiteurs vis-à-vis de plusieurs autres bactéries lactiques, mais surtout vis-à-vis de bactéries à Gram positif comme *Listeria monocytogenes* ou *Clostridium tyrobutyricum* (Federighi, 2005).
- **Production d'autres substances inhibitrices :** le peroxyde d'hydrogène ou les dérivés de l'oxygène produits par les bactéries lactiques peuvent exercer un effet inhibiteur sur certaines flores d'altération comme les *Pseudomonas*. D'autre part, le peroxyde d'hydrogène produit par la flore lactique du lait cru participe au mécanisme d'inhibition du système lactoperoxydase-isothiocyanate-peroxyde d'hydrogène actif sur des bactéries comme *Staphylococcus aureus* ou *Salmonella* (Piard et Desmazeaud, 1992). Le diacétyle, produit du métabolisme du citrate par plusieurs *Lactococcus* ou *Lactobacillus* est capable d'inhiber des bactéries à Gram négatif (Federighi, 2005).

I.5.3. Bactéries lactiques et biopréservation:

La notion de biopréservation s'est développée à partir de la connaissance de ces propriétés d'inhibition des bactéries lactiques. Elle consiste à utiliser des bactéries lactiques, et/ou leurs métabolites dans des denrées alimentaires dans le but de prolonger leur durée de vie (Rodgers, 2001 ; Ross et al., 2002).

Les applications potentielles concernent essentiellement des produits carnés ou des produits de la mer, produits où les bactéries lactiques ne réalisent pas de fermentation, mais où elles sont naturellement présentes du fait de caractéristiques physico-chimiques favorables : faible pH, salinité élevée, absence d'oxygène (Federighi, 2005).

I.5.4. Bactéries lactiques et nutrition :

Les effets bénéfiques sur la santé des produits fermentés, et notamment des laits fermentés ont été évoqués au début du siècle par le biologiste russe Metchnikoff. Par ailleurs, plusieurs espèces de *Lactobacillus* comme *brevis*, *casei*, *acidophilus*, *fermentum*, *curvatus*... ainsi que les *Leuconostoc* et des *Bifidobacterium*, ont été identifiées comme appartenant à la flore intestinale humaine et pouvant coloniser l'intestin (Federighi, 2005). Ces propriétés ont contribué au développement de l'utilisation des bactéries lactiques comme probiotiques, notamment dans de nouveaux laits fermentés. Les bactéries ajoutées dans ces produits appartiennent essentiellement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, mais l'usage de certaines souches d'*Enterococcus faecium* comme probiotiques est également rapporté (Holzapfel et Schillinger, 2002).

Parmi les propriétés bénéfiques des bactéries lactiques, l'amélioration de la digestibilité du lactose présent dans les laits fermentés par les personnes intolérantes au lactose est la plus connue. L'activité β -galactosidase déficiente serait assurée par les bactéries lactiques apportées par le yaourt. Plusieurs études menées sur des volontaires ou sur des modèles animaux ont démontré également des effets sur l'abaissement du taux du cholestérol sanguin (Federighi, 2005).

Des effets sur l'activation du système immunitaires, l'inactivation de composés toxiques et la protection contre certaines infections intestinales sont encore rapportés ainsi que des propriétés anticancéreuses (Salminen et al., 1998 ; Sanders, 1993).

I.6. Altération des aliments par les bactéries lactiques :

Dans toutes les denrées où la flore lactique est présente, son activité métabolique peut également se manifester par des effets négatifs sur la qualité des aliments du fait des altérations provoquées par la production de métabolites (Federighi, 2005).

Le tableau 04 illustre les principaux rôles des bactéries lactiques dans les aliments.

Tableau 04: Principaux rôles des bactéries lactiques dans les aliments (Federighi, 2005).

Rôles technologiques	Rôles dans l'altération
<p>Structure et texture</p> <ul style="list-style-type: none"> •acidification laits fermentés, fromages •polysaccharides laits fermentés <p>Aromes et saveur</p> <ul style="list-style-type: none"> •acides organiques tous produits fermentés •diacétyl/acétaldéhyde beurre et crème/yaourt •lipolyse saucisson, fromages •protéolyse fromages <p>Conservation</p> <p>tous produits</p> <ul style="list-style-type: none"> •acides organiques •bactériocines •peroxyde d'hydrogène <p>Nutrition</p> <p>lais fermentés</p> <ul style="list-style-type: none"> •digestion de lactose •colonisation de l'intestin 	<p>Altération de l'aspect</p> <ul style="list-style-type: none"> •polysaccharides produits carnés, vin, bière •CO₂ •peroxyde d'hydrogène produits carnés <p>Altération des qualités organoleptiques</p> <ul style="list-style-type: none"> •acidification trop poussée lait cru, vin, produits carnés •oxydation des acides gras beurre et crème, produits carnés •protéolyse : peptides amers fromages <p>production de composés toxiques</p> <ul style="list-style-type: none"> •amines (histamine, tyramine) fromages, produits carnés, produits de la mer

I.6.1. Altération par production de l'acide lactique et d'autres acides organiques :

Elles se manifestent dans le lait cru, en cas de maintien à température ambiante ou rupture de la chaîne de froid. Le développement de la flore lactique sauvage et l'acidification non contrôlée qui s'ensuivent entraînent une altération irréversible du produit (Federighi, 2005).

I.6.2. Altérations par production de polysaccharides:

Certaines bactéries lactiques, notamment les *Leuconostoc* et certains *Lactobacillus* produisent des polysaccharides. Ils sont responsables de la formation de films muqueux en surface des produits de salaison comme le jambon ou le bacon. Des pediococques sont également à l'origine de l'apparition d'une viscosité de la bière contenant encore une grande quantité de sucres fermentescibles (Federighi, 2005).

I.6.3. Altérations par production de gaz :

Cette production est caractéristique des bactéries hétérofermentaires, tels certains *Lactobacillus* et surtout les *Leuconostoc*. Son effet sur la qualité peut être sensible dans le cas de viandes conservées sous vide où la production de CO₂ par ces bactéries provoque des défauts d'aspect (gonflement des conditionnements) (Federighi, 2005).

I.6.4. Altérations par production de peroxyde d'hydrogène:

Le peroxyde d'hydrogène produit par certaines bactéries lactiques peut s'accumuler dans certaines conditions et réagir avec les pigments de la viande pour former une porphyrine. Il s'ensuit un verdissement observé sur des produits tels que les saucisses et le jambon cuit conservé sous vide. Des lactobacilles hétérofermentaires, des pediococques et des entérocoques peuvent être à l'origine de ce phénomène (Federighi, 2005).

I.6.5. Altération par production de composés aromatiques :

L'équilibre de saveurs dans un produit alimentaire où interviennent des micro-organismes est souvent difficile à maîtriser et résulte d'un ensemble de processus métaboliques complexes. La production de composés aromatiques par les bactéries lactiques peut conduire à des saveurs nuisibles à la qualité du produit (Spinnler et Desmazeaud, 1996).

Dans les poissons fumés conservés sous vide *Lactobacillus sakei* et *farciiminis* sont les principales espèces responsables des phénomènes d'altération des qualités organoleptiques par production de composés sulfurés (Federighi, 2005). Le métabolisme de bactéries hétérofermentaires, et en particulier, la production d'acide acétique, butyrique, et d'éthanol a été également relié à l'altération de la viande conservée sous vide (Jones, 2004).

La dégradation des lipides par les lipases bactériennes ou l'oxydation des lipides conduit à la formation de composés comme des acides gras volatils, des aldéhydes ou des cétones qui confèrent aux beurres ou crèmes, mais également aux viandes sous vide, des odeurs ou des goûts désagréables (Federighi, 2005).

La flore lactique peut également être responsable de l'apparition d'amertume dans le vin liée à l'apparition d'acroléine, produit de dégradation de glycérol (Gerbaux, 1994).

I.6.6. Altération par production d'amines biogènes :

Les acides biogènes sont des composés issus de la décarboxylation des acides aminés par les enzymes microbiennes. Leur présence à fortes doses dans les aliments n'est pas sans conséquences sur la santé des consommateurs, les effets les mieux connus étant ceux provoqués par l'histamine (gonflements cutanés, oedèmes...) (Federighi, 2005).

Chapitre II :
Les probiotiques

II. LES PROBIOTIQUES

II.1. Historiques et définition:

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines (Metchnikoff, 1907).

Une des premières définitions des probiotiques a été proposée par Lilly et Stillwell en 1965 comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes ». Ensuite, Parker élargit cette définition à « des organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore » (Parker, 1974). Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques.

Plus tard, Fuller propose une définition très proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (Fuller, 1989). Par opposition aux précédentes définitions, la FAO (Food and Agriculture Organization) et la WHO (World Health Organisation) ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments et formulent la définition suivante: « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère » (FAO/WHO, 2002).

II.2. Principaux groupes de probiotiques :

Il existe 4 grands groupes de probiotiques :

II.2.1. Les ferments lactiques : ils sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose.

II.2.2. Les bifidobactéries : d'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques.

II.2.3. Les différentes levures de genre *Saccharomyces* : elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire.

II.2.4. Les autres bactéries sporulées : dont *Bacillus subtilis* et *cereus*.

Les genres bactériens les plus utilisés sont *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* et *Saccharomyces* (Robin et Rouchy, 2001).

II.3. Les probiotiques et la pharmacie:

Les probiotiques peuvent être utilisés sous la forme de médicaments (forme lyophilisée) mais peuvent aussi être présents dans des aliments, notamment les produits laitiers fermentés ou des compléments alimentaires. Le thérapeute doit savoir que des différences importantes existent entre microorganismes du même genre et même d'une même espèce et que les effets diffèrent en fonction des souches. La qualité microbiologique des préparations est variable, excellente pour certaines et insuffisantes pour d'autres (Marteau, 2004)

II.4. Critères de sélection des probiotiques :

La majorité des définitions des probiotiques insistent sur le fait qu'un microorganisme probiotique doit obligatoirement être vivant pour parvenir à l'occupation de son site d'action et par suite exercer ses biens effets (Robin et Rouchy, 2001).

II.4.1. Choix de microorganismes : La propriété essentielle réside dans le choix de microorganismes. Celui-ci doit être exempt de toute pathogénicité (Anuraclha et Reshwari, 2005). Toutefois, ce genre de risque est pratiquement inexistant du fait que les microorganismes probiotiques ont trouvé de nombreuses applications dans l'industrie agroalimentaire et ne présentent aucun danger pour l'homme, les animaux ou l'environnement (Ogwa *et al.*, 2001).

II.4.2. Origine humaine : Même si, certains probiotiques valables commercialement ne sont pas d'origine humaine, 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 (Kolida *et al.*, 1995).

II.4.3. 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, ainsi elles doivent donc résister aux enzymes présents dans la cavité buccale dont la principale est le lysozyme, au pH acide de l'estomac du 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. Les résultats des essais indiquent que diverses souches de lactobacilles, notamment *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis s123*, *Lactobacillus fermentum I24* et *Lactobacillus sp* peuvent montrer une tolérance aux sucs gastriques et biliaires (Midolo *et al.*, 1995).

II.4.4. Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales : Il est intéressant que les souches probiotiques puissent adhérer aux cellules de la paroi intestinale, ceci facilitait une bonne colonisation du tube digestif par les probiotiques (Bernet *et al.*, 1997).

II.4.5. 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 (Lima et Filho, 2005) :

- Soit par la production de substances antagonistes de types bactériocines ou 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.4.6. Propriétés technologiques (viabilité et stabilité) : 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'ils 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 (Percival, 1999). Le tableau 05 rassemble quelques critères technologiques dans la sélection de cultures probiotiques.

Tableau 05 : Quelques critères technologiques dans la sélection de cultures probiotiques. (Vignola, 2002).

Critère	Produits
Stabilité des cultures sous forme congelée ou lyophilisée	Cultures pour tous les probiotiques
Croissance dans le lait	Fromages, lait, yogourt
Production à large échelle (cuves à ferment)	Produits fabriqués dans les usines à grand volume, comme les fromageries
Compatibilité avec les cultures lactiques ou technologiques.	Tous les produits laitiers fermentés
Stabilité durant l'entreposage dans des laits non fermentés	Lait «acidophilus» doux
Résistance aux bactériophages	Tous les produits fermentés
Survie à la congélation dans des mélanges laitiers	Crème glacée, yogourt glacé
Stabilité durant l'entreposage à -20°C	Crème glacée, yogourt glacé
Propriétés sensorielles	Tous les produits
Tolérance à l'oxygène	Tous les produits
Faible activité métabolique à moins de 15°C	Tous les produits frais
Croissance à 15°C	Certains fromages affinés

II.5. 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 antibactériennes ...) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tractus digestif. Ils peuvent avoir des effets soit directs soit indirects en agissant via des modifications de l'immunité et de la flore (Robin et Rouchy, 2001).

II.5.1. Inhibition des bactéries indésirables : L'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes par les probiotiques peut se faire de différentes façons (Robin et Rouchy, 2001) :

- La production d'acides organiques (acide lactique ou acide acétique) à partir de glucides ingérés lors de la prise alimentaire limite, en abaissant le pH, le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella*.
- La baisse des coliformes dans le tube digestif serait due à pH très bas. Ce faible pH est obtenu grâce à l'apport de lait acidifié par de l'acide lactique.
- En milieu humide, les lactobactéries produisent du peroxyde d'hydrogène inhibiteur de nombreuses souches pathogènes, mais respectant l'écosystème des bactéries elles mêmes.
- La production de peroxyde d'hydrogène et d'acide lactique peut bloquer le développement de certaines espèces pathogènes comme le virus de la fièvre aphteuse, certains virus de la poliomyélite, certains champignons comme le *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*...
- De plus, l'acidification favoriserait la régulation du transit intestinal.

II.5.2. Le rôle antitoxique des probiotiques : 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 bio 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 (Robin et Rouchy, 2001).

II.5.3. Effets sur le transit et sur la flore intestinale : Souvent, les laits acidifiés ou yaourt sont utilisés pour lutter contre les diarrhées, notamment chez les jeunes enfants, en particulier ceux qui seraient de plus, mal nourris. L'ingestion de ferments lactiques peut contrer les effets d'une prolifération de certaines souches pathogènes d'*Escherichia coli* par divers mécanismes (Desmazeaud, 1996):

- Production de substances (acide lactique et acétique) directement inhibitrices d'*Escherichia coli* ;
- Abaissement du pH par les acides produits ;
- Détoxification par dégradation d'entérotoxines ;
- Prévention de la synthèse d'amines toxiques ;
- Fixation sur le tube digestif empêchant la colonisation de bactéries pathogènes, ou effet barrière par compétition métabolique si n'y a pas d'attachement.

II.5.4. Amélioration de l'intolérance au Lactose : L'apparition de symptômes digestifs après ingestion de lait peut être liée au lactose, notamment par l'incapacité de le digérer par manque de lactase de la muqueuse intestinale :

Il a été clairement démontré que le yaourt permet l'absorption du lactose chez les sujets déficients en lactase et qu'il améliore les symptômes digestifs d'intolérance au lactose. Il faut noter que ces effets bénéfiques disparaissent lorsque le yaourt a subi un traitement thermique. Ceci signifie que l'action favorable n'existe que si les bactéries sont vivantes et leur lactase active (Desmazeaud, 1996).

II.5.5. Effet sur la réponse immunitaire : Une étude suggère que l'administration de la flore lactique vivante est susceptible de modifier la réponse immunitaire chez les animaux conventionnels et chez l'homme. Cette action interviendrait en stimulant, à plusieurs niveaux, la défense antibactérienne de l'organisme.

Dans les mécanismes généraux intervient l'immunité non spécifique par phagocytose par les monocytes macrophages. Par ailleurs, l'immunité spécifique est due aux lymphocytes T4 et à l'interleukine1 avec activation des lymphocytes B producteurs d'anticorps. De plus, l'absorption des bactéries lactiques des laits fermentés pourrait aussi stimuler les défenses situées au niveau du tube digestif (système lymphoïde du tractus digestif GALT) (Desmazeaud, 1996).

II.5.6. Rôle antitumeurs : Une autre étude atteste maintenant de propriétés antitumeurs spécifiques des lactobacilles ou des aliments fermentés par ceux-ci, et des relations existent entre les problèmes de nutrition et les cancers. Plusieurs facteurs ont été suggérés qui peuvent contribuer à expliquer les propriétés antitumeurs des produits fermentés (Desmazeaud, 1996):

- Inactivation ou inhibition de la formation des composés carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal ;
- Suppression de l'apparition de cancer grâce à la stimulation ou à la réponse immunitaire de l'hôte ;
- Diminution de l'activité des enzymes des bactéries fécales qui peuvent activer les composés carcinogènes en convertissant les procarcinogènes en carcinogènes

II.5.7. Effets des probiotiques sur la santé : On apporte de nombreux bienfaits des probiotiques pour la santé. Voici les plus importants (Vignola, 2002):

- Maintien d'une flore intestinale normale par l'inhibition de bactéries pathogènes ;
- Non pathogénécité, même chez les hôtes-immuno- compromis ;
- Prévention de diarrhées ;
- Prévention de la croissance bactérienne dans le petit intestin ;
- Atténuation des problèmes d'intolérance au Lactose ;
- Amélioration de la digestibilité des aliments ;
- Activité anticarcinogène et antimutagène ;
- Stimulation du système immunitaire de l'hôte, sans réaction inflammatoire ;
- Réduction de la teneur sérique en cholestérol ;
- Amélioration de la valeur nutritionnelle ;
- Atténuation des effets de certains problèmes rénaux ;
- Prévention de la constipation ;
- Contrôle d'infections vaginales.

II.6. Les bactéries lactiques probiotiques chez les animaux :

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.

Pour les animaux de fermes, de nombreuses variétés de préparation probiotiques sont mises sur le marché. Le but recherché est souvent la stimulation de la croissance et la prévention des maladies et en particulier les diarrhées (Sander, 1999).

III. Les probiotiques chez le poulet

III.1.Appareil digestif du poulet :

Les volailles présentent de nombreuses particularités anatomiques et physiologiques par rapport aux mammifères. En effet, malgré la très grande hétérogénéité entre les différentes espèces aviaires, l'appareil digestif des volailles reste marqué par l'adaptation au vol, même chez les espèces qui ont perdu cette aptitude. Cette adaptation morphologique et fonctionnelle se trouve au niveau de la totalité des appareils et plus particulièrement l'appareil digestif. Le tube digestif malgré les différences de régime alimentaire est doué d'une grande capacité d'absorption qui permet de découvrir le métabolisme basal élevé de cette espèce.

Anatomiquement l'appareil digestif des oiseaux est constitué par: un bec, une cavité buccale dépourvue de dents, un gésier, un oesophage, un jabot, l'intestin débouchant dans le cloaque puis l'anus. Il comprend bien sûr toutes les glandes annexes : le foie et le pancréas (Villate, 2001).

La figure 06 illustre le tube digestif de poulet.

III.1.1. Le bec et la cavité buccale :

Le bec est utilisé avant tout pour la préhension des aliments. La cavité buccale est recouverte d'un épithélium muqueux .Elle ne possède ni lèvres, ni dents (Alamargot, 1984) .

III.1.2. L'Oesophage :

L'oesophage est un organe tubuliforme musculomuqueux qui assure le transport des aliments de la cavité buccale à l'estomac (ventricule suivie par le gésier) (Alamargot, 1984) .

III.1.3. Le jabot :

Le jabot est un élargissement de l'oesophage en forme de réservoir situé à la base du cou, au ras de l'entrée de la poitrine. Rudimentaire chez de nombreux oiseaux, il est bien développé chez nos espèces domestiques (sauf chez le Canard).Il se présente chez la poule sous la forme d'un sac ventral très extensible qui adhère dans sa partie ventrale à la peau et aux muscles sous-cutanés du cou ; Sa paroi est très mince, a une musculature (lisse) peu développée mais est riche en fibres élastiques (Alamargot, 1984) .

III.1.4. Le gésier :

Le gésier est l'organe compact le plus volumineux de la poule (6 à 8 cm de long, avec un poids d'environ 50 g vide et 100 g plein). Il est situé légèrement à gauche dans la cavité abdominale. Il est très musculéux chez les granivores (la Poule) et chez les herbivores (l'Oie). L'estomac est extensible (Alamargot, 1984) .

III.1.5. Le duodénum :

Le duodénum est la portion de l'intestin qui suit l'estomac ; le duodénum reçoit deux ou trois canaux pancréatiques et deux canaux biliaires (Alamargot, 1984)

III.1.6. L'iléon :

Il est court et rectiligne, son diamètre et sa longueur sont variables en fonction des espèces (poule 13-18 cm) (Villate, 2001 ; Alamargot, 1984).



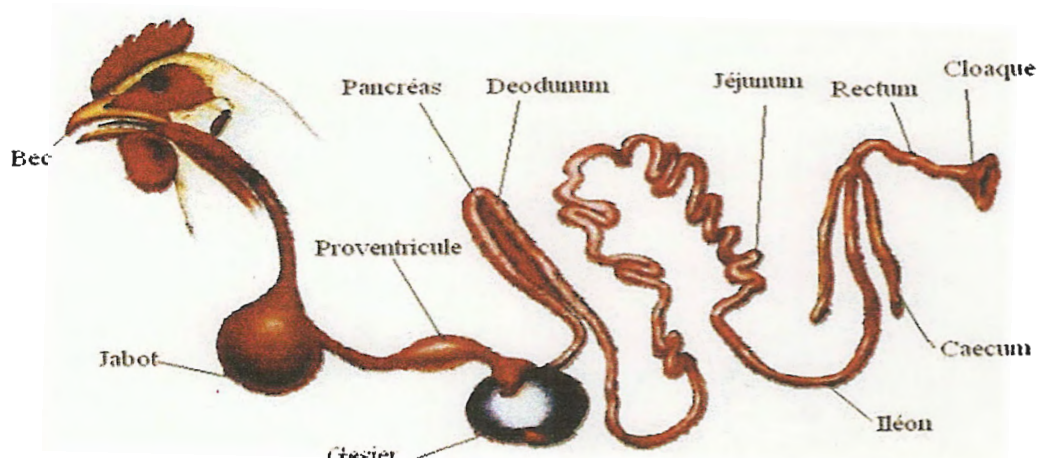


Figure 06 : Tube digestif de poulet (Fuller, 1984).

III.2. La digestion chez le poulet :

La préhension des aliments est assurée par le bec. Les particules alimentaires ingérées ne subissent pas de modifications notables au niveau de la bouche (absence de dents). Les simples transformations du bol alimentaire sont liées à l'intervention des muscles et à son humectation par la salive. La déglutition est essentiellement un phénomène mécanique, elle est facilitée par les mouvements de la tête. Les aliments vont s'accumuler dans le jabot, ensuite passent dans le ventricule où s'imbibent de suc gastrique, puis dans le gésier, où ils subissent une véritable mastication; la digestion s'achève dans l'intestin; les excréments sont rejetés à l'extérieure par le cloaque (Souilem et Gogny, 1994).

III.3. La microflore digestive des volailles :

Les travaux effectués chez les mammifères sont plus nombreux, mais les résultats ne sont pas forcément transposables aux oiseaux du fait de différences anatomiques et physiologiques (Gabriel et al., 2005).

Tous les micro-organismes ne peuvent pas être mis en évidence par les méthodes de culture conventionnelle. De plus, les problèmes techniques liés à l'isolement et à la culture de la flore anaérobie font que la plupart des études ne prennent en compte que la flore aérobie ou anaérobie facultative. Pour résoudre ces problèmes, les techniques de biologie moléculaire se sont développées. Dans le cas des oiseaux, ces techniques n'en sont qu'à leur début (Knarreborg et al., 2002).

La plupart des études décrivant la flore intestinale sont anciennes et utilisent les méthodes de culture conventionnelle. A l'heure actuelle, la flore digestive reste donc incomplètement décrite.

Une connaissance plus approfondie de la microflore et de ses conséquences sont nécessaires pour essayer de l'orienter dans un but bénéfique à l'animal et au producteur (Gabriel et al., 2005).

III.3.1. Description de la flore digestive du poulet :

La flore digestive peut se trouver dans la lumière intestinale ou adhérer à la muqueuse digestive. La flore luminale dépend des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes. La flore des muqueuses dépend de l'expression par l'hôte de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes (Fuller, 1984).

La flore digestive comprend des bactéries et des champignons. Chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés (Fuller, 1984). Chaque genre serait représenté par 3 à 4 espèces, et chaque espèce par 3 à 4 types métaboliques différents, ce qui ferait plus de 200 types différents, sachant que seulement 25% des souches seraient identifiées. Le tube digestif contient donc une large population bactérienne de différents types métaboliques et morphologiques. Ainsi, le nombre total de cellules bactériennes est plus important que le nombre de cellules eucaryotes constituant le corps de l'hôte (Gabriel et al., 2005).

Le tableau 06 montre la variation de la microflore de tube digestif de poulet.

Tableau 06 : Nombre de bactéries viables (Log10 / g de contenu) des groupes majoritaires dans le tube digestif du poulet (Smith, 1965).

Log 10	Jabot	Gésier	Duodénum	Iléon	Caeca
Lactobacilles	8.7	7.3	8.0	8.6	8.7
Entérocoques	4.0	3.7	4.0	4.2	6.7
Coliformes	1.7	-	2.0	2.7	5.6
Levures	2.7	-	1.7	-	2.0
Clostridies	-	-	(-)	(-)	9.0
Anaérobies obligatoires non sporulant	-	-	-	-	10.0
Streptocoques anaérobies	-	-	-	-	10.0

- : log < 1 ; (-) : pas toujours présent

Chez le poulet, les deux sites principaux d'activité bactérienne sont le jabot et les caeca. Globalement, la flore du jabot à l'iléon terminal est composée principalement d'anaérobies facultatifs alors que les caeca contiennent en plus des anaérobies stricts, ces derniers étant dominants (Fuller, 1984). Dans le jabot, on trouve principalement des lactobacilles qui peuvent être attachés à l'épithélium en formant presque une couche complète (Gabriel et al., 2005).

Lin et al. (2007) avaient trouvé que *Lactobacillus fermentum* était la majeure espèce bactérienne trouvée dans le tractus intestinal du poulet. On trouve aussi des entérocoques, des coliformes, et des levures. Dans le gésier et le proventricule, le faible pH fait chuter la population bactérienne.

Dans le duodénum, le nombre important d'enzymes, la forte pression en oxygène et la présence de fortes concentrations de composés antimicrobiens tels que les sels biliaires limitent la croissance bactérienne. On trouve principalement des lactobacilles, ainsi que des entérocoques et des coliformes (Fuller, 1984).

Plus loin dans l'intestin, l'environnement devient plus favorable à la croissance bactérienne à cause de la plus faible pression d'oxygène, la faible concentration en enzymes et sels biliaires (réabsorption et dégradation en partie par la microflore). Si les aliments sont bien digestibles, par

manque de substrat, la flore est limitée. Dans l'iléon, on trouve principalement des lactobacilles attachés aux anthérocytes, des entérocoques et des coliformes. Dans les caeca, on trouve une large population de types morphologiques variés, enfouie dans la couche de mucus et attachée à l'épithélium. On trouve en majorité des anaérobies stricts comme les *Eubacterium*, des bifidobactéries ou des clostridies. On trouve aussi des anaérobies facultatifs comme des lactobacilles, des entérocoques, et des coliformes (Gabriel et al., 2005).

Les techniques de biologie moléculaire permettent de mettre en évidence les microorganismes quelles que soient leurs conditions de viabilité : en étudiant 1656 séquences partielles du gène d'ARN_r 16s bactérien issus de caeca, Zhu et al. (2002) ont identifié 243 séquences différentes représentant 50 groupes ou sous groupes phylogénétiques de bactéries, avec 89% de séquences appartenant à 4 groupes phylogénétiques.

III. 3.2. Variation de la microflore digestive :

À 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 qui définit l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux microorganismes et de leur aptitude à coloniser l'intestin. Les coliformes, les streptocoques et les clostridies colonisent rapidement l'intestin, dès le premier jour, alors que les lactobacilles ne sont pas trouvés avant trois jours et les bactéroïdes pas avant cinq jours (Gabriel et al., 2005).

La colonisation par les lactobacilles est retardée dans les milieux propres. Au contraire, on peut trouver des lactobacilles dans le tube digestif de poussins mis en contact à l'éclosion avec des lactobacilles (Apajalahti, 2004). Par ailleurs, des antagonismes entre bactéries peuvent limiter le développement d'une espèce par rapport à une autre. Le poulet développe une flore bactérienne stable en deux semaines au niveau de son intestin, mais il lui faut quatre à six semaines pour que celle de ses caeca se stabilise.

Selon le milieu d'élevage, le développement de la microflore est différent. Au cours de leur élevage, les poulets sont soumis à de nombreux stress tels que la densité d'élevage, les conditions de température ou des parasites intestinaux qui modifient la flore intestinale (Suzuki et al., 1989).

La flore est modifiée aussi par l'alimentation. Ainsi, le type de céréales en particulier la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles ou leur mode de présentation (Mathlouthi et al., 2002). De même, les matières grasses ou le type d'amidon peuvent avoir un effet (Knarreborg et al., 2002).

III.4. Production des métabolites par la flore digestive :

Les micro-organismes du tube digestif sont en compétition avec l'hôte. D'une part, ils possèdent un très grand nombre d'enzymes par rapport à leur hôte, d'autre part pour ceux qui se trouvent dans la lumière intestinale ils peuvent utiliser les constituants alimentaires avant l'hôte. Ils pourraient, cependant, avoir un effet positif en libérant des nutriments absorbables par l'hôte. Les aliments peu digestibles constituent un substrat pour la microflore. Ils subissent ainsi une fermentation bactérienne plus importante que les aliments hautement digestibles ; en conséquence, la flore a plus d'effet sur ce type d'aliment (Gabriel et al., 2005).

Par fermentation des aliments, les bactéries produisent des métabolites qui peuvent avoir un effet à la fois bénéfique et néfaste (Mathlouthi et al., 2002).

Les différents métabolites produits chez les volailles sont présentés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Métabolites produits chez la volaille (Holzapfel et al., 1998).

Produits bénéfiques	Produits néfastes
-Vitamines (1) -Acide lactique -Bactériocine -Métabolites de l'oxygène -Péroxyde d'hydrogène -Radicaux libres	-Acide cholique -Enzymes déconjuguant les sels biliaires -Indole et scatole -Mercaptan d'éthyle et de méthyle -Endotoxines -Enterotoxines -Substances mutagènes et carcinogènes -Oligopeptides potentiellement inflammatoires
<p style="text-align: center;">Produits bénéfiques pouvant aussi avoir un effet négatif</p> <p style="text-align: center;">- Acides gras volatils : - Acétate - Propionate - Butyrate - Isobutyrate - Valérate - Isovalérate</p> <p style="text-align: center;">-Ammoniac -Amines (putrescine, spermidine, spermine, histamine)</p>	

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

III.5. L'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 ces derniers (Gournier-château et al., 1994)

Il existe deux grandes catégories de préparation probiotiques (Fuller et Turvey, 1997) :

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

III.5.1. 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. Ce phénomène appelé « effet barrière », se met en place avant la maturité complète du système immunitaire du tube digestif (Hoebler et Nicol, 2004).

Les lactobacilles, hôtes normaux de l'épithélium du jabot, sont utilisées 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. 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 pathogène présent dans le jabot (Gournier-château, 1994).

III.5.2. Efficacité zootechnique :

Les lactobacilles sont également efficaces du point de vue performance zootechnique. En ce qui concerne la viande, certains effets ont pu être observés sur sa qualité organoleptique lorsque la flore intestinale est modifiée par l'utilisation de probiotiques. Ainsi cette utilisation peut diminuer la teneur en lipides de la carcasse dont le cholestérol. L'addition d'un probiotique à base de *Lactobacillus* à la ration alimentaire de poussins durant huit semaines améliore la croissance des animaux; lorsque des poulets sont alimentés avec des régimes pauvres en acides aminés, ces bactéries lactiques rétablissent les performances zootechniques des animaux au même niveau que celles obtenues chez les poulets recevant une ration alimentaire non carencée (Gournier-château, 1994 ; Gabriel et al., 2005).

Partie II :
Etude
Expérimentale

*Matériels 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 lactique du jabot du poulet de chair ISA 15;
- Etude de quelques aptitudes technologiques du souchier lactique ;
- Evaluation des aptitudes probiotiques *in vitro* : Résistance aux milieux acides, aux sels biliaires ; activité antibactérienne, activité inhibitrice des surnageants et le pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales du l'iléum.

II.1. Matériel :

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

II.1.1. Le jabot du poulet de chair :

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 bactéries lactiques, on a utilisé un échantillon global, composé de 3jabots de poulet de chair ISA15.

II.1.2. Les souches bactériennes :

Un souchier d'entérobactéries ayant comme origine le tube digestif du poulet et du lapin local a été utilisé pour l'étude des interactions *in vitro* et de l'effet des surnageants. Il s'agit des genres et des espèces suivantes :

- Entérobactéries originaires du tube digestif du poulet : *Enterobacter hermannii*, *Hafnia* spp, *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*, *Proteus* spp, *Shigella* spp, *Citrobacter* spp et *Erwinia* spp.
- Entérobactéries originaires du tube digestif du lapin local : *Enterobacter intermedium*, *Citrobacter diversus* et *Klebsiella* spp.
- Entérobactéries originaires des selles de bébé : *Escherichia vulgaris*, *Citrobacter cintenicus*, *Enterobacter gergoviae* et *Morganella morganii*.

II.1.3. Disques d'antibiotiques :

Afin d'étudier le comportement des bactéries lactiques du jabot vis-à-vis des antibiotiques utilisés comme facteur de croissance en élevage avicole et comme antibactérien en médecine vétérinaire, 5 disques d'antibiotiques ont été utilisés pour réaliser un antibiogramme sur milieu solide. Il s'agit des antibiotiques suivants : Erythromycine (30µg), Streptomycine (10µg), Tétracycline (30µg), Pénicilline G (6µg), Chloramphenicol (30µg) ; Bio Mérieux Sa, Bio-RAD.

II.1.4. Les sels biliaires :

Les sels biliaires de provenance Institut Pasteur d'Alger ont été utilisés pour l'étude du pouvoir des bactéries lactiques à résister à cet inhibiteur dans un milieu liquide.

II.1.5. Le tissu iléal :

Pour étudier l'habilité des bactéries lactiques isolées du jabot du poulet de chair à adhérer *in vitro* au mucus des cellules du tissu iléal, deux échantillons de la cavité intestinale ont été procurés auprès du responsable de l'abattoir de volaille sis à Kaous, Jijel.

II.1.6. Milieux de culture :

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

- La gélose PCA : Pour le dénombrement de la F.T.A.M ;
- La gélose VRBG : Pour le dénombrement des entérobactéries ;
- La gélose VRBL : Pour le dénombrement des coliformes totaux et les coliformes thermotolérants ;
- Gélose et bouillon MRS (Man Rogosa Sharpe) : Pour la culture des bactéries lactiques ;
- La gélose Hecktoen : Pour l'étude des interactions ;
- Milieu Gibson Abdelmalek : Pour la recherche de type fermentaire (préparé dans notre laboratoire) ;
- Milieu Y.M.A (Yeast Milk Agar) : Pour la recherche 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% et 0,3 % de sels biliaires) : Pour tester la résistance à ces substances ;
- Gélose viande foie : Pour la recherche de *Clostridium* ;
- Gélose MRS additionnée à 6 gramme du citrate d'ammonium, 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 le test de croissance sur milieux hostiles ;
- Milieu PBS : Pour la réalisation des dilutions ;
- Lait écrémé : Pour chercher la production d'acétoïne ;
- Lait écrémé additionnée de teinture de tournesol : Pour le test de réductase ;
- Bouillon LB (Luria Bertani) : Pour la culture des entérobactéries ;
- Milieu Moeller additionné de l'Arginine : Pour l'identification des bactéries lactiques ;
- Les sucres : Pour établir le profil de souches isolées (Lactose, Galactose, Mannose, Maltose, Xylose, Saccharose, Ribose, et Raffinose).

II.1.7. Produits chimiques et réactifs : Lors de notre étude expérimentale, on a utilisé :

- Violet de Gentiane; Fuschine; Lugol et Alcool : Pour la coloration de Gram ;
- L'huile à immersion pour l'observation microscopique ;
- Phénol phtaléine (1%) et la soude dornic (N/9) : Pour la détermination de l'acidité dornic ;
- HCl (1N) et NaOH (1N) : Pour l'ajustement du pH ;
- VPI (Solution alcoolique) et VPII (Solution aqueuse de soude 16%) : pour la mise en évidence de la production de l'acétoïne.
- Teinture de tournesol ;
- Tween 80 additionné au bouillon MRS ;
- Eau oxygénée ;

II.1.8. Autres matériel : Le plus important du matériel utilisé 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 (microprocessor) ;
- Centrifugeuse (Bioblock Scientific centrifugeuse 55702) ;
- Etuve (WTB binder) ;
- Microscope optique (OLYMPUS);
- Un compteur de colonies ;
- Pompe à vide ;
- Les disques de papier Wattman N°4;
- Une membrane filtrante 0,20 micromètre.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Evaluation de la microflore cultivable du jabot

II.2.1.1. Récupération des échantillons et préparation des dilutions :

L'échantillon global sur lequel on a mené notre travail est composé de trois échantillons élémentaires ($n = 3$). Après avoir pris le poids de trois poulets, ces derniers ont été abattus par saignée directe au sein de l'abattoir. Les trois jabots ont été récupérés après plumage et éviscération, cela dans le but de mesurer leurs pH et leurs poids. Cette étape est considérée comme le point de départ de notre travail dont l'objectif est l'isolement et l'identification de la flore lactique existante mais cultivable à ce niveau et qui pourrait avoir des potentiels probiotiques.

Avant d'entamer les techniques de recherche et de dénombrement des flores cultivables, les échantillons à analyser doivent subir des dilutions décimales. On peut utiliser comme diluant de l'eau physiologique c'est-à-dire 9g/l de chlorure de sodium (Corrieu et Leuquet, 2008). Ainsi, après avoir mélangé le contenu des trois jabots, on a pesé à l'aide d'une balance 10g. Le prélèvement est introduit aseptiquement dans un bécher contenant 90ml d'eau physiologique stérile, ainsi on obtient la solution mère à 10^{-1} . Après agitation manuelle, on pousse les dilutions jusqu'à 10^{-6} .

II.2.1.2. Flores dénombrées :

Afin d'avoir une idée générale sur la microflore du jabot, on a procédé aux dénombrements suivants :

a. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (F.T.A.M) :

Le dénombrement de la FTAM s'effectue par ensemencement dans la masse du milieu PCA. L'ensemencement de ce milieu est réalisé à l'aide de 1ml des dilutions (Guiraud, 2003).

La méthode de référence préconise l'ensemencement en surface au râtelier étaleur de 2 boîtes de gélose PCA par 1ml pour la dilution 10^{-6} . Après incubation à 37°C pendant 24^{h} on dénombre toutes les colonies lenticulaires.

b. Dénombrement des entérobactéries (Joffin et Joffin, 2000):

Elles sont dénombrées sur gélose VRBG à partir de la dilution 10^{-5} . Le volume prélevé (1ml) est dispersé en spatchs au fond de chaque boîte, ensuite la gélose fondue et refroidie à 45°C est coulée aseptiquement suivi d'une homogénéisation, en effectuant des mouvements circulaires. On laisse prendre en masse et on incube à $37^{\circ}\text{C} / 24^{\text{h}}$.

Après l'incubation, on dénombre les colonies roses rouges.

c. Dénombrement des CT et CTT (Joffin et Joffin, 2000) :

Pour les coliformes totaux (CT) et les coliformes thermotolérants (CTT), on introduit au fond de chaque boîte de Pétrie 1ml de la dilution 10^{-3} sous forme de spatchs, puis on coule la gélose VRBL fondue et refroidie à 45°C .

On homogénéise l'inoculum et la gélose, et on laisse prendre en masse. Pour les CT on incube à 37°C/24^h alors que pour les CTT les boîtes sont incubés à 44°C/24^h. Toutes les colonies rouges (lactose⁺) d'un diamètre minimum 0.5mm en 24^h sont considérées comme étant des coliformes.

d. Dénombrement des *Clostridium* (Joffin, 1999):

La recherche et le dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs sont réalisés par ensemencement en masse de la gélose viande foie additionnée d'additifs : Alun de fer et sulfite de sodium par 1ml de la suspension bactérienne déjà traitée par la chaleur à 80°C/10minutes, ce traitement thermique sert à éliminer les formes végétatives. Après homogénéisation de l'inoculum et gélose, on refroidit sous courant d'eau froide.

La période d'incubation est 24heures à 37°C.

L'apparition de colonies noires indique la présence de *Clostridium*.

e. Dénombrement des bactéries lactiques (Guiraud, 2003) :

Le dénombrement est réalisé sur milieu MRS, l'ensemencement se fait par l'étalement de 3 gouttes de la dilution 10⁻⁶ sur la gélose déjà coulée, refroidie et solidifiée. L'incubation se fait à 37°C/24h.

Le dénombrement concerne les colonies translucides.

Cette technique a été réalisée 2 fois :

- La première à partir du contenu du jabot ;
- La deuxième à partir du tissu du jabot.

II.2.2. Mise en place d'un souchier de bactéries lactiques du jabot :

II.2.2.1. Isolement et purification des bactéries lactiques :

Après avoir isoler les bactéries lactiques sur gélose MRS, 18 tubes contenant le bouillon du même milieu sont ensemencés par 18 colonies ciblées et bien distinctes. A noter que les 18 colonies appartiennent aux dilutions suivantes :

- 5 colonies de la dilution 10⁻⁶ du tissu;
- 1 colonie de la dilution 10⁻² du tissu;
- 1 colonie de la dilution 10⁻⁴ du tissu ;
- 5 colonies de la dilution 10⁻³ du tissu;
- 6 colonies de la dilution 10⁻⁶ du contenu du jabot.

Les tubes sont incubés à 37°C/24h. L'apparition du trouble confirme la croissance.

II.2.2.2. Tests d'identification des bactéries lactiques :

Les principaux tests utilisés pour l'identification des bactéries lactiques (tests d'orientation) sont les suivants :

a. Examen macroscopique (Sharpe, 1979) :

Ce test vise la détermination de l'aspect et la forme des colonies purifiées sur le milieu de culture, MRS.

b. Examen microscopique (Joffin et Leyral, 2006) :

Les 18 souches ont été soumises à la coloration de Gram dont la technique est la suivante :

- Réaliser le frottis et le fixer par la chaleur ;
- Colorer au violet de gentiane durant environ 1minute ;
- Laver à l'eau ;

- Faire agir la solution de Lugol durant environ 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Colorer à la fuschine et laisser agir de 1 à 2 minutes ;
- Laver à l'eau ;
- Observer après séchage à l'immersion (objectif x100) et à pleine lumière.

Les bactéries à Gram⁺ apparaissent violettes, par contre les bactéries à Gram⁻ sont roses.

c. Test de croissance à différentes températures (Sharpe, 1979) :

Pour pouvoir séparer les lactiques mésophiles de ceux thermophiles, on a ensemencé en triple le bouillon MRS par les souches à tester. Une série est incubée à 45°C, une deuxième à 37°C et la troisième à 10°C.

L'apparition de trouble témoigne la positivité du test.

d. Tests biochimiques :

• **Recherche de la catalase (Joffin et Leyral, 2006) :**

La catalase est une enzyme qui joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène. Les 18 souches ont été mises à ce test.

Pour réaliser ce test, on a émulsionné la culture bactérienne à tester dans de l'eau oxygénée sur une lame. La présence d'une catalase se manifeste par l'apparition des bulles d'oxygène abondantes dans l'émulsion.

• **Recherche de l'Arginine dihydrolase (Joffin et Leyral, 2006) :**

La recherche de cette enzyme est d'une grande importance taxonomique pour la différenciation des entérobactéries et d'autres bacilles Gram⁻, et aussi pour la caractérisation des bactéries lactiques.

Cette enzyme libère l'ammoniac et un composé intermédiaire, la citrulline à partir de l'arginine.

Pour réaliser ce test, on ensemence le bouillon Moeller à arginine avec les 14 souches à tester.

On incube à 37°C/24h.

La culture sur le milieu de base se manifeste par virage du milieu au jaune dû au métabolisme du glucose.

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

• **Production de l'acétoïne (Sharpe, 1979):**

Ce test permet de caractériser la capacité des bactéries lactiques à produire du 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.

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 ensuite ensemencés par les 14 souches à tester, et incubés à 37°C/24h.

Après la phase d'incubation, on ajoute quelques gouttes de solution VPI et la même quantité de la solution VPPII dans chaque tube, suivie 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 (VPPII) et se combine avec l' α -naphтол (VPI) en donnant un complexe de couleur rouge.

A noter que ce test permet aussi d'estimer le type fermentaire des souches bactériennes.

- **Recherche de la citratase (Sharpe, 1979) :**

Cette enzyme est mise en évidence par culture sur gélose MRS additionnée à 6g du citrate d'ammonium, l'ensemencement se fait par piqûre centrale de la gélose préparée en tubes. On incube à 37°C/ 3 à 5 jours.

La décomposition du citrate se manifeste par la production du gaz au fond des tubes, donc c'est la première réaction de transformation du citrate en diacétyle et acétoïne.

- **Culture sur bouillon hypersalé (Sharpe, 1979) :**

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium donne des renseignements précieux pour l'identification.

L'ensemencement des germes à tester est réalisé dans des tubes contenant le bouillon hypersalé à 6,5% et à 4%.

Après une incubation à 37°C/24h, on note l'aptitude de croître sur ces milieux par l'apparition de trouble.

- **Recherche de la réductase (Sharpe, 1979) :**

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 des tubes de nos souches, suivie d'une incubation à 37°C /24h.

Ce milieu permet d'observer plusieurs types de réduction :

- ✓ 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 type fermentaire (Sharpe, 1979):**

Ce test permet d'apprécier le type métabolique par lequel le substrat carboné est transformé, par la mise en évidence de la formation du gaz CO₂.

On a préparé le milieu de culture Gibson Abdel Malek 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.

Après une incubation à 37°C pendant 3 à 7 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.

- **Profil fermentaire des sucres (Guiraud, 1998) :**

Ce test permet d'apprécier la capacité des souches à fermenter quelques sucres (Xylose, Saccharose, Ribose, Lactose, Mannose, Raffinose, Maltose, et 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 du sucre à tester, on a homogénéisé puis on a ensemencé nos souches bactériennes. Pour favoriser l'anaérobiose, de l'huile de vaseline est ajoutée.

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.

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.2.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactique :

II.2.3.1. Etude du pouvoir acidifiant (Corrieu et Luquet, 2008) :

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

- **Préparation du lait** : Dans le but de réaliser ce test, on a commencé tout d'abord à préparer le milieu àensemencer selon le protocole suivant :

On prépare de lait écrémé à raison de 9g/100ml, puis on le stérilise à 100°C/10minutes et après on laisse refroidir à température ambiante.

Onensemence par la suite les tubes de lait écrémé déjà préparé par 1ml de la culture lactiques et on incube à 37°C.

-**Dosage de l'acide lactique (Larpen et Gourgaud, 1997)** : 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 la 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% estensemencé par la souche lactique à tester. Il est ensuite incubé à 37 °C. Après incubation à un intervalle du temps 3h, 6h et 12h ; 10ml 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.

A noter que le pH a été déterminé en plongeant l'électrode du pH mètre dans un bécher contenant du lait avec agitation, la valeur du pH est enregistrée sur écran.

II.2.3.2. Etude du pouvoir protéolytique (Vuillemand et al., 1986) :

Pour la recherche de l'activité protéolytique sur milieu solide, on a appliqué la méthode des puits dont ils étaient créés sur la gélose YMA déjà coulée et solidifiée, puis remplis par les suspensions bactériennes à tester. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C/24h.

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

II.2.3.3. Pouvoir texturant (Leveau et al., 1991) :

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

Après une incubation à 37°C/ 24h, la production de polysaccharides se manifeste par la présence de colonies larges et gluantes.

II.2.4. Evaluation des aptitudes probiotiques *in vitro*:

II.2.4.1. Collection du jus gastrique et tolérance aux acides:

Au départ, on a choisi 3 poulets dont le poids respectif est de 2.7 Kg , 2.61 Kg et 2.57 Kg. Après la saignée, les jabots sont récupérés dans le but de collecter le jus gastrique. La technique décrite par **Lin et al. (2007)** a été appliquée pour tester la tolérance de nos souches lactiques aux acides :

- Collection du jus gastrique : Une suspension a été préparée en mélangeant 1V du contenu des trois jabots avec 2 V d'eau physiologie stérile. Après homogénéisation et centrifugation à 3000 tours/30min, on a récupéré le surnageant et par la suite on a mesuré son pH. Le surnageant ainsi récupéré est filtré sur une membrane de 0.45 μm .

Enfin le jus gastrique (surnageant) est récupéré, puis stocké à (-18 °C) jusqu'à son utilisation.

- Préparation de la culture cellulaire des bactéries lactiques: Pour récupérer les cellules bactériennes, un volume de la culture lactique (4ml) d'une nuit (24 h) a été centrifugé à 7000 tr/10 min.

- Tolérance aux acides : Pour évaluer la résistance aux acides, on a mélangé le culot (les cellules bactériennes) avec 4 ml du jus gastrique stérile déjà préparé. La D.O de cette suspension est mesuré à 620nm et le nombre de cellules est calculé.

Après incubation à 37 °C/3H, on mesure la D.O à la même longueur d'onde et on fait une numération des cellules.

II.2.4.2. Croissance en présence de sels biliaires :

La technique rapportée par **Lin et al. (2007)** a été appliquée. Pour l'application de cette technique, on a préparé au préalable 28 tubes de bouillon MRS dont 14 servira de témoin (T) et les 14 autres sont préparés à 0.3% de sels biliaires (SB).

Une fois les tubes préparés, chaque souche estensemencée en double avec un tube T et un autre SB. On procède à la mesure de la DO à 620nm et au dénombrement des cellules à T= 0h et après 4h d'incubation à 37°C.

II.2.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Il s'agit d'étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis de la microflore entérobactéries du jabot du poulet de chair, du tractus digestif du lapin local et de selles de bébé, pour mettre en évidence cette activité, on a utilisé la méthode de diffusion sur disque décrite par **Tagg et al. (1976)**. Cette technique comporte les étapes suivantes:

- Préparation des suspensions bactériennes : pour chaque souche lactique et celle entérobactérie identifiée, on a préparé des cultures jeunes âgées de 20 h pour les bactéries lactiques, et de 4 h pour les entérobactéries par ensemencement respectif du bouillon MRS et LB par des cultures âgée de 24 H (V/9V).

- Préparation des souches indicatrices : Pour chaque souche entérobactérie, 50 μl est mélangée à 15 ml de gélose Hektowen, fondue et refroidie à 45°C. Ensuite la gélose est coulée dans des boites de Pétri stérile et laissées prendre en masse.

- Application : Après séchage de la gélose, chaque disque de papier Wattman stérile (de 5 mm de diamètre) est imbibé par 20 μl de souches jeunes de bactéries lactiques, et déposé à la surface de la gélose déjàensemencée.

Après incubation des boites à 37°C /24 h, on mesure le diamètre des zones d'inhibition.

Le symbiose est révélée par l'absence des zones d'inhibition par contre l'antagonisme est traduit par la présence de ces dernières.

II.2.4.4. Activité inhibitrice des surnageants :

L'activité inhibitrice du surnageant natif et celui ajusté à pH:6 a été également évalué par application de la même technique de diffusion sur gélose (Tagg *et al.*, 1976).

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 (1V/9V).

Après une centrifugation à froid à 7000tr/10min, les surnageants sont récupérés et filtrés sur membrane de 0.20 µm.

Le pH de la moitié du filtrat ainsi obtenu est ajusté à pH : 6 par Na OH (3N).

On appliqué la même technique de diffusion sur disque à raison de 5 disques par boîte.

II.2.4.5. Résistance aux antibiotiques (Leyral et Joffin, 2006) :

Pour chaque boîte on a coulé 9ml de la gélose MRS déjà ensemencé par 1ml de la souche à tester. Après solidification et séchage de la gélose on a déposé dans chaque boîte 5 disques d'antibiotiques à savoir : Erythromycine (E), Streptomycine (S), Tétracycline (T), Chloramphénicol (C), Pénicilline G (P).

Après une incubation à 37°C/24h, on mesure les zones d'inhibitions.

Par convention, la bactérie est considérée sensible pour un diamètre d'inhibition > 15mm.

II.2.4.6. Adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales:

- Préparation des cellules épithéliales : La méthode décrite par Lin *et al.* (2007) a été utilisée pour la préparation des cellules épithéliales. Un segment de l'ileum de poulet a été ouvert et lavé avec le tampon phosphate salin stérilisé (PBS, pH : 7.2) puis tenu dans le PBS à 4° C pendant 30min pour enlever le mucus de la surface et alors lavé trois fois avec PBS stérilisé. La suspension cellulaire a été examinée par microscope pour assurer qu'elle n'était pas contaminée et que la concentration des cellules épithéliales était approximativement 5×10^4 cellules/ml.

-Préparation des cellules de bactéries lactiques : L'adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales a été essayée d'après la méthode rapportée. Brièvement, la culture d'une nuit de bactéries lactiques dans le bouillon MRS a été centrifugée, le culot a été récupéré puis soumis à des dilutions sur PBS jusqu'à 10^{-8} afin d'obtenir une concentration cellulaire de 1×10^8 cellules/ml.

-Application : 1ml de la suspension de bactérie a été mélangé avec 1ml de celle des cellules épithéliales, puis incubé à 37°C/40min.

Durant la période d'incubation, les tubes ont subi une agitation chaque 5min. L'adhésion est observée sous microscope après préparation de frottis et coloration au cristal violet. Les résultats sont considérés positifs si le nombre de bactéries adhérentes aux cellules épithéliales est supérieur à 15, par contre s'il est inférieur à 10 les résultats sont négatifs.

Résultats et discussion

III. Résultats et Discussion

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

Le contenu du jabot a fait l'objet d'un dénombrement de la flore cultivable qui se résume en flore totale (F.T.A.M), CT, CTT, *Clostridium*, bactéries lactiques et entérobactéries, dont les résultats sont présentés dans le tableau 08 :

Tableau 08 : Résultats de la numération de la microflore cultivable du jabot :

Flores (UFC/g)	FTAM	Entérobactéries	CT	CTT	Bactéries Lactiques	<i>Clostridium</i>
Résultats	481.10 ⁶	00	Indénombrable	00	656.10 ⁶	00

✓ Dénombrement de la F.T.A.M :

La flore totale aérobie mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux genres banals de contamination.

Lors de l'évaluation de cette flore cultivable, une moyenne de 481.10⁶ UFC/g du contenu du jabot a été dénombrée.

✓ Dénombrement des entérobactéries:

Les entérobactéries font partie de la flore endogène aéro-anaérobie facultative du tube digestif du poulet (Guiraud et Rosec, 2004).

La numération de ces germes est intéressante au niveau industriel comme test de qualité hygiénique globale. Lors de dénombrement on a marqué l'absence totale de ces germes, cela est probablement lié soit à une défaillance de la technique appliquée soit aux milieux de cultures qui peuvent ne pas fournir tout les facteurs de croissance à cette flore ou encore ces milieux de culture sont périmés.

✓ Dénombrement des CT et des CTT :

Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un bon indice de contamination fécale, les techniques de colimétrie ont pour objectif de dénombrer et éventuellement identifier les coliformes (Guiraud, 2003).

Après incubation, on a remarqué qu'il y a un envahissement de la gélose VRBL par les coliformes, ce qui indique que cette flore est très abondante au niveau de cette cavité digestive. En revanche, les CTT sont absent dans l'inoculumensemencé.

✓ Dénombrement de *Clostridium* :

Après incubation à 37°C/24heures, l'observation a montré l'absence de colonies noires, ce qui indique l'absence totale de *Clostridium*.

✓ Dénombrement des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques font partie de la flore dominante dans le tube digestif du poulet de chair et surtout au niveau du jabot, le dénombrement de la totalité des colonies apparues sur gélose MRS, nous a aidé à estimer le nombre initial des bactéries dont la moyenne est de 656.10⁶ UFC/g. Ce

résultat est en accord avec les données bibliographiques dont Mead (1997) et Van der Wielen et al. (2002) ont rapporté que les bactéries lactiques sont les dominantes au niveau du jabot.

Par ailleurs, Lin et al. (2007) avaient trouvé que *Lactobacillus fermentum* était l'espèce dominante dans le tractus intestinal du poulet.

III.2. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques :

Notre travail a abouti à l'obtention de 14 souches de bactéries lactiques issues du jabot du poulet de chair.

III.2.1. Examen macroscopique et microscopique :

Sur gélose MRS, il y a apparition de colonies bien isolées, distinctes et de différentes tailles, de couleur blanchâtre brillante. Après purification, sur chaque boîte, on a remarqué des colonies bien distinctes de même taille et de même couleur témoignant de la pureté des souches.

Après coloration de Gram, les observations microscopiques révèlent que toutes les bactéries retiennent la couleur violette, ce qui semble confirmer qu'on est face d'une collection de bactéries à Gram+. Ces observations microscopiques ont permis aussi de déterminer la forme et le mode de regroupement : Bâtonnets isolés ou disposés en chaînettes.

III.2.2. Tests biochimiques :

Les résultats des tests biochimiques sont résumés dans le tableau 9.

Tableau 09 : Profils biochimiques des souches de bactéries lactiques.

Souches		J ₁	J ₂	J ₃	J ₄	J ₅	J ₆	J ₇	J ₈	J ₉	J ₁₀	J ₁₁	J ₁₂	J ₁₃	J ₁₄
Tests															
Gram		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Forme		Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac	Bac
Catalase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à 15°C		-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Croissance à 45°C		+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Na Cl	4 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ADH		+	+	-	+/-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-
Acétoïne		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Type Fermentaire		Het	Hom	Hom	Het	Hom	Hom	Hom	Het	Het	Het	Het	Het	Hom	Het
Citratase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lait tournosolé	Coagulation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Réductase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bac : Bacille ; Hom : Homofermentaire ; Het : Heterofermentaire + : Résultat positif ; - : Résultats négatifs ; +/- : Résultats variables.															

Les résultats ont montré que toute la collection est à catalase négative. Le test de croissance à différentes températures a montré qu'il existe des souches mésophiles se développant bien à 15°C qui sont : *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus brevis*, par contre les souches thermophiles représentées par *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus bifementans*, et *Lactobacillus viridescens* sont capables de pousser à une température de 45°C.

Il est probable que nos souches peuvent servir de levains dont les levains mésophiles qui participent à la fabrication des fromages frais, fromages à pâte molle, persillée, ou pressée (Federighi, 2005), alors que les souches thermophiles sont utiles pour les fromages à pâte cuite et les yaourts (Alais, 1975).

Pour la croissance sur milieu hypersalé, aux différentes concentration de NaCl (4% et 6,5%), on a noté que toutes les souches ont la capacité de pousser et de tolérer la concentration 4%, par

contre l'absence totale de la croissance sur milieu à 6,5%, témoigne la sensibilité des souches aux fortes pressions osmotiques.

Par ailleurs, pour la recherche de l'enzyme ADH (photo 01), après la période d'incubation, on a remarqué l'apparition de couleur jaune dans les 10 tubes,ensemencés par les souches suivantes : J₃, J₅, J₆, J₇, J₉, J₁₀, J₁₁, J₁₂, J₁₃, J₁₄ représentés respectivement par les espèces suivantes *L. curvatus*,

L. plantarum, *L. fermentum*, *L. bifementans* et *L. viridescens*. A noter qu'il existe une variabilité entre les souches de même espèce.

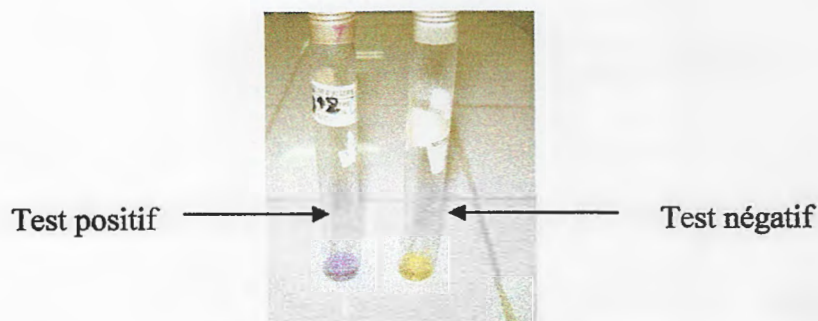


Photo 01 : Résultat du test de l'ADH.

La recherche de l'acétoïne réalisée sur le milieu lait écrémé a donné des résultats négatifs pour toutes les souches, ainsi ce test nous a donné une idée sur le type fermentaire des souches. La production de l'acétoïne chez les souches concernées semble très importante dans le domaine agro-alimentaire surtout la production d'arome dans les produits fermentés (Sharpe, 1979).

Cependant, la recherche de la réductase a montré que toutes les souches testées sont capables de réduire la teinture de tournesol, en provoquant une réduction du colorant et formation d'un précipité, c'est-à-dire capables de coaguler le lait (photo 02).

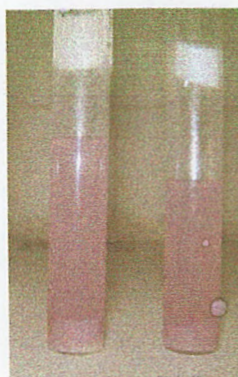


Photo 02 : Résultat positif du test réductase.

La recherche de type fermentaire sur milieu Gibson Abdel Malek a montré qu'il y a des souches qui sont homofermentaires (Photo 03) car il n'y a pas déplacement du bouchon de la gélose blanche. En revanche sur lait écrémé, les résultats ont montré que les souches codées J₁, J₄, J₈, J₉, J₁₀, J₁₁, J₁₂ et J₁₄ étaient hétérofermentaires car il y a eu fragmentation du lait suite à une production de gaz.

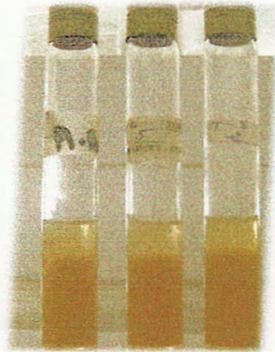


Photo 03 : Le type fermentaire sur milieu Gibson Abdel Malek.

Quand à l'utilisation du citrate, il apparaît que toutes les souches sont incapables de dégrader le citrate et l'utiliser comme seule source de carbone (Photo 04). D'après **Corrieu et Luquet (2008)** le lait, ainsi que certains substrats végétaux utilisés pour la production d'aliments fermentés contiennent de l'acide citrique pouvant être métabolisé par des bactéries lactiques. Le citrate est un précurseur du diacétyl, qui contribue à l'arôme de certains types de laits fermentés, de fromages frais ou affinés, de beurres et de crèmes fraîches. Il conduit également à la formation de CO_2 , qui participe à la formation des ouvertures dans les fromages. Le métabolisme de l'acide citrique a un rôle physiologique important chez les bactéries lactiques, en permettant par exemple une génération indirecte d'énergie ou la synthèse de composés cellulaires .

III.2.3. Profil de fermentation des sucres :

Les résultats de fermentation des sucres sont illustrés sur le tableau 10. Une souche apte à fermenter le sucre mis au test, conduit à un virage de la couleur du milieu au jaune, celle inapte ne produit pas d'acide à partir de ce substrat et ne provoque aucun changement du milieu, alors que celle ayant un métabolisme long vis-à-vis du substrat donne un changement partiel du milieu de culture (Photo 05).

On analysant, les résultats des profils de fermentation des sucres, aucune différences intra-espèces vis-à-vis de leur fermentation de sucres, n'a été décelée dont des exemples à l'égard de l'homogénéité des performances de fermentations sont claires avec les souches codées J₅ et J₆ de *Lactobacillus plantarum*, J₄, J₉ et J₁₀ de *Lactobacillus fermentum* et J₁₁ et J₁₂ de *Lactobacillus bif fermentans*.

Le métabolisme des sucres va conduire notamment à la production de l'acide lactique et à un fort abaissement du pH, ce qui est recherché pour la fabrication des produits alimentaires. Mais ce processus est avant tout indispensable aux bactéries elles mêmes, en leur fournissant de l'énergie (Desmazaud, 1996).

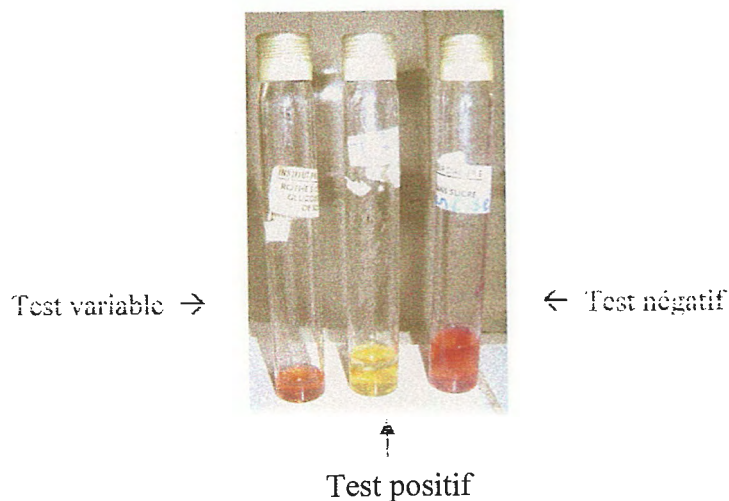


Photo 05 : Cas de résultats de la fermentation des sucres par les bactéries lactiques.

Tableau 10 : Profil de fermentation des sucres par les souches testées.

Souches	Xylose	Saccharose	Ribose	Lactose	Mannose	Raffinose	Maltose	Galactose
J ₁	+/-	+/-	+	-	+	+/-	+/-	+/-
J ₂	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₃	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₄	+/-	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₅	+/-	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-
J ₆	+/-	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-
J ₇	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₈	+/-	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₉	+/-	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₁₀	+/-	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₁₁	+/-	-	+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₁₂	+/-	-	+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₁₃	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
J ₁₄	+/-	+	+	-	+	+/-	+/-	+/-

+ : Résultats positifs ; - : Résultats négatifs ; +/-: Résultats variables

III.2.4. Identification par logiciel :

Le traitement des résultats des profils de fermentation des sucres et d'autres tests par logiciel API LAB au niveau du laboratoire de biologie des microorganismes et biotechnologie, de l'université ES- SENIA a permis d'identifier les souches en donnant le nom de l'espèce bactérienne correspondante à chaque profil fermentaire. Le tableau 11 résume la nomenclature des espèces identifiées.

Tableau 11 : Les noms scientifiques des espèces identifiées.

Code	Espèce identifiée
J ₁	<i>Lactobacillus viridescens</i>
J ₂	<i>Lactobacillus curvatus</i>
J ₃	<i>Lactobacillus curvatus</i>
J ₄	<i>Lactobacillus fermentum</i>
J ₅	<i>Lactobacillus plantarum</i>
J ₆	<i>Lactobacillus plantarum</i>
J ₇	<i>Lactobacillus curvatus</i>
J ₈	<i>Lactobacillus brevis</i>
J ₉	<i>Lactobacillus fermentum</i>
J ₁₀	<i>Lactobacillus fermentum</i>
J ₁₁	<i>Lactobacillus bif fermentans</i>
J ₁₂	<i>Lactobacillus bif fermentans</i>
J ₁₃	<i>Lactobacillus curvatus</i>
J ₁₄	<i>Lactobacillus viridescens</i>

La lecture des résultats de tableau 11, confirme la dominance de la forme bacillaire des souches représentée par le genre *Lactobacillus*. Après isolement et purification on y arrivait à identifier six espèces différentes de bactéries lactiques, leur distribution selon le pourcentage d'apparition est le suivant et est illustré par la figure 07.

<i>Lactobacillus viridescens</i> :	14,28%.
<i>Lactobacillus curvatus</i> :	28,6%.
<i>Lactobacillus fermentum</i> :	21,42%.
<i>Lactobacillus plantarum</i> :	14,28 %.
<i>Lactobacillus brevis</i> :	7,14%.
<i>Lactobacillus bifementans</i> :	14,28%.

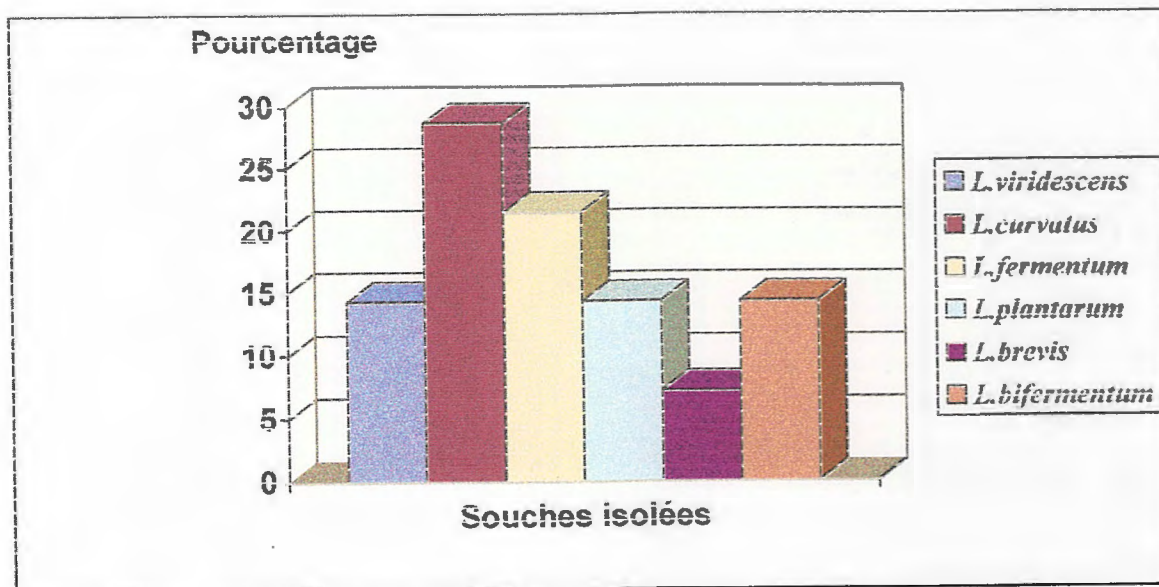


Figure 07: Répartition des espèces des bactéries lactiques en pourcentage.

III.3. Etude de quelques aptitudes technologiques :

III.3.1. Pouvoir acidifiant :

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Le processus d'acidification, étroitement associé à la croissance bactérienne, se traduit par l'accumulation progressive d'acide lactique dans le milieu de culture, pour cela et pour des objectifs technologiques notamment en laiterie et en fromagerie, il est très intéressant de préciser le pouvoir acidifiant des souches lactiques (Corrieu et Luquet, 2008).

Le tableau 12 illustre les résultats de ce test. L'évolution de l'acidité au cours de la croissance des souches identifiées dans le lait écrémé stérile a montré une différence importante et une hétérogénéité entre ces dernières.

Tableau12 : Résultats de l'activité acidifiante des bactéries lactiques

Souches	T : 0h	T : 3h	T : 6h	T : 12h
	°D	°D	°D	°D
J ₁	18	56	69	70
J ₂	18	21	50	55
J ₃	18	32	65	72
J ₄	18	30	50	55
J ₅	18	30	40	60
J ₆	18	30	45	70
J ₇	18	20	40	45
J ₈	18	39	75	79
J ₉	18	30	50	55
J ₁₀	18	30	35	45
J ₁₁	18	25	40	45
J ₁₂	18	30	45	70
J ₁₃	18	30	40	45
J ₁₄	18	35	50	55

T : temps ; °D : degré dornic ; h : heure

D'après les résultats, il apparaît que la quantité d'acide lactique produite varie entre les souches de la même espèce et augmente d'une façon considérable.

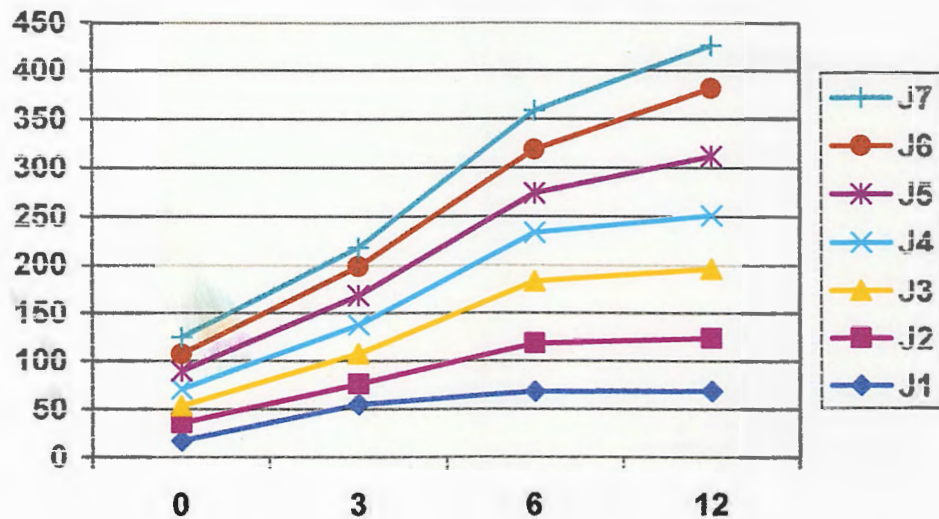
Après 3heures d'incubation, la quantité d'acide lactique produite varie entre 2 et 5,6g d'acide lactique par litre du lait. Ainsi et au bout de 12 heures d'incubation, la quantité d'acide lactique produite se situe entre 4,5 et 7,9g/l dont le maximum est produit par l'espèce : *L. brevis* codée J₈.

Par ailleurs, cette production diffère au sein des biotypes de la même souche comme chez *L. viridescens* codée J₁, où on a marqué un taux de production de 7g/l par rapport à 5,5g/l produit par celle codée J₁₄. Cependant, la même constatation a été enregistrée avec les souches de *L. curvatus* codées J₂, J₃, J₇, J₁₃ et *L. bifermens* codées J₁₁, J₁₂. En revanche, le contraire est noté à l'égard des souches de *L. fermentum* codées J₄, J₉, J₁₀ et *L. plantarum* codées J₅, J₆ où il y a une similarité de leur aptitude acidifiante.

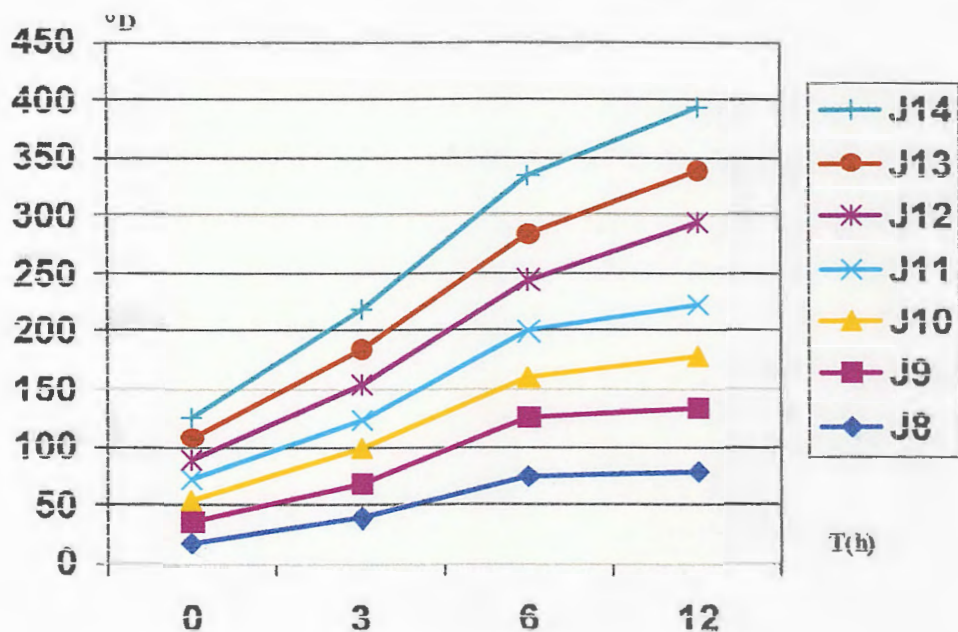
La vitesse d'acidification est un critère important en technologie qui vise à sélectionner les souches rapidement acidifiantes, en effet **Mc.Kayl (1983)** a rapporté que cette propriété est étroitement liée à la présence de plasmides dans la cellule.

Nos résultats se concordent et ceux de **Idoui et Karam (2008)** où il a été rapporté que des souches de *L. curvatus* BJ023 et *L. plantarum* BJ051 et BJ0021 isolées du beurre local, produisent une forte acidité sur lait écrémé. Cependant nos résultats vont et ceux de **Idoui et al. (2009)**. Dans le travail de ces auteurs, les valeurs de l'acidité produits par les lactiques isolés des olives fermentés traditionnellement sont presque comparables aux notre (41.00 à 86.50°D/12h d'incubation).

Les résultats d'une étude menée par **Idoui et al. (2009)** sur les bactéries lactiques du beurre de brebis ont montré que les souches de *L. plantarum* SB16 et SB2 étaient fortement acidifiante et arrivent à coaguler le lait au bout de 6h, ce sont des souches dite rapide ou « *Fast Acid Producer* ».



(a): Evolution de l'acidité après 12h d'incubation



(b) : Evolution de l'acidité après 12h d'incubation.

Figure 08.

III.3.2. Pouvoir protéolytique :

La méthode des puits réalisée pour ce test, a donné des résultats négatifs, car il n'y avait pas de zones de protéolyse autour des puits, donc on propose d'appliquer la méthode standard dite « méthode en touche ».

Contrairement à nos résultats, **Idoui et Karam (2008)** ont montré que des souches de *L.plantarum*, de *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc lactis* exercent une activité protéolytique sur le même milieu de culture (YMA) avec des zones de protéolyse de diamètre > 5mm. De même

Idoui et al. (2009) ont mis en évidence une activité protéolytique de bactéries lactiques isolées du beurre de brebis.

La protéolyse constitue l'un des phénomènes majeurs de l'affinage des fromages. Elle agit aussi bien sur la texture de la pâte que sur sa saveur et son arôme (Fox et Law, 1991).

La trame protéique, obtenue après coagulation du lait et égouttage du caillé, surtout si elle est fortement minéralisée, possède un caractère ferme et élastique. Les protéases bactériennes participent à la dégradation partielle de cette trame protéique, ce qui conduit en fin d'affinage, à une texture moins élastique, plus fondante (Desmazaud et al., 1976 ; Alias, 1984).

Les protéases des bactéries lactiques libèrent des oligopeptides et des acides aminés, qui participent à la saveur et à l'arôme des fromages, soit par eux-mêmes, soit par leur métabolites: acides volatils, alcool... (Mc Sweeney, 1997 ; Urbach, 1997).

III.3.3. Pouvoir texturant :

Les résultats de ce test sont portés sur le tableau 13, Le résultat positif se traduit par l'apparition de colonies larges et gluantes avec aspect brillant sur la gélose hypersaccharosée, on se basant sur cette observation, on a pu remarquer quelques espèces à pouvoir texturant plus ou moins marqué, parmi toutes les souches étudiées il y a seulement 4 souches qui ont la capacité de produire des polysaccharides, elles représentent environ 28.57% de la collection des bactéries lactiques isolées et identifiées, ce sont les souches codées J₂ et J₇ : *Lactobacillus curvatus*, J₄ : *Lactobacillus fermentum* et J₁₁ : *Lactobacillus bifementans*.

Tableau (13) : La production de polysaccharides par les bactéries lactiques.

Souches	Observation	Conclusion
J ₁	colonies régulières	Test négatif
J ₂	colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J ₃	colonies régulières	Test négatif
J ₄	colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J ₅	colonies régulières	Test négatif
J ₆	colonies régulières	Test négatif
J ₇	colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J ₈	colonies régulières	Test négatif
J ₉	colonies régulières	Test négatif
J ₁₀	colonies régulières	Test négatif
J ₁₁	colonies larges, gluantes avec aspect brillant	Test positif
J ₁₂	colonies régulières	Test négatif
J ₁₃	colonies régulières	Test négatif
J ₁₄	colonies régulières	Test négatif

On est arrivé aussi à remarquer que les 10 souches restantes codées J₁ et J₁₄ : *Lactobacillus viridescens*, J₃ et J₁₃ : *Lactobacillus curvatus*, J₅ et J₆ : *Lactobacillus plantarum*, J₈ : *Lactobacillus brevis*, J₉ et J₁₀ : *Lactobacillus fermentum* et J₁₂ : *Lactobacillus bifementans* qui représentent 71.42%, donnent une croissance sur le même milieu mais avec des colonies de forme régulière. Elles sont incapables de produire des polysaccharides à partir du saccharose existant dans le milieu, mais cela ne prouve pas qu'elles ne puissent pas produire de polysaccharides dans d'autres conditions, car elles peuvent probablement avoir cette activité sur d'autres milieux spécifiques.

Les résultats de deux études récentes, menées par Idoui et Karam (2008) et Idoui et al. (2009), ont montré que parmi les souches étudiées seules les souches de *Leuconostoc mesenteroides* ssp *dextranicum* produisaient ce facteur rhéologique sur la gélose hypersaccharosée.

La photo 06 illustre la production de polysaccharides par les bactéries lactiques.

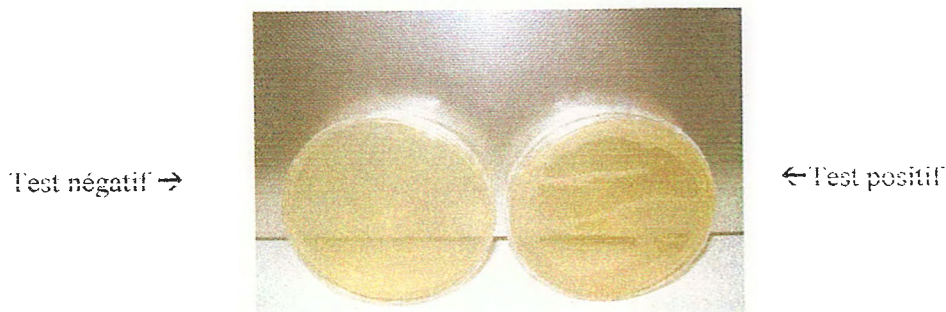


Photo 06: Pouvoir texturant sur milieu hypersaccharosé.

On se basant sur les résultats précédents, on peut dire que 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 intervenants pour la biosynthèse des polysaccharides (Van Kranenburg et Devosco, 1998).

Les propriétés texturantes des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. Ainsi, la production d'expolysaccharides par les bactéries lors de leur développement dans le lait, évite d'augmenter le taux protéique du produit ou d'avoir recours à l'ajout d'additifs, tels que les texturants et des épaississants, lors de la production de yaourts (Sodini, 2004).

La présence d'expolysaccharides a pour effet de réduire la synérèse lors du stockage au froid des produits laitiers fermentés. Le rôle principal des expolysaccharides est d'améliorer les propriétés mécaniques des gels lactiques en augmentant leur texture et leur viscosité (Corrieu et Luquet, 2008).

III.4. Evaluation des aptitudes probiotiques :

III.4.1. Croissance sur milieu acide :

D'après les résultats obtenus, il apparaît clairement que les bactéries lactiques possèdent une tolérance considérable aux acides. Les résultats témoignent une différence de chiffre très nette entre les souches testées. On observe une croissance pour toutes les souches et cela par comparaison des DO (λ : 620 nm) aussi que le nombre de cellules à T= 0h et après 3heures d'incubation en présence de tous les composants du contenu du jabot.

Les souches ont donné une croissance remarquable sur ce milieu qui est considéré comme hostile. La DO (λ : 620 nm) a montré une augmentation qui varie de + 0.6360 à + 1.1303. Les *Lactobacillus plantarum* codées J₅, J₁₄ et J₆ ainsi que *Lactobacillus viridescens* J₁₄ sont les plus résistantes de la collection mise au test du fait que le nombre de cellules a enregistré une augmentation considérable.

Comme, on a marqué une tolérance moyenne chez les souches *Lactobacillus viridescens* (J₁), *Lactobacillus curvatus* (J₂, J₃ et J₁₃), *Lactobacillus fermentum* (J₁₀) et *Lactobacillus bif fermentans* (J₁₁) avec un nombre de cellules assez important.

Concernant les souches restantes *L. curvatus* (J₇), *L. brevis* (J₈), *L. fermentum* (J₉) et *L. bif fermentans* (J₁₂), leur croissance en présence des acides est faible comparativement à d'autres souches de même espèce.

Le pH du milieu influence fortement la croissance des bactéries lactiques. Les valeurs de pH optimal de croissance sont généralement comprise entre 6 et 6.5 pour les lactocoques, leuconostoc et *Streptococcus thermophilus*, et entre 5.5 et 6 pour les lactobacilles. Des différences peuvent existées entre les souches appartenant à une même espèce (Corrieu et luquet, 2008).

Des résultats similaires ont été trouvés par Idoui et al. (2007). Ces auteurs ont rapporté que la souche *L. plantarum* BJ0021 présentait une tolérance aux milieux acides.

Parmi les espèces étudiées par Adamberg et al. (2003), celles qui présentent le taux de croissance le plus faible sont celles dont la croissance est la moins affectée par un changement de pH. Lors de leur culture dans du lait, les bactéries lactiques acidifient le milieu de culture, ce qui entraîne une baisse de leur taux de croissance, jusqu'à provoquer un arrêt complet de croissance.

Tableau 14: La croissance des bactéries lactiques sur milieu acide.

Incubation (h)	0		3		Différence
	NC/ml	D.O	NC/ml	D.O	
souches					D.O
<i>L. viridescens</i> J1	9 x10 ⁶	1.0454	32 x10 ⁶	1.8641	0.8187
<i>L. viridescens</i> J14	43 x10 ⁶	0.6581	93 x10 ⁶	1.6927	1.0346
<i>L. curvatus</i> J2	8 x10 ⁶	1.0010	29 x10 ⁶	1.8098	0.8088
<i>L. curvatus</i> J3	9 x10 ⁶	0.7410	37 x10 ⁶	1.7134	0.9724
<i>L. curvatus</i> J7	87 x10 ⁶	0.8461	96 x10 ⁶	1.6323	0.7862
<i>L. curvatus</i> J13	37 x10 ⁶	0.5239	76 x10 ⁶	1.5038	0.9799
<i>L. brevis</i> J8	52 x10 ⁶	1.2606	68 x10 ⁶	1.9448	0.6842
<i>L. plantarum</i> J5	28 x10 ⁶	0.4476	59 x10 ⁶	1.5488	1.1012
<i>L. plantarum</i> J6	64 x10 ⁶	0.5903	85 x10 ⁶	1.6215	1.0312
<i>L. fermentum</i> J4	23 x10 ⁶	0.4154	51 x10 ⁶	1.5457	1.1303
<i>L. fermentum</i> J9	63 x10 ⁶	0.9319	96 x10 ⁶	1.7108	0.7789
<i>L. fermentum</i> J10	71 x10 ⁶	0.8489	93 x10 ⁶	1.7028	0.8539
<i>L. bif fermentans</i> J11	37 x10 ⁶	0.7703	57 x10 ⁶	1.6863	0.9160
<i>L. bif fermentans</i> J12	76 x10 ⁶	1.2643	89 x10 ⁶	1.9003	0.6360

DO: Densité optique ; NC : Nombre de cellule ; λ: 620 nm

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.4.2. Croissance en présence de sels biliaries :

L'information tirée de ce test indique une sensibilité des bactéries lactiques aux sels biliaries, car on a remarqué un abaissement notable dans les valeurs de la densité optique mesurées en absence et en présence de sels biliaries mais cela n'empêche que le nombre de cellules reste supérieur à 10⁶/ml de liquide de culture.

Après la comparaison des différents résultats relatifs à la tolérance de notre souchier aux sels biliaries, on peut noter une hétérogénéité remarquable de leur capacité à se développer sur le milieu contenant cet agent considéré comme inhibiteur.

Les résultats du tableau 15 reflètent un comportement assez différent entre les souches de même espèce, ainsi, il apparaît que *L. viridescens* J₁₄ est plus résistante que celle codée J₁ ou on note une diminution respective après 3h d'incubation de $- 49 \times 10^6$ et -36×10^6 cellules/ml comparativement à la concentration cellulaire initiale.

De même, *L. curvatus* J₇ semble être la plus résistante comparativement aux autres souches de même espèce. Cependant, la lecture des résultats nous laisse constater que la souche codée J₁₀ représentée par l'espèce *L. fermentum* est la plus résistante de la collection, elle manifeste une croissance sur le milieu à 0.3% de sels biliaires avec un nombre approximatif de 1.78×10^8 cellules. ml⁻¹ après une durée d'incubation de 3h.

Tableau 15 : Effet des sels biliaires sur la croissance des bactéries lactiques.

Souches	Témoin	A 0.3% de sels biliaires
	NC /ml	NC /ml
<i>L. viridescens</i> J1	54×10^6	18×10^6
<i>L. viridescens</i> J14	187×10^6	138×10^6
<i>L. curvatus</i> J2	81×10^6	42×10^6
<i>L. curvatus</i> J3	27×10^6	18×10^6
<i>L. curvatus</i> J7	231×10^6	204×10^6
<i>L. curvatus</i> J13	212×10^6	198×10^6
<i>L. plantarum</i> J5	164×10^6	71×10^6
<i>L. plantarum</i> J6	86×10^6	35×10^6
<i>L. fermentum</i> J4	95×10^6	24×10^6
<i>L. fermentum</i> J9	136×10^6	128×10^6
<i>L. fermentum</i> J10	236×10^6	178×10^6
<i>L. bif fermentans</i> J11	149×10^6	118×10^6
<i>L. bif fermentans</i> J12	36×10^6	29×10^6
<i>L. brevis</i> J8	210×10^6	180×10^6

NC : nombre de cellules

Il a été rapporté que la valeur commerciale d'un produit de santé naturel ne dépend pas seulement du type de probiotique utilisé, mais dépend aussi de sa concentration qui doit être suffisante et de son activité métabolique. Ainsi, lors de l'évaluation des probiotiques, il est nécessaire de déterminer leur capacité à résister aux effets des sels pancréatiques et biliaires (Robin et Rouchy, 2001).

Des études dans ce sens ont été réalisées, ainsi Roy et al. (2006) ont étudié les procédures disponibles pour déterminer la capacité des probiotiques à tolérer la présence élevée d'acides et de protéases, de survivre et de croître en présence d'acides biliaires, de survivre au passage dans l'estomac et l'intestin grêle et d'atteindre l'endroit cible.

Par ailleurs, Lin et al. (2007) ont indiqué que la concentration des sels biliaires dans le contenu intestinal d'animaux a été affectée par l'âge et l'alimentation, ainsi, des études appliquées sur des souches de *L. fermentum* isolées de tube digestif des volailles ont montré qu'elles possèdent une tolérance à différentes concentrations de sels biliaires.

Dans une étude menée par Idoui et al. (2007), il a été montré que des souches de *L. plantarum* isolées du beurre traditionnel de la région de Jijel, avaient l'aptitude à résister à 2% de sels biliaires.

III.4.3. Résistances aux antibiotiques :

Les résultats de ce test sont portés dans le tableau 16 (la photo 07). La conclusion tirée de ce test est que nos souches sont tous résistantes aux antibiotiques : Erythromycine, Streptomycine et Tétracycline. Par contre le traitement des souches par les deux antibiotiques : Chloramphenicol et Penicilline G révèle que les souches J₃ : *L. curvatus*, J₇ : *L. plantarum*, J₁₃ : *L. curvatus*, J₄ : *L. fermentum*, J₅ et J₆ : *L. plantarum*, J₁₁ et J₁₂ : *L. bif fermentans* et J₁₄ : *L. viridescens* sont sensibles.

Tableau 16 : Résistances des bactéries lactiques aux antibiotiques.

Souches	E (30µg)	S (10µg)	T (30µg)	C (30µg)	P.G (6µg)
<i>L. viridescens</i> J ₁	R	R	R	R	R
<i>L. curvatus</i> J ₂	R	R	R	R	R
<i>L. curvatus</i> J ₃	R	R	R	S	S
<i>L. fermentum</i> J ₄	R	R	R	S	S
<i>L. plantarum</i> J ₅	R	R	R	S	S
<i>L. plantarum</i> J ₆	R	R	R	S	S
<i>L. curvatus</i> J ₇	R	R	R	S	S
<i>L. brevis</i> J ₈	R	R	R	R	R
<i>L. fermentum</i> J ₉	R	R	R	R	R
<i>L. fermentum</i> J ₁₀	R	R	R	R	R
<i>L. bif fermentans</i> J ₁₁	R	R	R	S	S
<i>L. bif fermentans</i> J ₁₂	R	R	R	S	S
<i>L. curvatus</i> J ₁₃	R	R	R	S	S
<i>L. viridescens</i> J ₁₄	R	R	R	S	S

E: Erythrom-ycine ; S : Streptomycine ; T : Tétracycline ; C : Chloramphenicol ;
P-G : Penicilline G ; S: sensible R: résistante

Malami et al. (2002) ont rapporté que les bactéries lactiques étaient résistantes aux principaux antibiotiques. Cependant des résultats similaires ont été trouvés par Idoui et al. (2007), ou une souche de *L. plantarum* BJ0021 a montré une résistance à tout les antibiotiques testés à l'exception du chloramphénicol.

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 (Gariga et al., 1998).



Photo 07: Résistance et sensibilité des bactéries lactiques aux antibiotiques.

III.4.4. Interaction entre bactéries lactiques et entérobactéries :

Ce test va mettre en évidence les caractéristiques que possèdent, certaines souches de bactéries lactiques à stimuler ou inhiber d'autres souches une fois mises en contact. Les résultats relatifs à ce test sont présentés dans le tableau 17.

Il est clair, d'après les résultats que les souches étudiées manifestent un antagonisme prononcé vis-à-vis des entérobactéries, dont on a pu distinguer deux cas :

-La présence de zones d'inhibition qui est le résultat d'un hétéro antagonisme exercé par les bactéries lactiques envers les souches entérobactéries où les diamètres de zones d'inhibitions étaient entre 5 à 25 mm dont les bactéries lactiques codées J₁: *L. viridescens*, J₃: *L. curvatus*, J₈: *L. brevis*, J₁₂: *L. bif fermentans* et J₁₄: *L. viridescens* présentent les zones d'inhibition les plus larges.

-L'absence des zones d'inhibition qui s'est traduit par une symbiose qui est le résultat d'une interaction positive qui s'exprime par la stimulation de la croissance des souches mises en contact et cela est observé chez les souches J₂ : *L. curvatus* et J₁₂ : *L. bif fermentans* vis-à-vis d'*Enterobacter hermannii* et *Escherichia coli* respectivement.

Des résultats similaires ont été trouvés par **Idoui et al. (2007)**. Ces auteurs ont rapporté qu'une souche de *L. plantarum* BJ0021 avait un large spectre d'inhibition vis-à-vis d'une microflore entérobactérienne originaire du tube digestif du lapin. Par ailleurs, **Idoui et Karam (2008)** ont montré dans une étude que les bactéries lactiques isolées du beurre traditionnel avaient une activité antagonistique très marquée à l'encontre d'une autre collection lactique.

Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant des activités antibactériennes sur les bactéries à Gram négative. Ainsi, ces substances agissent différemment sur les souches sensibles, parmi ces substances, il existe celles qui sont généralement de nature protéiques (**Vandenberg, 1993**).

Par ailleurs, les bactéries lactiques sont connues par la production de composés toxiques et autres métabolites tel que l'acide lactique, les acides organiques, les diacétyl et le peroxydes d'hydrogène. Ces composés se manifestent par une inhibition de différents micro-organismes indésirables et en particulier les Gram négatives (**Leveau et al., 1991**).

Avoir une action bactéricide et pas seulement bactériostatique, Il s'agit, dans les produits alimentaires, d'éliminer définitivement la contamination initiale, afin qu'aucun développement de

bactéries nuisibles ne puisse reprendre dès que les conditions de pH favorables à ces germes réapparaissent (Desmazeaud, 1996).

Tableau (17) : Activité inhibitrice des bactéries lactiques sur les entérobactéries.

Ø d'inhibition (mm)	Entérobactéries	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter hermannii</i>	Hafnia spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Proteus</i> spp	<i>Shigella</i> spp	<i>Citrobacter</i> spp	<i>Erwinia</i> spp	<i>Enterobacter intermedius</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Klatsiella</i> spp	<i>Escherichia vulvris</i>	<i>Citrobacter cinenticus</i>	<i>Enterobacter gergovae</i>	<i>Morganella morganii</i>
BL																
J1		14	6	6	6	23	7	8	7	11	11	8	12	17	13	10
J2		17	0	6	6	8	6	8	10	11	7	8	9	18	10	19
J3		15	10	8	10	16	7	10	10	23	8	8	22	8	10	16
J4		10	9	9	15	14	7	8	13	12	8	8	17	17	16	20
J5		7	8	13	9	7	8	8	12	7	6	7	13	14	15	13
J6		16	8	11	7	17	8	6	13	8	8	8	17	8	20	10
J7		12	8	13	17	10	8	8	11	9	12	11	11	17	13	18
J8		7	8	12	11	24	7	7	8	10	11	12	13	15	10	13
J9		6	8	14	8	16	7	10	9	12	10	13	16	18	15	14
J10		10	10	16	7	13	7	5	18	11	15	11	15	11	13	16
J11		9	7	16	17	8	7	10	15	12	8	12	20	13	7	15
J12		0	15	11	8	15	7	11	12	1	10	9	11	16	25	17
J13		7	11	10	13	13	7	8	11	9	12	8	11	14	17	15
J14		8	12	8	23	13	7	10	13	9	10	6	20	15	12	18

L'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes par les probiotiques peut se faire de différentes façons. La production d'acides organiques (acide lactique ou acide acétique) à partir de glucides ingérés lors de la prise alimentaire limite, en abaissant le pH, le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella*. La baisse des coliformes dans le tube digestif serait due au pH très bas. Ce faible pH est obtenu grâce à l'apport de lait acidifié par de l'acide lactique. En milieu humide, les lactobactéries produisent du peroxyde d'hydrogène inhibiteur de nombreuses souches bactériennes pathogènes, mais respectant l'écosystème des bactéries elles-mêmes. Cette production de peroxyde d'hydrogène et d'acide lactique peut bloquer le développement de certaines espèces pathogènes comme le virus de la fièvre aphteuse, certains virus de la poliomyélite, certains champignons comme le *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium butyricum*, *Pseudomonas spp* et *Salmonella*. De plus, l'acidification favoriserait la régulation du transit intestinal (Roy et al., 2006).

La photo suivante illustre des effets d'antagonisme et de symbiose entre bactéries lactiques et entérobactéries.

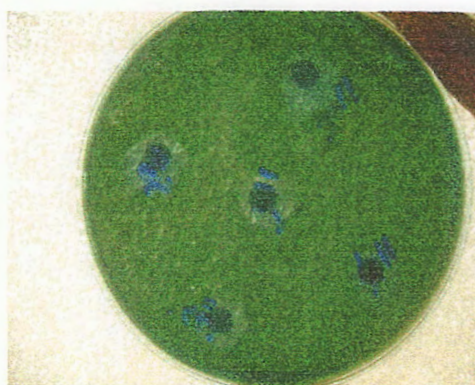


Photo 08: Activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis les entérobactéries.

III. 4.5. Activité inhibitrice des surnageants natifs :

Les résultats illustrant la résistance et la sensibilité des souches testées vis-à-vis du contenu des bactéries lactiques sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Effet des surnageants natif sur les entérobactéries.

Surnageants	Entérobactéries													
	J ₁ : <i>L. viridescens</i>	J ₂ : <i>L. curvatus</i>	J ₃ : <i>L. curvatus</i>	J ₄ : <i>L. fermentum</i>	J ₅ : <i>L. plantarum</i>	J ₆ : <i>L. plantarum</i>	J ₇ : <i>L. curvatus</i>	J ₈ : <i>L. brevis</i>	J ₉ : <i>L. fermentum</i>	J ₁₀ : <i>L. fermentum</i>	J ₁₁ : <i>L. bifementans</i>	J ₁₂ : <i>L. bifementans</i>	J ₁₃ : <i>L. curvatus</i>	J ₁₄ : <i>L. viridescens</i>
<i>Citrobacter cuntenicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E coli</i>	0	0	0	15	10	11	20	15	15	10	10	16	25	20
<i>Enterobacter spp</i>	15	15	15	10	10	25	12	15	11	20	20	41	20	10
<i>Shigella spp</i>	20	12	0	20	30	15	10	15	0	15	0	15	0	17
<i>Escherichia vulgaris</i>	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	11	0	0	0
<i>Entrobacter gergovae</i>	15	10	15	10	10	10	10	10	12	15	15	25	15	10
<i>Morganella morganii</i>	10	10	10	10	20	10	20	30	32	15	0	15	17	16
<i>Klebsiella spp</i>	11	0	12	0	4	11	12	16	22	8	0	11	11	0
<i>Enterobacter hermanii</i>	12	10	8	6	6	0	8	0	12	15	12	10	10	8
<i>Citrobacter diversus</i>	0	18	0	0	13	16	17	11	17	12	10	14	0	6
<i>Proteus spp</i>	11	37	43	32	14	17	20	17	13	11	12	11	12	13
<i>Erwinia spp</i>	11	20	12	12	11	12	10	12	21	12	11	12	16	12
<i>Enterobacter intermedius</i>	8	8	11	12	15	12	13	21	21	26	20	30	23	21
<i>Citrobacter spp</i>	25	21	13	10	8	16	12	11	35	12	16	18	18	15
<i>Hafnia spp</i>	0	12	8	11	12	8	11	12	11	16	20	25	11	26
Rapport de sensibilité	10	11	10	11	14	13	14	14	13	14	11	13	11	12

Il apparaît clairement qu'il y a une persistance de l'activité inhibitrice des surnageants natifs sur les entérobactéries mais avec une différence de résistance de ces derniers très remarquable vis-à-vis des composantes de ces surnageants.

En effet, et à titre d'exemple, le surnageant natif de la souche codée J1 de *L. viridescens* inhibe 10 parmi les 15 entérobactéries soumis au test avec des diamètres d'inhibition de 8 à 25mm dont la souche la plus sensible est *Citrobacter* spp. Le même constat est noté à l'égard du reste des surnageants.

L'analyse des résultats montre que les surnageants les plus actifs sont ceux obtenus à partir des *L. plantarum* J5, *L. curvatus* J7, *L. brevis* J8 et *L. fermentum* J10 car il y a une inhibition de 14 souches sur les quinze souches entérobactéries.

La technique utilisée pour l'obtention de surnageant nous a permis de récupérer tous les métabolites cellulaires des bactéries lactiques, et c'est l'effet combiné de ces substances qui est à l'origine de cette activité inhibitrice.

Des résultats similaires ont été trouvés par **Idoui et al. (2007)**. Ces auteurs ont rapporté que le surnageant natif d'une souche de *L. plantarum* BJ0021 avait un large spectre d'inhibition vis-à-vis d'une microflore entérobactéries originaire du tube digestif du lapin.

Bourgeois et Larpent (1996) ont rapporté que les acides organiques peuvent exercer une action inhibitrice spécifique et d'autres part l'activité inhibitrice peut être liée également à de nombreux autres agents à savoir, peroxydes d'hydrogène, diacétyl, éthanol, CO₂, antibiotique et bactériocine. Cependant, **Reinheimerj (1990)** a montré que la production d'acide organique tel que l'acide lactique limite en abaissant le pH, le développement de *Escherichia* sp.

La photo 09, illustre l'activité inhibitrice de surnageant natif des bactéries lactiques sur les entérobactéries.



Photo09 Résultat de l'effet du surnageant natif

III.4.6. Activité inhibitrice des surnageants neutres :

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 19 et par comparaison avec ceux obtenus avec les surnageants natifs (tableau 18) on remarque que le spectre d'action des surnageants neutres est plus faible.

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 d'inhibition est représenté par les acides organiques produit par nos souches lactiques.

La présence des zones d'inhibition est liée à la présence des métabolites ayant une action antimicrobienne sur les souches entérobactéries, alors qu'après élimination des acides organiques par l'ajustement de pH, l'inhibition qui persiste est due aux autres substances telles que les bactériocines, les antibiotique, H₂O₂ et autres substances. Il apparaît que les surnageants neutres de *L.bifermentans* J₁₀ et *L.viridescens* J₁₄ sont les plus actifs sur cette collection entérobactéries dont ils inhibent équitablement six parmi les 15 souches mises au test.

Dans une étude menée par **Idoui et al. (2007)**, le surnagent neutre de *L.plantarum* BJ0021 avait un spectre d'inhibition vis-à-vis d'une microflore entérobactéries originaire du tube digestif du lapin moins important que celui du surnagent natif.

L'apparition de l'activité antagonistique, après élimination de l'acide lactique confirme la présence des autres substances antibactériennes (**Ligocka et Paluszak, 2005**).

Tableau 19: Effet des surnageant neutre des bactéries lactiques sur les entérobactéries.

Surnageants neutres														
Diamètre en mm														
Entérobactéries	J ₁ : <i>Lb viridescens</i>	J ₂ : <i>Lb curvatus</i>	J ₃ : <i>Lb curvatus</i>	J ₄ : <i>Lb fermentum</i>	J ₅ : <i>Lb plantarum</i>	J ₆ : <i>Lb plantarum</i>	J ₇ : <i>Lb curvatus</i>	J ₈ : <i>Lb brevis</i>	J ₉ : <i>Lb fermentum</i>	J ₁₀ : <i>Lb fermentum</i>	J ₁₁ : <i>Lb bifermentans</i>	J ₁₂ : <i>Lb bifermentans</i>	J ₁₃ : <i>Lb curvatus</i>	J ₁₄ : <i>Lb viridescens</i>
<i>Citrobacter cuntenicus</i>	0	0	0	0	11	12	12	10	15	13	8	12	8	11
<i>E coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	12
<i>Enterobacter spp</i>	12	11	13	10	15	13	14	13	17	14	13	12	10	11
<i>Shigella spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia vulgaris</i>	0	0	0	0	11	12	11	16	16	12	13	12	16	18
<i>Entrobacter gergovae</i>	11	12	12	13	0	0	0	0	0	11	12	12	12	11
<i>Morganella norganii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter hermanii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter diversus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0
<i>Erwinia spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter internadius</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter spp</i>	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hafnia spp</i>	0	0	0	0	12	0	12	14	0	0	19	0	0	18
Rapport de sensibilité	2	2	2	2	4	3	5	4	3	4	6	5	5	6

III.4.7. Pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales :

Après avoir testé l'aptitude de notre collection lactique à adhérer aux cellules épithéliales, il apparaît clairement que la majeure partie des souches a cette propriété probiotique.

Les résultats trouvés sont illustrés dans le tableau 20 en analysant les résultats obtenus, on peut noter que la majorité des souches à tester J₂, J₇ et J₁₃ : *L. curvatus*, J₄ et J₁₀ : *L. fermentum*, J₅ et

J₆ : *L. plantarum*, J₁₂ : *L. bifementans* et J₈ : *L. brevis* ont une capacité d'adhérence à l'épithélium digestif dont les souches codées J₂, J₁₃ et J₆ manifestent un excellent pouvoir d'adhésion pour lequel le comptage des bactéries fixé aux cellules était à un nombre assez important.

Contrairement au reste des souches lactique, *L. curvatus* codée J₃ et *L. bifementans* codée J₁₁ étaient démunis de cette aptitude mais cela n'empêche qu'il ne faut pas les exclure de la collection du moment que le test *in vivo* n'a pas été réalisé.

Tableau 20 : Adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales.

Souches	Pouvoir adhésif
<i>L. curvatus</i> J ₂	++
<i>L. curvatus</i> J ₃	-
<i>L. fermentum</i> J ₄	+
<i>L. plantarum</i> J ₅	+
<i>L. plantarum</i> J ₆	++
<i>L. brevis</i> J ₈	+
<i>L. fermentum</i> J ₁₀	+
<i>L. bifementans</i> J ₁₁	-
<i>L. bifementans</i> J ₁₂	+
<i>L. curvatus</i> J ₁₃	++
+: adhesion positive - : adhesion negative	

Les photos ci dessous, illustrent la capacité des espèces codées J₂ et J₃ (Photo 10) a adhéré aux cellules épithéliales et cela par comparaison aux données de la photo 11 qui représente le test négatif (après traitement et lavage du tissu).

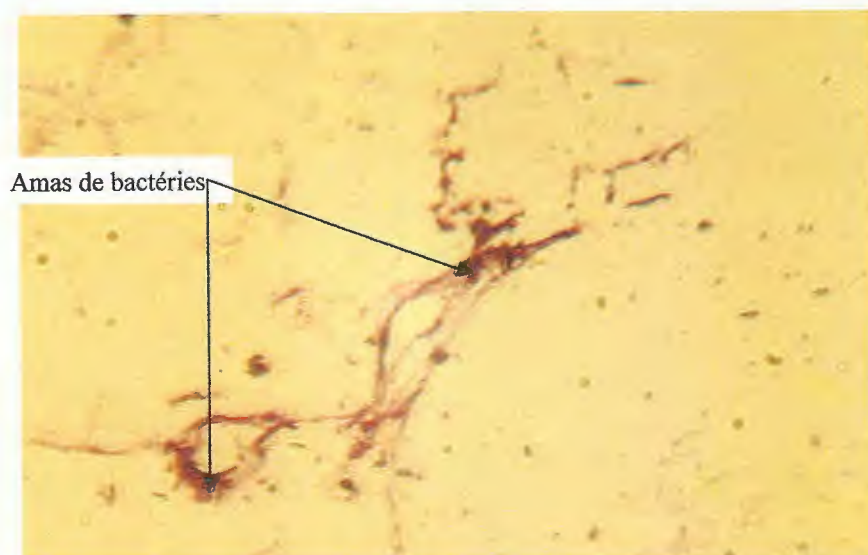


Photo 10 : Adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales.
(a) : *Lactobacillus curvatus*



Photo 11 : Absence d'adhésion des bactéries à l'épithélium (Témoin).

Les résultats d'un travail similaire conduit par **Lin et al. (2007)** sur l'adhésion des bactéries lactiques du jabot de poulet et d'autres volailles aux cellules épithéliales ont montré que des souches de *L. fermentum* avaient cette aptitude probiotique.

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est un des critères de sélection les plus importants des probiotiques parce qu'elle est considérée comme une condition préalable à la colonisation et la croissance; l'effet probiotique serait maximale si les organismes adhèrent aux cellules muqueuse intestinale (**Roy et al., 2006**).

Ainsi, d'après **Rouchy et Robin (2001)**, ces bactéries probiotiques devraient être capables de survivre en grand nombre aux conditions acides de l'estomac et aux sels biliaires de l'intestin lors de la consommation de produit, puis d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin afin de produire les effets bénéfiques désirés le plus longtemps possible.

Une étude récente a montré que des souches adhérentes *L. plantarum* et *L. rhamnosus* pouvaient coloniser de manière prolongée une partie du tube digestif en limitant l'implantation des germes pathogènes par compétition au niveau des sites de fixation pour la colonisation (**Rouchy et Robin, 2001**).

Cependant certaines études ont démontré que certaines souches actives, selon les modèles utilisés ne détenait pas toujours de bonnes propriétés adhésives (**Roy et al., 2006**). Les mêmes auteurs ont rapporté que certains probiotiques sont détruits dès leur passage dans l'estomac alors que d'autres traversent l'intestin grêle et parfois de colon à haute concentration. Les bactéries probiotiques peuvent survivre aux conditions gastriques en adhérant à la muqueuse intestinale grâce à des adhésines à la surface des bactéries (protéines, polysaccharides et composants de paroi de cellule). Elles offrent ainsi de nouvelles solutions de rechange diététique pour la stabilisation de la flore microbienne intestinale. Les souches les plus étudiées et les plus connues ne sont pas nécessairement les meilleurs de point de vue de leur pharmacocinétique.

Par ailleurs, les probiotiques pourraient agir en inhibant l'implantation des germes pathogènes par compétition pour la colonisation. Cette propriété pourrait constituer un avantage écologique favorisant les chances d'interrelation étroite avec l'épithélium entérocytaire et le système immunitaire locale. Certaines lactobacilles adhèrent aux villosités intestinales et inhibent la fixation de *Escherichia coli* entéro-pathogènes (**Roy et al., 2006**).

Conclusion

Dès l'époque des travaux de Metchnikoff sur les bactéries lactiques probiotiques, certains scientifiques ont pu déterminer quelques critères de sélection en tenant compte de l'origine écologique des bactéries, leur tolérance aux conditions hostiles stomacales, de l'intestin grêle, et leur capacité d'adhésion aux cellules épithéliales ou intestinales.

La première partie de notre étude a été basée sur l'isolement et la purification des bactéries lactiques à partir du jabot du poulet de chair ISA15, leur caractérisation au moyen des tests physiologiques et biochimiques associés à une identification par logiciel API LAB.

Ainsi, on a mis en place une banque de 14 souches lactiques, cette collection renferme 6 espèces appartenant aux genres *Lactobacillus* dont *Lactobacillus curvatus* est le plus dominant avec une proportion de 28,6%.

La deuxième partie a été axée sur l'évaluation de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques, à savoir le pouvoir acidifiant, la protéolyse et l'aptitude texturante. Les résultats obtenus étaient variables, dont on a remarqué que toutes les espèces ont une bonne acidification avec une production maximale de 9,5 g d'acide lactique par litre du lait.

Concernant leur pouvoir protéolytique, les résultats étaient douteux, donc on n'a pas pu confirmer cette activité, par ailleurs la recherche de la faculté de synthèse des polysaccharides a montré que 4 souches possèdent cette propriété.

Dans une dernière partie, on a testé les aptitudes probiotiques de nos souches lactiques, les deux tests de croissance en milieu acide et en milieu contenant les sels biliaries, ont montré que les bactéries lactiques résistent à ces conditions hostiles, avec une meilleure résistance de certaines souches telle que *Lactobacillus curvatus*.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a montré que globalement, toutes les souches lactiques sont résistantes à ces agents antibactériens.

L'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des entérobactéries était remarquable avec des diamètres de zone d'inhibition très variables d'une espèce à l'autre. Cependant, il apparaît que les surnageants natifs et neutres exercent une inhibition très variable envers les souches de la même collection mais avec des spectres moins importants.

Le test d'adhésion des bactéries lactiques aux cellules épithéliales, a montré que nos souches possèdent un pouvoir adhésif très remarquable.

D'une façon générale, la majeure partie de nos souches lactiques présente des aptitudes probiotiques selon les tests appliqués. Donc, ce travail était une bonne occasion pour l'amélioration de nos connaissances sur les bactéries lactiques, leur action probiotique, leur effet sur la santé et aussi leur utilisation en biotechnologie.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

- Adamberg K., Kask S., Laht T.M., Paalme T. (2003).** The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH auxostat study. *International Journal of Food Microbiology*. **85**: 171-183.
- Alias C. (1975).** Science du lait, Principe des techniques laitiers. *Sepaic*, France. 3^{ème} édition: 343-375.
- Alias C. (1984).** Science du lait, Principe des techniques laitiers. *Sepaic*, France. 36-68.
- Allamargot J. (1982).** Manuel d'anatomie et d'outopsie aviaires. L'appareil digestif et ses annexes. *Le Point Vétérinaire*: 15-32.
- Anuraclha Reshwari. (2005).** Results of preliminary, Open-Label Study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. **81**: 53-677.
- Apajalahti J., Kettunen A., Gramam H. (2004).** Characteristic of the gastro intestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World Poultry Science Journal*. **60**: 223-232.
- Bernet-Camarad M.F., Lievin V., Brassart D., Neeser J.R., Sewin A.L., Hudault S. (1997).** The human *Lactobacillus acidophilus* strain la-1 secretes non-bacteriocin antibacterial substances active *in vivo* and *in vitro*. *Applied Environmental Microbiol.* **63**: 2747-2753.
- Bourgeois C.M., Larpent J.P. (1996).** Manuel de bactériologie alimentaire. *Technique et Documentation, Lavoisier*: 398-401
- Brady L.M., Gallaher D.D., Buta F.F. (2000).** The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *Journal of Nutrition*. **130**: 410-414.
- Caplice E., Fitzgerald G.F. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food and Microbiol.* **50**: 131-149.
- Collins M.D., Williams A.M., Walbanks S. (1990).** The phylogeny of *Aerococcus* and *Pediococcus* as determined by 16S rRNA sequence analysis: description of *Tetragenococcus*. *F.E.M.S Microbiol Letter*. **58** : 255-265.
- Corrieu G., Luquet F. M. (2008).** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. *Tec et Doc. Lavoisier. Paris*. **5** : 515-793.
- Desmazeaud M. (1996).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: Utilisation et innocuité. *Unité de recherche laitières, Cedex, France*. **5**: 43-331.
- Desmazeaud M., Gripon J. C., Le Barrs., Bergère J. L. (1976).** Étude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. III. Influences des micro-organismes. *Lait*. **56**: 379- 385.
- Dieks L. M., Dallaglio F., Collins M.D. (1995).** Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni*. *International Journal of Systematic Bacteriol.* **45** :395-397.

- Droualt S., Corthier G. (2001).** Effet des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *INRA, EDP Sciences. Paris*: 101-112.
- FAO / WHO (2002).** Guide lines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in food, *London ;Otario, Canada*: 40-42.
- **Federighi M. (2005).** Bactériologie alimentaire : *compendium d'hygiène des aliments*. 5^{ème} édition. *Economica*: 220-240.
- Fox P. F., Law J. (1991).** Enzymology of cheese ripening. *Food Biotechnol.* **5**: 239-262.
- Fuller R. (1984).** Microbial activity in the alimentary tract of birds. *Production and Nutrition.* **43**: 55-61.
- Fuller R. (1989).** Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 78-365.
- Fuller R., Turvey A. (1997).** Bacteria associated with intestinal wall of the fowl. *Journal Applied of Bacteriology.* **44**: 75-80.
- Gabriel I., Mallet S., Sibill P. (2005).** La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA, Nouzilly, France*: 309-222.
- Gariga M., Pascual M., Monfort J. M., Hugas M. (1998).** Selection of *Lactobacillus* for chicken probiotic adjuncts. *Journal Applied Microbiology.* **84**: 125-132.
- Gerbaux V. (1994).** Bactéries lactiques. II. *Lorica, Uriage*. 583-587.
- Gilliland S. F., Walter D. K. (1990).** Factors to consider when selecting a dietary adjunct to produce a hypocholesterolic effect in humans. *Journal of Dairy Science.* **73**: 905-911.
- Gournier-Château N., Larpent J. P., Castellanos M.I ., Larpent J. L. (1994).** Les probiotiques en alimentation animale et humaine. *Tec et Doc. Lavoisier* : 1-129.
- Guiraud J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. 1^{ère} édition. *DUNOD. Paris*: 190-200.
- × **Guiraud J. P. (2003).** Microbiologie alimentaire. 2^{ème} édition. *DUNOD. Paris* : 89-462.
- × **Guiraud J. P., Rosec J. P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR. France*: 69-117.
- Halami P. M., Chandrashkar A., Nand (2002).** *Lactobacillus farciminis* MD, a newer strain with potential for bacteriocin and antibiotic assay. *Applied Microbiology.* **30**: 197-202.
- Hoebler C., Nicol G. (2004).** La barrière intestinale et l'action des probiotiques. *INRA*: 150-160.
- Holzappel W. H ., Shillinger O. (2002).** Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. *Food Rescusc Internal.* **35**: 109-116.

- Holzapfel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in't veld J.H. (1998).** Overview of gut flora and probiotics. *Journal of Food Microbiology*. **41**: 85-101.
- Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., Karam N. E. (2009).** Naturally fermented Jijelian black olives: microbiological. *Grasas y Aceites*. **60(5)**: 516-520.
- Idoui T., Karam N. (2008).** Lactic acid bacteria from Jijel's traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites*. **59 (4)**: 361-367.
- Idoui T., Leghouchi E., Karam N. E. (2007).** Selection of *Lactobacillus plantarum* BJ0021 for rabbit probiotic adjunct. *International Journal Of Prebiotics and Probiotics*. **2 (1)**:144-149.
- Idoui T., Leghouchi E., Karam N. (2009).** Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites*, **60(2)**: 177-183.
- Joffin C., Joffin J. N. (2000).** Microbiologie alimentaire. 5^{ème} édition. France : 126-132.
- Joffin J. N., Guy Layral. (2006).** Microbiologie technique. *Dictionnaire des techniques*. Tome 01. 4^{ème} édition. France: 12-239.
- Jones R.J. (2004).** Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiol.* **90**: 273-282.
- Knarreborg A., Simon M. A., Enberg R. M., Jensen B. B., Tannok G. W. (2002).** Effects of deity fat source and sub therapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl. Environ.* **68**: 5918-5924.
- Kolida S., Saulnier D. M., Gibson G. R. (1995).** Gastrointestinal microflora probiotics. *Food Microbial Sciences*: 161-212.
- Leveau J. Y., Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle: Les microorganismes d'intérêt industrielle. *Collection Science et Techniques Agroalimentaire*. Cedex. Paris: 172-181.
- Leveau J. Y., Bouix M., Deroissart H. (1991).** La flore lactique. Technique d'analyse et de contrôle dans les I.A.A. Tome 03. 2^{ème} édition. *Tec et Doc Lavoisier*: 1-20.
- Leveau J.Y., Bouix M., Droissart H. (1991).** Manuel de bactériologie alimentaire. *Polytechnica*. Paris: 2-40.
- Ligocka A., Paluszak Z. (2005).** Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage sludge subjected to biotechnological processes. *Bull Vet Inst Pulawy*. **49**: 23-27.
- Lima E. T., Filho A. (2005).** Bacteriocines: nomenclatures detection, mechanism of action and potential use poultry production. *J. Food, Agri. Environ.* **3(2)**: 62-66.
- Lin W. H., Yu B., Jang S.H., Tsen H. Y. (2007).** Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*. **13**: 107-113.

- Mead G. C. (1997).** Bacteria in the gastrointestinal tract of birds. In Mackie, R. I., White, B. A., Isaacson, R. E., (eds.), *Gastrointestinal microbiology*, vol. 2. *Chapman & Hall, New York, N.Y.*: 216-240.
- Marteau P. (2004).** Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des diarrhées post-antibiotiques. *Revue Elsevier SAS* :25-31.
- Mathlouthi N., Mallet S., Saulnier L., Quemener B., Larbier M. (2002).** Effect of xylanas and b-gluconas addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and ceacal microflora of broiler chicken fed a wheat and barley-based diet. *Animal Rescues*. **51**: 395-406.
- Mc Kayl L. (1983).** Functional properties of plasmids in lactic Streptococci. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **49**: 259-274.
- Mc Sweeny P.L.H. (1997).** The flavor of milk and dairy products. III. Cheese: Taste. *Internationa Journal of Dairy Technol*. **50**: 123-128.
- Metchnikoff E. (1907).** The prolongation of life. Optimistic studies. *Butterworth, Heinemann, London*.
- Midolo P. D., Lambert J. R., Hull R., Luo F., Grayson M. L. (1995).** In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC11637 by organic acids and lactic acid. *Journal Applied Bacteriol*. **79**: 475-479.
- Modler H.W., Mc Kellar R.C., Yagauchi M. (1990).** Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Canadian Institute of Food Science and Technol Journal* **23**: 29-41.
- Ogwa M., Shimizu K., Nomoto K., Takahashi M., Watanuki M., Tanaka R., Tanaka T., Hamabata. (2001).** Protective effect of *Lactobacillus casei* strain shirota on Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157: H7 .Infection in infant rabbits. *Infection and Immunology*. **69**: 1101-1108.
- Parker R. (1974).** The other half of antibiotic story. *Anin Nutrition Health*: 29-34.
- Percival M. (1999).** Intestinal health. *ANSR. Applied Nutrition Science Reports*. **5(5)**: 48-52.
- Piard J. C., Desmazeaud M. (1992).** Purification and Partial Characterization of Lacticin 481, a Lanthionine-Containing Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CNRZ 481. *Lait*. **72**: 113-142.
- Reinheimerj A. (1990).** Inhibition of coliforme bacteria by lactic culture. *Australian journal of Diary technology*. **2**: 5-9.
- Robin J. M., Rouchy A. (2001).** Les probiotiques. *Nutrithérapie INFO*.
- Rodgers S. (2001).** Inhibition of nonproteolytic *Clostridium botulinum* with lactic acid bacteria and their bacteriocins at refrigeration temperatures. *Trends in food Science Technol*. **12**: 276-284.

- Ross R P., Morgan S., Hill C. (2002).** Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiol.* 79: 3-16.
- Roy D., Amiot J., Boutin Y., Lamoureux M. (2006).** Innocuité, Qualité et Efficacité des probiotiques. Biotechnologie des cultures lactiques d'intérêt laitier et probiotique. *Canada.*
- Salminen S., Von Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., de Vos W. M., Fondèn R., Saxiellin M., Collins K., Mogensen G., Birkeland S. E., Mattila-Sandholm T. (1998).** Demonstration of safety of probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 44: 93-106.
- Sander M. F. (1999).** Probiotics. *Food Technol.* 53 (11): 11-50.
- Sanders M. E. (1993).** Effect of consumption of lactic cultures on human health. *Advantis Food Nutrition. Res.* 37: 67-130.
- Scardovi V. (1986).** In Bergey's Manual of systematic bacteriology. 2. Wilkins (eds), Baltimore Williams: 1418-1434.
- Sharpe M. E. (1979).** Identification methods for microbiologists. *Academic Press. London:* 233-259.
- Smith H. W. (1965).** Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathology and Bacteriol.* 89: 95-122.
- Sodini I., Remenf F., Haddad S., Corrieu G. (2004).** The relative effect of milk base, starter and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in food science and nutrition.* 44: 113-137.
- Souilem O., Gogny M. (1994).** Particularités de la physiologie digestive des volailles. *Revue de la Médecine Vétérinaire. INRA.* 145: 525-537.
- Soustre Y. (2009).** Les produits laitiers: questions sur les bactéries lactiques. *Dr ès Science.* Paris.
- Spinnler H. E., Desmazeaud M. (1996).** Microbiologie alimentaire. Technique et Documentation. Tome 02. *Lavoisier. Paris:* 408-429.
- Survana V. C., Body V. U. (2005).** Probiotics in human health: A current assessment. *Current. Science.* 88(11): 1-10.
- Sutra L., Federighi M., Jouve J. L. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. *Polytechnica.* Paris : 235-259.
- Suzuki K., Kodam Y., Graham H. (1989).** Stress and intestinal flora. *Bifidobacter. Microflora.* 8: 23-38.
- Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W. (1976).** Bacteriocins of Gram positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* 40: 722-756.
- Tamime A.Y., Marshall V. M. E., Robinson R. K. (1995).** Microbiological and

technological aspects of milks fermented by Bifidobacteria. *Journal of Dairy Resusc.* **62**: 151-187.

Urbach G . (1997). The flavor of milk and dairy products. II. Cheese: contribution of volatile compounds. *International Journal of Dairy Technol.* **50**: 79-89.

Van der Wielen P. W., Keuzenkamp D. A., Lipman L. J., van Knapen F., Biesterveld S (2002). Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microbiol Ecology.* **44**: 286-293.

Van Kranenburg R ., Devosco M. (1998). Characterization of multiple regions involved in replication and mobilization of plasmid PNZ4000 coding for exopolysaccharide production in *Lactococcus lactis*. *Journal of Bacteriol.* **180**: 5285-5290.

Vandenberg P. A. (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS. Microbiol Revue.* **12**: 221-238.

Vignola C. M. (2002). Science et technologie du lait. *Éditrices scientifique*: 28-113.

Villate D. (2001). Les maladies des volailles. L'appareil digestif. *INRA* : 27-38.

Vuillemard J. C., Amiot J., Gauthier S . (1986). Evaluation de l'activité protéolytique de bactéries lactiques par une méthode de diffusion sur plaque. *Microbiol Alimentation and Nutrition.* **3** : 327-332.

Zhu X. Y., Zhong T., Pandya Y., Jorger R.D. (2002). 16S rRNA-bared analysis of microbiota from the caecum of broiler chickens. *Applied Environement.* **68** : 124-137.

Annexe

Composition des bouillons et des géloses

- ❖ **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 VRBL (pH=6,8)**
 - Peptone 7,0g
 - Extrait de viande 3,0g
 - Lactose 10,0g
 - Désoxycholate de sodium 1,5g
 - Cristal violet 2,0mg
 - Rouge neutre 30,0mg
 - Chlorure de sodium 5,0g
 - Agar 15,0g

- ❖ **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

❖ Milieu Moeller :(pH 6)	
• Peptone	5g
• Extrait de viande	5g
• Pourpre de brocrésole	0,1g
• Rouge de crésol	5mg
• Pyridoxal	5mg
• Glucose	0,5g
❖ Bouillon Hyper Salé : (pH=7 ,5)	
• Extrait de viande	5g
• Peptone	15g
• Glucose	5g
• Eau distillée	1000ml
• Nacl	15g
Autoclaver 20mn à 120 °C.	
❖ Bouillon Luria Bertani : (pH 7)	
• Bactopeptone	5g
• Extrait de levure	2,5g
• Nacl	2,5g
• Eau distillée	500ml
❖ 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 MEVAG : (pH 7,7)	
• Extrait de viande	3g
• Chlorure de potassium	5g
• Rouge de phénol	20mg
• Gélose	3g
❖ Milieu PCA : (pH 7)	
• Peptone	5g
• Extrait de levure	2,5g
• Glucose	1,0g
• Agar	15g

❖ Milieu MRS : (pH 6,2)

- Peptone
- Extrait de viande
- Extrait de levure
- Acétate de sodium
- Phosphate bipotassique
- Citrate d'ammonium
- Sulfate de magnésium, 7 H₂O
- Sulfate de manganèse, 4H₂O
- ~~Tween 80~~
- Sulfate de magnésium, 7 H₂O
- Sulfate de manganèse, 4H₂O
- Tween 80

10g 5g
 8g 4g
 4g 2g
 5g 2,5
 2g 1g
 0,2g 2g 1g
 0,05g 0,2 0,1g
 20g 0,05g
 1000ml

- Sulfate de magnésium, 7 H₂O
- Sulfate de manganèse, 4H₂O
- Tween 80

0,05g

20G

~~1000ml~~ 1ml

20g 7,5
 Agar → 7,5g

❖ Gélose Viande Foie : (pH=7,4)

- Base viande foie
- Glucose
- Agar

30,0g

2,0g

6,0g

Les réactifs

❖ Catalase

Eau oxygénée

10 Volumes

❖ Kovax

Alcool amylique ou isomylique

150ml

P-diméthylaminobenzaldéhyde

10g

Acide chlorhydrique concentré

50ml

❖ Réactifs de voges proskaer :

VPI :

Hydroxyde de potassium

40g

Eau déminéralisée

100ml

VPII :

Alpha naphтол

6g

Ethanol

100g

Les colorants :

❖ Violet de Gentiane :

- Violet de Gentiane 1g
- Ethanol à 9% 10ml
- Phénol 2g
- Eau distillée 100ml

❖ Lugol :

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

Les tableaux :

Tableau 01 : Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques :

Souches	E (30µg)	S (10µg)	T (30µg)	C (30µg)	P.G (6µg)
<i>L. viridescens</i> J ₁	0	0	0	0	0
<i>L. curvatus</i> J ₂	0	0	0	0	0
<i>L. curvatus</i> J ₃	0	0	8	17	19
<i>L. fermentum</i> J ₄	0	0	10	21	24
<i>L. plantarum</i> J ₅	0	0	10	20	15
<i>L. plantarum</i> J ₆	0	0	9	20	23
<i>L. curvatus</i> J ₇	0	0	11	19	30
<i>L. brevis</i> J ₈	0	0	0	0	0
<i>L. fermentum</i> J ₉	0	0	0	0	0
<i>L. fermentum</i> J ₁₀	0	0	0	0	0
<i>L. bifementans</i> J ₁₁	0	0	10	22	30
<i>L. bifementans</i> J ₁₂	0	0	12	21	17
<i>L. curvatus</i> J ₁₃	0	0	11	23	18
<i>L. viridescens</i> J ₁₄	0	0	10	20	26

E: Erythrom-yicine ; S : Streptomycine ; T : Tetracycline ; C : Chloramphenicol ; P-G :Penicilline G ;
Diamètres des zones : mm

Tableau 02 : Effet des sels biliaries sur la croissance des bactéries lactiques

Souches	Témoin	A 0.3% de sels biliaries
	D.O	D.O
<i>L. viridescens</i> J1	0.2414	0.0226
<i>L. viridescens</i> J14	0.1882	0.0226
<i>L. curvatus</i> J2	0.2170	0.0226
<i>L. curvatus</i> J3	0.2352	0.0285
<i>L. curvatus</i> J7	0.1308	0.0507
<i>L. curvatus</i> J13	0.2520	0.0520
<i>L. plantarum</i> J5	0.2457	0.0226
<i>L. plantarum</i> J6	0.2741	0.0507
<i>L. fermentum</i> J4	0.2033	0.0507
<i>L. fermentum</i> J9	0.2414	0.0226
<i>L. fermentum</i> J10	0.2189	0.0226
<i>L. bifementans</i> J11	0.0393	0.0225
<i>L. bifementans</i> J12	0.1424	0.0036
<i>L. brevis</i> J8	0.2270	0.0040

D.O : densité optique.

Réalisé par : - Keddam Nedjla - Zioune Nawel - Meghaichi Yamina	Date de soutenance: 01.07.09 Heure : 10H Encadré par : Dr. Idoui.T
Thème : Propriétés probiotiques des <i>Lactobacillus</i> isolés du Jabot du poulet de chair ISA 15.	
<p style="text-align: center;">Résumé :</p> <p>Notre étude a été menée sur la microflore lactique du jabot de poulet de chair ISA15 dont 14 souches ont été isolées et identifiées. Ces isolats ont des aptitudes technologiques intéressantes.</p> <p>Les résultats ont montré que les isolats lactiques ont une bonne résistance aux conditions hostiles <i>in vitro</i>. Le test d'adhésion aux cellules épithéliales indique que dans l'ensemble, les bactéries lactiques sont aptes à se fixer sur ce tissu intestinal.</p> <p>Mots Clés : Jabot, Bactéries Lactiques, Probiotiques, <i>in vitro</i>, Adhésion.</p>	
<p style="text-align: center;">Abstract :</p> <p style="text-align: center;">Probiotics properties of <i>Lactobacillus</i> isolated from poultly crop ISA 15 strain</p> <p>Our study was done on the crop microflora of chicken ISA15, from which 14 strains of lactic acid bacteria were isolated and identified. Results of technological traits have shown that our strains have a good acidifying potential and produce some expolysaccharides. The results of probiotic skills have shown that our strains are resistant to hostile conditions such as acid pH, the bile salts and few antibiotics. The interaction "<i>in vitro</i>" disclose an inhibitory activity against enterobacteria. Also, adherence test to epithelial cells showed that lactic acid bacteria have a good adherence.</p> <p>Key words: microflora, crop, lactic acid bacteria, probiotics, interaction, enterobacteria, epithelial cells.</p>	
<p style="text-align: center;">المخلص</p> <p style="text-align: center;">الخصائص البروبيوتكية لـ <i>Lactobacillus</i> المعزولة من حويصلة الدجاجة ISA 15</p> <p>لقد تمت دراستنا على الفلورة الدقيقة لحويصلة الدجاجة, حيث تم عزل و تعريف 14 عزلة للبكتيريا اللبنية. قد بينت نتائج الاختبارات حول القابلية التكنولوجية أهمية هذه السلالة من حيث قدرتها على إنتاج الحمض اللبني و متعدد السكر بكميات معتبرة.</p> <p>دراسة القدرة البروبيوتكية بينت أن البكتيريا اللبنية تستطيع مقاومة الظروف غير الملائمة كالأوساط الحضية و الأملاح الصفراوية و بعض المضادات الحيوية.</p> <p>إن التداخلات بينت أن لها قابلية غير متجانسة مضادة لـ 15 عزلة للبكتيريا الهضمية, كما أن اختبار قدرتها على الالتصاق بالخلايا الطلائية أوضح قابليتها المعتبرة على الالتصاق.</p> <p>الكلمات المفتاحية : الفلورة الدقيقة, حويصلة الدجاجة, البكتيريا اللبنية, من أجل الحياة, التداخلات, البكتيريا الهضمية, الخلايا الطلائية.</p>	