

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE DE JIJEL

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE



MB.06/106

Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme des études
Supérieures en biologie*

Option : Microbiologie

Thème

*Activité probiotique de *L. plantarum* :
Etude des interactions et évaluation comparative
de l'effet des cellules mortes de *L. plantarum*
et de l'oxytétracycline sur la translocation post
abattage des entérobactéries chez le lapin*

Membre de jury

Président : M^{me} ROULA.S

Examineur : M^r BOUDJERDA.D

Encadreur : M^r IDOUL.T

Présenté par :

M^{elle} BELOUERNA Fella

M^{elle} BELMERABET Nawel

M^{elle} KHOUCHENE Imen



Promotion : 2006



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous remercions le bon dieu tout puissant qui nous a donné la volonté, la santé et la patience pour terminer ce mémoire.

Nos remerciements également Mr Idoui Tayeb de nous avoir confié ce sujet et pour ses conseils et ses encouragements.

Nous remercions aussi Dr vétérinaire Chateb Radia pour leurs aides.

Tous les techniciens du laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel surtout M^{elle} Zennir Sonia et M^{elle} Boukhidena Sonia, pour les services qu'ils nous ont offerts de nos études.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury pour accepter de juger ce modeste travail.

Nous voudrions aussi remercier très sincèrement nos collègues du 4^{ème} année Microbiologie dont nous avons fait la connaissance durant nos années d'étude pour l'ambiance décontractée dans laquelle s'est déroulée ce travail.

Enfin nous exprimons notre reconnaissance pour ceux qui nous ont aidés et encouragés de près ou de loin.

Merci à tous

SOMMAIRE

Introduction	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Les bactéries Lactiques	
I.1. Définition	2
I.2. Les caractères généraux	2
I.3. Classification	2
I.3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	3
I.3.2. Etude de l'espèce <i>Lactobacillus plantarum</i>	4
I.4. Les différentes molécules produites par les bactéries lactiques	4
I.4.1. Production d'acide	4
I.4.2. Production de bactériocines	5
I.4.3. Production d'autres substances inhibitrices	5
I.4.4. Autres rôles des bactéries lactiques	5
Chapitre II : Les probiotiques.	
II.1. Définition	6
II.2. Les caractéristiques générales des probiotiques	6
II.3. Classification des probiotiques	6
II.3.1. Les bactéries lactiques	6
II.3.2. Les bifidobactéries	7
II.3.3. Les levures	7
II.4. Effets cliniques et mécanismes d'action des probiotiques	7
II.4.1. Effet sur certaines maladies	7
II.4.2. Le mécanisme d'action	7
II.5. Rôle des probiotiques	8
II.5.1. Dans la nutrition	8
II.5.2. Stimulation de l'immunité	8
II.5.3. Inhibition des bactéries indésirables	8
II.5.4. Intérêt des probiotiques pour les animaux	8

Chapitre III : Les prébiotiques.

III.1.Définition	10
III.2.Les caractéristiques générales des prébiotiques	10
III.3.Le rôle du prébiotique et mécanisme d'action.	11
III.3.1. Fonctionnement intestinal	11
III.3.2. Résistance aux infections	11
III.3.3. Rôle nutritionnel	11

Chapitre VI : Les antibiotiques.

VI.1. Définition	13
VI.2.Classification des antibiotiques	13
VI.2.1. Les bêta -lactamines	13
VI.2.2. Les Aminosides	13
VI.2.3. Le Chloramphénicol	13
VI.2.4. Les tétracyclines	13
VI.2.5. Les antibiotiques polypeptidiques	13
VI.2.6. Les macrolides et antibiotiques apparentes	13
VI.2.7. Les antibiotiques "antifongiques"	13
VI.2.8.Divers	14
VI.3.Rôle des antibiotiques dans le traitement des infections chez le lapin	14

Chapitre V : Données sur le lapin.

V.1. L'Appareil digestif du lapin	15
V.1. 1. La bouche	15
V.1. 2. L'œsophage	15
V.1. 3. L'estomac	16
V.1. 4. L'intestin grêle	16
V.1. 5. Le cæcum	16
V.1. 6. Le colon	16
V.2. Microbiologie du tube digestif du lapin	16
V.3. Les entérobactériaceae.	17
V.3.1. Définition	17

V.3.2. Classification	17
V.3.3. Caractères cultureux	18
V.3.4. Caractères antigéniques	18
V.4. Les bactéries de l'intestin et l'effet de l'abattage	18

Partie II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel	20
II. 1.1. Lapin	20
II. 1.2. Souche bactérienne	20
II. 1.3. Antibiotique	20
II. 1.4. Aliment	20
II. 1.5. Lait	20
II. 1.6. Matériel du laboratoire	20
II. 1.7. Matériel d'élevage	21
II. 1.8. Milieux de culture et réactifs	21
II. 1.9. Produits chimiques et colorants	21
II.2. Méthodes	21
II.2.1. Isolement et identification des entérobactéries à partir du caecum du lapin.	21
II.2.1.1. Abattage du lapin et prélèvement d'organe	21
II.2.1.2. Préparation des dilutions et ensemencement	22
II.2.1.3. Purification	22
II.2.1.4. Tests d'identification.	23
a. Coloration de Gram	23
b. Test catalase	23
c. Etude du métabolisme protéique	23
1. Recherche des décarboxylase	23
• Recherche de la lysine décarboxylase.	23
• Recherche de l'ornithine décarboxylase.	23
• Recherche de l'arginine dihydrolase.	24
2. Dégradation de l'urée et production d'indole	24
d. Utilisation de l'ion citrique comme unique source du carbone	24

e. Etude du Métabolisme glucidique.	25
1. Etude simultanée de plusieurs sucres	25
2. dégradation du mannitol	25
3. recherche de la B- galactosidase	25
e. Etude des dérivés de l'acide pyruvique.....	25
1. Réaction au rouge de Méthyle (RM)	26
2. Réaction de Voges-proskauer (VP).	26
G. Profil de fermentation des sucres	26
II.2.2. Effet des surnageants sur la collection des entérobactéries.	26
II.2.2.1.préparation du surnageant	26
II.2.2.2.Méthode de détection de l'activité antimicrobienne	27
a. Méthode des puits	27
b. Méthode de diffusion par disques	27
II.2.3. Etude de l'effet de l'Oxytétracycline et des cellules tuées de <i>L.plantarum</i> sur la flore luminale, la flore adhérente et la translocation post-abattage des entérobactéries chez le lapin.	27
II.2.3.1.Préparation du lapin	27
II.2.3.2. Préparation du probiotique	28
a. Mesure du pH	28
b. Mesure de l'acidité	28
c. Contrôle de viabilité	29
II.2.3.3. Voie et Dose d'administration des suppléments	29
II.2.3.4. Evaluation de la colonisation intestinal et la translocation bactérienne.	30
a. Abattage et prélèvement d'organe	30
b. Préparation des solutions mères et des dilutions décimales	30
c. Ensemencement	31
Partie III : Résultats et Discussion	
III.1.Isolement et identification des d'entérobactéries à partir du caecum du lapin.	32
III.1.1.Coloration de Gram	32
III.1.2.Tests physiologiques et biochimiques	32

III.2. Caractéristiques du produit lactofermenté	35
III.3.Effet des surnageants sur les entérobactéries	35
III.4. Evaluation des entérobactéries dans le tube digestif du lapin après traitement par l'oxytétracycline et par une préparation à base de <i>L. plantarum</i> tuée.	38
III.5. Effet de l'antibiotique et de la préparation à base de <i>L.plantarum</i> tué sur la translocation des entérobactéries	43
Conclusion	45
Références	
Annexes	

Abréviations

ADH	Arginine déshydrolyse
C°	Degrés celssus
Cm	Centimètre
°D	Degré domic
E	Escherichia
G	Gramme
H	Heure
J	Jour
Lb	Lactobacillus
LDC	Lysine décarboxylase
mn	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
pH	Potentiel Hydrogène
pnd	Pendant
+	Positive
-	Négative
TSI	Triple sugar-iron agar = gélose glucose-lactose-saccharose H ₂ S
µl	Micro litre
Kg	Kilogramme
H ₂ O ₂	Peroxyde D'Hydrogène

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des genres de bactéries lactiques.	3
Tableau 2 : Les différentes caractéristiques de <i>L. plantarum</i> .	4
Tableau 3 : Compositions chimiques d'hydrates de Carbone a éventuelles propriétés prébiotiques.	10
Tableau 4 : Illustration des différents poids d'organe isolés à partir du tube digestif du lapin dans chaque abattage.	31
Tableau 5 : Caractéristiques des différentes souches des entérobactéries.	33
Tableau 6 : Répartition de la collection en pourcent.	34
Tableau 7 : Effet des surnageants des <i>L.plantarum</i> sur les entérobactéries.	36
Tableau 8 : Nombre d'entérobactéries dans le colon et l'iléon.	40
Tableau 9 : Translocation des entérobactéries vers le foie et le sang.	43

Introduction

Introduction générale

L'idée qu'il existe des bactéries dont l'effet serait bénéfiques pour la santé a été présentée pour la première fois par le lauréat de prix Nobel russe Elie Metchnikoff au début du 20^{ième} siècle [24].

La conclusion de ces travaux était que l'on peut annuler les effets pathogènes des bactéries par l'adjonction des bactéries d'acide lactique comme exemple *Lactobacillus* provenant du yaourt [24].

Aujourd'hui, on connaît les bactéries et d'autres micro-organismes principalement comme agent pathogène à maintenir sous control au moyen d'antibiotiques. Par contre ce qui concerne la capacité des bactéries à contribuer à la santé, c'est-à-dire à avoir des effets probiotiques, les connaissances restent toujours limitées [35].

Non seulement les bactéries exercent une action probiotique, mais sans leur présence dans l'appareil digestif aucune vie normale ne serait possible pour l'être humain et l'animale [24].

On outre les prébiotiques ont aussi un effet bénéfique sur la santé de l'hôte mais par un mécanisme différent à celui du probiotique. En stimulant de façons spécifiques la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de population déjà établi dans le colon [35].

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Les bactéries lactiques.

I. Les bactéries Lactiques.

I.1. Définition :

Le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini par ORLA-JENSEN (1919) et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides produisant de l'acide lactique [59].

Les bactéries lactiques sont des microorganismes assez hétérogènes sur les plans morphologiques et physiologiques, la principale fonction métabolique d'une bactérie lactique est d'excréter l'acide lactique [30].

I.2. Les caractères généraux :

Parmi les principaux caractères des bactéries lactiques, il y a lieu de citer [59]:

- Elles sont des cocci ou des bâtonnets.
- Gram (+)
- Catalase (-)
- Oxydase (-)
- Nitrate réductase (-)
- Sporulé
- Anaérobie ou aérotolérantes
- Elles sont dépourvues de cytochromes, étant incapable d'effectuer la synthèse du noyau hème de porphyrines, de ce fait elles sont incapable de respirer mais peuvent seulement effectuer un métabolisme fermentaire

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites [56] :

- Homo fermentaire : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose ;
- Hétéro fermentaire : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique, éthanol, CO₂, et d'autres acides organiques.

I.3. Classification :

Il est possible de classer les bactéries lactiques selon la nature des produits du métabolisme bactérien obtenu à partir des glucides [56]

Le genre *Lactococcus*.

Le genre *Streptococcus*.

Le genre *Pediococcus*.

Le genre *Leuconostoc*.

Le genre *Lactobacillus*.

Le tableau 01, regroupe Caractéristiques des genres de bactéries lactiques.

Tableau 01 : Caractéristiques des genres de bactéries lactiques[89].

Genre	Morphologie	Fermentation	T ° opt	N d'espèce
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	homo ou hetero fermentaire	Thermophiles ou mésophiles	GI : 23 GII : 16 GIII : 22
<i>Streptococcus</i>	Coque	homofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	19
<i>Pediococcus</i>	Coque en tétrade	heterofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	7
<i>Leuconostoc</i>	Coque	heterofermentaire	Mésophiles	25
<i>Bifido bacterium</i>	Forme irrégulier	acide ascétique et lactique	Mésophiles	25

T ° opt : température optimale développement

N d'espèce : nombre des espèces connus.

G : groupe.

Le genre *Lactobacillus* est le genre qui nous intéresse, dans notre étude.

I.3.1. Le genre *Lactobacillus* :

Il regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est liée à la variation du pourcentage G +C : 32 à 53 %, la croissance des *Lactobacillus* est bonne dans le milieu à pH 4.5- 6.5 mais elle s'arrête à pH 4.0 -3.6.

La classification remaniée par Kandler et Weiss, le subdivise en 03 groupes selon leurs types fermentaire [12] :

Groupe I : Regroupe les lactobacilles homofermentaires obligatoire contenant les espèces du groupe *Thermobacterium* et d'autre espèce nouvellement d'écrite [59]. Elles se développent à 45°C mais pas à 15°C [5].

Groupe II : Regroupe les lactobacilles heterofermentaires facultatifs, formés des groupes *Streptobacterium* et des nouvelles espèces [59].

Groupe III : Regroupe les lactobacilles heterofermentaire obligatoire et forment les *Bifidobacterium* [59].

I.3.2. Etude de l'espèce *Lactobacillus plantarum* :

Elle se présente sous la forme de cellule en forme de bâtonnet isolées ou réunies en chaînes courtes, elle transforme les sucres et le mannitol formé au cours de la phase précédente et conduit à une acidité de 1.5-1.9 % [12].

L'espèce *Lactobacillus plantarum* peut libérer de H₂O₂ à partir de lactate dans un milieu où le glucose est épuisé [12]. Elle peut synthétiser une catalase si le milieu contient un dérivé hématique [1].

Cette espèce est mésophile [59], se trouve dans les produits laitiers, les plantes, les boissons et les produits fermentés de soja [51]. Sur le plan de la nutrition, elle exige certains facteurs de croissance : adénine, guanine, uracile et thymine [52].

Le tableau 02 montre quelques caractéristiques de cette espèce.

Tableau 02 : Les différentes caractéristiques de *L.plantarum* [72].

espèce	Culture à 45 °C	Groupe sérologique	Isomère de l'acide lactique produit	FERMENTATIONS						
				Lactose	Saccharose	Melibiose	Raffinose	Arabinose	Xylose	Rhamnose
<i>L.plantarum</i>	-	D	DL	+	+	+	+	+	+	-

- : test négatif.

+ : test positif.

I.4. Les différentes molécules produites par les bactéries lactiques.

I.4.1. Production d'acide :

Le métabolisme principal des bactéries lactiques est une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable [56].

Le pH final atteint dépend de la matière première fermentée et des souches utilisées (plus ou moins acidifiantes), il est le plus souvent entre 4 et 5.3, c'est-à-dire des valeurs inférieures aux valeurs limites de développement de la plupart des flores d'altération et des flores pathogènes [56].

I.4.2. production de bactériocines :

Les bactériocines sont des peptides actifs porteurs d'activités bactéricides ou bactériostatiques [27], sont synthétiser par un très grand nombre de souche. de bactéries lactiques [56].

Ces bactériocines possèdent un large spectre d'activités. Elles sont capable d'inhiber des micro-organismes pathogènes comme *Bacillus*, *Lesteria*, *Enterococcus* et *Staphylococcus*. Par ailleurs elles n'exercent pas d'effet antagonisme contre les autres *Lactobacillus* à l'exception de *L. fermentum* KDL [26].

I.4.3. 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 [56].

Le diacétyl, produit du métabolisme du citrate est capable d'inhiber des bactéries à Gram-négatif. Tous ces composés agissent probablement en synergie avec les précédentes et les facteurs du milieu pour conduire à des produits microbiologiquement stable [56].

I.4.4. Autres rôle des bactéries lactiques :

Parmi les rôles accordés aux bactéries lactiques [24] :

- Equilibre la microflore intestinale
- Réduit la formation de substances nocives dans l'intestin.
- Equilibre la perméabilité de la muqueuse intestinale.
- Accélère la régénération de la muqueuse intestinale.
- Renforce la barrière immunitaire de la muqueuse intestinale.

Chapitre II

Les probiotiques.

II.1. Définition :

Le mot probiotique est un mot grec qui signifie "pour la vie". Il est utilisé pour décrire les bactéries "amicales" qui vivent normalement dans le tractus gastro-intestinal et qui contribuent à la bonne santé de l'hôte [74] [40].

Les probiotiques ont été également définis comme « des micro-organismes vivants administrés en quantité adéquate et qui confèrent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte » [40].

Il s'agit le plus souvent de bactéries ou de levures présentes dans des aliments, notamment des produits laitiers fermentés, ou dans des compléments alimentaires sous forme lyophilisée [40].

II.2. Les caractéristiques générales des probiotiques :

Toute culture mère à être considérée comme probiotique doit posséder les caractéristiques suivantes [18] [85] :

- Elles doivent être d'une origine humaine [84].
- Elles doivent posséder une sécurité d'emploi lors de l'utilisation chez l'homme et être stables à l'acide et la bile [84].
- Les souches de probiotiques ne doivent pas manifester de réaction pathogène, toxique, allergique, mutagène ou cancérogène [24].
- Elles doivent être aisément maîtrisables au point de vue technologique (génétiquement stable pas de transferts de plasmides, productible, bonne survie dans les denrées alimentaires tout au long de leur période de conservation) [24].
- Avoir éventuellement la capacité d'adhérer aux cellules intestinales [59] et posséder une capacité de croissance [40].
- Résister à l'HCl de l'estomac et aux sels biliaires de l'intestin grêle de l'hôte [76] [75].
- Produire des enzymes utiles ou d'autres substances utilisables par l'hôte [76].
- Contenir un nombre élevé de cellules viables et posséder une survie dans le tractus gastro-intestinal [30] [85].

II.3. Classification des probiotiques.

II.3.1. Les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques ont des propriétés fermentaires et anti-bactériennes, qui associées à leur localisation digestive peuvent rendre compte de leur action digestive. [93].

Les bactéries les plus traditionnellement utilisées comme probiotiques sont :

Les souches de genres *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. plantarum* ...), *Streptococcus* [52].

II.3.2. Les bifidobactéries :

La découverte des Bifidobactéries remonte au début du siècle lorsque Henri Tissier les a isolé de selles d'enfants nourris au lait maternel [40].

Les Bifidobactéries sont des bâtonnets Gram positif, non sporulant, non mobil : de forme variées, légèrement incurvé ou en forme de massue : elles sont souvent ramifiées [52]. On les trouve dans la bouche et le tractus intestinal des vertébrés à sang chaud, dans les égouts et chez l'insecte.

Bifidobacterium bifidus est un colonisant précoce du tractus intestinal humain, particulièrement lorsque les bébés sont nourris au sein [52].

Leur vocation est être incorporés comme probiotiques, c'est-à-dire pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaines dans les produits laitiers fermentés [23].

II.3.3. Les levures :

Les levures et en particulier *Saccharomyces cerevisiae* sont utilisées depuis des siècles par l'homme et présentent le groupe de micro-organismes le plus exploité commercialement [37] [85].

Une seule espèce du genre *Enterococcus* peut être utilisée comme probiotique [3] [4] [19] [34] [37] [55] [66].

II.4. Effet cliniques et mécanismes d'action des probiotiques :

II.4.1. Effet sur certaines maladies :

Les probiotiques chez l'homme, ont principalement été utilisés jusqu'ici pour le traitement et la prévention des diarrhées. Au cours des dernières années les études montrent que les probiotiques pouvaient également jouer un rôle dans le traitement des diarrhées chroniques inflammatoires ainsi que dans la prévention des infections respiratoires et des maladies allergiques [88].

Les effets bénéfiques des probiotiques sur le taux de cholestérol donc sur un des principaux facteurs de risque pour la maladie coronarienne, sur l'absorption du calcium (prophylaxie de l'ostéoporose ainsi qu'un éventuel effet anti-carcinogène n'ont pas été démontrés jusqu'ici par des travaux cliniques contrôlés) [62].

II.4.2. Le mécanisme d'action :

Ils se résument en [48] :

- Stabilisation de la flore intestinale par compétition avec des bactéries pathogènes au niveau de la fixation aux récepteurs et au niveau des substances nutritives.
- La production d'acides gras à chaînes courtes (par exemple : butyrate).
- Acidification du suc intestinal.
- Stabilisation de la fonction barrière de la muqueuse intestinale.
- Production de substances anti-bactériennes.

- Modification des toxines ou des récepteurs toxiques.

II.5. Rôle de probiotiques.

II.5.1. Dans la nutrition :

La malabsorption du lactose est fréquente, est due à une activité inexistante de la lactase. Les symptômes sont généralement les suivants : douleurs abdominales, Crampes, flatulences. Les bactéries lactiques vivantes peuvent améliorer en grande partie cette malabsorption par l'enzyme beta-galactosidase active qu'elles contiennent [63] [81] [84].

II.5.2. Stimulation de l'immunité :

Ce sont les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* [32] [81][94] qui sont capable d'induire une stimulation du système immunitaire ceci est très intéressant car la muqueuse intestinale est l'un des organes lymphoïdes de l'organisme le plus peuplé en cellules immunitaires et elle est en contact permanent avec la masse antigénique énorme , qui est les bactéries de la flore intestinale et les aliments [13][20].

Les bactéries lactiques possèdent une action stimulante sur l'immunité naturelle ainsi que sur l'immunité spécifique de l'hôte en agissant sur les cellules impliquées dans les mécanismes de défense non spécifique et spécifique [40].

Les bactéries probiotiques stimulent la capacité de phagocytose et l'activation du macrophage [40].

II.5.3. Inhibition des bactéries indésirable :

Les travaux de Fuller,(1997) montrent que la production de l'acide lactique par les streptocoques abaisse la valeur du p H dans le tractus digestif inhibant à grande échelle des bactéries nuisibles , comme *Escherichia coli* apprécie un milieu plus basique, et a trouver le phénomène de concurrence microbienne, elle prévient aussi la rupture de l'équilibre sanitaire de a flore[49] .

Certaines souches probiotiques pourraient également réprimer la croissance des bactéries pathogènes par production de substance antimicrobiennes de type bactériocine capable d'inhiber les germes fréquents responsables d'infection en élevage [40].

L'implantation des germes indésirable pourrait également être empêchée par une inhibition compétitive des souches probiotiques par consommation des nutriments à la place souches pathogènes [40] [18] [80] [35] .

II.5.4. Intérêt des probiotiques pour les animaux :

L'usage des probiotiques vise à réduire les difficultés d'un dérèglement de la flore intestinale chez le jeune animale qui est à l'origine des entérites. Il semble en

effet exister une inadéquation à cet âge, entre l'aliment proposé et la flore intestinale, ou dit que le servage représente un stress alimentaire pour le jeune [63].

Les travaux de Williams, (1990) montrent une capacité à réguler la fermentation ruminale et à surmonter quelques facteurs antinutritionnels liés à l'ingestion de concentré chez les ruminants.

Chapitre III

Les prébiotiques.

III.1.Définition :

Un prébiotique est défini comme une "substance non digestible qui induit un effet physiologique bénéfique à l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et /ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le colon "(Gibson et Reberfroid, 1995) [36].

A l'inverse des probiotiques qui sont des micro-organismes vivants, les prébiotiques sont des glucides non assimilables par notre organisme.

Parmi de nombreux candidats prébiotiques, les plus connus et étudiés sont les fructanes (OFS : fructo-oligosaccharides, oligofructoses et inulines) et d'autres oligosides de galactose et transgalactose [25].

Tableau 03 : Composition chimique d'hydrates de Carbone à éventuelles propriétés prébiotique [25].

Oligosaccharides	Composition chimique
Fructo-oligosaccharides	95% oligosaccharides b (2-1) fructane ; 60% glucose , 40% fructane.
Inuline	99% oligosaccharides b (2-1) fructane oligogalactose
Galacto-oligosacchrides	85% faible quantité de glucose, lactose.
lactulose	Disaccharides contenant du galactose et de fructose.

III.2.Les caractéristiques générales des prébiotiques :

Pour qu'un ingrédient alimentaire puisse être considéré comme un prébiotique, il doit répondre aux caractères suivants :

- Ne peut être digéré ni absorbé avant d'atteindre le colon.
- Être un substrat sélectif d'une ou de plusieurs bactéries (de préférence un faible nombre) commensales ayant un rôle bénéfique probable ou définitivement établi, et par voie de conséquence.
- Modifier la composition de la flore colique dans un sens favorable à un meilleur état de santé, le plus souvent en favorisant la croissance et /ou l'activité métabolique de souches des groupes des lactobacilles ou des Bifidobactéries (Gibson et *al.*[35]) [25].

III.3. Le rôle du prébiotique et mécanisme d'action.

III.3.1. Fonctionnement intestinal :

Les prébiotiques permettent :

- Amélioration du transit intestinal avec l'augmentation de la fréquence et du volume d'absorption des selles [82].
- Amélioration de l'absorption de certains minéraux et des effets bénéfiques sur le métabolisme lipidique [25].
- Les fructanes du type inuline augmentent l'absorption colique de Ca^{2+} et de Mg^{+2} (en favorisant en particulier leur diffusion passive du fait de l'acidification du contenu colique liée à l'augmentation du nombre et de l'activité des bactéries productrices d'acide lactique), celles du fer et du zinc et augmentent significativement la biodisponibilité du cuivre [26].
- Les oligofructoses diminuent la concentration, dans certaines conditions, des triglycérides du cholestérol et/ou du LDL cholestérol [25].

III.3.2. Résistance aux infections :

L'hypothèse de l'amélioration par les prébiotiques de la résistance de l'organisme aux infections gastro-intestinales n'est pas neuve, souligne Glen Gibson, plusieurs recherches potentiels indiquent que les bactéries lactiques issues de la fermentation prébiotiques peuvent intervenir à ce niveau, notamment via inhiber la croissance du microbe pathogène [82].

Plusieurs lactobacilles et Bifidobactéries excrètent également des antibiotiques naturels large spectre d'activité. D'autres voies de recherches suggèrent un rôle immunologique direct ou indirect, une composition pour les nutriments ou encore le blocage des sites d'adhésion dans l'intestin [82].

Une des extrapolations du concept prébiotique est d'empêcher la fixation des pathogènes tel que *Escherichia coli*, les Salmonelles ou les *Campylobacteres* sur leur récepteur intestinal.

III.3.3. Rôle nutritionnel :

On ne peut parler des prébiotiques et passer sous silence l'extraordinaire potentiel de recherche récemment mis à jour sur le contrôle de l'apport alimentaire, ainsi les recherches concernant les effets des fructanes sur la synthèse intestinale de gluco-incrélines (des peptides impliqués dans la régulation de l'apport alimentaire ou les fonctions pancréatiques sécrétés par les cellules endocrines présentes au sein de la muqueuse intestinale) [82].

Deux puissants anorexigènes, la Glucagon-like peptide-1-[GLP-1], le peptide YY [PYY] un orexigène produit par l'estomac, la ghréline.

Les études montrent clairement et de manière persistante une augmentation de la synthèse du GLP-1 et PYY dans le colon des animaux nourris des fructanes, de

manière intéressante [82]. Ces résultats obtenus par biologie moléculaire confirment l'effet satiétogène observé avec les fructanes dans plusieurs études.

Par ailleurs, l'augmentation de la sécrétion endogène du GLP-1 concourt à améliorer l'homéostasie glucidique chez les animaux diabétiques.

Chapitre VI

Les antibiotiques.

VI.1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances chimiques organiques, produites par un petit nombre de microorganismes, et exerçant une action toxique envers d'autres microorganismes dont principalement des bactéries [53] [7].

Ils existent de millions d'antibiotiques produits principalement par des bactéries de sol et des mycètes [68].

L'action d'un antibiotique peut être bactériostatique ou bactéricide [64].

VI.2. Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques sont classés en fonction de [64].

- Une structure chimique voisine, plus au moins homogène.
- Les caractères physiques et chimiques voisins déterminant un devenir dans l'organisme en générale assez proche.
- Une activité antibactérienne du même ordre.

Les antibiotiques sont regroupés en plusieurs grandes familles :

VI.2.1. Les bêta -lactamines : Sont caractérisées, sur plan chimique par un cycle dit lactame. Deux groupes sont distingués dans cette famille, les pénicillines et les céphalosporines.

VI.2.2. Les Aminosides : la plus connue est la streptomycine, extraits de diverses souches de *Streptomyces*.

VI.2.3. Le Chloramphénicol : Antibiotique de structure chimique simple, initialement extraits d'une souche de *Streptomyces*, obtenu aujourd'hui par synthèse totale.

VI.2.4. Les tétracyclines : A structure tétracycline extraits de diverses souches de *streptomycètes*.

VI.2.5. Les antibiotiques polypeptidiques : Constitués de chaîne d'acide aminés. Extraits de bactérie du genre *Bacillus*.

VI.2.6. Les macrolides et antibiotiques apparentés: Contenant dans leur structure un volumineux cycle lactone extraits de diverses souches de *Streptomyces*.

VI.2.7. Les antibiotiques "antifongiques": Actifs contre les champignons parasites (mycoses).

VI.2.8.Divers :

Antibiotiques de structure et de provenance très diverse , utilisés notamment en antibiose- supplémentaire (flavophospholidol , avoparcine).

La famille qui nous intéresse est celle des Tétracyclines qui constituent une famille d'antibiotique très homogène caractérisé par une activité bactériostatique à spectre très large et par une excellente fixation tissulaire largement utilisé en médecine vétérinaire [17][64].

le spectre d'activité antibactérien des tétracyclines est large , s'exerçant sur beaucoup de germe courants, Gram+ et Gram-. Les Germes particulièrement sensibles sont les Pasteur elles , brucelles , *haemophilus* , vibriion , corynebacteries. Les Germes moyennement sensible :Streptocoques, staphylocoques, salmonelles , colibacilles. Enfin les Germe peu sensibles :*proteus* , *pseudomenas*.

VI.3. Rôle d'antibiotiques dans le traitement des infections chez lapins :

En élevage cunicole , les pathologies digestives ont de tous temps et une des causes majeures de pertes économiques et de mortalité , Ils sont suivi par des pathologies respiratoires et cutanées [21].

les principaux agents pathogènes associées à ces pathologies étaient essentiellement d'origines parasitaires et/ou d'origine bactériennes (*Eschrichia coli*, Enteropathogènes, Clostridium spiroforme, *Staphylococcus*...) et/ou d'origine virale (rola virus, calcivirus,...) [50].

les maladies d'origine bactériennes sont traités généralement par les antibiotiques et les antifongiques. Le choix de ces dernier est en fonction du germe en cause.Dans le cas des coccidoses par exemple, ils sont traité par le cycostat et par itlmycoseine pour le traitement des infections des mammites chez lapins [11].

En fin la vaccination assure une protection aux animaux contre les infections virales [11] [21] [50] .



Chapitre V

Données sur le lapin.

Le lapin appartient au super ordre des Glirs , ordre des Légomorphés. famille Leparides, genre Oryctologus, espèce curiculis[57].

V.1. L'Appareil digestif du lapin :

Chez un lapin adulte de 4.5Kg ou sub-adulte de 2.5kg à 3kg, le tube digestif à une longueur totale d'environ 4.5 à 5 mètre [57]. Il se compose d'une bouche, d'un caecun, d'un colon terminé par un rectum et un anus [33].

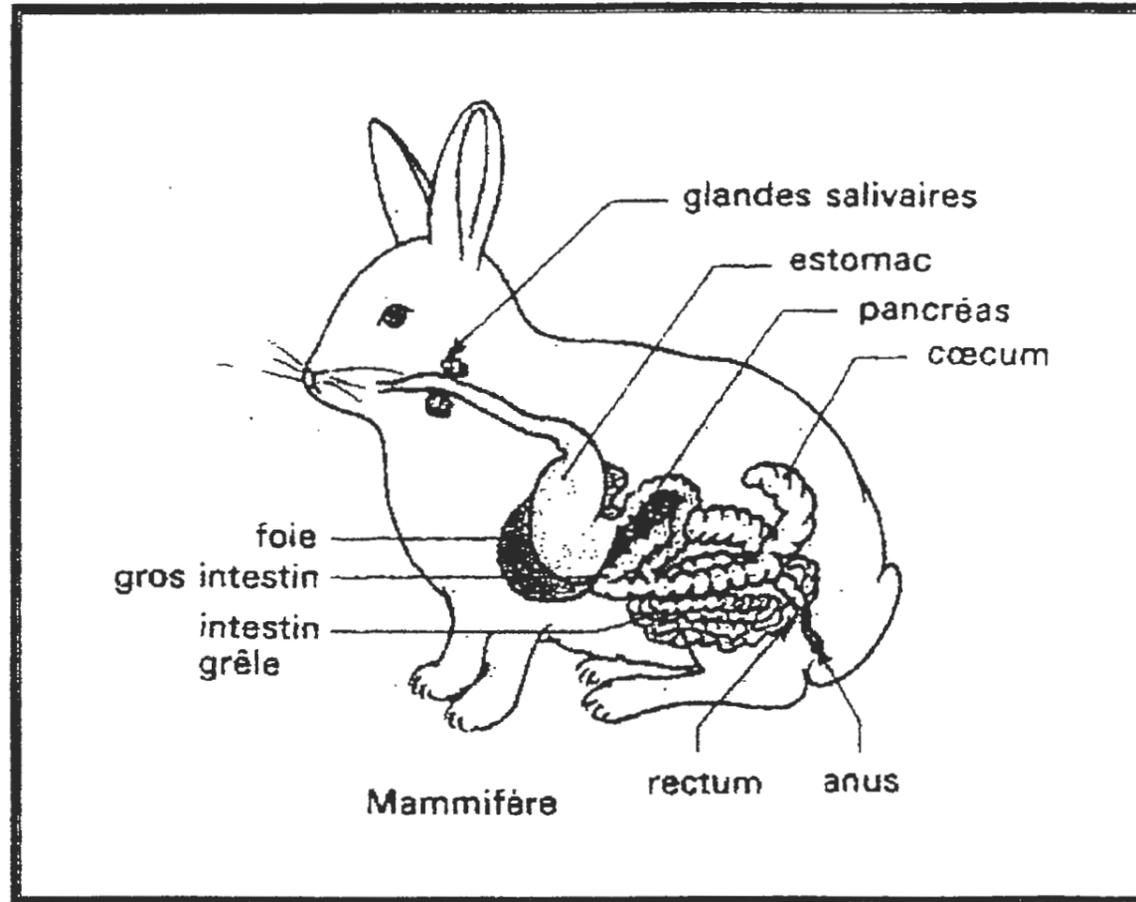


Figure 1: Spécialisations anatomiques et fonctionnelles du système digestif chez le lapin [78].

V.1. 1. La bouche : Dans la bouche, les dents ont une croissance continue, leur rôle masticateur est très modéré, les glandes salivaires, produisent une salive contenant une faible quantité d'amylase [57].

Sous l'action de la salive et la mastication prolongée, la nourriture se réduit en une bouillie pâteuse [8].

V.1. 2. L'œsophage : L'œsophage fait suite au pharynx, c'est un tube qui assure le transport des aliments et de l'eau jusqu'à l'estomac [11].

V.1. 3. L'estomac : C'est une poche qui assure la digestion mécanique et une partie de la digestion chimique [11].

Le pH toujours fortement acide varie cependant assez sensiblement au cours de la journée.

V.1. 4. L'intestin grêle : Il mesure environ 3m de longueur pour un diamètre, d'environ 0.8 à 1 cm, Il est classiquement divisé en duodénum, jéjunum et iléum [57].

Le duodénum ou s'abouche les canaux pancréatiques et biliaires, il y a donc diversion à ce niveau de nombreuses enzymes digestives qui assurent la dégradation des molécules.

Le jéjunum et l'iléon : c'est à ce niveau que les molécules sont absorbés par l'organisme [57].

V.1. 5. Le caecum : Le caecum est un gros diverticule replié très important, Il renferme une flore et une faune indispensable à une bonne digestion [11].

En cas de perturbation de l'équilibre écologique, il se crée souvent une diarrhée.

V.1. 6. Le colon: Le colon est composé de deux parties [8] :

- Le colon proximal bachelée avec une muqueuse épaisse, comporte de nombreuses glandes à mucus.

- Partie distal est lisse, le contenu de l'organe devient de plus en plus sec et dur, se fragment en faces de taille et de consistance variables selon le cycle que le lapin excréter des crottes molles ou des crottes dures.

V.2. Microbiologie du tube digestif du lapin :

Comme tous les nouveau-nés, le lapereau n'a pas de flore intestinale à la naissance, l'implantation de la flore est assez atypique [49] [57].

En tout état de cause, il faut savoir que la flore normale d'un lapin est exempte de protozoaires, les seuls qu'on y trouve trop souvent, sont les coccidies [57].

Du point de vue des souches présentes, la flore digestive du lapin se caractérise par la dominance d'espèces anaérobies strictes et particulièrement des bacilles Gram négatifs, Bacteroides, que l'on retrouve à tous les niveaux du tube digestif, [49] et représente 90 %de flore intestinale [49].

Des bactéries sporulées sont cent à mille fois moins nombreuses que les bactéroïdes et appartiennent aux genres clostridium ($10^4/g$ chez les adultes), les streptocoques (*St. faecium* , *St. faecalis*) sont presque toujours absents de l'estomac , dans l'intestin grêle , le caecum et le colon , leur nombre atteint son maximum chez des lapereaux ages de 7 à 14 J, et diminue ensuite avec l'age [57].

En absence de perturbation, le tube digestif contient aussi des colibacilles ($10^3/g$ contenue cœcale environ selon l'âge), et quelque lactobacille[11].

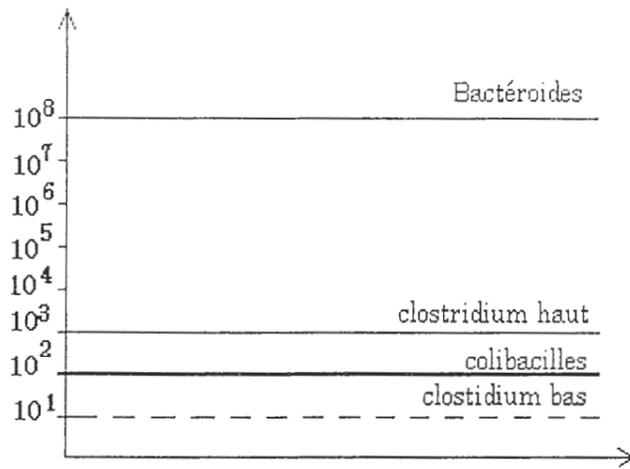


Figure 2 : la flore cœcale du lapin Adulte ; flore normale [11].

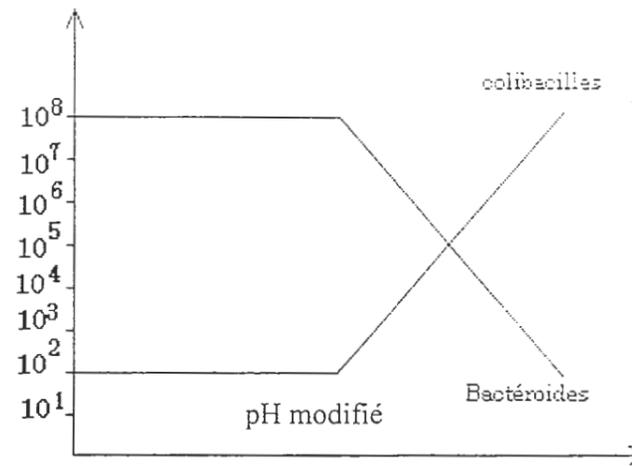


Figure 3 : la flore cœcale du lapin Adulte ; flore perturbée [11].

V.3. Les entérobactériaceae.

V.3.1. Définition:

La famille des entérobactéries (Enterobactériaceae) regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale [41].

Les entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles Gram négatif, oxydase négatif et catalase positif asporulés dont les dimensions varient de 1 à 6 micromètre de long et de 0.3 à 1 micromètre de large. Parmi les autres caractères [41] :

- Mobile par une ciliature péritriche ou immobiles.
- Se développent en aéro-anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire est facilement cultivable.
- Acidifiant le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz
- Réduisant les nitrates en nitrites (sauf quelques *Erwinia*).
- L'espèce type est *E.coli*.

V.3.2. Classification :

Les entérobactéries se subdivisent en cinq tribus [53] :

- Escherichiae.
- Klebsiella.
- Proteae.
- Yersiniae.

- Eriwiniae.

V.3.3. Caractères cultureux:

Les Entérobactéries se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire, incubés à 18 h à 37°C. Les caractères cultureux les plus connus sont les suivants [5] :

- Les formes smooth sont l'aspect habituel.
- Les colonies sont lisses, bambées, brillantes et humides.
- Le bouillon est trouble de façon homogène.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec des colonies sèches ayant subits plusieurs repiquages.
- Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers. En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- Les colonies muqueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*, leur diamètre peut dépasser 10 micromètres, elles ont une tendance à la confluence, on peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi* B.
- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes de certaines enzymes de leurs chaînes métaboliques, elles ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia.coli* isolés d'infections urinaires.

V.3.4. Caractères antigéniques :

Les entérobactéries sont bien connues au point de vue immunologique, les principaux antigènes appartiennent à divers groupes[41] :

Antigène H : ce sont des antigènes flagellaires constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactives par l'alcool.

Antigène O : Ce sont des antigènes de paroi constituée de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résiste à l'alcool et à l'acide.

Antigène K : ces antigènes capsulaires, constitués d'une couche externe polysaccharidique, ils sont détruits par ébullition de deux heures.

Antigène Vi : c'est un antigène somatique localisé dans l'enveloppe ne masque pas l'agglutinabilité de l'AgO. Cet antigène se retrouve chez *S.typhi* et *S. paratyphi*, même après un chauffage à 100°C. Cette antigène reste agglutinable [53].

V.4. Les bactéries de l'intestin et l'effet de l'abattage [28].

La plupart des contaminants d'origine endogène sont cependant d'origine intestinale.

Ce sont des bactéries anaérobies (*Clostridium*, *Bacteroides*) aero-anaérobies (Entérobactéries) micro-aérophiles (*Entérocoque*, *Campylobacter*).

Elles peuvent contaminer la chair musculaire à l'occasion de l'éviscération de

l'animal où (et) de sa découpe par ailleurs.

Le passage de bactéries intestinales dans le sang en période post-prandiale est relativement fréquent chez les animaux.

Ces bactéries peuvent donc, dans ces circonstances être présentes dans la chair (du fait de sa forte irrigation) ceci explique le fait que l'abattage soit effectué à jeun.

Partie II

Matériel et Méthodes

L'ensemble de notre étude a été réalisé au laboratoire de la microbiologie de l'université de Jijel dont les objectifs sont les suivants :

- Mettre en place une collection des souches d'entérobactéries à partir du tube digestif du lapin ;
- Etude de l'effet des surnageants de la culture de *L.plantarum* sur l'ensemble des souches isolées ;
- Evaluation de l'effet des cellules tuées de *L.plantarum* et d'un antibiotique, l'oxytétracycline sur la flore luminale libre et adhérente d'une part et sur la translocation post abattage des entérobactéries chez le lapin.

II.1. Matériel .

II. 1.1. Lapin :

Cette étude a été effectuée sur 16 lapereaux d'une race locale pèsent entre 600g et 1 kg au début de l'expérimentation.

II. 1.2. Souche bactérienne :

Au cours de cette étude, une seule souche lactique a été utilisée, c'est une *L.plantarum* BJ0021, isolée à partir du beurre traditionnel de la région de JIJEL et identifiée au laboratoire de biologie moléculaire et génétique de l'université Es-senia Oran. Cette souche se présente sous la forme lyophilisée (Idoui, 1999).

II. 1.3. Antibiotique :

L'antibiotique utilisé est l'oxytétracycline en poudre sous forme chlorhydrate d'oxytétracycline.

II. 1.4. Aliment :

L'aliment utilisé durant toute la période d'étude est de fabrication industrielle, il est présenté sous forme de granulés durs (aliment granulé), sans aucun élément farineux, la taille approximative des granules est de 5 mm de diamètre et 8mm de long.

II. 1.5. Lait :

Pour la préparation du lait fermenté par *L.plantarum*, on a utilisé du lait écrémé fourni par la laiterie SKIPLAIT, JIJEL.

II. 1.6. Matériel du laboratoire :

Dans notre partie pratique on a utilisé l'appareillage suivant :

Etuve, Bain Marie, centrifugeuse, burette, microscope électronique pipette (1ml, 10ml) Bec benzène, micropipette (100ml), sonde gastrique. Balance du 200g. Agitateur, pHmètre.

II. 1.7. Matériel d'élevage:

L'élevage du lapin a demandé le petit matériel suivant :

- 3 cages pour la séparation
- 3 mangeoires et 6 abreuvoirs.
- Une balance de 4 kg.

II. 1.8. Milieux de culture et réactifs :

La réalisation de la partie pratique a nécessité l'utilisation des milieux de culture et des réactifs suivants :

- **Gélose HEKTOEN** : Pour la culture des entérobactéries.
- **Gélose et bouillon MRS**: Pour la culture de la bactérie lactique.
- **Gélose VRBG** : Pour le dénombrement des entérobactéries.
- **Milieux pour profil biochimique** : Moller ODC, LDC et ADH, TSI, Mannitol mobilité, urées- indol, MEVAG sans sucre, citrate de Simmons, Clark et Lubs, bouillon nutritif.
- **Réactifs** : VPI, VPII, KOVACS, rouge de méthyle et eau oxygénée.
- Disque ONPG, papier filtre 0.45 Micromètre et sucres.

II. 1.9. Produits chimiques et colorants :

Nous avons utilisé le matériel suivant :

- Pour la coloration de Gram : violet de Gentiane, lugol, alcool et fuschine.
- Détermination de l'acidité : phénol phtaline 1%, soude dornic 9/ N.
- Ajustement de pH : HCL et NaOH.

II.2.Méthodes .

II.2.1. Isolement et identification des entérobactéries à partir du caecum du lapin.

II.2.1.1.Abattage du lapin et prélèvement d'organe [1] [41].

Pour le prélèvement des échantillons à partir du caecum, un lapin a été abattu par saignée directe puis il est transféré dans une zone stérile entre deux bec benzène.

L'animal est éventré et des échantillons du caecum ont été prélevés dans des flacons stériles.

La figure ci-dessous illustre l'endroit du prélèvement des échantillons.

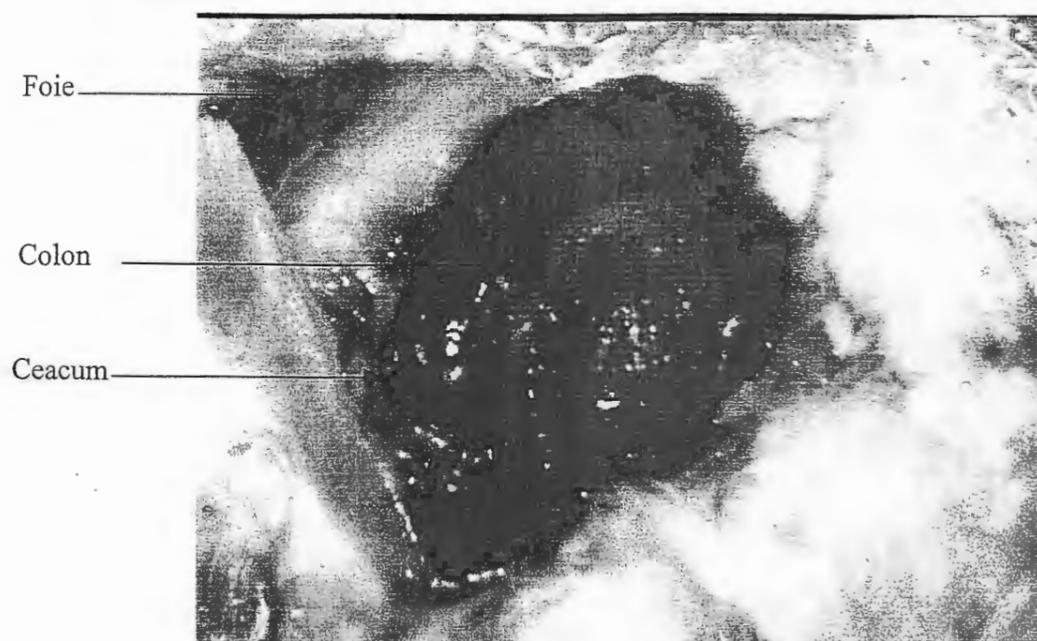


Figure4 : Endroit de prélèvement d'organe

II.2.1.2. Préparation des dilutions et ensemencement [41] :

Pour augmenter la chance d'isoler des bactéries adhérentes au caecum, les échantillons prélevés ont subi 3 lavages successifs dans du bouillon nutritif. Chaque lavage dure 15mn [27].

A partir de ces bouillons, on réalise des dilutions décimales sur eau distillée stérile jusqu'à 10^{-6} . Par la suite, la gélose Hektoen est ensemencée par étalement de cinq gouttes des dilutions 10^{-5} et 10^{-6} .

Les boites sont incubées à 37°C pendant 24h.

II.2.1.3. Purification [41] :

Après l'incubation, 17 colonies distinctes ont été ciblées et inoculées sur le bouillon nutritif puis incubées à 37°C pendant 24h.

De Chaque tube présentant un trouble, on prélève une Ose de culture et on ensemence la gélose Hektoen par stries puis on incube à 37°C pendant 24h.

Les cultures présentant les mêmes caractéristiques phénotypiques sont considérées comme pure.

II.2.1.4. Tests d'identification [41] [10] [50].

Les 17 souches résultantes de la purification ont été soumises aux tests suivants :

a. Coloration de Gram :

La coloration de Gram va nous permettre de sélectionner les Gram négatifs la technique est la suivante :

- Une goutte de la suspension bactérienne est étalée sur une lame et fixer par la chaleur
- Quelques gouttes de solution aqueuse de violet de gentiane sont ajoutées sur le frottis puis l'excès de violet est jeté après une minute d'action.
- Le frottis est ensuite recouvert de lugol pendant 1min et laver par l'eau de robinet.
- La lame est ensuite décolorée à l'alcool absolu.
- Après lavage à l'eau de robinet, le frottis est recoloré à la fuschine et examiné à l'immersion.

b. Test catalase :

La réaction est mise en évidence par un contacte d'une colonie avec l'eau oxygénée 30% sur une lame.

Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou des bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de catalase.

c. Etude du métabolisme protéique :

1. Recherche des décarboxylase :

Beaucoup d'espèces microbiennes possèdent des enzymes capables de dégrader les acides aminés de manière plus ou moins spécifique, il s'agit de décarboxylases donnant des amines.

L'ornithine décarboxylase (ODC), la lysine décarboxylase (LDC) et l'Arginine déshydroxylase (ADH) sont les plus étudiées.

- **Recherche de la lysine décarboxylase.**

Pour mettre en évidence l'activité de cette enzyme, on aensemencé le milieu "Moller" enrichie de la lysine par le germe à testé et incubé à 37°C pendant 24 h.

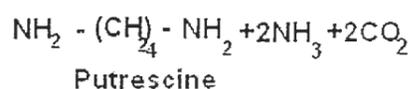
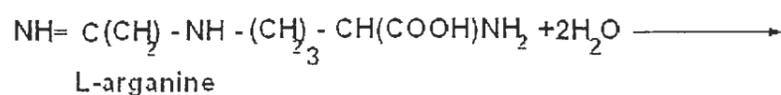
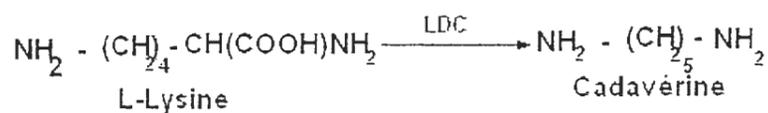
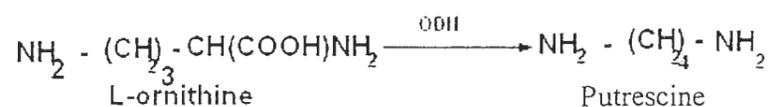
- **Recherche de l'ornithine décarboxylase.**

La mise en évidence de l'activité de cette enzyme est s'effectué sur le milieu "Moller" enrichi de l'ornithine, ensemencer par le germe à tester et incubé à 37°C pendant 24h.

- Recherche de l'arginine dihydrolase.

La mise en évidence de l'activité enzymatique de l'ADH est effectuée par l'ensemencement du milieu "Moller" enrichi de l'arginine par le germe à tester et incubé à 37°C pendant 24h.

Après l'incubation, l'activité enzymatique se traduit par l'apparition d'une coloration violette selon les réactions suivantes :



2. Dégradation de l'urée et production d'indole :

Les micro-organismes possèdent une uréase très active transformant l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium.

L'indole est issu de l'hydrolyse du tryptophane pour mettre en évidence ces deux phénomènes, le milieu de FERGUSON (urée indole) est ensemencé par la culture bactérienne et incubé à 37°C pendant 24h.

L'apparition d'une teinte rouge traduit la décomposition de l'urée.

La production d'indole est caractérisée par le réactif de KOVACS ou d'Ehrlich dont la présence d'indole se manifeste par apparition d'un anneau rouge en surface.

d. Utilisation de l'ion citrique comme unique source du carbone :

Certaines bactéries sont capables d'utiliser l'ion citrique comme unique source de carbone de telles bactéries sont capables à cultiver sur milieu synthétique dont la seule source de carbone est constituée par le citrate de sodium.

L'ensemencement sera fait en surface par une strie longitudinale dans le milieu citrate de simmons, puis incubé à 37°C pendant 24h.

Le virage de la couleur vers le bleu indique la présence du citrate perméase.

e. Etude du Métabolisme glucidique.

1. Etude simultanée de plusieurs sucres :

Le milieu TSI permet la recherche de 5 caractères de fermentation de Glucose, lactose et saccharose, production d'H₂S et du gaz.

L'ensemencement du culot se fait par piqûre centrale et la pente par stries serrés et parallèles puis incubé à 37°C pendant 24h.

La lecture se fait comme suit :

Glucose (+) : culot jaune.

Lactose (+) : pente vire au jaune.

Production du gaz : découlement de la Gélose.

Production d'H₂S : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot.

2. dégradation du mannitol :

La dégradation du mannitol permet la formation d'acide à chaire courte. On a ensemencé les tubes du milieu mannitol mobilité par piqûre centrale puis en a incubé à 37°C pendant 24h.

La dégradation du mannitol se traduit par le virage de la coloration au jaune, la diffusion du germe indique que ces bactéries sont mobiles.

3. recherche de la B- galactosidase :

La pénétration du lactose est possible grâce à une autre enzyme B- galactoside perméase, la B- Galactosidase est libérée du corps bactérien.

On prépare une suspension dense d'une culture bactérienne dans 0.5 ml d'eau physiologique, puis on ajoute un disque ONPG et on incube à 37°C pendant 30 min.

Le test est positif quand la suspension prend une couleur jaune citron.

f. Etude des dérivés de l'acide pyruvique :

Il existe deux type fermentaire présentant un intérêt du diagnostic peuvent être caractérisé par :

Fermentation des acides mixtes : sont mise en évidence par la réaction de rouge de méthyle (RM).

Fermentation butylène glycolique : est mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer (VP).

1. Réaction au rouge de Méthyle (RM)

On aensemencé 5 ml de milieu Clark et Lubs par le germe à tester. Après une incubation à 37°C pendant 24h, on ajoute 2 gouttes d'une solution de rouge de méthyle.

Le test positif se traduit par le virage de la couleur vers le rouge.

2. Réaction de Voges-proskauer (VP).

La réaction de Voges-proskauer permet de caractériser la présence d'acétyl méthyl carbinol, acétoïne qui est un corps intermédiaire dans la formation du butylène glycol (2-3 butanediol).

On aensemencé 5 ml de milieu Clark et Lubs par le germe à tester. Après une incubation à 37°C pendant 48 h, on ajoute 0.5 ml du réactif VPI et 0.5 ml du réactif VPII puis on agite les tubes énergétiquement.

L'apparition d'une couleur rouge rose indique la production de l'acétoïne.

G. Profil de fermentation des sucres :

Le test permet d'apprécier la capacité des souches à fermenter quelques sucres.

Ce test est réalisé sur milieu MEVAG, milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides. Pour réaliser ce test, on a ajouté au milieu fondu est refroidi à 37 °C. Quelque 5 gouttes des sucres à tester, on homogénéise. Après refroidissement et prise en masse, on ensemence nos souches bactériennes.

Après incubation à 37°C pendant 24 h, tous les tubes dont la couleur vire vers le jaune sont considérés comme positifs.

II.2.2. Effet des surnageants sur la collection des entérobactéries.

II.2.2.1.préparation du surnageant [44] [2] :

Un ml de *L. plantarum* BJ0021 a été propagé dans 100 ml du bouillon MRS contenant 0.5 ml du glucose puis incubé pour 24h à 37°C.

La culture bactérienne est centrifugée à froid (+ 4C°) à 4700 tr/minutes pendant 27 minutes. Le surnageant récupéré était filtré sur une membrane de porosité 0.22 μ m (*Millipore Minis art. SM 16584. Sartorius*). Le filtrat stérile ainsi obtenu constituait l'extrait de culture natif.

L'extrait de culture natif est partagé en deux volumes, le pH de l'un est ajusté à pH7 par du NaOH 5N.

II.2.2.2.Méthode de détection de l'activité antimicrobienne [87] :

Pour mettre en évidence l'effet du surnageants natif et celui à pH7 sur notre collection des entérobactéries deux méthodes ont été appliquées :

a. Méthode des puits : (Fléming et al [87]) :

Les étapes de cette technique sont les suivantes :

- La gélose Hektoen ou celle au Desoxycholate 0.1% est coulée dans des boites de Pétri et laissée prendre en masse.
- Un volume de 1ml d'une culture entérobactérie est étalé à la surface de la gélose, le surplus de l'inoculum est récupéré. La gélose est laissée sécher.
- 5 puits de 5 mm de diamètres sont creusés dans la gélose de chaque boite de Pétri en utilisant une cloche de Durham. Le fond de chaque puit reçoit un volume de la même gélose.
- 50 μ l de surnageant est placés dans chaque puit.
- Les boites sont incubées à 37°C pendant 24h puis les diamètres des zones d'inhibition entourant les puits sont mesurés.

b. Méthode de diffusion par disques :

Les étapes sont les suivantes [89] :

- La gélose Hektoen ou celle au désoxycholate 0.1% estensemencée par inondation par la souche à tester des entérobactéries. On laisse sécher.
- Chaque disque de papier Whatman stérile (de 05 mm de diamètre) est imbibé par 20 μ l du surnageant de la culture *L.plantarum*, et déposé sur la gélose déjàensemencée ;
- Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h ;
- On mesure les diamètres des zones d'inhibition [77].

II.2.3. Etude de l'effet de l'Oxytétracycline et des cellules tuées de *L.plantarum* sur la flore luminale, la flore adhérente et la translocation post-abattage des entérobactéries chez le lapin.

II.2.3.1.Préparation du lapin :

Nous avons placés les lapins en une partie d'animalerie dans des cages en bois a dimension d'un mètre de longueur, 0.85 m de largeur et 0.69 m de hauteur, dont le plancher est fabriqué d'une façon permettant l'évacuation de la matière fécale des lapins.

Chaque cage comporte 5 lapereaux est munis de deux abreuvoirs de 18 cm de diamètre et de 550 ml de capacité, ainsi qu'un mangeoire de 98 cm de largeur et de 3,5 cm de hauteur.

L'adaptation à l'aliment a duré une semaine et l'hygiène des cages est assurée par un nettoyage quotidien.

La figure 5 illustre la répartition des animaux en lot.



Figure 5 : Répartition des animaux.

II.2.3.2. Préparation du probiotique [65].

Pour la préparation de probiotique, on a appliqué le protocole suivant :

- Préparation du lait à raison de 12 % additionné de 8g de saccharose.
- Un traitement thermique à 72°C pendant 10 min.
- Un refroidissement à 37°C.
- Ensemencement par la culture de *L. plantarum* à raison de 2%.
- Une incubation à 37°C pendant 4h.

Après cette période d'incubation, on contrôle le pH et l'acidité du produit fini.

Pour tuer les cellules de *L. plantarum*, on a appliqué un traitement thermique au bain Marie à 100°C. La destruction totale des cellules se fait par le contrôle de viabilité de la souche.

a. Mesure du pH [41] :

On plonge l'électrode du pH mètre dans un bécher contenant un volume du lait coagulé et on lit la valeur enregistrée sur écran.

b. Mesure de l'acidité [41] :

On place 10 ml du lait dans un bécher, on ajoute 5 gouttes de la phénolphtaline et on titre avec de la soude dornic N/9 jusqu'au virage de la couleur au rose pale.

Le volume de la sonde utilisé permet d'estimer l'acidité selon la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \cdot 10.$$

V : volume NaoH utilisé.

c. Contrôle de viabilité :

Après le traitement thermique à 100°C pendant 5 min du lait coagulé, un contrôle de viabilité a été effectué afin de s'assurer de la mortalité de la souche inoculée selon les étapes suivantes :

Couler la gélose MRS et laisser prendre en masse.
Etaler en double 1ml de la solution à la surface de la gélose et refaire la technique avec la dilution -1.

Laisser sécher et incuber à 37°C pendant 24 h.

La mortalité de la souche est confirmée par une absence totale de croissance bactérienne sur MRS.

II.2.3.3. Voie et Dose d'administration des suppléments [65].

Les animaux reçoivent le même régime alimentaire mais avec une différence l'apport d'un supplément, comme suit :

Lot témoin : Administration de 10 ml d'eau physiologique stérile / tête, 2 fois par jour.

Lot à probiotique tué : Administration de 10 ml d'un lait fermenté contenant des cellules tuées de *Lactobacillus plantarum* BJ0021/ tête, à raison de 2 fois par jour.

Lot à antibiotique : Administration de 10 ml d'Oxytetracycline d'une dose 65 mg / 0,5 kg de poids vif du lapin, 2 fois par jour.

Les suppléments sont administrés aux animaux par voie orale (figure 6) chaque matin à 9h et chaque après midi à 16h pendant 7 jours.



Figure 6 : Voie de l'administration des suppléments

II.2.3.4. Evaluation de la colonisation intestinal et la translocation bactérienne.

a. Abattage et prélèvement d'organe [1] [41] :

Au premier jour, cinquième et septième jour, un lapin de chaque lot a été abattu par saignée directe. Le foie, 2 cm de l'iléum et la totalité du colon ont été prélevés dans la zone stérile [68].

Sur chaque animal 10ml de sang ont été prélevés au moment de l'abattage par une seringue stérile. μl

b. Préparation des solutions mères et des dilutions décimales [68]:

Pour chaque échantillon nous avons appliqué la technique courante :

1. **Sang** : À partir de chaque échantillon prélevé, 1ml de sang est transféré dans 9ml d'eau physiologique stérile et homogénéisée 10^{-1} . On refait la même opération pour aboutir à la dilution 10^{-3} .
2. **Foie** : Une solution mère a été préparée en broyant 4g du foie dans 40 ml de bouillon nutritif. A partir de la cette solution mère, on réalise des dilutions jusqu'à 10^{-3} sur eau distillée stérile.
3. **Iléon** : Pour la préparation de la suspension mère à 10^{-1} , le poids correspondant à 2 cm d'iléum a été broyé dans un volume du bouillon nutritif. Après une macération d'un quart d'heure, 8 bain successifs ont été réalisés sur le même bouillon (Le temps accordé pour chaque bain est de 15 mn) [27]. Au dernier bain, l'iléum a été pesé et broyé dans 5 ml du bouillon nutritif [32].

A partir de 1^{er} bains, on a réalisé des dilutions décimales jusqu'à 10^{-6} afin de dénombrer les bactéries libres, et à partir du dernier bain, on a réalisé des dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} pour la numération des bactéries fixées à l'iléon [23].

4. **Colon** : La totalité du colon a été pesée et broyée dans un volume du bouillon nutritif. Puis 8 bains successifs ont été réalisés afin d'isoler les bactéries libres et les bactéries fixées, dont la durée de chaque bain est de 15 mn [27].

A partir du premier bain des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10^{-8} pour but de dénombrer les bactéries libres [23].

Au dernier bain, le colon a été pesé et broyé dans du bouillon nutritif, a partir de ce dernier des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10^{-4} pour but de dénombrer les bactéries fixées [23].

Les poids des organes de tube digestif de chaque lapin abattu utilisés pour la préparation des solutions mères sont illustrés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Poids des différents organes et volumes de bouillon nutritif.

	organes	Témoin		Antibiotique		Probiotique tué	
		P	V	P	V	P	V
J 1	Colon	1.5	13.5	8.0	72	13.0	117.0
	iléon/2cm	0.62	6.2	0.36	3.6	0.47	4.7
J 5	Colon	7.5	67.5	78.6	72	12	108
	iléon /2cm	0.37	3.7	0.34	3.7	0.75	7.5
J 7	colon	9.50	85.5	10	90	18	162
	iléon /2cm	0.35	3.5	0.34	3.4	0.34	3.7

P : poids d'organe en g.

V : volume du bouillon nutritif en ml.

/2cm : poids de 2 cm d'iléon.

J : Jour

c. Ensemencement [41] [32] :

De chaque dilution choisie, 1ml est déposé au fond de la boîte de Pétri sous forme de gouttelettes, puis la gélose VRBG fondue et refroidie est coulée sur l'inoculum. On homogénéise et on laisse prendre en masse.

Les ensemencements sont effectués à partir de la dilution [23] :

- Le sang : 10^{-4} .
- Le foie : 10^{-3} .
- L'ilium : 10^{-3} pour le dénombrement des bactéries fixées et 10^{-6} pour le dénombrement des bactéries libres.
- Le colon : 10^{-4} pour le dénombrement des bactéries fixées, 10^{-8} pour le dénombrement des bactéries libres dans le colon.

Après 24 h d'incubation à 37°C, on dénombre les colonies rouges, d'au moins 0.5 mm de diamètre.

Le nombre d'entérobactéries est égal à la moyenne du nombre trouvé sur les deux boîtes multiplié par l'inverse de la dilution utilisée.

Partie III

Résultats et Discussion

III.1. Isolement et identification des d'entérobactéries à partir du caecum du lapin.

III.1.1. Coloration de Gram :

Au cours de cette première partie expérimentale, on a isolé et purifié 17 souches à partir du caecum du lapin. Les préparations microscopiques ont montré la présence de cellules de formes homogènes, bacille et coccobacille.

Les cellules étaient colorées en rose témoignant leur appartenance à la classe des Gram négatifs.

III.1.2. Tests physiologiques et biochimiques :

Les résultats trouvés sont portés dans le tableau 5. D'après ces résultats, La plupart des souches possèdent une catalase, disposent d'un complexe enzymatique actif vis-à-vis de la dégradation par (hydrolyse ou décarboxylase) de l'arginine, la lysine et l'ornithine.

Elles sont pour la majorité, capables de fermenté du Glucose et le lactose avec production de gaz, certaines sont mobiles d'autres immobiles. Par ailleurs, il apparaît que la majorité des souches ont une défaillance enzymatique vis-à-vis de l'utilisation de l'urée et la fermentation d'inositol.

L'utilisation de citrate comme seule source de carbone a été notée uniquement chez sept souches de la collection.

La lecture de ces résultats montre que deux souches de la même espèce peuvent présenter deux profils biochimiques différents, donc des aptitudes différentes, c'est le cas des *E.coli* 1 et *E.coli* 3, la première souche présente une bonne activité de décarboxylation de la lysine et de l'ornithine et peut utilisé le saccharose, à contrario la deuxième souche possède une activité de décarboxylation lente vis-à-vis des deux acides aminés, la lysine et l'ornithine et elle est inapte à fermenter le saccharose.

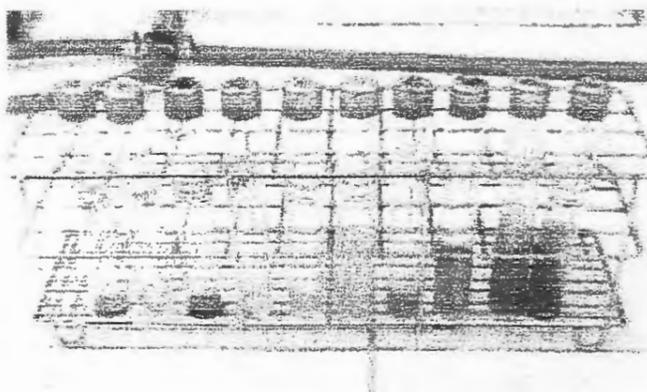


Figure 9 : Profil d'identification des entérobactéries
Exemple de la Souche : *Escherichia coli* 1.

Tableau 5 : Caractéristiques des différentes souches des entérobactéries.

S	Forme	GRAM	CAT	ONPG	LDC	ODC	ADH	CIT	H2S	URE	INDOL	VP	RM	GLU	SACC	INO	GAZ	mobil	Identifier à
1	coccobacille	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+/-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
2	coccobacille	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
3	coccobacille	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
4	coccobacille	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Salmonella spp</i>
5	coccobacille	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+/-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
6	coccobacille	-	+	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+	+	-	-	+	-	<i>Shigella spp</i>
7	coccobacille	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+/-	-	+	+	+/-	+/-	+	-	<i>Enterobacter spp</i>
8	coccobacille	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Escherichia spp</i>
9	coccobacille	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+/-	-	+	+	<i>Escherichia spp</i>
10	coccobacille	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+/-	+	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
11	coccobacille	-	+	+	-	-	+/-	+	-	-	+/-	+	-	+	+/-	-	+	+	<i>Citrobacter spp</i>
12	coccobacille	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+/-	+	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
13	coccobacille	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Salmonella spp</i>
14	coccobacille	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella spp</i>
15	coccobacille	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+/-	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
16	coccobacille	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
17	coccobacille	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>

+ : test positif. - : test négatif. +/- : réponse intermédiaire. S: souche.

D'après les profils d'identification des souches, et sur la base des données du tableau 6 et la figure 8, le genre *Escherichia* est le dominant dans la collection, il représente approximativement 41.17% suivi du genre *klebsiella* et *Enterobacter* avec un pourcentage de 17.64 %, puis le genre *Salmonella* avec un taux de 11.76%. Les deux genres *Shigella* et *Citrobacter* prennent un pourcentage équitable de l'ordre de 11.76%.

Tableau 6 : Répartition de la collection en pourcent.

Genres	Espèce	Nombre de souches	Pourcentage
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>	5	29.41%
	<i>Escherichia spp</i>	2	11.76%
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella spp</i>	3	17.64%
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter spp</i>	3	17.64%
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella spp</i>	2	11.76%
<i>Shigella</i>	<i>Shigella spp</i>	1	5.88%
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter spp</i>	1	5.88%

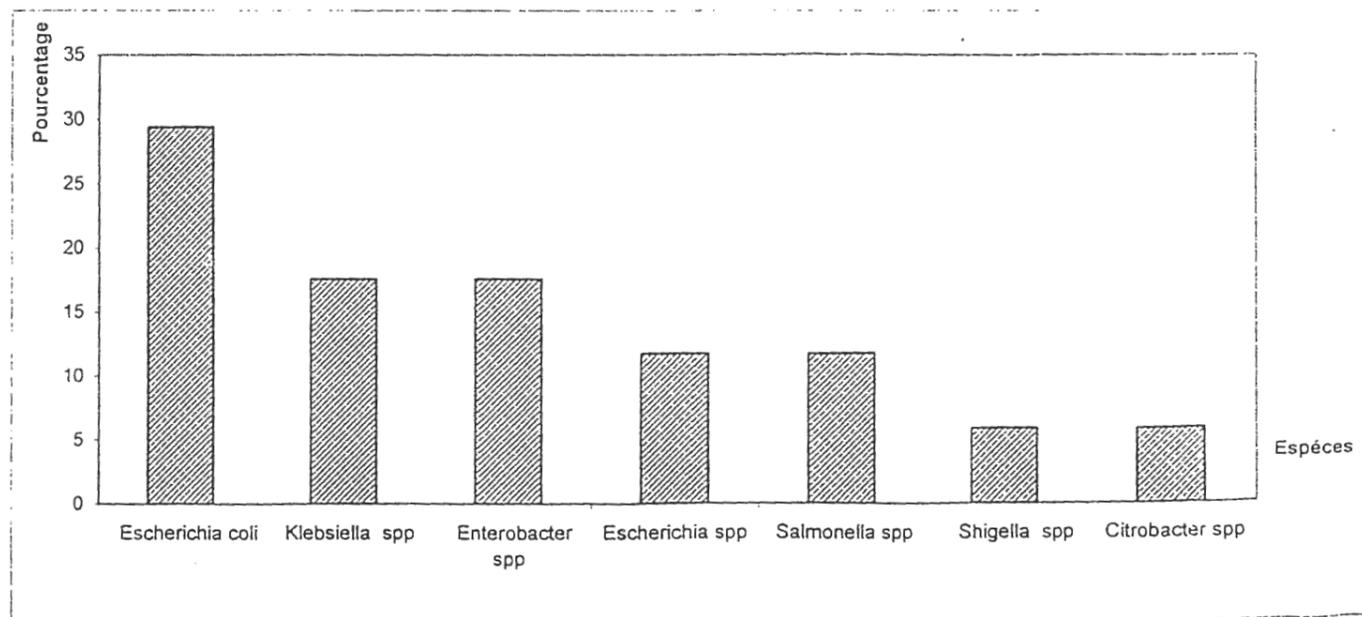


Figure 8 : Répartition des espèces isolées

D'après les résultats d'identification 82,35% des entérobactéries sont des coliformes.

III.2. Caractéristiques du produit lactofermenté :

Après 4 h d'incubation, la souche *L. plantarum* a coagulé complètement le lait, elle est dite souche à coagulation rapide ou « Fast Acid Producer ».

Cette espèce produit 10g d'acide lactique par litre de lait et abaisse en même temps la valeur du pH à un niveau bas estimé à pH5,14.

D'après ces résultats, cette bactérie lactique produit un métabolite assez puissant et inhibiteur des bactéries à Gram positif aussi bien que celles à Gram négatif.

III.3. Effet des surnageants sur les entérobactéries :

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 7. Ces résultats illustrent la sensibilité et la résistance des souches des entérobactéries vis-à-vis du surnageant de *L. plantarum*, ce dernier a un spectre d'inhibition assez large proche de 70,6 %. Cela est bien sûr lié à la présence des substances à activité inhibitrice.

Les substances inhibitrices produites par les bactéries lactiques sont : acide organique, peroxyde d'hydrogène, antibiotique et bactériocines [2] [3] [9] [86] [90].

D'après ces résultats, le surnageant natif exerce un effet inhibiteur très marqué sur 13 souches parmi les 17 souches mises à l'épreuve dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 2 à 25mm. Les plus larges zones d'inhibitions sont obtenues avec la souche *Escherichia coli* 16 estimée à 25 mm et la souche *Enterobacter* spp 7 estimée à 22 mm. Cependant, il apparaît clairement que les souches *E. coli* se comportent différemment une fois mise en contact avec le surnageant natif, ainsi la souche 17 est la plus résistante aux substances inhibitrices contenues dans cet extrait de culture. Le diamètre d'inhibition était de 12 mm uniquement, cela explique la variabilité intra espèce.

En revanche, les *Klebsiella* et *Shigella* isolées ont montré une très bonne résistance à l'effet du surnageant, ce dernier n'affecte pas la croissance de ces souches.

La lecture et la comparaison des résultats du tableau 7, montrent que le surnageant perd partiellement son spectre d'action après la neutralisation de l'acide lactique et des autres acides organiques contenus dans le surnageant, ainsi le surnageant neutre exprime une activité inhibitrice sur neuf souches de la collection avec des diamètres de zones d'inhibition de 1mm à 12mm. La souche la plus sensible étant *Enterobacter* spp 7 avec une zone d'inhibition de 12 mm.

A travers ces résultats, la souche *Escherichia* spp 9 sensible au surnageant natif ne l'est plus après la neutralisation de l'acidité du surnageant, cela prouve le rôle joué par les

acides produits par les bactéries lactiques en particulier l'acide lactique à inhiber les autres espèces bactériennes.

Tableau 7 : Effet des surnageants de *L.plantarum* sur les entérobactéries .

Souches	Codes	Surnageant natif	Surnageant pH7
		Diamètres des zones d'inhibition : mm	
<i>Escherichia coli</i>	1	13	9
<i>Klebsiella spp</i>	2	0,0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	3	13	7
<i>Salmonella spp</i>	4	10	2
<i>Escherichia coli</i>	5	17	8
<i>Shigella spp</i>	6	0,0	0,0
<i>Enterobacter spp</i>	7	22	12
<i>Escherichia spp</i>	8	8	8
<i>Escherichia spp</i>	9	10	0,0
<i>Enterobacter spp</i>	10	2	0,0
<i>Citrobacter spp</i>	11	20	0,0
<i>Enterobacter spp</i>	12	12	2
<i>Salmonella spp</i>	13	2	0,0
<i>Klebsiella spp</i>	14	0,0	0,0
<i>Klebsiella spp</i>	15	0,0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	16	25	10
<i>Escherichia coli</i>	17	12	1

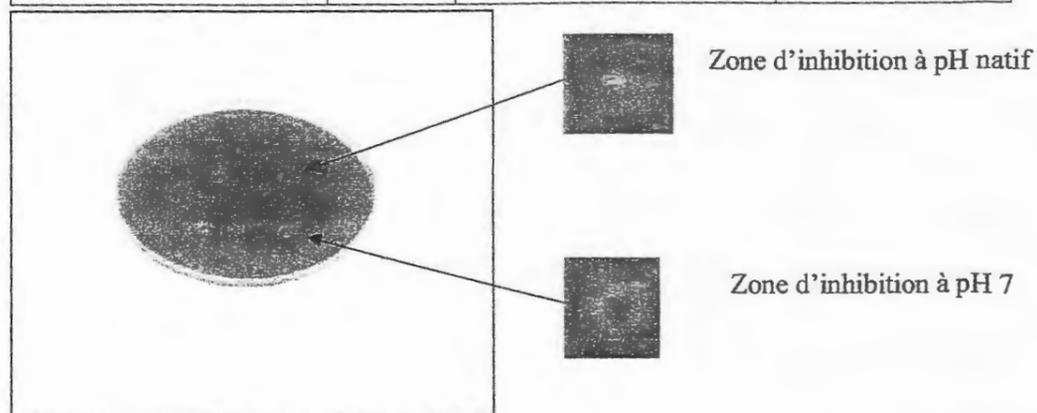


Figure9 : illustre les caractéristiques que possèdent certaines souches à stimuler ou inhiber d'autres souches une fois mis en contacte

L'abaissement du pH dû à l'accumulation de l'acide organique, acides lactiques et acétiques essentiellement, est le principal facteur à l'origine de ces inhibitions. Cependant, il est aujourd'hui admis que de nombreux autres phénomènes sont en partie, responsable des antagonismes observés en présence des bactéries lactiques [91].

D'une part, les acides organiques peuvent exercer une action inhibitrice spécifique, d'autre part la production de nombreux autres agents inhibiteurs, peroxyde d'hydrogène, antibiotiques et bactériocines ont été démontrée [47] [91] [38].

La tolérance des micro-organismes vis-à-vis du pH est très variable, la majorité des espèces bactérienne ne peut pas se développer aux pH inférieurs à 4. Pour des salmonelles, Chung et al [16], ont observé des pH minima de croissance variant de 4.0 à 5.5.

Les concentrations en acide lactique nécessaire pour obtenir une inhibition des *Enterobacteriaceae* en milieu de culture sont de 0.01%.

Rubin, [83], a observé un léger effet synergique entre l'acide acétique et l'acide lactique pour l'inhibition de *Salmonella typhimurium*. D'autres observent également cette action énergétique contre *Salmonella* et *Escherichia coli* et ils l'attribuent à l'augmentation de la concentration en acide l'acide lactique non dissocié.

Enfin après la neutralisation des acides, on peut attribuer l'effet antimicrobien au peroxyde d'hydrogène ou encore aux bactériocines. Klaenhamert [46] et Schillinger, [86], confirment que la production des substances antimicrobiennes de type bactériocines est capable d'inhiber les germes fréquemment responsables d'infection en élevage.

Par ailleurs, les travaux de Bruno et al. [14], expliquent que l'inhibition des entérobactéries est due à l'action des bactériocines, cette dernière agit au niveau de la membrane cytoplasmique des bactéries sensibles : Les pédiocines P-A-1 et AC-H, la lactacine F et les lactococcines A et B ont été plus particulièrement étudiées. Le mécanisme général est la formation des pores dans la membrane de la bactérie cible.

De même, Gotzet [39], montre que le peroxyde d'hydrogène est à l'origine du pouvoir inhibiteur observé chez *L. plantarum*, en outre, montre la sensibilité de certaines espèces Gram négatifs, même catalase positif à cet effet inhibiteur comme *E. coli* et *Salmonella*.

Les travaux de Kacem et al [44]., montrent que le surnageant de la culture de *L.plantarum* OL15 exerce un effet inhibiteur sur les souches tests composées de bactéries Gram positif et Gram négatif. De même Oyetayo et al. [69] .montrent que l'aptitude inhibitrice de *L.plantarum* et de ces surnageant vis-à-vis de bactéries indicatrices in-vitro est une bonne aptitude probiotique, cette espèce aussi bien que le contenu de son surnageant inhibe la croissance de espèces de *Salmonella*, d'*E.coli*. de *Staphylococcus aureus* et de *Shigella spp*. Les mêmes auteurs rapportent que l'activité antibactérienne des lactobacilli est liée aux produits de leur métabolisme, les acides organiques, bactériocines et peroxyde d'hydrogène.

III.4. Evaluation des entérobactéries dans le tube digestif du lapin après traitement par l'oxytétracycline et par une préparation à base de *L. plantarum* tuée.

Les résultats obtenus sont portés dans le tableau 8. Ces résultats montrent ce qui suit :

Le nombre d'entérobactéries libres et fixées au niveau iléal marque une fluctuation durant les trois périodes de numération, ainsi les bactéries libres trouvées sont en nombre de 14×10^8 , 1.68×10^8 et $10,8 \times 10^8$ cellules /g à J1, J5 et J7 respectivement. De même, le nombre des entérobactéries fixées varis entre $14,6 \times 10^4$ et 72×10^4 cellules /g d'iléon.

Cependant les résultats montrent que le colon des animaux témoins est plus peuplé comparativement à l'iléon, le nombre des entérobactéries libres va de 40×10^{10} à $2,48 \times 10^{11}$ cellules /g, les bactéries fixées sont moins importantes de l'ordre de 36×10^5 et 64×10^5 cellules /g.

Ces résultats montrent également que l'apport quotidien de l'oxytétracycline avait un effet très marqué sur les entérobactéries libres et fixées au niveau de l'iléon aussi bien qu'au niveau du colon. Concernant le nombre des bactéries libres iléal, il vari de $0,98 \times 10^8$ à $5,6 \times 10^8$ cellule /g du contenu de cette partie intestinale, par comparaison à celui du témoin il y à une perte d'un Log 10. De même, on assiste à une régression du nombre d'entérobactéries fixées dont la perte est approximativement entre $-71,84 \times 10^4$ à $-402,8 \times 10^3$ cellules /g de l'intestin.

La présence de l'oxytétracycline au niveau du colon a fait abaisser le nombre d'entérobactéries de moitié dont on passe de 10^{10} à 10^5 cellules par gramme ; cela dit, cet antibiotique a un large spectre d'action sur les bactéries à Gram négatif.

La lecture des résultats du même tableau, montre que l'apport du supplément, composé du lait fermenté par *L.plantarum* puis traité par la chaleur avait une grande efficacité sur l'évolution du nombre d'entérobactéries libres et adhérentes au niveau iléal et caecal. On enregistre une diminution du nombre de cette flore libre de $-12,8 \times 10^8$ cellules /g du contenu iléal au cours du premier jour de numération puis une augmentation assez importante en périodes J5 et J7 comparativement au témoin. Le

contraire a été noté avec les bactéries fixées dont le nombre a diminué considérablement avec une perte d'au moins un Log 10.

Concernant les bactéries du colon, l'apport de lait fermenté traité avait une nette influence sur les entérobactéries libres, la perte était de -12×10^{10} à -38×10^{10} cellules/g comparativement au témoin, un effet similaire vis-à-vis des bactéries adhérentes a été noté, la perte approximative est de l'ordre de deux Log10.

Tableau 8: Nombre d'entérobactéries dans le colon et l'iléon.

		Témoin		Antibiotique		Probiotique tué	
		Bactéries libres	Bactéries Fixées	Bactéries Libres	Bactéries Fixées	Bactéries Libres	Bactéries Fixées
		B/ml	B/ml	B/ml	B/ml	B/ml	B/ml
J 1	Iléon	14x10 ⁸	46,4x10 ⁴	5,6x10 ⁸	61,2x10 ³	1,2x10 ⁸	16x10 ³
	Colon	24,8x10 ¹⁰	63,6x10 ⁵	16,2x10 ¹⁰	16,8x10 ⁵	12,8x10 ¹⁰	56x10 ²
J 5	Iléon	1,68x10 ⁸	14,6x10 ⁴	0,8x10 ⁸	4,8x10 ³	6,4x10 ⁸	5,6x10 ³
	Colon	28x10 ¹⁰	64x10 ⁵	3,68x10 ¹⁰	16x10 ³	12x10 ¹⁰	56x10 ²
J 7	Iléon	10,8x10 ⁸	72x10 ⁴	1,2x10 ⁸	1,6x10 ³	24x10 ⁸	1,12x10 ³
	Colon	40x10 ¹⁰	36x10 ⁵	3,6x10 ¹⁰	4x10 ³	12,16x10 ¹²	56x10 ²

B/ml : Bactéries / ml

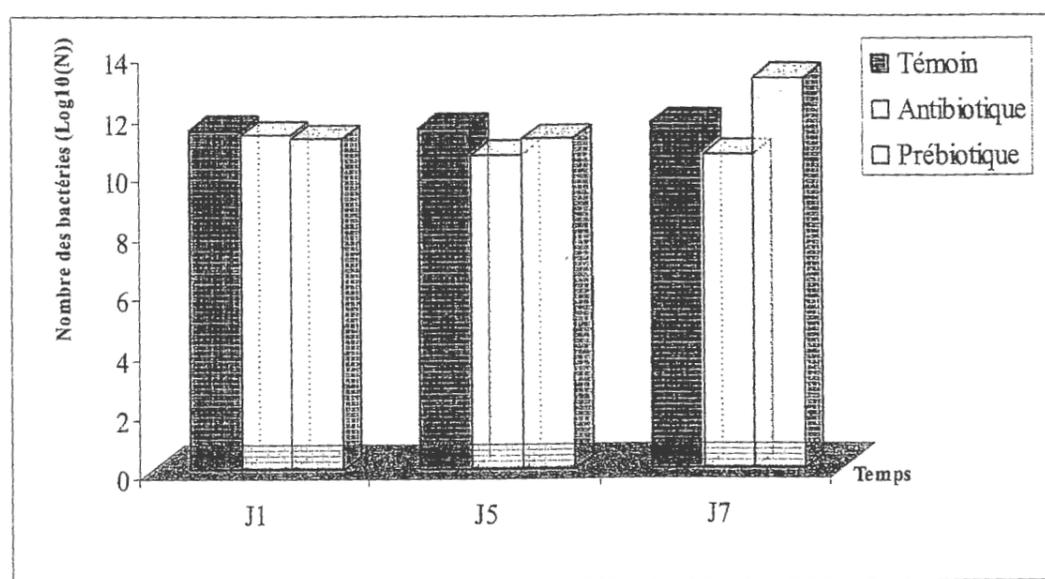


Figure 10 : Bactéries libre colon

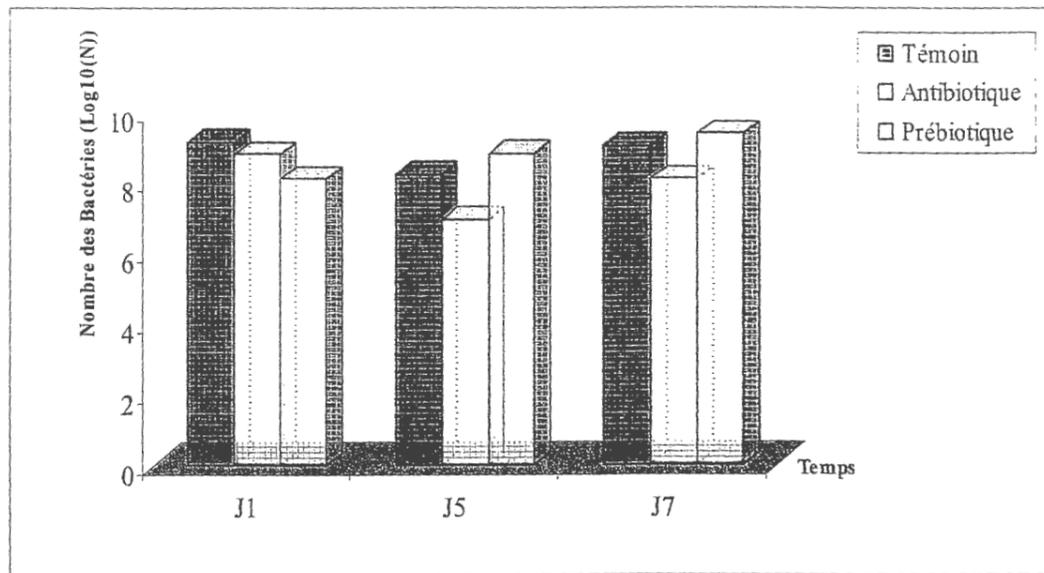


Figure 11 : Bactéries libres iléon

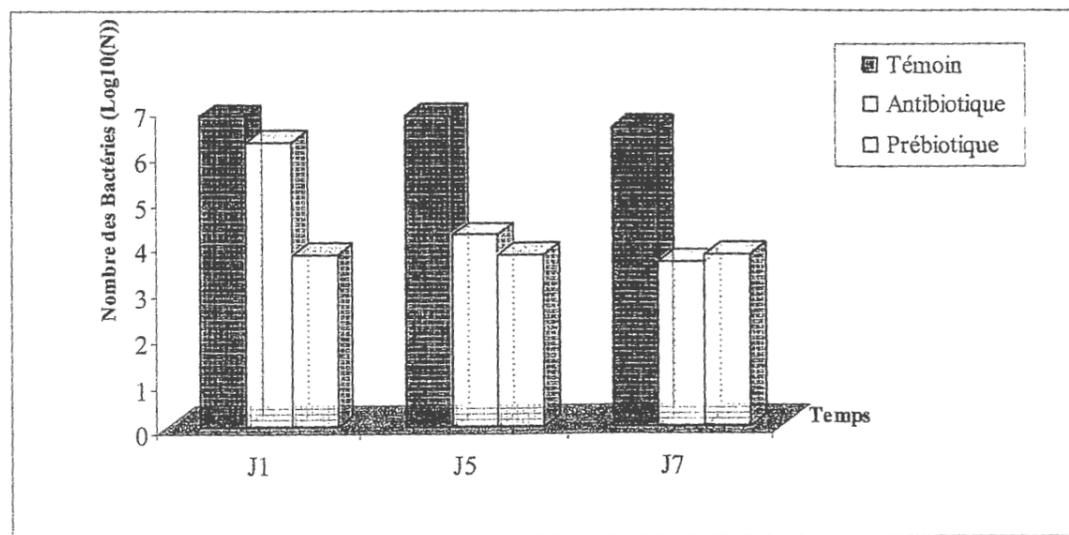


Figure 12 : Bactéries fixées colon

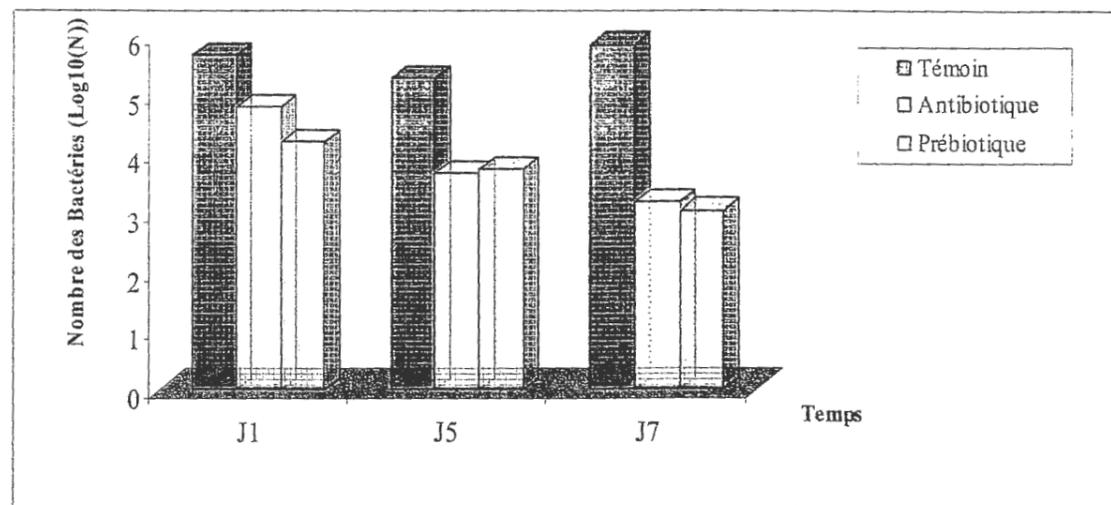


Figure 13 : Bactéries fixées iléon

Au vu de ces résultats, l'apport de l'antibiotique et du probiotique tué avait une grande influence sur l'écologie du tube digestif du lapin particulièrement les segments de l'intestin étudié, l'iléon et le colon dont le nombre des entérobactéries trouvé en témoin.

Nous avons utilisé ce modèle expérimental pour apprécier l'activité de l'oxytétracycline et l'extrait bactérien tué par la chaleur de *Lactobacillus plantarum* sur la colonisation du tube digestif par les entérobactéries.

Notre étude démontre que l'oxytétracycline s'oppose efficacement à la colonisation du tube digestif des lapins par les entérobactéries, cet effet semble lié à l'action bactériostatique de l'antibiotique qui diminue, globalement le nombre des bactéries au niveau iléal et colique que ces bactéries soit ou non associées à la muqueuse.

Cette importante diminution du nombre de bactéries intestinales explique probablement l'inhibition de la translocation des entérobactéries vers les autres organes, cependant il faut remarquer qu'à J1, la translocation est inhibé par l'oxytétracycline, alors que le taux des bactéries cultivable est encore élevé dans le colon.

On peut admettre que l'oxytétracycline inhibe la multiplication des bactéries par blocage de la synthèse protéique ce qui justifier les résultats obtenus dans le lot antibiotique. Le blocage de la synthèse protéique conduit à la perturbation de la viabilité de la cellule bactérienne.

La colonisation de la muqueuse intestinale était appréciée grâce au dénombrement des bactéries associées au muqueuse, ces bactéries restent liées au tissu après des lavages vigoureux du segment d'intestin (une perfusion suivie et des lavages successifs, le dernier liquide de lavage ne contenant plus de bactéries dénombrables) [27] [22].

Les travaux de Caston et al. [15] montrent que les antibiotiques limitent le nombre de populations microbiennes dans la lumière intestinale, ils réduisent la compétition entre les microorganismes et l'hôte vis-à-vis des nutriments. Henry et al. [43] trouvent que les antibiotiques réduisent le nombre des entérobactéries dans le duodénum, l'iléum, le caecum et dans le colon comparativement aux animaux non traités.

D'autres travaux de Luyer et al. [61], montrent que le prétraitement des animaux par les espèces de genre *Lactobacillus* ou leur surnageant élimine la translocation des bactéries intestinales en cas de stress. De même, Zareie et al. [95] ont montré que les probiotiques préviennent la translocation des microorganismes du tube digestif et jouent le rôle de barrière.

III.5. Effet de l'antibiotique et de la préparation à base de *L.plantarum* tué sur la translocation des entérobactéries :

La translocation depuis la lumière intestinale vers le sang et le foie, a été évaluée à J1, J5 et J7. Les résultats trouvés sont portés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Translocation des entérobactéries vers le foie et le sang.

		Témoin	Antibiotique	Probiotique tué
J 1	Sang	36x10 ⁴	0	0
	Foie	11,04x10 ⁴	0	0
J 5	Sang	5,2x10 ⁴	0	0
	Foie	5,12x10 ⁴	0	0
J 7	Sang	12,8x10 ⁶	0	0
	Foie	36,8x10 ⁴	0	0

Au cours de ces expériences, la colonisation de l'intestin s'accompagnait de la translocation des bactéries vers les organes lymphoïdes digestives chez les sujets témoins dont le nombre était assez important que se soit dans le sang ou dans le foie.

Par contre ce qui est remarquable est l'absence d'entérobactéries dans les deux tissus après un traitement par les deux suppléments. Ces résultats sont critiquables notamment ceux du premier jour dont l'absence totale d'une translocation bactérienne peut être

liée soit à un mauvais prélèvement, soit à la composition de certains milieux de culture «VRBG».

Notre étude démontre que le supplément à base de *Lactobacillus plantarum* tuée par la chaleur, est capable de réduire le nombre des entérobactéries colonisant la muqueuse colique du lapin et d'inhiber la translocation des bactéries vers d'autres organes.

En effet dès J1 le nombre des bactéries associées à la muqueuse diminue dans le lot prébiotique par rapport au témoin cet effet se prolongeant jusqu'à J7.

Le produit étudié s'oppose de ce fait à la translocation des entérobactéries aussi efficacement que l'oxytétracycline mais probablement par un mécanisme différent.

L'effet anti-bactérien des préparations à base de *L. plantarum* a été attribué. Selon les auteurs, à la présence de substances bactéricides [64] [60], ou à un facteur favorisant l'effet bactéricides ou bactériostatique de cette flore vis-à-vis des germes entéropathogènes [67] [31].

L'adhésion d'un agent pathogène à l'épithélium intestinal de l'hôte est considérée comme l'étape initiale de l'infection.

Une des hypothèses, qu'il reste à vérifier, est que les prébiotiques seraient capable d'empêcher l'adhésion des pathogènes en entrant en compétition pour les même site d'adhésion et en conséquence de prévenir l'infection en produisant des acides gras volatiles (qui inhibe la croissance cellulaire et/ou occupation des récepteurs d'accroche qui permettent a une bactérie d'adhérer à la muqueuse [79].

Conclusion

Notre travail a été débuté par la collection des entérobactéries à partir du caecum du lapin dont 17 souches ont été purifiées et identifiées. Cette collection est caractérisée par une diversité dans le genre avec une dominance remarquable du genre *Escherichia*.

Les résultats relatifs à l'effet du surnageant de la culture de *L.plantarum* sur les souches isolées et identifiées ont montré que ce dernier est doté d'un large spectre d'inhibition. Après la neutralisation des acides organiques, le surnageant exerce toujours une activité inhibitrice à l'égard des mêmes souches mais avec des diamètres d'inhibitions moins importantes.

L'oxytétracycline et un lyophilisat à base de *L.plantarum* tué par la chaleur ont été administrés pendant 7 jours à des lapins de race locale par voie orale. La colonisation bactérienne d'iléon et du colon ainsi que la translocation des entérobactéries vers le sang et le foie, ont été ensuite évalués. Les résultats issus de cette partie expérimentale ont montré que les deux suppléments affectent nettement la flore entérobactérienne de l'iléum et le colon. De même, on assiste à une inhibition complète de la translocation des entérobactéries vers le sang et le foie.

Ces expériences confirment donc qu'il est possible de modifier la flore colique endogène chez l'animal par l'utilisation du pré/probiotique au lieu de faire appel à des antibiotiques.

Aujourd'hui il est possible de dégager des pistes intéressantes pour les prébiotiques et les probiotiques au lieu d'utiliser les antibiotiques.

Références

Références Bibliographiques

- 1 Ait abdelouab N, 1996. Microbiologie alimentaire. *Office des universitaires Alger*, 110-111.
- 2 Anderson R.E, Daeshel M.A et Hassan H.M, 1988. Antibacterial Activity of planraricin sike 83, a Bacteriocin produced by *lactobacillus plantarum*. *Biochimie* 70,381-390.
- 3 Audiosio M.C, Clever G et Apaella M.C ,2001. Effet on *Enterococcus faecium* J.9 against humain and poultry pathogenic *Selmonella Spp*. *J. Food prot*, 1806- 1820.
- 4 Audiosio M.C, Olivier G et Capella M, 2001. Effet of different complex. Carbon surceson growth and bactériocin synthesis of *Enterococcus faecium*. *Int. J. Food Microbial*, 63,235-241.
- 5 Avril J.L, Dabernat H, Denisf, Monteril H, 1992. Bacteriologie cliniques. 2^{ème} edition. *Tech et Doc*, 1-149.
- 6 Baird P , 1980. Microbiologie alimentaire TomeII. *Tech et Doc*, 1-433.
- 7 Barefoot S.F et Klaenhhmmer T.R, 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobaciullus acidophilus*. *Appl Environ Microbial* 45, 1808-1815.
- 8 Bensegunia A et Loucif Z, 1985. Mémoire rédigé envu d'obtention du diplôme de docteur vétérinaires : propositions pratiques pour but d'élevage cunicole en *Algérie*, 1-3.
- 9 Bhunia A.K, Johnson B.R et Ray B, 1988. Purification characterization and antimicrobial spectrum of the bactériocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *Appl Bacteriol* 65, 261-268.
- 10 Boissonnent B, Boissonnent G et Larpent J.P, 1985. Abrege de bactériologie générale et appliquée. *Marketing Ellipse*, 1- 188.
- 11 Boucher S et Nouaille L ,1993. Maladies des lapins. 3^{ème} Edition. *France agricole*, 1-13.
- 12 Bourgois C.M et Larpent J.P, 1996. Microbiologie alimentaire : Aliment fermentés et fermentation alimentaires. *Tech et Doc*, 1-160.
- 13 Bourlieux P, 1994. Ecologie microbienne du tube digestif et santé. *Terre vivante*, 13-139.

- 14 Bruno – Barcena J.M et Montville D,1993. Microbiologie alimentaire .*Tech et Doc*,1-437.
- 15 Caston L.J et Leeson S, 1992. The reponse of broiler turkeys to flavomycin. *Can.J.Anim.Sci*, 72, 445-448.
- 16 Chung S et Goepfert J, 1970. Microbiologie alimentaire TomeII.*Tech et Doc* ,1-432.
- 17 Colatrella M.O, 2000 .Maladies des bovins institut d'élevage. *France agricole – paris*,1-96.
- 18 Colin J.K, Thorton G et Sullivan G. O, 1998. Selection of probiotics strains for human application In diary .*Journal of food industry* 8 ,487-490.
- 19 Colin M. D et Gibson G .R ,2000. probiotics, prébiotiques and symbiotics approaches for modulating the microbial Ecology of the gut . *Am cline Nutt* 69, 1052-1057.
- 20 Comme N, Biblack W. R et Cléments R. A , 1999 . Spectre probiotique des bactéries de l'acide lactiques. *Sci et Nutr* 39 ,13-126.
- 21 Coudert P et Licois D, 2004. Stady of early phenomena during experimental epizootic rabbit enteropathy : preliminary results. Proceeding of the 8 th world rabbit congress, peuebla Mexico Sept 2004, *Wrsa ed*, 520-525.
- 22 Dagnelie R, Duculot N et Gembloux F , 1970. théories et méthode statistiques.*Journal*,245-1455.
- 23 Docosta Y , 2002. La protection des aliments. *Yves docosta, paris*, 1- 12.
- 24 Dubach A, 1999 . Leiter analytile Microbiologie. *Emmischweiz A.G*, 6032 ,1-3.
- 25 Duclos B , Jeau M.R ,1998. Service d'hépatogastro-enterologie et d'assistance Nutritive . *hôpitaux universitaire de star bourg, hôpital de Haute pierre*,1-60.
- 26 Dunne C, Murphy L.F, 1999. Probiotics:from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and human. *Clinical trials*,279-292.
- 27 Faucher J.L,Veron M,Lellouch T et Pfister A , 1985 . ..,Experimental infection of gnotobiotic mice with *campylobacter jejuni* :Colonization of intestinal and spread to lymphoïde and reticuloendothelial organ. *J.Med.Microbial*, 20, 215-224
- 28 Figerella J et Zouszain F,2003. Microbiologie et toxicologie des aliments

- hygiène et sécurité alimentaire. *Tec et Doc*, 1- 79.
- 29 Fliming H. P , 1975 . Microbial inhibition of isolates of *pediococcus* from cucumber brine. *Apple environ. Microbial* , 30 ,1040-1042.
- 30 Florent J.M et Roberton,1997. L'action bénéfique des probiotiques en poulet de chair. *Filière aviculture*,1-150.
- 31 FLynn S, Vansideren D , Thorton G, Holo H N et Collins J, 2002. Caractérisation of the genitic locus responsible for production of ABP-188 anovel bacteriocin produced by probiotic bacterium . *Latobacillus salivarius* 4 cc 118 Spectre probiotique des bactéries de l'acide lactiques . *Sci et Nutr* 39 ,13-126.
- 32 Forbes B.A , Sahm D.F et Weissfle D, 1998. Bailey scott's diagnostic microbiologie. *J. Mosbyusa* ,1-45.
- 33 Gammver T , 2004 .Conseil d'élevage des lapins. *Revue cunicole N° 23* ,1-97.
- 34 Gardiner G.C ,Station P, Blynch J.K , Collins G, Fitz G et Ross R, 1999.Evaluation of cheddar cheese as a food cornier for de Livery of a probiotic strain to the gastro intestinal tract. *Journal of dairy science* ,1379-1387.
- 35 Gibson G , Rheber S, Meydani E et Sander M.E, 2000 Functional dairy products john . *Libbey eurotem France*,1401-1412.
- 36 Gibsor G.R, Rober A et Boid M.B, 1995. Dietary modulation of thehummai colonic microbiotita : Introducing the concept of probiotics .*J. Nutr* 125 , 1401-1412.
- 37 Gomme L et Maicota F, 1999. Bifidobacteriun and *Lactobacillus acidophilus* , biological , biochemical , technological and thera peutical properties relevant for us e as probiotics. *Food science and technology* 10 , 139-157.
- 38 Gonzalez S. N, Apella M.C, Romero N.C, Nader M.E et Olivier G, 1993 . Inhibition of enteropathogenes by lactobacilli strain used fermented mille. *J.food protect*, 773-776.
- 39 Gotzet S ,1980. Microbiologie alimentaire. *Tech et Doc*,1- 440.
- 40 Gournier N, château Arpents J. P, Castellanos M et Larpent J.L, 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine. *Cedex 08, Paris*, 40-108.
- 41 Guiraud J.P ,1998. Microbiologie alimentaire. *Dunod, Paris* ,190-499.
- 42 Hamladji R.M, 1990 .Précis de sémiologie .*Office de publication universitaire*, 331-332.

- 43 Henry P.R, Ammerman C.B, Campbell D.R et Miles R.D, 1986. Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks. *Poultry Sci*, 65, 1014-1018.
- 44 Kacem M, Zadi-Karam H et Karam N.E, 2004. Detection and activity of plantaricin OL15 a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* OL15 isolated from Algerian fermented olives. *Grasas Y Aceites*, 56(3), 192- 197.
- 45 Kezza L, 1993. laboratoire de Microbiologie . *Office des populations universitaire* ,1-14.
- 46 Klenhammert R , 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70,337-349.
- 47 Kociubinshi G.M, Pérez P.F , Anom M.C et Deautoni G. L, 1996. A method of screening for highly inhibitory lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70,45-90.
- 48 Kosoka L , 1986 .les probiotiques pour demain .*Revu de l'alimentation animale N°397*,1-333.
- 49 Lacraza S , Geppert T, Hollar I et Virage G,1990.Utilisation de *Streptococcus faecium* M 74 dans l'alimentation du lapin de chair. *Revus cuniculture* 96,176-263.
- 50 Lambin S et German A,1989. Précis de microbiologie. Tome I. *Masson et Cies Editeurs*,1-8.
- 51 Lansing M.P, John P.H et Donald A.K,1975. Microbiologie. *Tech et Doc francaise*,40-320.
- 52 Larpent J.P et Gaurdaud M.L ,1998. Elément de Microbiologie. *Hermann, Paris* ,320-370.
- 53 Larpent J.P, 1995.Les probiotiques en alimentation animal et humaine. *Tech et Doc*,56-114.
- 54 Larpent J.P, Monique L. G,1997. Memento technique de microbiologie. *Tec et Doc*,1- 342.
- 55 Laukova A,Sczikkova A , Vaslikova Z , Pjuris M et Mare-Hova M, 1998.Ocurrence of enterococi production anaourg environmental enterococi leller .*Applied microbiology* , 27 ,178-182.
- 56 Laurent S. M, Federighi J.L,1998. Manuel de bactériologie alimentaire. *Tec et Doc*,1-112.

- 57 Lebas F, 2004. La biologie du lapin :Appareil digestif et digestion. *Revue cuniculture*, 1-10.
- 58 Leveau J.Y, Bouix M et Deroissart S , 1991. Technique de contrôle dans les I.A . A .*Tech et Doc Lavoisier* ,1-35.
- 59 Leveau J.Y et Bouix M,1993. Microbiologie Industrielle (les micro-organismes d'intérêt industriel) . *Tec et doc.Lavoisier Apria*, 513-557.
- 60 Licois D, Dewre E.R . , Coudert P , Vindevoghe H et Marlier D , 2003. Essai de reproduction Expérimentale de l'enteropathine épizootique du lapin (EEL) avec des souches bactérienne isolée de ces inoculums ainsi que de Tech "2" et Tec "3" .*Inoculum INRA*, 1-520.
- 61 Luyer .S, Buurman W.A et Hadfoune M, 2005. Strain-specific effects of probiotics on gut barrier integrity following hemorrhagic shock. *Infect. Immun*, 73,86-92.
- 62 Maertens L, 1992 .Levures vivantes (biosof) sur les performans des lapins. *Revue cuniculture N° 10*,4-19.
- 63 Marrionnet D et Lebas F, 1990. Dossier probiotique et lapin. *Revue cuniculture*,N° 96 , 17-205.
- 64 Mollereau H, Pochar E.N et Brion V.M ,1998. Formulaire vétérinaire de pharmacologie de thérapeutique et d'hygiène .*Tec et Doc*,107-138.
- 65 Moyen E.N, Bonneville F et Fauchère JL,1986. Modification par l'érythromycine et un extrait de *Lactobacillus acidophiles* de la colonisation de l'intestin et de la translocation de *Campylobacter jejuni* chez la souris axénique. *Institut Pasteur*, 199-207.
- 66 Nethwood T , Gilbert H.J, Spar her D et Odonell A. G ,1999.Probiotics shown to change bacterial community structure in the ovian gastro -intestinal tract. *Environ Microbial* 65 (11),5134-5138.
- 67 Neuman M,1964. Therapetique du dysmicrobisme intestinale post antibiotique valeur des preparation microbienne .*Concurs méd* 86,2735-2793.
- 68 Nicklin J.K, Craemecook T, paget A , Killington R. P ,1980 .L'essentielle en Microbiologie .*Tech et Doc*,1-191.
- 69 Oyetayo V.O et Osho B, 2004. Assessment of probiotic properties of a strain of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermenting corn slurry (Ogi). *Food.Agri. Envir*, 2 (1), 132-134.

- 70 Percy D.H ,1993 .That enteritis complex in domestic rabbits of field study. *Canvet*, 34-102.
- 71 Piard J.C, Delorme F , Girraffa C.J et Desmazeaud M,1990 . Evidence Flore bactériocin produced by *Lactococcus lactis* CNRZ 481. *Neth Mille dairy J*,44 .143-158.
- 72 Pilet C.H ,Bourdon J.L, Tohab MNet Babastrec,1979.Bactériologie médicale et vétérinaire Systémique bactérienne. 2ème édition. *Doin paris* , 243-245.
- 73 Pochard D , 1994 . Le lait fermenté dans la nutrition des enfants diarrhéique. *Cah-Nutr diet xxi* , 6 ,1-6.
- 74 Pradines C,1985. Flore intestinale et probiotiques. *Gastro-entérologie, Nutrition-Toulouse*,1225-2320.
- 75 Prasad , J. H ,Gill J. S et Gopal P.K ,1998. Selection and characterization of lactobacillus and Bifidobacteriu strain for use as probiotics .*Dairy J*,8,993-1002.
- 76 Prescott IN, Harley J, Petkein DH, 2003 .Microbiologie. 2^{ème} édition française.*Tech et Doc*,550-703.
- 77 Rammelberg, M et Ralder, 1990. Antibacterial polypeptides of Lactobacillus spices. *J Appl Bacteriol*, 177-184.
- 78 Reintfort M,1999. Physiologie animale : les grandes fonctions .2ème édition *Masson, paris Isbn 2,225-8829*.
- 79 Rigaud D ,1995. L'intestin ,un prodige d'adaptation et de coopération. *Journal*,3320-4000.
- 80 Robber M.B, 2000.Prébiotiques et probiotics are they functional foods *Am .j.clin nutr (suppl)*, 1682-1687.
- 81 Roll R.D, 2000. The role of probiotics cultures in the contrôle of gastrointestinal health. *J. of nutrition* ,130 ,396-402.
- 82 Rousseau N, 2000. Health and food article :Prébiotique dans la linge de nuire.*Cedex*.1-490.
- 83 Rubin L ,1978. Microbiologie alimentaire .*Tech et Doc*,1- 439.
- 84 Saavedra Y , 1994 .Feeding of *bifid bacterium* to infant in hospital of diarrhea and shedding of rotavirus lancet. *Biochimie 70* ,1- 344.

- 85 Salminen S, Morelli L. P , Marteau D, Brassart W.M de vos , Fonden R , Saxeliu M , Collins K, Mogeuseu G et Mattila T,1998.Demenstration of safety of probiotics are view . *J.food micbial* 44, 93-106.
- 86 Schillinager U et Lucke F.K ,1989 . Antibacterial activity of lactobacillus sake isolated from meat. *Apple environ microbial* 55 ,1901-1906.
- 87 Serot T, Douss X, Zecca J et Torcatis N . Mise en évidence et purification partielle de substance antibactérienne produites par *Leuconostac mesenteroides* et *lactobacilles plant arum* isolés de grains de Kéfir.*Journal*, 177-184.
- 88 Sitonen S , 1990 . Effects of *Lactobacillus G G* yogurt in prevention of antibiotic associated diarrhea. *Ann Medicine*,1-100.
- 89 Tagg J.R , Given M.C,1971.assay system for bactériocin. *Appl Microbial* 29,1576-1582.
- 90 Ten Brik B , 1994. Antimicrobial activity of lactobacilli : preliminary characterization and optimization of production of acidosis B, a novel bactériocin produced by *Lactobacillus* . *M46 GAP. Bactrial* 77 . 140-148.
- 91 Vandenberg P.A, 1993.Lactic acid bacteria their metabolic product and interference. With microbial growth fems microbiology. *Reviuws*12,221-283.
- 92 Vincent J.G , Veomett R.C et Riley R. F,1959. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. *J.Bact.* 78,477-484.
- 93 Walter R, Henry N, 1982 . Les probiotiques en alimentation animale . *Col Ex*, 283-284.
- 94 Wat kinks B.A et Mille R,1959. Competitive gut exclusion of avian pathogènes by *Lactobacillus acidophilus*. *J.bacts*78.477-484.
- 95 Zareie M, Johnson –Henry K, Jury J, Yang P.C, Ngan B.Y, McKay D.M, Soderholm J.D, Perdue M.H et Sherman P.M, 2006. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut*, 175-191.
- 96 [http ://proenhealth.vtt.fi](http://proenhealth.vtt.fi)

Annexe 1

Les milieux de culture.

1. Gélose HEKTOEN.

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

2. mannitol mobilité

Peptone	20 g.
Nitrate de Potassium	1 g.
Mannitol	12g.
Rouge de phénol	40 mg.
Gélose	4 g.

3. TSI.

Peptone	20 g.
Extrait de viande	3 g.
Extrait de levure	3 g.
Chlorure de Sodium	5 g.

Glucose	1 g.
Lactose	10 g
Saccharose	0,5 g.
Hyposulfite de Sodium	0,5 g
Rouge de phénol	25 mg.
Gélose	12 g.

4. Citrate de Simmons.

Formule en grammes par litre d'eau distillée.

Sulfate de magnésium	0,2 g.
Citrate de sodium	2 g.
Chlorure	5 ml.
Phosphate d'ammonium	0,2 g
Phosphate d'ammonium mono sodique	0,8 g
Bleu de bromothymol	0,08 g.
Agar	15 g

5.MEVAG.

Extrait de viande	3 g.
Chlorure de Potassium	5 g.
Rouge de phénol	20 mg.
Gélose	3 g.

6. Clarks et Lubs.

Peptone 20g.	
Chlorure de sodium	5g.
Phosphaté disodique 9g.	
Phosphate monopotassique	1 ,5g.
pH7, 2.Autoclaver 30mn à 115°C.	

7.0DC.

Ornithine	5 g.
Extrait de levure	3 g.
Chlorure de sodium	5g.
Glucose	1g.
Pourpre de bromocrésol	16mg.

8. ADH..

L'arginine	5 g.
Extrait de levure	3 g.
Chlorure de sodium	5g.
Glucose	1 g.
Pourpre de bromocrésol	16mg.

9. LDC.

Lysine	5 g
Extrait de levure	3 g.
Chlorure de sodium	5 g.
Glucose	1g.
Pourpre de bromocrésol	16mg.

Milieu MRS.

Liquide ou gélose a été proposé initialement pour la culture des Lactobacilles.

La composition est la suivante:

Peptone	10g.
Extrait de viande	8g.
Extrait de levure	4g.
Acétate de sodium	5g.
Phosphate bipotassique	2g.
Citrate d'ammonium, 7H ₂ O	0,2g.
Sulfate de manganèse, 4H ₂ O	0,05g.
Glucose	20g.
Tween 80	1 ml.
Eau distillée qsp	100ml.
pH	6,2.

Stérilisation 15 mn à 120°C.

VRBL : milieu violet de gentiane – peptone – bile – lactose

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Sels biliaires	5 g
violet de gentiane	40 mg

VRB G : gélose biliée au cristal violet et peptone.

Extrait de levure	5g
sels biliaires	1.5g
Glucose	10g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	30mg
Cristal violet	2mg
Gélose	12g

Bouillon nutritif

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar(gélose)	15g

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,1 à 7,2 . Stériliser 20mn à 120°C.

Annexe 2

Réactifs.

1. Violet de gentiane.

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

2. Fushine de ziel..

Fushine basique	1 g
Alcool éthylique à 90%	10 ml
Phénol	5 g
Eau distillée	100 ml

3. lugol.

Iode	1 g
Iodure de Potassium	2 g
Eau distillée	300 ml

4. kovacs.

Alcool amylique ou isoamylique	150 ml
p.étiméthylaminobenzaldéhyde	10 g
Acide chlorhydrique concentré	50 ml

Avec l'ajout de l'acide en dernier et lentement. Conserver à +4°C.

Soutenance : 16/07/2006

Heure : 10:30 h - 12:30 h

Réalisé Par :

- ❖ BELOUERNA Fella
- ❖ BELMERABET Nawel
- ❖ KHOUCHENE Imene

Thème : Activité probiotique de *L.plantarum* : Etude des interaction et évaluation comparatif de l'effet des cellules mortes de *L.plantarum* et l'oxytétracycline sur la translocation post abattage des entérobactéries chez le lapin

Résumé

Au cours de notre étude, on a isolé et identifié 17 souches a partir du caecum du lapin. L'étude de l'effet du surnageant de *L plantarum* sur la collection montre une bonne activité inhibitrice avec des diamètres d'inhibition assez importante. Enfin, l'utilisation de cette souche lactique tuée avait des effets comparable a ceux de l'oxytétracycline ; aussi bien sur la flore du tube digestif que sur la translocation post abattage des entérobactéries.

Abstract

During our survey, one isolated and identified 17 stumps from the caecum of the rabbit.

The survey of the effect of remaining it of *L plantarum* on the collection shows a good inhibitory activity with diameters of important enough inhibition.

Finally, the utilization of this lactic stump killed had some comparable effects has those of the oxytetracycline ; as good on the flora of the digestive tube that on the translocation post slaughtering of entérobactérieses.

ملخص :

خلال دراستنا ، قمنا بعزل و تشخيص 17 نوع بكتيري من أعور الأرنب. دراسة مفعول مستخلص بكتيريا اللبن على المجموعة المعزولة سابقا توضح نشاط تثبيطي جيد مع أقطار تثبيطية مهمة. في النهاية استعمال هذا النوع من البكتيريا البنية المقتولة مقارنة بـ Oxytetracycline له تأثير على بكتيريا الجهاز الهضمي أيضا على هجرة هذه الأخيرة بعد الذبح.

Mots-clés :

Bactérie lactique , probiotique, prébiotique, antibiotique , surnageant.

Encadré par :

IDOUÏ Tayeb