



MB.25/06

Faculté des Sciences
Département de Biochimie et Microbiologie
Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme
Des études supérieures en biologie
Option : Microbiologie

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
رقم الجرد : 830

Thème

Etude de quelques aptitudes probiotiques
de *L. plantarum* et *P. acidilactici*
« in vitro » et « in vivo »

Membres de jury:

-Président : BOUTAGHANE NAIMA

-Examineur : BENHAMMADA WAHIBA

Encadré par :

Mr IDOUI TAYEB

Effectué par :
Boumaza Nadira
Bouzidi Chafia
Faour Manel



PROMOTION : 2006

Remerciement

Nous commençons par remercier le dieu pour nous avoir donné la volonté pour finir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre encadreur M^r IDOUI TAYEB enseignant dans l'université de Jijel.

Nos remerciements vont également à :

M^{lle} Roula Massika , Zennir Sounia , Fouzia et tous les personnels de laboratoire pour les services qu'ils nous offrent le long de notre expérimentation.

Les membres de jury, qui ont accepté de juger notre travail.

Tout les enseignants de l'institut de Biologie .

Nous remercions tous ceux qui nous aident de près ou de loin qu'ils trouvent ici notre profonde gratitude.

A vous tous, un grand merci.

SOMMAIRE

Introduction.

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les bactéries lactiques

I.1. Définition.....	01
I.2. Propriétés générales.....	01
I.3. Classification.....	01
I.3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	01
I.3.2. Le genre <i>Pediococcus</i>	04
I.4. Rôle des Bactéries lactiques.....	05
I.4.1 Rôle de l'acide lactique et des pH.....	05
I.4.2 Production de l'acide bactériennes.....	05
I.4.3 Composée divers.....	06

Chapitre II : Les probiotiques

II.1. Définition.....	07
II.2. Classification	07
II.2.1. Les ferments lactiques.....	07
II.2.2. Les bifidobactéries.....	07
II.2.3. Les levures.....	07
II.2.4. Autres probiotiques.....	08
II.3. Conditions de l'utilisation des micro-organismes probiotiques.....	08
II.4. Propriétés et conditions d'administration.....	08
II.4.1. Colonisation – Adhésion.....	08
II.4.2. Doses.....	08
II.4.3. Espèces bactériennes.....	08
II.4.4. Production de métabolites.....	09
II.5. Rôle des probiotiques.....	09
II.5.1. Dans la nutrition.....	09
II.5.2. Stimulation des l'immunité.....	10
II.5.3. Inhibition des bactéries indésirables.....	10
II.5.4. Neutralisation de produits toxiques.....	10
II.6. Effets cliniques et mécanismes d'action des probiotiques.....	10

Chapitre III : Probiotiques- Rats

III.1. Introduction.....	12
III.2. Physiologie digestive.....	12
III.2.1 Dents et glandes salivaires.....	12
III.2.2. L'œsophage.....	12
III.2.3. L'estomac.....	12
III.2.4. L'intestin grêle.....	12
III.2.5. Le caecum.....	13
III.2.6. Le colon.....	13
III.3. La microbiologie du tube digestif.....	14
III.3.1 Les entérobactéries.....	14
III.3.1.1 Définition et classification.....	14
III.3.1.2 Habitat et pouvoir pathogène.....	14
III.3.1.3 Caractères antigéniques.....	15
III.4. Les probiotiques chez le rat.....	15

Deuxième partie : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Les bactéries lactiques.....	17
II.1.2. Le rat.....	17
II.1.3. L'aliment.....	17
II.1.4. Le lait.....	17
II.1.5. Milieu de culture et réactifs.....	18
II.1.6. Autres produits.....	18
II.1.7. Autres matériels.....	18
II.2. Méthodes.....	18
II.2.1. Constitution d'un soucier de la flore endogène (rat).....	18
II.2.1.1.Sacrifice de l'animal et préparation des dilutions.....	18
II.2.1.2. Isolement et purification.....	19
II.2.1.3. Tests d'identification.....	20
II.2.2. Interaction entre la bactéries lactique et la flore endogène	22
II.2.2.1. Effet antagoniste des bactéries lactiques.....	22
II.2.2.2. Effet du surnagent.....	22
II.2.2.3 Effet du surnagent à pH=7.....	22
II.2.3. Survie de <i>L.plantarum</i> et <i>P. Acidilactici</i> dans le tube digestif du rat.....	23
II.2.3.1. Préparation des lots.....	23
II.2.3.2. Préparation des probiotiques et voie d'administration.....	23
II.2.3.3. Dénombrement des bactéries lactiques dans le tube digestif.....	25
II.2.3.4. Evaluation des entérobactéries.....	25
II.2.4. Traitement statistiques.....	25

Troisième partie : Résultats et discussion

III.1. Collection de souches du tube digestif du rat.....	26
III.1.1. Purification et identification	26
III.1.2. Tests biochimiques.....	26
III.2. Interaction entre les bactéries lactiques et la flore isolée.....	29
III.2.1. Effet antagoniste des bactéries lactiques.....	29
III.2.2 Effet des surnagent natifs.....	30
III.2.3 Effet du surnagent à pH=7.....	31
III.3. Suivie de <i>L.plantarum</i> et <i>P. acidilactici</i> dans le tube digestif.....	32
III.3.1. Les caractéristiques des laits fermentés.....	32
III.3.2. Numération des probiotiques digestif du rat.....	32
III.3.2.1 Dans l'estomac.....	32
III.3.2.2 Dans le duodénum.....	34
III.3.2.3 Dans le caecum.....	35
III.3.2.4 Dans la matière fécale.....	36
III.4. Dénombrement des entérobactéries dans la matière fécale.....	37

Conclusion Générale

Références bibliographiques

Annexes

La liste des abréviations

ADH	: Arginine Déshydrolase .
BJ	: Beurre Jijelienne .
°C	: Degré Celsius .
Cm	: Centimètre .
°D	: Degré dornic .
g	: Gramme .
H	: Heure .
H⁺	: Proton .
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)
H₂S	: Sulfate d'hydrogène
L	: <i>Lactobacillus</i> .
LDC	: Lysine Décarboxylase .
M. M	: Mannitol –Mobilite
m.m	: Millimètre
min	: Minute
MRS	: MAN ,ROGOSA , SHARPE
NaOH	: Soude
ODC	: Ornithine Décarboxylase
P	: <i>Pediococcus</i>
pH	: Potentiel d'hydrogène
S	: Souche
Sec	: Seconde
VRBG	: Gélose Biliée Glucosée au cristal violet et au Rouge neutre
VRBL	: Gélose Biliée Lactosée au cristal violet et au Rouge neutre

Liste des figures

Figure 01	: Forme de <i>L. plantarum</i> sous microscope électronique	04
Figure02	: Forme de <i>P. acidilactici</i> sous microscope électronique	05
Figure03	: Tube digestif du rat.....	13
Figure04	: Dissection de rat.....	19
Figure05	: Préparation des lots.....	23
Figure 06	: La préparation des probiotiques.....	24
Figure07	: Profil d'identification de <i>Proteus</i> (souche 07).....	27
Figure08	: Profile d'identification de <i>Salmonella</i> (souche 09).....	27
Figure 09	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans l'estomac.....	34
Figure10	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le duodénum.....	35
Figure11	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le cæcum.....	36
Figure12	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans la matière fécale.....	37
Figure13	: Evolution du nombre des entérobactéries dans la matière fécale.....	38

Liste des tableaux

Tableau 01	: Caractéristiques des genres de bactéries lactiques.....	02
Tableau 02	: Les critères différentiel entre les groupes de genre <i>Lactobacillus</i>	02
Tableau 03	: Quelques propriétés biochimiques de <i>L. plantarum</i>	03
Tableau 04	: Principaux caractères des <i>Pediococcus</i>	04
Tableau 05	: Composition de l'aliment du rat.....	17
Tableau 06	: Résultats des tests d'identifications des souches.....	28
Tableau 07	: Résultats des interactions entre la flore endogène et les bactéries lactiques.....	29
Tableau 08	: Effet du surnagent natif sur la flore isolée.....	30
Tableau 09	: Effet du surnagent pH 7 sur la flore endogène.....	31
Tableau 10	: Résultats de quelques caractéristiques des laits fermentés.....	32
Tableau 11	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans l'estomac.....	33
Tableau 12	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le duodénum.....	35
Tableau 13	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le cæcum.....	36
Tableau 14	: Evolution du nombre de bactéries lactiques dans la matière fécale.....	37
Tableau 15	: Evolution du nombre des entérobactéries dans la matière fécale.....	38

Introduction

Introduction

Depuis une centaine d'années, on nourrit l'hypothèse qu'en ajoutant des lactobacilles dans les aliments, on peut avoir un effet positif sur la santé et agir contre le vieillissement [42].

Actuellement, les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui ingérés en quantité convenable, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal [23].

Les germes probiotiques sont déjà utilisés depuis un certain temps pour l'élevage des animaux et beaucoup de nos connaissances actuelles sur les probiotiques sont issues de la recherche vétérinaire. Aujourd'hui, on trouve sur le marché de plus en plus d'aliments contenant des probiotiques surtout des produits laitiers. Des probiotiques sont également fabriqués et distribués sous forme de médicaments [42].

Ainsi, ces germes peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer des principes actifs qu'ils contiennent (Enzymes, composants de paroi, peptides, substances antibactériennes...) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tractus digestif. Pour atteindre leurs sites d'action, il faut qu'elles arrivent viables et à un nombre assez suffisant. Ils peuvent avoir des effets soit directs soit indirects en agissant via des modifications de l'immunité et de la flore [23].

Notre étude est réalisée sur les rats blancs qui sont des modestes animaux de laboratoire ; ils sont des animaux nocturnes dans les activités, non-agressifs et capables de s'adapter au nouvel environnement ou les situations expérimentales.

Cette étude a comme titre « Etude de l'activité probiotique de deux souches de bactéries lactiques *L.plantarum* et *P. acidilactici* sur la flore endogène du rat ».

Nous avons divisé ce travail en deux parties :

Une synthèse bibliographique qui va faire les points de connaissance sur les bactéries lactiques, les probiotiques et en fin le rôle probiotique chez le rat et sa physiologie.

Une deuxième partie porte sur l'étude expérimentale dans laquelle nous établirons des profils d'identification d'un souchier de la flore endogène du rat, l'étude des interactions entre le souchier déjà constitué et les deux bactéries lactiques et comme dernière étape on va réaliser une étude « in vivo » qui concerne le suivie de la survie des deux bactéries lactiques à travers le tube digestif du rat.

Première Partie

Etude 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 –Jenson [44] et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique D(-), L(+) ou DL.

Elles sont des microorganismes assez hétérogènes sur les plans morphologiques et physiologiques [35]. Leur caractère pathogène est en revanche extrêmement réduit, puisque seules certaines espèces des genres : *Streptococcus*, et dans certaines conditions : *Enterococcus*, peuvent être impliquées dans des infections humaines [08].

I.2. Propriétés générales :

Ce sont des coques ou des bâtonnets à Gram positif, toujours ou presque immobiles, asporulés, catalase et oxydase négatives, nitrate réductase négative, anaérobies ou aérotolérantes [33].

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles.

En effet les bactéries lactiques homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO₂ en plus de l'acide lactique [15].

Des bactéries lactiques constituent la microflore du lait et de ses dérivés (crème, beurre, fromages, laits fermentés), des autres vivent au dépens de glucides végétaux [32].

I.3. Classification :

Il est possible de classer les bactéries lactiques selon la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides [32].

On distingue les genres suivants [48]:

- Le genre *Lactococcus*
- Le genre *Streptococcus*
- Le genre *Pediococcus*
- Le genre *Lactobacillus*
- Le genre *Leuconostoc*

Le tableau 01 regroupe les caractéristiques des genres de bactéries lactiques.

On va développer les données relatives aux genres qui nous intéressent dans notre étude qui sont *Lactobacillus* et *Pediococcus*.

I.3.1 Le genre *Lactobacillus* :

Il regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est illustrée par la variation du pourcentage G+C : 32 à 53%. La croissance des Lactobacilles est bonne dans un milieu à pH 4.5 et 6.4 mais s'arrête à pH 4.0 et 3.6. La classification remaniée par Kandler et Weiss, les subdivise en 03 groupes selon leur type fermentaire [08].

Tableau 01 : Caractéristiques des genres de bactéries lactiques [08].

Genre	Morphologie	Fermentation	T° opt	N° d'espèces
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétérofermentaires	Thermophiles ou Mésophiles	GI : 23 ou GII : 16 GIII: 22
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homo fermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques en tétrades	Homo fermentaires	Thermophiles Ou Mésophiles	19
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homo fermentaires	Thermophiles Ou Mésophiles	7
<i>Leuconostoc</i> <i>Bifidobacterium</i>	Coques Forme irrégulière	Homo fermentaires Acide acétique et lactique	Thermophiles Ou Mésophiles	11 25

G : Groupe. N° d'espèces : Nombre des espèces connues.
T° opt : Température optimale de développement.

- **Groupe I :** Anciennement appelé *Thermobacterium*. Ces bactéries ont un métabolisme strictement homo fermentaire. Elles se développent à 45°C, mais pas à 15°C [35].
- **Groupe II :** Anciennement appelé *Streptobacterium*. Ce groupe comprend des espèces à métabolisme hétérofermentaires facultatif [08].
- **Groupe III :** Anciennement appelé *Betabacterium*. Ces espèces ont un métabolisme strictement hétérofermentaires [35].

Tableau 02 : Les critères différentiels entre les groupes de genre *Lactobacillus* [08].

Caractéristique	Groupe I	Groupe II	Groupe III
	Homofermentation Obligatoire	Homofermentation Facultative	Homofermentation Obligatoire
ADH	-	+/-	+
Acide lactique	DL ou L	D ou DL	DL
G+C (%)	34.7 – 50.8	33-46.4	35-53.4
Fermentation des pentoses	-	+	+
CO ₂ à partir du glucose	-	-	+
CO ₂ à partir du gluconate	-	+a	+a
Présence de FDP aldolase	+	+	-
Présence de phosphokétolase	-	+b	+
A: Quand c'est fermenté	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>
B : induit les pentoses	<i>L. delbrukii</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. buchneri</i>
L : <i>Lactobacillus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>
DFF : Fructose 1.6 diphosphate	<i>L. salivarius</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. reuteri</i>

I.3.1.1.L'espèce *Lactobacillus plantarum*

Elle se présente sous la forme de cellules en forme de bâtonnets 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 à 1.9 %.

La souche de *L.plantarum* peut synthétiser une catalase si le milieu contient un dérivé hématique.

Chez *Lactobacillus plantarum*, une pyruvate oxydase provoque la libération de peroxyde d'hydrogène à partir du glucose en aérobiose. Ce peroxyde peut aussi s'accumuler lors de la croissance sur des milieux sans sucre contenant du glycérol sous l'action d'une α -glycérophosphate oxydase.

L.plantarum peut libérer de $L'H_2O_2$ à partir du lactate dans un milieu où le glucose est épuisé [08].

Le tableau 03, récapitule quelques propriétés biochimiques de *L.plantarum*

Tableau 03 : Quelques propriétés biochimiques de *L.plantarum* [08].

Caractéristiques	<i>L.plantarum</i>
Croissance à 45°C	-
Peptidoglycane	-
Acide lactique	DL
Nitrate réductase	+/-
Fermentation du :	
Ribose	+
Arabinose	+/-
Mannitol	+
Sorbitol	+
Raffinose	+
Melibiose	+
Saccharose	+
Maltose	+
Lactose	+
+: Test positif -: Test négatif +/-: Variable.	

④ La figure illustre la forme de cellules de *L.plantarum* sous microscope électronique.

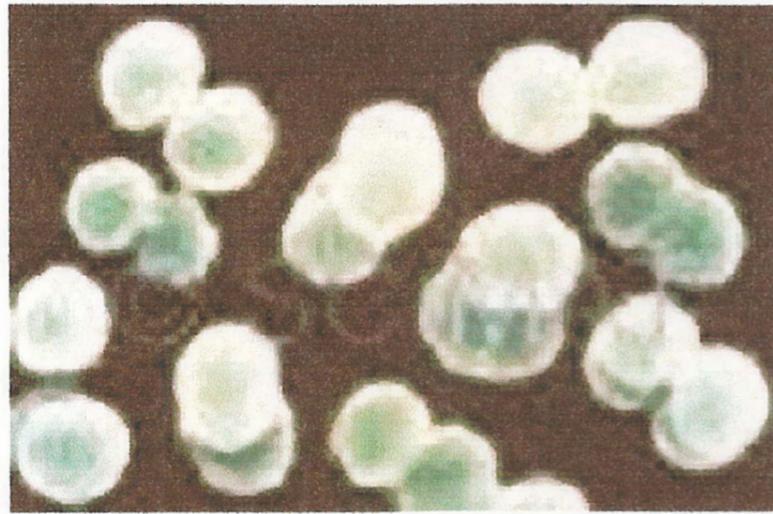


Figure 2 : Forme de *P. acidilactici* sous microscope électronique [03].

I.4. Rôle des bactéries lactiques.

I.4.1. Rôle de l'acide lactique et du pH :

Dans de nombreux aliments ayant subi une fermentation lactique, la croissance ultérieure des micro-organismes est réduite, voire impossible parce que la tolérance ultérieure des micro-organismes vis-à-vis du pH est très variable, et la majorité des espèces bactériennes ne peuvent pas se développer à pH inférieur à 4[05].

Le pH final atteint dépend de la matière fermentée et des souches utilisées (plus ou moins acidifiantes) [33]. En général, c'est la forme moléculaire non dissociée de l'acide lactique qui est le facteur toxique pour les bactéries [11].

I.4.2. Production de bactériocines :

Les bactéries lactiques pourraient réprimer la croissance des bactéries pathogènes par production de substances antimicrobiennes, de type bactériocines : ce sont des protéines ou complexes protéiques biologiquement actifs, inhibiteurs de bactéries Gram positives exclusivement, elles sont généralement thermorésistantes, leur mode d'action se situe plutôt au niveau membranaire en modifiant le potentiel de la membrane, ce qui entraîne des fuites d'ATP, d'ion K^+ et par conséquent l'impossibilité pour les cellules de maintenir leurs pH intracellulaire. Ainsi des bactériocines ont été mises en évidence chez la plupart des lactobacilles et chez les pedicocques [11,54].

I.4.3. Composés divers :

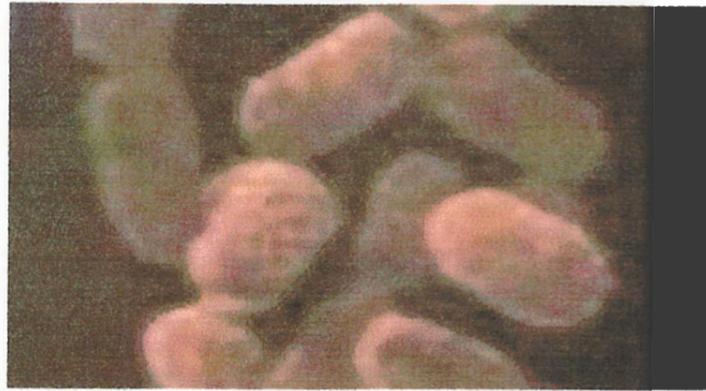


Figure 1 : Forme de *Lb.plantarum* sous microscope électronique [61]

I.3.1.2. Le genre *Pediococcus* :

Les pédiocoques sont des cocci qui se manifestent isolément ou par paires et sont des agents importants dans l'autolyse des bières [06].

Les *Pediococcus* sont homofermentaires, produisent de l'acide lactique DL ou L(+) ,elles sont mésophiles, et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose.

Leur pourcentage en base G et C (GC%) est entre 34 et 42 % [37]. La classification de Bergeys recense 08 espèces dans le genre. Elles sont résumées avec quelques caractères dans le tableau 04 [35]

Tableau 04 : Principaux caractères des *Pediococcus* [35].

	Acide lactique	Croissance à 37°C	Croissance à 50°C	Croissance à pH 4.2	Croissance à pH 5	Croissance en NaCl	
						4%	6.5%
<i>Pc. damnosus</i>	DL	-	-	+	-	-	-
<i>Pc. parvulus</i>	DL	+	-	+	-	+	+
<i>Pc. inopinatus</i>	DL	+	-	-	-	+	+/-
<i>Pc. dextrinicus</i>	L(+)	+	-	-	-	+	-
<i>Pc. pentosaceus</i>	DL	+	-	+	+/-	+	+
<i>Pc. acidilactici</i>	DL	+	+	+	+/-	+	+
<i>Pc. holophilus</i>	L(+)	+	-	-	+	+/-	+
<i>Pc. urinacequi</i>	L(+)	+	-	-	+	+	+

(+) : test positif

(-) : test négatif.

I.4.3. Composés divers :

Le diacétyl, produit du métabolisme du citrate est capable d'inhiber des bactéries à Gram négatif [33].

En milieu humide, les lactobactéries produisent du peroxyde d'hydrogène inhibiteur de nombreuses souches bactériennes pathogènes. Cette production de H_2O_2 peut bloquer le développement de certaines espèces pathogènes comme le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons ou encore certaines bactéries comme *E.coli*, *Salmonella* et *Pseudomonas*[23].

Tous ces composés agissent probablement en synergie avec les précédents et les facteurs du milieu pour conduire à des produits microbiologiquement stables [30].

Des deux lactobactéries notamment les probiotiques pourraient agir en limitant l'implantation des germes pathogènes par compétition au niveau des sites de fixation pour la colonisation [23].

Chapitre II:

Les probiotiques

II. Les probiotiques.

Les être humains naissent axéniques. En 1 à 2 jours, une flore microbienne spécifique se développe et s'organise sous forme de populations, en état d'équilibre, le long du tube digestif. Cette microflore se divise en trois groupes :

- La flore dominante composée de *Bifidobacterium* et *Bacteroides*.
- La flore sous-dominante composée en particulier de *Lactobacillus*.
- La flore contaminante, potentiellement pathogène mais théoriquement absente.

Cette flore microbienne est endogène : elle est présente de façon permanente dans l'intestin et est capable de s'y multiplier. Elle exerce de nombreuses fonctions physiologiques (fermentation...) et à un effet de barrière face à la colonisation par des micro-organismes pathogènes [23].

II.1. Définition :

Le terme probiotique a été introduit pour la première fois par Ferdinand en 1954 [13]. En 1974, Parker [45] a proposé une définition de probiotique pour désigner les microorganismes et substances qui contribuent au maintien de l'équilibre de la microflore intestinale [38]. Selon Bouhnik et al.[07], les probiotiques sont « des suppléments alimentaires microbiens exerçant un effet bénéfique sur l'hôte en améliorant son écosystème intestinale ». Ce terme a été proposé en opposition à « antibiotique », il y a déjà plus de 20 ans, par l'Américain Parker [38].

Toutes ces définitions sont finalement très proches les unes des autres et celle qui est généralement retenue à l'heure actuelle a été proposée par le FAO en 2002 :

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exerçant un acte bénéfique sur la santé de l'hôte.

II.2. Classification :

Il existe quatre grands groupes de probiotiques :

II.2.1. Les ferments lactiques :

Ils sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Ils sont regroupés en deux catégories, en fonction de leur morphologie.

Les lactobacilles, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* et les coques *Enterococcus* et *Streptococcus* [23].

II.2.2. Les bifidobactéries :

D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. La population de *Bifidobacterium* diminue avec l'âge et leurs espèces varient selon l'âge aussi [23].

II.2.3. Les levures :

Les différentes levures de type *Saccharomyces* sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire [23].

II.2.4. Autres Probiotiques:

Les autres bactéries sporulées utilisées comme probiotiques sont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* [23].

Les genres bactériens les plus utilisés sont *Bifidobacterium*.

Lb.acidophilus, *Lb.casei*, *Lb.rhamnosus*, *Lb.plantaum*, *Enterococcus faecums* et *Saccharomyces*. Le nombre de micro-organismes vivants présents dans chaque produit est très élevé [23].

II.3. Condition de l'utilisation des micro-organismes probiotiques :

- En alimentation animale, les propriétés fondamentales que doivent posséder les micro-organismes utilisés comme probiotiques sont les suivants [37] :
 - Les probiotiques doivent être non pathogènes et non toxiques.
 - Ils doivent améliorer les performances zootechniques des animaux.
- En alimentation humaine, les produits probiotiques sont utilisés pour garantir une bonne hygiène digestive en favorisant le maintien de l'équilibre de la microflore gastro- intestinale et améliorer l'état général de santé.
- Les souches doivent parvenir vivantes au site de leur action et doivent être capables d'adhérer aux cellules de la paroi intestinale facilitant une bonne colonisation du tube digestif par les probiotiques.
- Il est très difficile de sélectionner une souche probiotique idéale remplissant la totalité des conditions énoncées ci-dessus, c'est pourquoi il serait préférable d'utiliser des souches combinées [38].
- De plus, une souche probiotique doit être facilement cultivable et résistante à l'HCl de l'estomac, et aux sels biliaires de l'intestin grêle de l'hôte [34].

II.4. Propriété et conditions d'administration.

II.4.1. Colonisation-Adhésion :

Les probiotiques transitent sans coloniser le tube digestif comme le font des bactéries résidentes. Cette persistance est plus ou moins longue de 2 à 20 jours, et il est admis que l'effet probiotique aura d'autant plus de chance d'exister que la bactérie vivante persistera longtemps [60].

II.4.2. Dose :

Plusieurs études sur souris gnotoxénique montrent qu'une bactérie résidente à un effet sur l'hôte dès lors que son taux dépasse 10^7 bactéries/g de fèces. Cette condition est vraisemblablement valable pour les probiotiques et le taux de survie dans le tube digestif (10 à 30% selon les souches) [60].

Il est important de signaler qu'il existe une différence entre la colonisation des bactéries résidentes (microflore intestinale) et bactéries lactiques (probiotique) au niveau des parties hôtes de l'intestin grêle, les bactéries résidentes colonisent très peu ces régions (10^4 à 10^5 g), alors que les bactéries lactiques vont transiter en nombre supérieur à 10^8 , les conséquences de cette différence quantitative ne sont pas connues [60].

II.4.3. Espèces bactériennes :

Des travaux expérimentaux ont montré que l'ingestion de différentes espèces d'un même genre bactérien n'a pas le même effet immunomodulateurs. Ceci a été étudié pour la stimulation de la réponse intestinale IgA par différents lactobacilles ou

bifides donnés comme probiotiques. Cette différence pourrait s'expliquer par l'induction d'un profil de cytokines variables suivant l'espèce bactérienne, avec pour conséquence une modulation différente des réponses immenses mesurées au niveau intestinale et systémique.

Les raisons de ces différences ne sont pas expliquées. Elles peuvent être associées aux souches elles même (paroi, enzyme et métabolites bactériens..) ou à l'état de la flore intestinale résidente qui aura ou non déjà exprimée cet effet immunomodulateur permettant par conséquent au probiotique de ne pas avoir ou d'avoir l'effet considéré [60].

II.4.4. Production de métabolites :

Le métabolisme bactérien conduit à des produits de fermentation pouvant avoir des effets directs sur l'immunité ou indirects via des modifications de la flore intestinale. Suivant la forme sous laquelle les probiotiques seront donnés seuls ou associés au produit de fermentation, les effets peuvent être différents. Il est aussi très difficile de savoir, en nutrition, si un effet probiotique est seulement dû à la bactérie, à un effet synergique entre plusieurs probiotiques ou à la bactérie et/ou ses produits de fermentation. Suivant la finalité du probiotique (médicament ou aliment), le mieux est de tester le produit tel qu'il sera commercialisé [60].

II.5. Rôle de probiotique.

II.5.1. Dans la nutrition :

Les probiotiques pourraient améliorer la digestion et traiter les troubles digestifs en favorisant la dégradation et l'absorption de certains aliments :

- Certaines bactéries probiotiques notamment les lactobacilles excrètent la β -galactosidase souvent déficient dans le tractus digestif de l'hôte et facilitent donc la digestion du lactose [38].
- La flore intestinale et certains probiotiques semblent capables de moduler la perméabilité intestinale aux protéines, aux macromolécules, aux antigènes et aux bactéries [23].
- L'effet de souches de *Saccharomyces cerevisiae* sur l'activité des bactéries du rumen a été montrée « in vitro », l'addition de cellules vivantes de levure des cultures de champignons cellulolytiques stimulerait chez ces derniers la production de zoospores et la dégradation de la cellulose, ainsi que la croissance de bactéries anaérobies cellulolytiques ou produisant de l'acide lactique [04].
- Les *Lactobacillus* sont normalement exigeantes en vitamine B pour leur développement, mais dans certains cas, elles sont capables de les synthétiser donc les produits fermentés contiennent une quantité élevée de vitamines et de minéraux facilement assimilables par l'organisme [23].
- Les *Bifidobacterium* sont capables en plus de synthétiser de nombreuses vitamines, et de nombreux acides aminés [23].

Cependant, l'effet nutritionnel peut résulter d'une diminution du pH intestinal, d'un apport ou d'une compétition pour un acide aminé, d'une stimulation de la production d'enzymes ou vitamines.

II.5.2. Stimulation de l'immunité :

L'intestin est un organe immunitaire très particulier. Sa muqueuse qui est le premier organe lymphoïde de l'organisme représente la plus grande surface de contact entre le monde extérieur et le système immunitaire de l'homme.

Les deux fonctions très importantes du système immunitaire intestinal sont la synthèse d'anticorps appartenant à une classe particulière d'immunoglobulines, les IgA, et la tolérance orale [23].

L'administration de certaines souches est susceptible de stimuler l'immunité « non spécifique » notamment l'activité des macrophages et la phagocytose [39].

Ce sont surtout les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui sont capables d'induire une stimulation du système immunitaire par leurs effets immunomodulateur [46].

II.5.3. Inhibition des bactéries indésirables :

L'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes par les probiotiques peut se faire de différentes façons :

- La production d'acide lactique par les streptocoques abaisse la valeur de pH dans le tractus digestif à grande échelle, des bactéries nuisibles, comme *Escherichia coli* ; qui apprécient aussi la rupture de l'équilibre sanitaire de la flore [31].
- Les *Lactobacillus* possèdent un large spectre antagoniste sur les bactéries pathogènes telles que les Salmonelles, et les staphylocoques par la sécrétion des H₂O₂.
- Certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de déconjuguer les sels biliaires : les formes de développement des bactéries que les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées [31].
- L'implantation des germes indésirables pourrait être empêchée par une inhibition compétitive de souches probiotiques par consommation des nutriments à la place des souches pathogènes [23].

II.5.4. Neutralisation de produits toxiques :

Les probiotiques interviennent très certainement dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intra digestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indoles) et diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques [23].

Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser « *in situ* » certaines toxines bactériennes [23].

II.6. Les effets cliniques et les mécanismes d'action des probiotiques :

Chez l'homme, les probiotiques ont principalement été utilisés jusqu'ici pour le traitement et la prévention des diarrhées.

Au cours des dernières années, on a pu montrer que les probiotiques pouvaient également jouer un rôle dans le traitement des diarrhées chroniques inflammatoires

[16,17] ainsi que dans la prévention des infections respiratoires [18] et des maladies allergiques [49,29].

Les effets bénéfiques des probiotiques sur le taux de cholestérol sur l'absorption du calcium ainsi qu'un éventuel effet anti-carcinogène n'ont pas été démontrés jusqu'ici par des travaux cliniques contrôlés ; ils demeurent donc jusqu'à nouvel avis dans le domaine de l'hypothèse. Il est de même de l'effort « immunostimulateur » souvent invoqué, qui reste mal défini et dont on n'a jusqu'ici pas pu démontrer la relevance clinique.

Le mécanisme d'action précis des microorganismes probiotiques dans l'intestin humain n'a aussi été qu'insuffisamment étudié jusqu'ici. Dans l'expérimentation animale et dans des études « *in vitro* » on a cependant pu montrer le rôle que peuvent jouer les mécanismes pathogéniques efficaces suivants [41] :

- Stabilisation de la flore intestinale par compétition avec des bactéries pathogènes au niveau de la fixation aux récepteurs et au niveau des substances nutritives.
- Production d'acides gras à courtes chaînes.
- Acidification du suc intestinale.
- Augmentation de la solubilité des minéraux.
- Diminution de la résorption des acides biliaires.
- Stabilisation de la fonction barrière de la muqueuse intestinale.
- Production de substances anti-bactériennes.
- Modification de toxines ou de récepteurs toxiques.
- Stimulation des réponses immunologiques aux germes pathogènes.

Chapitre III:

Probiotique-Rat

III. Probiotique - Rat

III.1. Introduction :

Les rats sont des animaux nocturnes, la plupart des activités à lieu dans la nuit et le bon matin. Les rats sont typiquement non-agressifs, curieux et facilement à entraîner. La manutention fréquence est due à la nature non-agressive telle que leur adaptation au nouvel environnement ou les situations expérimentales. La manipulation impropre, les diffeciences nutritionnelles et les vocalisations d'autres rats peuvent résulter dans le comportement indésirable [01].

III.2. La physiologie digestive :

Le système digestif est le système du corps qui dégrade les grandes particules d'aliments en des petites unités, qui peuvent être utilisées par le corps pour lancer la croissance, la maintenance et la reproduction [10].

Les rats sont des granivores, qui signifie qu'ils mangent des grains et des semences. Deux critères clés pour leur système digestif sont le manque des vessies biliaires et la présence d'un large caecum [10].

III.2.1. Dents et glandes salivaires :

Chez le rat, on note la présence de 16 dents y compris les massives et les molaires [01]. Les glandes salivaires sont en nombre de 03 paires : la submaxillaire, la sublinguale et la parotide, qui sont localisées dans la tête et la région du nez [52].

III.2.2. L'œsophage :

L'œsophage entre la moindre courbure de l'estomac à travers la plie dans la crête limitante de l'estomac. Le plie protège les rats du vomissement. La doublure oesophagienne est l'épithélium kératinisé [01].

III.2.3. L'estomac :

L'estomac du rat a une portion glandulaire et une portion non glandulaire séparées par la « crête limitante ». La partie non glandulaire a une doublure similaire à celle de l'oesophage [01]. L'aliment ingéré est fortement acidifié dans l'estomac par l'acide excrété par la muqueuse et la pepsine cause la digestion des protéines.

Des lipases (salivaires, gastrique), actives à pH acide, vont dégrader les lipides en acide gras. A la fin, l'aliment sortira de l'estomac sous forme liquide, le chyme.

III.2.4. L'intestin grêle :

Chez le rat, il se compose d'un duodénum de 10 cm du long, un jéjunum de 100 cm du long et un ileum de 3 cm du long [01].

L'essentiel de l'absorption des nutriments organiques (acides aminés, monosaccharides, monoglycérides, acides gras...) a lieu au niveau de l'intestin grêle ainsi que les glandes situées dans la muqueuse de cette partie secrètent du mucus et

divers électrolytes associés à de l'eau [41]. Dans l'intestin grêle, diverses enzymes séparent les nutriments en des constituants absorbables.

III.2.5. Le caecum :

Chez le rat, la topographie présente de très grandes variations individuelles : il peut se placer dans le flanc droit ou gauche, s'organiser dans le plan horizontal ou vertical. Il arrive dans ces conditions, avec un manque d'habitude, qu'on puisse, au lieu de faire une injection intra- péritonéale, administrer le produit à tester dans le caecum, le caecum contrôle la teneur en eau du contenu qu'il délivrera vers l'aval en fonction des capacités d'absorption de l'eau du côlon [57].

III.2.6. Le côlon :

Le côlon se divise en trois portions : côlon ascendant, transverse et descendant ; le développement du côlon ascendant suivant le régime alimentaire et au niveau des deux portions restantes, on observe peu de variations spécifiques [57].

Le côlon descendant assure la réabsorption de l'eau dont les fèces se présentent sous forme de crottes s'est à dire avec une teneur en matière sèche élevée [57].

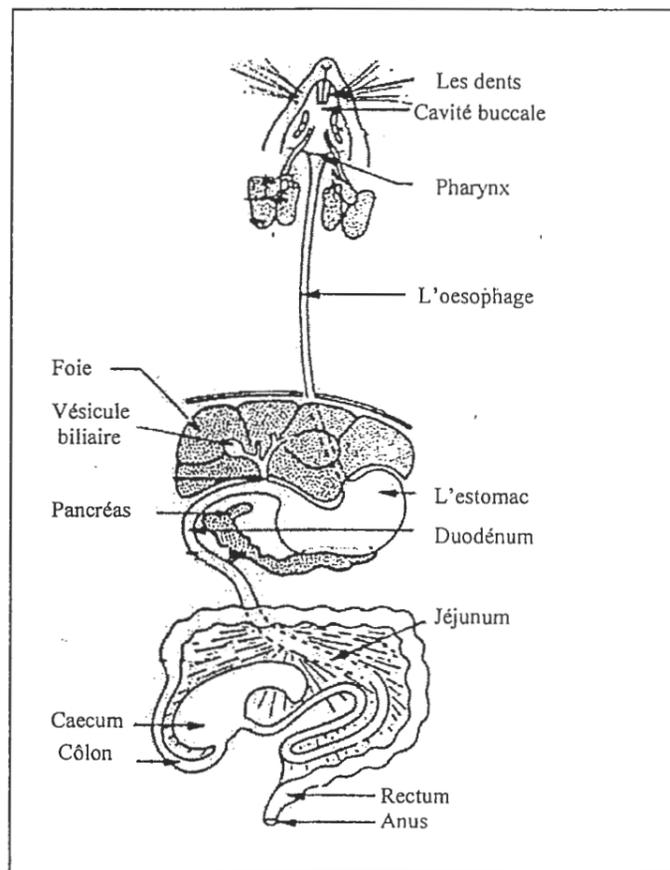


Figure 3 : Tube digestif du rat [40].

III.3. La microflore du tube digestif :

Selon le régime alimentaire, l'organisme héberge plusieurs micro-organismes (bactéries cellulolytiques, bactéries protéolytiques...) pour dégrader et digérer leur ration alimentaire. Dans les conditions normales, l'acidité gastrique s'oppose à la prolifération des germes dans la partie haute du tube digestif, limitant la population des germes (exclusivement aérobies) à 10^3 bactéries/ml de liquide gastrique. Au niveau intestinal, la concentration bactériennes est de l'ordre de 10^2 - 10^4 germes/ml dans le jéjunum, (essentiellement de germes aérobies) et 10^6 - 10^7 germes / ml dans l'iléon avec un équilibre entre les flores aérobies et anaérobies (ratio 1/1).

Le côlon est une zone de haute densité bactérienne (10^{12} bactéries / g de selles) avec une prédominance d'anaérobies (ratio ana / aérobies 3000 /1). Les souches les plus fréquemment isolées dans le côlon sont *E. coli* (10^8 /g de selles), *klebsiella pneumoniae* (10^{6-8} /g), *Enterococcus spp* (10^8 /g), *Proteus spp* (10^{6-8} /g) pour les germes aérobies, *Bacteroides fragilis* (10^{11} /g), et *Clostridium spp* (10^{10} /g) pour les anaérobies [12,46].

Selon la pathogénicité, les germes non pathogènes sont *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*..., les vrais pathogènes sont *E. coli*, *Compylobacter*, *Salmonella*...[20].

III.3.1. Les entérobactéries.

III.3.1.1. Définition et classification :

Les genres bactériens de la famille des *Enterobacteriaceae* ont en commun les caractères bactériologiques suivants [22] :

- Ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 μ m de long et 0.3 à 1 μ m de large ;
- Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles ;
- Facilement cultivables ;
- Se développant en aéro-anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire ;
- Acidifiant le glucose par voie fermentative (à la différence des *Pseudomonas*) avec souvent production de gaz ;
- Ne possédant pas d'oxydase et réduisant les nitrates en nitrites.

III.3.1.2. Habitat et pouvoir pathogène :

Certaines espèces d'*Enterobacteriaceae* sont trouvées dans l'environnement, d'autre chez les végétaux ou les animaux. Aussi, on peut les considère comme commençaes de l'intestin de l'homme et des animaux. Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certaines sont constamment pathogènes ; autres espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infections chez des malades fragilisés [22].

Ces bactéries se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubés 18 heures à 37°C [22] :

- Les formes S (Smooth) sont l'aspect habituel à la sortie de l'organisme, les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles sont de 2 à 4 mm de diamètre.
- Les formes R (Rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages, les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
- Les colonies muqueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*, on peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi B*.
- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques.

III.3.1.3. Caractères antigéniques :

La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Les antigènes que possèdent les entérobactéries sont [22] :

- Un antigène commun dénommé ECA ou antigène de Kunin qui n'existe que chez les *Enterobacteriaceae*.
- Les antigènes O ou somatiques ou de paroi de lipopolysaccharides (LPS) thermostables.
- Les antigènes H ou flagellaires (chez les souches mobiles). ils sont thermolabiles et constitués d'une protéine appelée Flagelline.
- Les antigènes K ou capsulaires de nature polysaccharidique, appelés L, A, B chez *E.coli* et V_i chez certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ils sont détruits par une ébullition de deux heures. On classe les adhésines (antigènes protéiques en relation avec la présence de pili) parmi les antigènes K (K 88, K 99).

III.4. Les probiotiques chez le rat :

Si les probiotiques sont ingérés en quantités suffisantes, ils expriment leurs effets thérapeutiques en maintenant l'équilibre de la flore intestinale [20].

Des études ont montré les effets préventifs de *Lactobacillus* sur la survenue de tumeurs coliques chez le rat [20], de même l'administration orale de divers probiotiques diminue la carcinogénicité de l'azoxymétane.

L'administration de *L. reuteri*, *L. plantarum* et d'autres lactobacilles s'est avérée capable de diminuer la translocation bactérienne et de moduler l'insuffisance hépatique chez les rats atteints d'une insuffisance hépatique expérimentale induite par galactosamine [23]. Aussi, il a déjà montré que les probiotiques aident la flore à se reconstituer, entraînant des effets bénéfiques pour l'hôte en améliorant l'écosystème digestif [20].

Deuxième Partie

Etude Expérimentale

II. Matériel et Méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'université de Jijel, elle avait pour objectifs :

- Isolement, purification et l'identification de quelques souches à partir du tube digestif d'un rat.
- Étude « in Vitro » des interactions entre les souches isolées du tube digestif du rat et deux souches lactiques *Lactobacillus plantarum* et *Pediococcus acidilactici*.
- Étude de la survie des deux bactéries lactiques à travers le tube digestif du rat.

II.1. Matériel.

II.1.1. Les bactéries lactiques :

On a utilisé deux souches lactiques, *Lactobacillus plantarum* isolée du beurre traditionnel de Jijel «BJ0021» et une souche commerciale, *Pediococcus acidilactici* commercialisée par la firme Française LALLEMAND.

II.1.2. Le rat :

Au cours de cette étude, On a utilisé neuf rats (Wistar) dont un a été sacrifié pour le prélèvement des échantillons de l'intestin, le reste des animaux est utilisé pour l'étude de la survie .

II.1.3. L'aliment :

L'expérimentation a été réalisée avec un régime standard. L'aliment se présente sous forme de granulé dont la composition est consignée dans le tableau 05.

Tableau 05: Composition de l'aliment [01].

Eléments	Pourcentage (%)
-Protéine brutes	15.91
-Lipides.	3.2
-Phosphate.	0.67
-Sodium.	0.23
-Calcium.	0.84
-Chloride.	0.34
-Potassium.	0.5
-filaments bruts.	5.1

II.1.4. Le lait :

Le probiotique a été préparé à partir d'un lait écrémé en poudre fourni par la laiterie IGILAIT.

II.1.5. Milieux culture et réactifs :

Dans notre travail, on a utilisé les milieux suivants:

- La gélose VRBL et VRBG : pour l'isolement des entérobactéries et leur conservation.
- Le bouillon nutritif pour le pré enrichissement des entérobactéries.
- Les géloses et les bouillons MRS et M₁₇ : pour la culture et le dénombrement des bactéries lactiques.
- Pour l'identification : citrate de Simmons; Mannitol-mobilité, Urée-indole, milieu TSI ; eau oxygénée ; milieu Moeller ADH, LDC et ODC ; eau peptonnée exempte d'indole ; Milieu Clark et Lubs ; milieu MEVAG sans sucre, les sucres : raffinose, Inositol, Dulcitol.

II.1.6. Autre produits :

- Pour la coloration de GRAM : Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuschine.
- Soude NaOH N/9 et 3M
- HCl et Ether de pétrole.
- Réactifs : Kovacs, VPI, VPII.

II.1.7. Autre matériels :

L'essentiel du matériel utilisé est le suivant :

- La balance pour peser les prélèvements.
- pH mètre et étuve (WTB binder).
- Les disques du papier WATMAN N° 4.
- Microscope optique, bain marie, agitateur.
- Centrifugeuse, pipettes graduées (5 ml. 1 ml...) et pipeteurs.
- Boîtes de pétri, tubes stériles, pipettes pasteurs, lames, bec bunsen, anse de platine.
- La trousse de dissection, plaque de liège, cloche fermée.

II.2. Méthodes.

II.2.1. Constitution d'un soucier de la flore endogène du rat.

II.2.1.1. Sacrifice de l'animal et préparation des dilutions :

L'animal est mort après environ 10 minutes de la mise dans une cloche fermée menue d'une quantité de l'éther de pétrole à dose toxique.

a. Autopsie :

L'animal est fixé par des épingles sur une plaque de liège sur le dos, les pattes en extension. Après la désinfection de la partie ventrale à l'alcool, soulever la peau du bas du ventre avec une pince et d'un coup ciseaux faire une petite incision. Par celle-ci, couper la peau à l'aide des ciseaux stériles, faire deux

incisions perpendiculaires. Décoller, rabattre et attacher les volets cutanés sur la plaque de liège [32].

Après séparation du tube digestif, prélever une quantité de la lumière du côlon et la transfère dans 1 ml de bouillon nutritif sur tube stérile. Le deuxième prélèvement consiste à couper et nettoyer un petit morceau de la paroi du côlon et le transférer dans un autre tube de bouillon nutritif pour la récupération des germes fixés à la paroi pour plus de diversité des bactéries.

Un lavage est effectué pour le 2^{ème} prélèvement en transférant le morceau du côlon après chaque 15 minutes dans un autre tube du bouillon nutritif neuf pour 2 à 3 fois.



Fig.4 : Dissection de rat.

b. Les dilutions :

Un millilitre d'une suspension bactérienne (solution mère sur bouillon nutritif) est transféré dans 09 ml d'eau physiologique stérile et homogénéisé. A partir de cette dilution, on pratique des dilutions de 10 en 10 : (1 ml dans 9 ml) pour obtenir une série de dilution $10^{-1}, 10^{-2}, \dots, 10^{-9}$. Ces dilutions doivent être effectuées très soigneusement, avec une agitation parfaite afin de bien répartir les germes et de dissocier les agglomérats [32].

II.2.1.2. Isolement et purification :

L'isolement a été pratique sur gélose VRBG par étalement de quelques gouttes à partir de la solution mère et de la dilution 10^{-7} pour chaque prélèvement et on incube à $37^{\circ}\text{C} / 24 \text{ H}$.

Vingt colonies bien distinctes ont été repiquées sur bouillon nutritif et incubées à $37^{\circ}\text{C}/24\text{H}$. Après incubation, on aensemencé la gélose VRBG par étalement puis incubé à $37^{\circ}\text{C} / 24\text{H}$ [09]. Une souche pure est caractérisée par la même forme, taille et couleur (rose- rouge pour les entérobactéries).

Chaque souche pure a été conservée sur gélose inclinée à $+ 4^{\circ}\text{C}$ [19].

II.2.1.3. Test d'identification :**a. Coloration de GRAM :**

Après avoir fixé le film bactérien, provenant d'une culture de moins de 24 Heures, sur une lame, recouvrir le film avec la solution de violet de gentiane.

Laisser agir 1 min, jeter l'excès de colorant. Recouvrir la lame avec la solution de Lugol. Laisse agir 1 min. Egoutter la lame et faire couler doucement et en continu un film d'éthanol (95%) pendant 30 Sec. Rincer doucement la lame inclinée avec l'eau pour éliminer l'alcool. Recouvrir la lame avec la solution de Fuschine pendant 20 Sec et rincer doucement la lame inclinée avec de l'eau et sécher [24].

b. Catalase :

Prélever une colonie et déposer sur une lame. Ajouter une goutte d' H_2O_2 30% sur les bactéries, puis observer le dégagement immédiat de gaz [24].

**c. Metabolisme proteique et des acides aminés.****1. Recherche d'urease et la production d'indole :**

Certains germes élaborent une uréase extrêmement active, et peuvent utiliser l'urée comme seule source d'azote, produisant ainsi du CO_2 et NH_3 .



A partir de chaque milieu gélosé contenant la culture pure, on a ensemencé une ose de culture dans le milieu urée-indole et on incube à $37^\circ C / 24$ H.

Le virage de l'indicateur de pH au rouge, et l'alcalinisation du milieu témoignent la présence d'une uréase. Par la suite on a ajouté 03 gouttes de réactif de Kovacs le long des parois. On homogenèse et on laisse reposer. La présence d'indole se traduit par la formation d'un anneau rouge en surface [25].

2. Recherche de l'Argenine Dihydrolase (ADH) :

L'argenine est décarboxylé en agmatine, puis hydrolysé en putrescine. On a ensemencé le milieu Moeller enrichi avec l'Argenine par une culture fraîche et on a porté à l'étuve à $37^\circ C$ pendant 24 H. l'apparition d'une couleur violette, témoigne la présence d'une ADH [25].

3. Recherche de décarboxylase pour l'ornithine (ODC) :

La décarboxylation de l'ornithine donne de la putrescine et libération de CO_2 . On a ensemencé le milieu Moeller enrichi avec de l'ornithine par le germe à tester et on incube à $37^\circ C / 24H$.

Le virage au violet indique la présence de l'ODC. Le virage de la couleur au jaune indique l'absence de l'ODC, la réaction est négative (le milieu est acide) [25].

4. Recherche de la lysine décarboxylase (LDC) :

Certaines bactéries possèdent une décarboxylase qui agit sur un acide aminé particulier la lysine, en produisant la cadavérine qui réagit avec la ninhydrine en donnant une coloration violette. On aensemencé le milieu Moeller enrichi de la lysine par une ose de culture puis on incubé à 37°C /24H. La présence d'une LDC se traduit par une coloration violette [25].

d.Utilisation de citrate :

La présence du citrate -perméase chez les bactéries permet d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Cela entraîne l'alcalinisation du milieu de culture qui est révélée par le virage de l'indicateur coloré du vert au bleu sur milieu citrate de Simmons. Le milieu citrate estensemencé en surface par stries serrées et parallèles, les tubes sont incubés à 37°C/24h [25].

e. Métabolisme glucidiques.

1. Attaque du mannitol :

Le mannitol est un produit dérivé de D-mannose. Sa dégradation est comparable à celle du glucose et conduit à la formation d'acides à chaînes très courtes. Le milieu Mannitol-Mobilité permet d'étudier, outre la dégradation du mannitol, la mobilité des germes.

On aensemencé la gélose par piqûre centrale avec les souches à étudier, puis on a incubé à 37°C / 24H.

Le virage de couleur au jaune indique la fermentation du mannitol, l'apparition d'un trouble ou nuages au long de piqûre indique que les germesensemencés sont mobiles [25].

2. Fermentation des sucres en milieu TSI :

Le milieu TSI est un milieu complexe, qui permet la mise en évidence de plusieurs enzymes qui sont responsables de la dégradation du glucose, Lactose et des acides aminés. L'utilisation des sucres acidifie de plus en plus le milieu.

Le milieu estensemencé par piqûre centrale dans le culot, suivie par des stries superficielles sur la pente du milieu, après incubation à 37°C /24 H, on fait la lecture [25] :

- Glucose fermenté : la pente vire au jaune.
- Production de gaz, se traduit par la formation de bulle de gaz dans la masse du milieu et contre les parois, ou une poche gazeuse repoussant la totalité du milieu vers le haut.
- Lactose fermenté : la pente vire au jaune.
- Les peptones et les acides aminés sont dégradés, la pente vire au rouge.
- Productions du sulfure d'hydrogène (H₂S) aux dépens des acides aminés à radicaux soufrés ; la pente et le culot sont noires.

f. Profil de fermentation des sucres :

Le test permet d'apprécier la capacité des souches à fermenter quelques sucres (Inositol, Dulcitol, Raffinose). Ce test est réalisé sur milieu MEVAG (Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides) dans les tubes à assai ou les cloches.

Pour réaliser ce test on a ajouté au milieu fondu et refroidi à 37°C, quelques gouttes de sucre à tester, on homogénéise puis on ensemence nos souches bactériennes. Après incubation à 37°C /24H, tous les tubes dont la couleur vire vers le jaune sont considérés comme positifs [25].

II.2.2. Interaction entre les bactéries lactiques et la flore endogène.

Pour mettre en évidence ces interactions on a utilisé la méthode de Fleming et *al*, [14].

II.2.2.1. Effet antagoniste des bactéries lactiques :

Après avoir couler et solidifier la gélose MRS, la culture *L.plantarum* ou *P.acidilactici* est ensemencée par étalement et incubée à 37°C environ 6 H. puis avec une pince stérile, on dépose les disques imbibés de cultures de la collection des entérobactéries à la surface du milieu. Après une incubation à 37°C /24 H, on détermine le diamètre des zones d'inhibition [52].

II.2.2.2. Effet du surnagent :**a. Préparation du surnagent :**

L.plantarum (ou *P.acidilactici*) est propagée dans 10 ml du bouillon MRS (M₁₇) pendant 18 heures à 37°C. La culture est centrifugée à 4700 tour/ min pendant 27 minutes à + 4°C. Puis on récupère les surnagents et on rejette les culots [28].

b. Ensemencement :

On utilise la méthode des puits décrite par Schillinger et Lucke, [55], qui consiste à une culture par inondation à partir des suspensions déjà préparées sur la gélose correspondante (VRBG). Après rejet de surplus et séchage, on creuse des puits par raseur tire-bouchon dont le diamètre est d'environ 5 mm, après les puits sont remplis par les surnagents de *L.plantarum* ou *P.acidilactici*. L'incubation se fait à 37°C /24H.

Les boîtes sont examinées pour la présence de zones d'inhibitions de 1.5 mm ou plus autour des puits [28].

II.2.2.3. Effet du surnagent à pH 7 :

Après préparation du surnagent, leur pH est ajusté à pH7 par le NaOH 3M pour écarter l'effet antimicrobien du proton H⁺, puis une filtration du surnagent à travers des filtres de 0.22 µm de diamètre [28].

L'ensemencement s'effectue de la même manière que celle de surnagent natif. Après l'incubation à 37°C /24H, les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés.

II.2.3. Survie de *L.plantarum* et *P. acidilactici* dans le tube digestif du rat:**II.2.3.1. Préparation des lots :**

Les 08 rats étaient répartis sur deux lots :

- Le 1^{ère} lot : dit à probiotique *L.plantarum*, contient 04 rats dont le poids est entre 250 g et 350 g.
- Le 2^{ème} lot : dit lot à probiotique *P.acidilactici* contient 04 rats dont le poids est entre 250 g et 350 g.

Les paramètres pris en considération sont :

- Un biberon d'eau.
- L'aliment dont la composition est indiqué dans le tableau.
- Au niveau de la chambre d'élevage, il faut une température de 22°C, un taux d'humidité de 40 à 70%, un taux d'éclairage de 12 heures par jour.
- Au niveau des cages, il faut réaliser un nettoyage avec l'évacuation de la matière fécale et les résidus de l'aliment afin de préserver les rats en bonne santé.

La figure ci-dessous illustre la préparation des animaux.



Figure 5 : Préparation des lots.

II.2.3.2. Préparation du probiotique et voie d'administration.**a. Préparation du probiotique :**

Les probiotiques ont été administrés aux rats sous forme de lait fermenté, ils sont préparés de la manière suivante :

- On mélange 24 g de lait écrémé (0%) avec 200 ml d'eau distillée stérile et 02 g de saccharose puis on stérilise à 120°C /15 min. le refroidissement se fait à 37°C.

- On ensemence par la bactérie lactique.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 3 à 4 heures pour la coagulation du lait.
- Les probiotiques sont conservés dans des flacons stériles à +4°C (réfrigérateur).

L'acidité et le pH des produits finis ont été déterminés. Le nombre de cellules de bactérie lactique par ml du produit fini a été évalué.

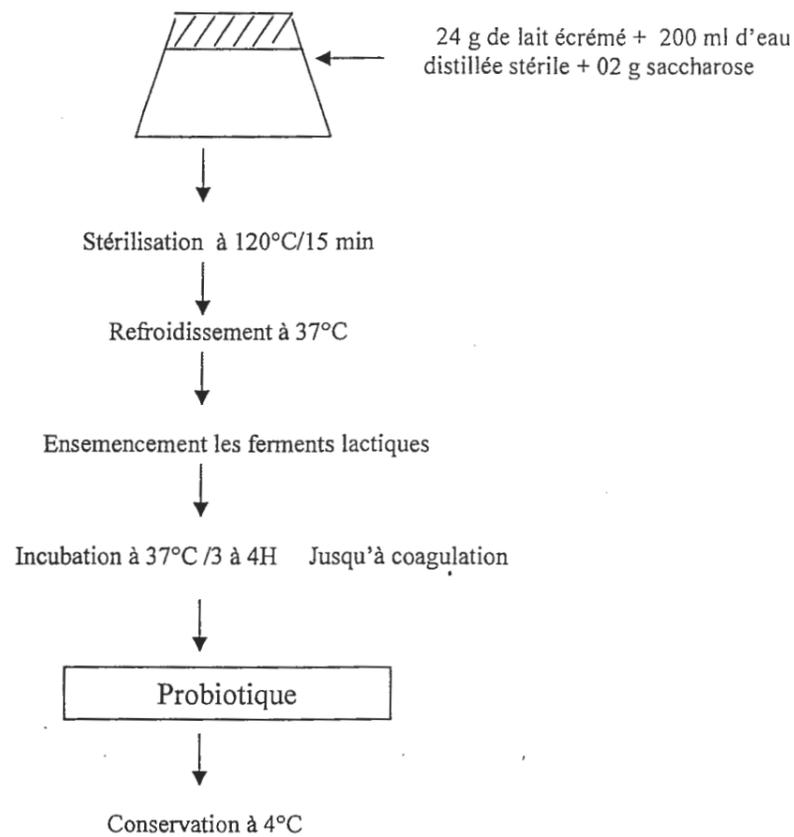


Figure 6 : Préparation du probiotique

b. Evaluation du pH, acidité et nombre des lactiques/ml du produit:

Le pH est déterminé en plongeant l'électrode du pH mètre dans un échantillon du produit fini. La valeur du pH correspond à celle enregistrée sur écran.

Pour l'acidité ; après l'addition de quelques gouttes du phénolphtaléine à 10 ml du lait à probiotique, on titre avec la soude dornic jusqu'à ce que la couleur devient rose pale. Puis on calcule le volume de la soude dornic utilisée.

$$\text{Acidité } (^{\circ}\text{D}) = V(\text{NaOH}) \times 10$$

V: Volume du NaOH utilisé.

Pour le dénombrement des lactiques; on réalise les dilutions dans l'eau physiologique jusqu'à 10^{-9} , puis on ensemence la gélose MRS par étalement à partir de la dilution 10^{-9} et on incube à 37°C pendant 24 H.

c. Voie d'administration :

Durant l'étude « in vivo », le régime alimentaire est le même sauf pour l'administration de probiotiques :

Lot 1 : Administration du lait à *L.plantarum*, 2× 5ml /tête/jour.

Lot 2 : Administration du lait à *P. acidilactici*, 2×5 ml / tête /jour.

Cette administration est réalisée par voie orale « per- os » chaque jour à 10 h et à 14 H, pendant 7 jours.

II.2.3.3. Dénombrement des bactéries lactique dans le tube digestif.**a. Echantillonnage :**

Les échantillons sont prélevés après 1jour ,2jours, 5jours et 7jours de l'administration des probiotiques. De chaque lot et après le sacrifice et l'autopsie d'un animal, on prélève 4g de chaque organe : Estomac, Duodénum et Cæcum plus la récolte de 4g de la matière fécale.

b. Dilutions décimales :

Pour chaque prélèvement, on ajoute 40ml d'eau distillée stérile avec broyage et homogénéisation, on obtient ainsi la solution mère à dilution 10^{-1} à partir de cette solution on prépare des dilutions décimales jusqu'à 10^{-7} [26].

c. Ensemencement :

A l'aide d'un râteau stérile, on fait l'étalement d'un ml de la dilution 10^{-6} sur la gélose MRS fondue et refroidie. Après une incubation à 37°C /24H, on dénombre les bactéries lactiques.

II.2.3.4. Evaluation des entérobactéries :

Le dénombrement des entérobactéries est pratiqué uniquement pour la matière fécale.

A partir de la dilution 10^{-6} , on prélève 1ml que l'on dispatche au fond de la boîte de Pétri puis on coule le milieu VRBG refroidi. On mélange et on laisse refroidir, puis on ajoute une 2^{ème} couche du milieu VRBG pour créer l'anaérobiose. L'incubation est faite à 37°C /24H.

On dénombre les colonies caractéristiques des entérobactéries.

II.2.4. Traitement statistique :

Les résultats de la partie relative à la survie des deux probiotiques dans le tube digestif du rat ont été traités statistiquement par une analyse de variance au seuil de 5% et 1% Par le test de Newman Keuls.

Troisième Partie

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Collection de souches du tube digestif du rat.

III.1.1. Purification et identification :

Durant la purification, un trouble est remarqué sur le brouillon nutritif ; sur milieu VRBG, les colonies sont majoritairement d'une couleur rose et d'une taille peu variable.

A la fin de la purification, les souches obtenues sont en nombre de 13. L'observation macroscopique révèle la présence des colonies isolées de même taille, même forme et même couleur (rose, rouge) sur chaque boîte.

Concernant l'examen microscopique, la coloration de Gram montre la présence de cellules bacilles, coccobacilles Gram négatif et des coques à Gram positif.

III.1.2. Tests biochimiques :

D'après les profils de l'identification des souches portés dans le tableau 06, il en ressort le suivant :

La collection est dominée par les Gram négatifs, deux souches uniquement sont à Gram positif.

Toutes les souches isolées sont catalase positive et mobiles. Cinq souches gram⁻ et une Gram⁺ ont l'habilité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.

Sur milieu TSI, elles fermentent le glucose avec une variabilité dans la production du gaz et de H₂S. Ces derniers ont pour la majorité le pouvoir de décarboxylation de la lysine et de l'ornithine, de même elles ont pour la majorité le pouvoir d'hydrolyse de l'arginine.

Sur milieu urée- indole, certaines souches ont la capacité de dégrader l'urée, de plus, après l'addition du réactif de Kovacs, l'anneau rouge témoigne la production d'indole.

Le profil de fermentation des sucres montre que les souches sont pour la majorité dotées de complexes enzymatiques très actif vis-à-vis des sucres mis à l'épreuve, elles fermentent, le glucose le saccharose et le dulcitol.

Une remarque assez importante mérite d'être signalé, deux souches de même genre présentent des profils différents, ainsi la souche *Enterococcus* spp 1 manifeste une croissance sur le milieu citrate en revanche la souche 2 et incapable de le faire. De même, une variabilité est notée à l'égard d'*E.coli* 6 et 8, celle codée 8 est impuissante à fermenter le mannitol mais la souche codée 6 le fait.

Les deux souches de *Salmonella* codées 5 et 11, présentent une variabilité vis-à-vis de la production de H₂S ainsi la souche 11 est H₂S⁺ par contre celle codée 5 ne l'est pas.

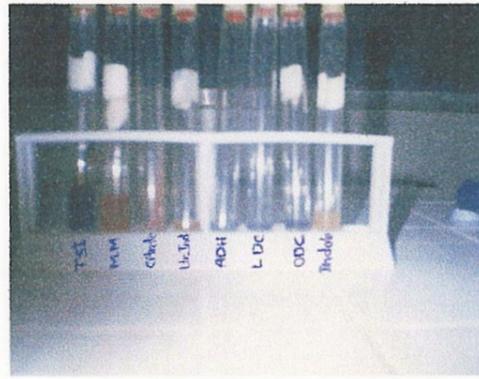


Figure 7 : Profil d'identification de *Salmonella* (souche 11)

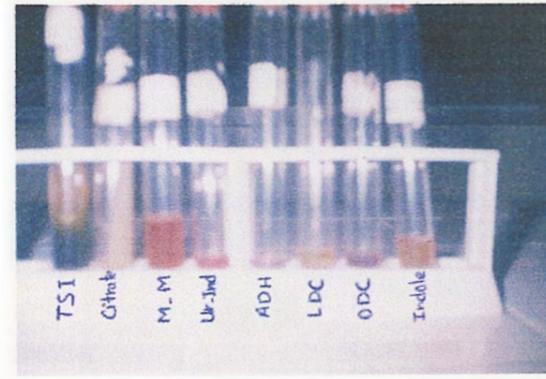


Figure 8 : Profil d'identification de *Proteus* (souche 9)

Les profils biochimiques ont permis d'identifier le suivant :

- 02 souches *Escherichia* spp
- 02 souches *E.coli*.
- 02 souches *Salmonella* spp.
- 02 souches *Serratia* spp.
- 02 souches *Proteus* spp.
- 01 souche *Enterobacter* spp.
- 02 souches *Enterococcus* spp.

D'après cette répartition, les coliformes représentent environ 78,46 % des entérobactéries dont le genre *Escherichia* prédomine.



Tableau 6 : Résultats des tests d'identification des souches.

Souches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Gram	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Coque	Coque	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba	Coccoba
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Indole	+/-	-	-	+	-	+/-	+	+	+	+	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+/-
H ₂ S	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+/-	+	-	-
Gaz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+/-	+/-
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
ODC	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+
ADH	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Mannitol	+	+	+	-	+	+	+	-	+/-	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-
Lactose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+/-
Saccharose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+/-
Raffinose	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+	-	-	-
Inositol	+	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-	+
Identifier à	<i>Enterococcus</i> spp	<i>Enterococcus</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Escherichia</i> spp	<i>Salmonella</i> spp	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i> spp	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i> spp	<i>Escherichia</i> spp	<i>Salmonella</i> spp	<i>Serratia</i> spp	<i>Serratia</i> spp

III.2. Interaction entre les bactéries lactiques et la flore isolée.

III.2.1. Effet antagoniste des bactéries lactiques :

Concernant ce test, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 07, ces résultats mettent en évidence deux phénomènes entre les différentes souches de la flore endogène du rat ensemencées en touche et les deux souches lactiques ensemencées en masse :

- Une symbiose ou stimulation de la croissance des 02 types de souches, il s'agit d'une interaction positives comme il est observé entre *Serratia* spp12 et les deux souches lactiques et entre *Salmonella* (S 05) et *P. acidilactici*.
- Une inhibition de la croissance des bactéries de la flore endogène par les bactéries lactiques ; il s'agit d'une interaction négative, le diamètre des zones d'inhibition est compris entre 2 mm et 8 mm. Les souches *Enterococcus* spp, *Enterobacter* spp et *Proteus* spp (S09) sont inhibées par les deux types des bactéries lactiques, *Salmonella* spp (S05) est inhibée par *L.plantarum* seulement, cependant *Enterococcus* spp, *Escherichia* spp (S04 et S 10), *E.coli* (S 06 , S 08), *Proteus* spp (S07) et *Salmonella* spp (S 11) sont inhibées seulement par *P.acidilactici*, qui est la souche lactique la plus active sur les souches testées (77%).

La lecture de ces résultats montre que l'espèce *P.acidilactici* exerce un large spectre d'inhibition vis-à-vis de 10 parmi les 13 souches mise à l'épreuve, cette lactique montre un hétéro antagonisme très marqué vis-à-vis des deux Gram⁺, *Enterococcus* spp avec un diamètre d'inhibition de 8mm. Le même diamètre d'inhibition est enregistré avec les souches *E.coli* 8 et *Proteus* spp 9.

Toutefois, il apparaît clairement que les souches de même espèce se comportent différemment vis-à-vis des lactiques, ainsi *E.coli* 6 manifeste une bonne résistance en présence de *P.acidilactici* dont le diamètre d'inhibition est la moitié de celui trouvé avec *E.coli* 8, 4mm contre 8 mm.

Tableau 07 : Résultats des interactions entre les probiotiques et souches isolées.

S.T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
S.M	Diamètre d'inhibition en mm												
<i>L.plantarum</i>	4	0	4	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>P.acidilactici</i>	8	8	6	4	0	4	6	8	8	4	6	0	0

S.M : souches ensemencées en masse.

S.T : souches ensemencées en touche.

Les résultats montrent également une hétérogénéité du comportement des souches de la même espèce vis-à-vis du surnageant natif, *E.coli* 8 est très sensible au surnageant natif de *L.plantarum* (12mm) à contrario celle codée 6 est résistante. Ce comportement témoigne que ces souches peuvent avoir une variabilité d'ordre génétique.

La technique utilisée pour l'obtention du surnageant nous a permis de récupérer tous les métabolites cellulaires des bactéries lactiques tels qu'ils sont.

Les acides organiques peuvent exercer une action inhibitrice spécifique et d'autre part la production de nombreux autres agents inhibiteurs, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, éthanol, CO₂, antibiotiques et bactériocines a été démontrée [08].

Schillinger et Luke [53] ; Stiles [55] ont démontré que les surnagants de culture fraîche sont des inhibiteurs. Ainsi Reinheimerj et al. [51] montrent que la production d'acide organique tels que l'acide lactique ou l'acide acétique limite, en abaissant le pH, le développement des *Escherichia spp*.

III.2.3. Effet du surnageant pH 7 :

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 09 et par comparaison avec ceux du tableau 08, on remarque que le spectre d'action du surnageant pH7 est plus large que celui du surnageant natif et que l'action du filtrat de la culture de *L.pantarum* (69.5%) est plus importante que celle de surnageant de *P.acidilactici* (38.5%)

Tableau 09 : Effet du surnageant pH 7 sur la flore endogène.

Souches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Surnageant pH7	Diamètre d'inhibition en mm												
<i>L. plantarum</i>	14	0	6	12	6	0	6	0	14	10	2	0	16
<i>P.acidilactici</i>	8	0	6	12	0	8	0	0	0	10	0	0	0

L'effet inhibiteur de l'acide lactique et des autres acides organiques a été éliminé par l'ajustement de pH à 7, ce qui fait que l'inhibition qui persiste après cet ajustement est dû aux autres substances principalement les bactériocines et les antibiotiques.

On a remarqué aussi que le spectre d'action s'élève dans cette partie d'étude, ce qui nous fait croire qu'il y a une synergie entre les acides organiques et le reste des substances à activité inhibitrice et que probablement les bactériocines sont sensibles au pH du milieu et qu'elles sont plus actives à pH=7.

A l'issu de ces résultats, le surnageant neutre de *L.plantarum* exerce une nette activité inhibitrice en inhibant 9 parmi les 13 souches de la collection avec des diamètres de zones d'inhibitions de 2 à 16mm. La souche *Serratia spp*13 est la plus affectée par les composants du surnageant, elle donne un diamètre d'inhibition de 16 mm par contre la souche 12 du même genre montre une bonne résistance.

Cependant, avec le surnageant pH7 de *P.acidilactici*, cinq souches uniquement manifestent une sensibilité envers ces composés avec des diamètres d'inhibitions de 6 à 12 mm, la souche *Escherichia.spp* 4 étant la plus sensible (12mm).

Il est utile tout de même de signaler que certaines souches sensibles au surnageant neutre de *L.plantarum*, ne le sont pas avec celui de *P.acidilactici*, c'est le cas de *Escherichia* spp 5 qui est sensible au surnageant de *Pediococcus* mais sensible à celui de *Lactobacillus*.

Ces résultats montrent que les substances actives présentes dans les deux surnageants ne n'ont pas la même efficacité envers les souches de la collection. Elles peuvent être de nature protéinique comme les bactériocines et les antibiotiques. Notre justification est confirmée par plusieurs auteurs, Vuyst et Vandamme [59] Montville et Kaiser [43] rapportent qu'il y a effet antagoniste dû aux antibiotiques et aux bactériocines chez les bactéries lactiques.

De même, il a été déjà montré que l'action des bactériocines étant en relation avec le pH du milieu [23].

Notre étude n'est pas suffisante pour confirmer que l'inhibition est due aux bactériocines pour l'accomplir il faut utiliser des méthodes chromatographiques pour connaître la nature de ces substances inhibitrices.

III.3. survie de *L.plantarum* et *P. acidilactici* dans le tube digestif.

III.3.1. Les caractéristiques des laits fermentés :

Les résultats de la production d'acide lactique des 02 souches de bactéries lactiques *L.plantarum* BJ 0021 et *P.acidilactici* sont représentés dans le tableau 10.

D'après ces résultats, la souche *L.plantarum* produit 6.3 g d'acide lactique par litre de lait, après 4 heures d'incubation et la souche *P.acidilactici* produit 5.3 g d'acide lactique par litre de culture après la même durée d'incubation.

On remarque aussi que le pH du lait à *L.plantarum* est nettement plus bas que celui du lait à *P.acidilactici* puisque la quantité de l'acide lactique produite par la première espèce est plus élevée que celle produite par le 2^{ème}, de ce fait, la vitesse de coagulation du premier lait est plus rapide.

Tableau 10 : Résultats de quelques caractéristiques des laits fermentés.

Laits fermentés	pH	Acidité °D	Nombre : N. 10 ⁹ cellules /ml
<i>L. plantarum</i>	5.64	63 °D	117.2
<i>P.acidilactici</i>	6.3	53 °D	124

La numération des bactéries lactiques dans les deux produits a montré que dans le lait à *L.plantarum* il y a 117.2×10^9 germes lactique / ml, celui fermenté par *P.acidilactici* renferme 124×10^9 germes/ ml. De ce fait les deux produits sont dits produits vivants.

III.3.2. Numération des probiotiques dans le tube digestif du rat.

III.3.2.1. Dans l'estomac :

Les résultats de la numération des deux lactiques dans l'estomac après différentes périodes de l'administration des probiotiques sont mentionnés dans le tableau 11 et illustrés par la figure 09

Après l'administration « per-os » des laits fermentés aux rats, le dénombrement des bactéries lactiques sur gélose MRS a montré une survie de cette flore apportée par l'alimentation confirmant ainsi la résistance des souches aux conditions acides de l'estomac.

Les résultats montrent une fluctuation de nombre de bactéries lactiques en fonction du temps. Après 24 H, la concentration de *L. plantarum* et *P. acidilactici* est la même: 264×10^6 cellules/ml. Cette concentration bactérienne diminue après le 3^{ème} jour, puis marque une augmentation considérable au cinquième jour.

Sous l'effet des conditions physico-chimiques caractérisants l'estomac et la faible résistance des lactiques à l'acidité gastrique (Desmazeaud,) [11], le nombre a diminué mais la concentration reste importante. Après une plus longue période de l'administration, le nombre s'élève sous l'effet de l'alimentation, la résistance, la multiplication et l'accoutumance des bactéries au stress imposé par cavité digestive.

Après l'arrêt de l'administration, le nombre de cellules de *L. plantarum* et *P. acidilactici* diminue significativement ($P < 0.05$) à des valeurs très basses pour atteindre respectivement 12×10^6 et 3×10^6 cellule/ml de jus gastrique, ce résultat laisse supposer qu'il faut toujours une source exogène de bactéries lactiques.

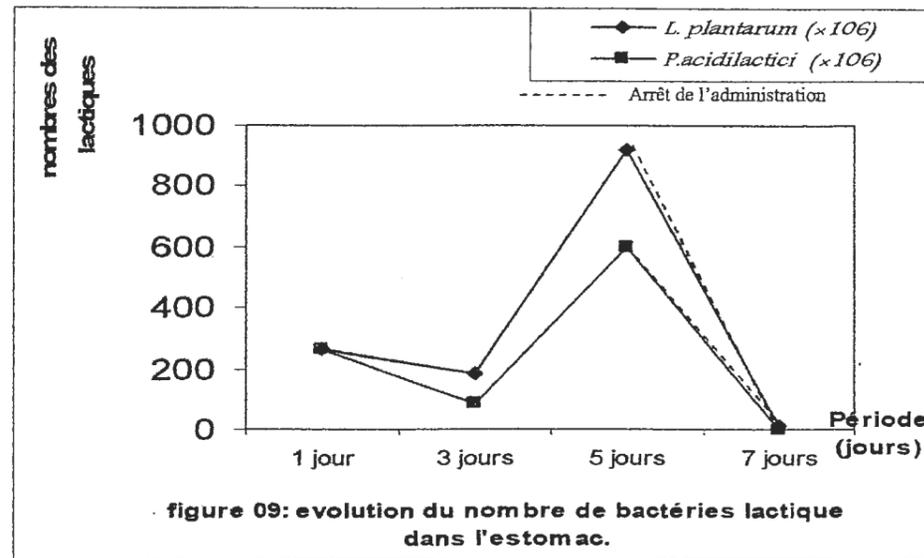
Reste à noter que *L. plantarum* manifeste une meilleure résistance aux conditions hostiles de l'estomac.

Tableau 11 : Evolution du nombre de bactéries lactiques dans l'estomac.

Période	<i>L. plantarum</i> ($\times 10^6$)	<i>P. acidilactici</i> ($\times 10^6$)	S.S
1 jour	264	264	**
3 jours	184	88	
5 jours	920	600	
S.S	**		
7 jours	12	3	

S.S : Signification Statistique

** : Résultat significatif



III.3.2.2. Dans le duodénum :

La présence des acides biliaires et des enzymes au niveau de ce segment intestinal constitue la deuxième barrière physiologique au passage de bactéries lactiques vivantes.

Les résultats mentionnés dans le tableau 12 et illustrés par la figure 10, montrent une survie de nos souches au niveau de ce segment intestinal avec une concentration minimale après 24 H de l'administration des probiotiques, estimé à 62.4×10^6 germes/ml du contenu duodénal.

L'apport quotidien des probiotiques a augmenté la chance de survie des bactéries, ainsi on assiste à une progression en nombre de cellule de *Lactobacillus* et *Pediococcus* dans le contenu de cette partie intestinale pour atteindre un maximum respectif de 980×10^6 et 441×10^6 cellule / g du liquide duodénal.

Les variations peuvent être liées à l'effet tampon de l'alimentation, au temps de séjour de l'aliment au niveau duodénal et ainsi à la vitesse de la vidange gastrique.

Après l'arrêt de l'administration, on observe une régression hautement significative ($P < 0.01$) de - 95.11% et - 93.66% de cellules de *L. plantarum* et *P. acidilactici* respectivement et comparativement aux valeurs trouvées au 5ème jour. La meilleure survie est enregistrée avec le probiotique *L. plantarum*.

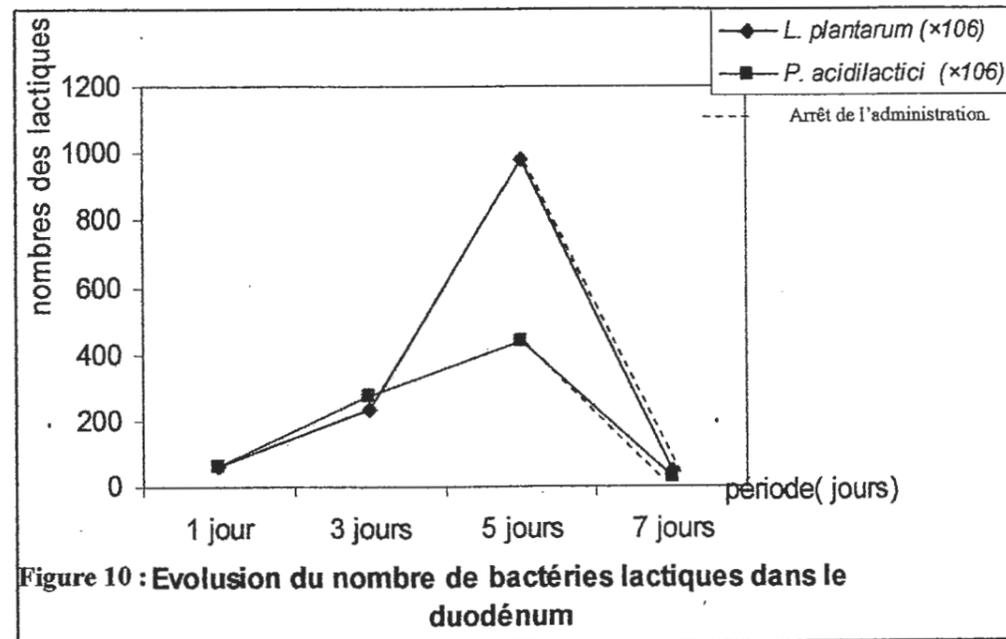
Pochart et al.[50] montrent que les bactéries vivantes du yaourt passent dans le duodénum de l'homme.

Tableau 12 : Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le duodénum :

Période	<i>L. plantarum</i> ($\times 10^6$)	<i>P. acidilactici</i> ($\times 10^6$)	S.S
1 jour	62.4	62.4	**
3 jours	232	272	
5 jours	980	441	
S.S	**		
7 jours	48	28	

S.S : Signification Statistique

** : Résultat significatif



III.3.2.3. Dans le caecum :

Les résultats de dénombrement sont résumés dans le tableau 13 et illustrés par la figure 11. Le nombre de bactéries lactiques augmente durant la période de l'administration de deux probiotiques. Cette augmentation est considérable pour *L. plantarum* ($P < 0.01$), avec un minimum de $42,4 \times 10^7$ germes/ml à J1 et un maximum de 128×10^7 germes/ml du contenu caecal.

La souche *P. acidilactici* manifeste aussi une bonne survie dans le caecum mais avec des performances moins importantes comparativement à la *plantarum*.

Le caecum est une chambre de fermentation, ce qui favorise la multiplication des germes lactiques aéro-anaérobie facultative mais préfèrent beaucoup plus les conditions d'anaérobiose. De plus le nombre augmente puisque chez les animaux à large caecum (tel que les rats) le contenu iléal se vide dans le caecum [57].

Après l'arrêt de l'administration il y a une diminution dans le nombre des lactiques dont il est de 72×10^6 germes/ml pour *L. plantarum* et de 52×10^6 germe/ml pour le *P. acidilactici*.

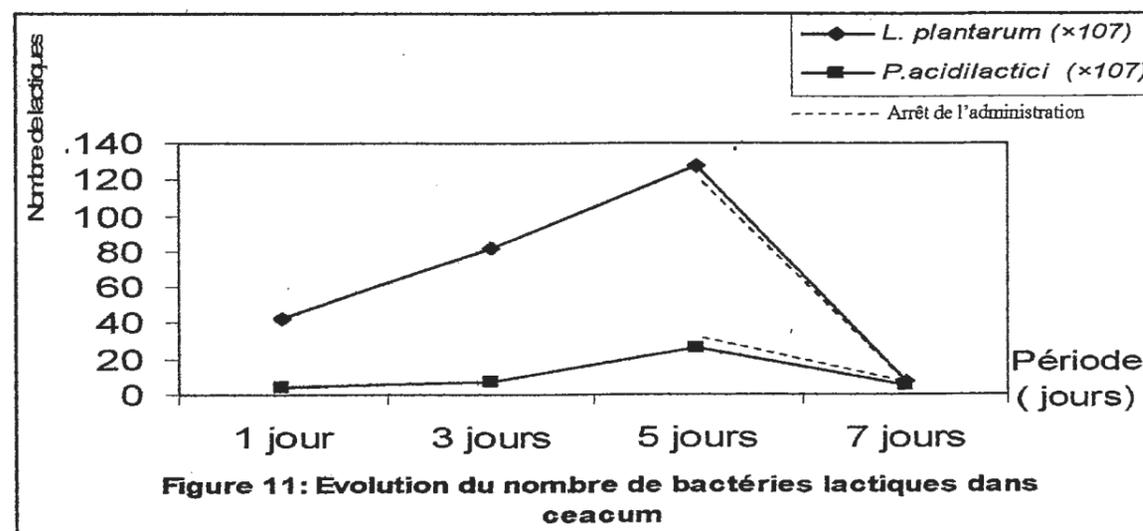
Ces résultats montrent que les probiotiques peuvent résister aux conditions du caecum et manifestent des activités symbiotique ou inhibitrices vis-à-vis de la flore résidante à ce niveau intestinal.

Tableau 13 : Evolution du nombre de bactéries lactiques dans le caecum

Période	<i>L. plantarum</i> ($\times 10^7$)	<i>P. acidilactici</i> ($\times 10^7$)	S.S
1 jour	42,4	4,56	**
3 jours	82,4	7,44	
5 jours	128	25,6	
S.S	**		
7 jours	7,2	5,2	

S.S : Signification Statistique

** : Résultat significatif.



III.3.2.4. Dans la matière fécale :

Au vu des résultats rassemblés dans le tableau 14 et illustrés par la figure 12, le nombre de bactéries lactiques chassé vers l'extérieur est très important, il atteint $15,4 \times 10^8$ germes/ml pour *L. plantarum* et $10,72 \times 10^8$ germes /ml pour *P. acidilactici* après 5 jours de l'administration des probiotiques.

Cela peut être dû à une rapidité de la digestion ou à l'augmentation des émissions, au cours de cette journée.

Les bactéries lactiques sont toujours présentes dans la matière fécale des rats ce qui signifie qu'elle ne persiste qu'à un nombre limité dans le tube digestif, le surplus est chassé vers l'extérieur.

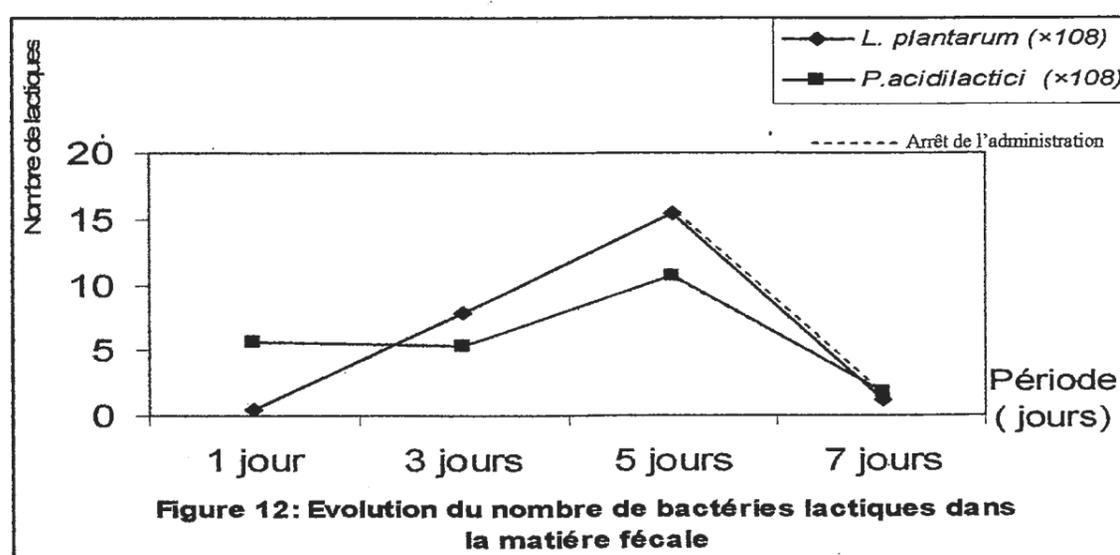
Après l'arrêt de l'administration, il y a une régression du nombre de bactéries chassées vers l'extérieur, il était de $1,20 \times 10^8$ germes de *L. plantarum* /g et $1,80 \times 10^8$ cellules de *P.acidilactici* /g de matière fécale. Ces résultats confirment un passage à un nombre assez important des bactéries lactiques testées à travers les cavités du tube digestif du rat.

Tableau 14 : Evolution des bactéries lactiques dans la matière fécale

Période	<i>L. plantarum</i> ($\times 10^8$)	<i>P.acidilactici</i> ($\times 10^8$)	S.S
1 jour	0,48	5,62	**
3 jours	7,84	5,40	
5 jours	15,4	10,72	
S.S	**		
7 jours	1,20	1,80	

S.S : Signification Statistique

** : Résultat significatif



III. 4. Dénombrement des entérobactéries dans la matière fécale :

Le tableau 15 montre les résultats du dénombrement des entérobactéries dans la matière fécale des rats.

Dès le 3^{ème} jours, on enregistre un nombre de $3,2 \cdot 10^7$ et $1,3 \cdot 10^7$ germes / g de matière fécale des rats recevant respectivement *L.plantarum* et *P.acidilactici*. Au 5^{ème} jours, la courbe est caractérisée par un pic ce qui correspond à un nombre très élevé de germes chassés vers l'extérieur. Ce résultat est lié à l'effet de probiotique sur la flore endogène du rat par la production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire tel que l'acide lactique ou l'acide acétique qui vont abaisser le pH du tractus digestif et cela va se répercuter sur le nombre de coliforme excrété et chassé vers l'extérieur.

Certains auteurs rapportent qu'il y a un antagonisme entre les bactéries lactiques et les coliformes aussi bien « *in vitro* » que « *in vivo* », d'autres signalent que l'ingestion de bactéries lactiques peut contrer l'effet de la prolifération des coliformes thermo tolérants et particulièrement *E.coli* [11].

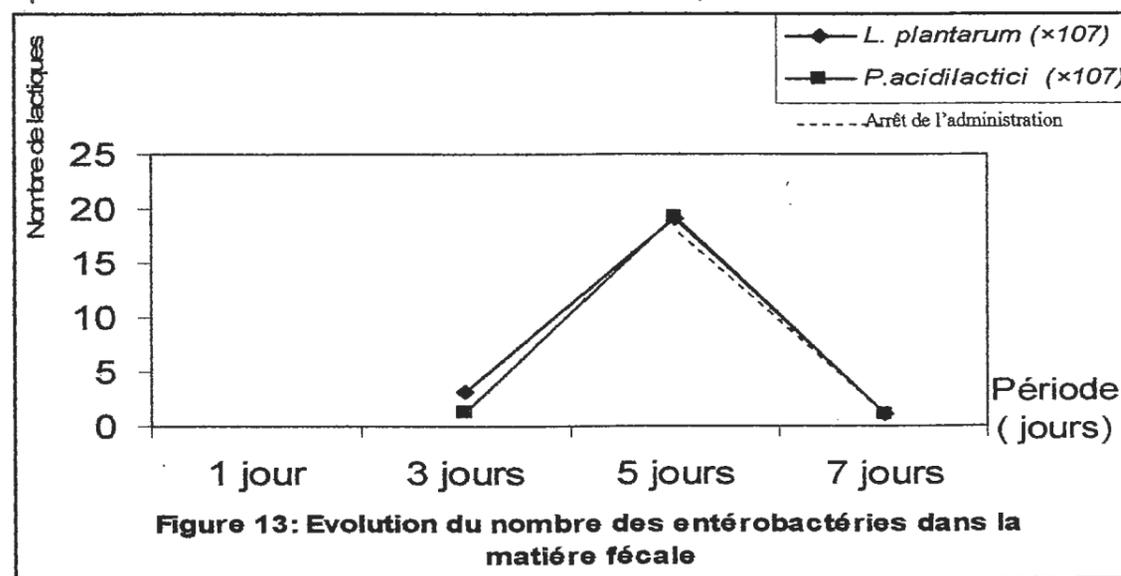
Après l'arrêt d'administration du probiotique, donc réduction des lactobactéries on observe une diminution des entérobactéries dans la matière fécale.

Tableau 15 : Evolution du nombre des entérobactéries dans la matière fécale.

Période	<i>L. plantarum</i> ($\times 10^7$)	<i>P.acidilactici</i> ($\times 10^7$)	S.S
1 jour	-	-	NS
3 jours	3,2	1,3	
5 jours	19	19,2	
S.S	NS		
7 jours	1,2	1,1	

S.S : Signification Statistique

NS : Résultat non significatif



Conclusion Générale

Conclusion Générale

Au terme de cette étude pratique, nous arrivons aux conclusions suivantes :

Le travail d'isolement et d'identification de la flore endogène du rat a abouti à la mise en place d'une collection composée de deux souches à Gram⁺ appartenant au genre *Enterococcus* et de 11 souches à Gram⁻ appartenant aux genres *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Serratia* et *Enterobacter*. Cette collection est dominée par les coliformes en particulier par le genre *Escherichia*.

A fin de tester l'efficacité probiotique de *L.plantarum* « BJ 0021 » et *P. acidilactici*, on a étudié les interactions « in vitro » de ces souches avec l'ensemble des souches isolées et identifiées puis on a testé l'effet du surnageant natif et celui à pH7 sur la même collection. Les résultats ont montré que les deux probiotiques exercent un effet antagoniste envers la majorité des souches testées, que les surnageants natifs et à pH7 présente une aptitude inhibitrice très remarquable témoignant la production de substances potentiellement intéressantes.

En ce qui concerne la survie des lactiques dans les étages du tube digestif du rat, nos résultats montrent que les deux souches présentent une bonne résistance aux conditions hostiles du tube digestif dont la numération témoigne que la souche *L.plantarum* est la mieux adaptée et la plus performante.

L'étude relative au dénombrement des entérobactéries dans la matière fécale montre que l'apport des probiotiques dans la ration du rat, affecte le nombre de cellules de cette flore chassée vers l'extérieur.

Enfin, le développement de l'utilisation des probiotiques en alimentation animale nécessite une sélection très rigoureuse des souches les plus performantes mais demande en parallèle la réalisation de nombreux essais in vivo pour acquérir une bonne connaissance des effets probiotiques et maîtriser parfaitement leur emploi.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 01- **Abdel wahheb M.B, 2003.** Guide for the care and use of laboratory animals in medical research.
Cairo, 49-64.
- 02- **Accolas J.P, Bloquel R, Didiene R et Regnier J, 1977.** Propriétés acidifiantes des bactéries thermophiles en relation avec la fabrication du yaghourt.
Lait,67,1-23.
- 03- **Anka L,2002 .** Microscopy 2080.
f.bacter-htm, 1-2.
- 04- **Anonyme, 1998.** Probiotique en alimentation humaine et animale.
Tec et Doc,22.
- 05- **Asperger A,1985.** Les levains lactiques thermophiles.
Lait,60 ,487-524.
- 06- **Belmihoub G et Hamlaoui C, 1982.** Etude générale sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires et quelques méthodes d'analyse micro biologiques. 1-24.
- 07- **Bouhnik Y, Marteau P.R et Rambaud J.C ,1993.** Utilisation des probiotiques chez l'homme.
Gastroenterol Hepatol.29 (5),241-249.
- 08- **Bourgeois C.M et Larpent J.P ,1996 .** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaire. Tome 2.
Tec etDoc, 4 (24),432-447.
- 09- **Bousseboua.H ,2002 .** Eléments de microbiologie générale.
Université de Constantine, 225-234.
- 10- **Darrell S, Vodopich et Randy M, 2002.** Digestive system.
Mn Graw.Hill higher education,1-2.
- 11- **Desmazeaud M, 1992.**Les bactéries lactiques.
I.N.R.A, 50-53.
- 12- **Enzens B ,Shah P.M et Knothe H, 1985.** Impact of oral ciprofloxation on the fecal flore of healthy volunteer's.
Infection, 13, 5-273.
- 13- **Ferdinand V ,1954.** Evidence of plasmid deoxyribonucleic acid in *Lactobacillus*.
Microbiologie, 4, 413-419.
- 14- **Fleming H.P, Etechells J.L et Constilow R.N, 1975.** Microbiol inhibition of isolates of *Pediococcus* from cucumbers brine.
Appl.Environ.Microbial,30,1040-1042.
- 15- **Florent J.M et Roberton N, 1997.** L'action bénéfique des probiotiques chez les

poulets.

Tec et Doc, Lavoisier, 182-183.

- 16- **Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, 2000.** Oral bacteriotherapy as maintenance treatments in patient with chronic pouchitis :A double –blind *placebo-controlled triol*. *Gastroenterology*, **119**, 9-305.
- 17- **Guslandi M, Mezzig et Sorghi M, 2000.** *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of disease .
Dig Dissei, **45**, 4-146.
- 18- **Hatakka K, Savilahti E et Pönkä A, 2001.** Effect of long term consumption of probiotic milk on infection in children attending day care centres:
Double blind, randomised triol BMJ, **322**,1327-29.
- 19- **Henri L, Alphonse M et Jose D,1999.** Cours de microbiologie générale.
Doin. Editeurs. Paris,132-136.
- 20- **Hubert D, 1997.** Les probiotiques.
Laboratoires *LYOCENTRE*,1-2.
- 21- **Idoui T,1994.** « Purification, caractérisation et identification des souches des bactéries lactiques isolées du beurre traditionnel local (Jijel) : Etude de quelques aptitudes technologiques, inhibition interbactériennes, reconstitution de levains lactiques mésophiles. Mémoire de fin d'étude en Agro- alimentaire.
Université de Mostaganem, 1-157.
- 22- **Jean L, Henry D, Francois D et Henri M, 1992 .** Bactériologie clinique .2^{ème} édition.
Marketing , 149-151.
- 23- **Jean M.R et Armelle R, 2001.** Les probiotiques.
Nutrithérapie INFO,1-4.
- 24- **Jean P.L et Monique L.G, 1997.** Mémento technique de microbiologie 3^{ème} édition,
Tec et Doc, 1-107.
- 25- **Joseph P.G, 1998.** Microbiologie alimentaire. 1^{ère} édition.
Dunod. Paris, 91-92.
- 26- **Joffin C et Jean N. J, 1999.** Microbiologie alimentaire. 5^{ème} édition,
CRDP d'aquitaine, Bordeaux, 110-111.
- 27- **Juillard V , Spliennner H.E et Desmazaud C.Y, 1987.** Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière.
Lait, 67,6-7.
- 28- **Kacem M, Zadi-Kacem H et Karam N, 2005.** Detection and activity of plantarum OL 15 a bacterium produced by *lactobacillus plantarum* OL 15 isolated from Algerien fermented olives.

- 29- **Kalliomaki M, Salminen S, Kero P, 2001.** Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial.
Lancet, 357, 9-107.
- 30- **Klontz K.C , 1991.** Epidémiologie, 2-9.
- 31- **Lacza-Szabos, Gipert, Hullar I et Virag G, 1990.** Utilisation de *Streptococcus faecium* 74 dans l'alimentation du lapin de chair.
Revue cuniculture N° 96,176- 263.
- 32- **Lambin S, German A, 1969.** Précis de microbiologie.
Masson. Editeur . Paris, 87, 211-212.
- 33- **Laurent S, Michel F et Jean L. J, 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire.
Polytechnica, 234-257.
- 34- **Lansing M, Prescott J.P, Harley et Donald K, 2003.** Microbiologie. 2^{ème} édition française de *Boeck*, 550-703.
- 35- **Leveau J.Y, Bouix M et De-roissard H, 1991.** Technique d'analyse et de contrôle dans les I.A.A. 2^{ème} édition. Volume III.
Tec et Doc, Lavoisier,2-40.
- 36- **Leveau J.Y et Bouix M,1993.** Microbiologie industrielle :Les microorganismes d'intérêt industriel .
Tec et Doc, Lavoisier ,181-184.
- 37- **Leveau J.Y et Bouix M, 1993.** Microbiologie industrielle.
Tec et Doc, Lavoisier,1-107.
- 38- **Marionnet D et Lebas F, 1990.** Séminaire approfondi (Dossier probiotique et lapin).
Cuniculture, 17-96.
- 39- **Marteau P et Rambaud J.C, 1998.** Probiotique en gastro- entérologie.
Hépatogastro,N°4,vol5, 685-688.
- 40- **Martin T et Claude V, 1999 .** Dissection du rat blanc.
Expérimentation animale,1-7.
- 41- **Michel R, 1999.** Physiologie animale : Les grandes fonctions. 2^{ème} édition.
Masson, Paris,59-78.

- 42- **Monatsscher K, 2002.** Le rôle des probiotiques dans la prévention et le traitement de la gastro-entérite aiguë chez l'enfant.
Revue hépatol, **150**, 824-828.
- 43- **Montville T.J et Kaiser A.L, 1993.** Antimicrobial proteins :Classification ,nomenclature ,diversity and relation ship to bacteriocins .In:Bacteriocins of lactic acid bacteria .
Hoover D.G et Steenson L.R., Academic Press.
- 44- **Orla J.S , 1919.** The lactic acid bacteria .
Copenhagen .I Komision Hos Ejnar Munksgaard.
- 45- **Parker R.B , 1974.** Probiotique,the other half of the antibiotic story .
Animal Nutrition and health, **29**, 4-8.
- 46- **Pecquet S, Anderment A et Tancrede C, 1985 .** Impact of oral ciprobloscacin on the fecal flora of healthy volunteers.
Infection, **13**, 5- 273.
- 47- **Pelto L, Isolauri E et Lilius E.M, 1998.** Probiotic bacteria down regulate the milk – induced inflammatory response in milk –hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects.
Clin Exp Allergy, **28**, 1474-9.
- 48- **Perdignon G et Alavarez, 1992.** Pronostic and the unmistakable in probiotic, scientific bases.
Chapman and Hall,180-195.
- 49- **Pillet C.H ,Bourdon J et Toma B,1979.** Bacteriologie medicale et vétérinaire :Systematique bacterienne.2^{ème} édition.
Doin ,Paris,555-556.
- 50- **Pochart P,Bisetti N,Desjeux J.F et Bourlioux P , 1989.** Effect of daily consumption of fresh or pasteurized yoghurt on intestinal lactose utilization in lactose malabsorbers.
Micro-ecology and Therapy,**18**,105-110.
- 51- **Reinheimerj A, 1990.** Inhibition of Coliform bacteria by lactic culture.
Austration journal of dairy technology,5-9.
- 52- **Sandra M, 2003.** Mammal digestive tract,1-2.
- 53- **Schillinger U et Lucke F.K, 1989.** Antibacterial activity of *Lactobacillus.sake* isolated from meat .
Appl .Environ .Microbial **55**,1901-1906.
- 54- **Serot et Torcatisu , 1990 .** Isolation and partial purification of antimicrobial substance produced by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* isolated from Kefyr.
Food and Tech,**8**, 177-184.

- 55- **Stiles M.E et Holzapfel W.H, 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy .
Int.J.Food and Microbial, 36,1-19.
- 56- **Tagg J.R, Dajane A.S et Wannamker L.W, 1976.** Bactériocines of GRAM positive bacteria.
Bact Revieco, 40,722-756.
- 57- **Thirry R,2002.** Anatomies comparées des animaux de laboratoire.
Dipleclam,1-4.
- 58- **Vanderberg H.P.A ,1993 .** Lactic acid bacteria, the metabolic products and interference with microbial growth.
F.E.M.S. Microbial 12,38-49.
- 59- **Vuyst L et Vandamme E.J, 1994.** Bacteriocins of lactic acid bacteria.In :Bacteriocins of lactic acid bacteria:Microbiology,Genetics and Application.
Blackie Academic and Professionel,Glasgrow,7-360.

Sites Internet

- 60- [http:// www.Cerin. org/recherché./articles/ Syn 2001 CD. 63 probiotique. asp ref: 2031.](http://www.Cerin.org/recherché./articles/ Syn 2001 CD. 63 probiotique. asp ref: 2031)
- 61- [www.skane mejerier. Se/webit/bilddh/ Objectvisa.](http://www.skane.mejerier.se/webit/bilddh/)

Annexes

ANNEXE 1

Réactif :

1) Violet de gentiane :

- Violer de gentiane 1g
- Alcool éthylique à 90% 10ml
- Phénol 2g
- Eau distillée 100ml

2) Fuschine de ziel:

- Fuschine basique 1g
- Alcool éthylique à 60% 10ml
- Phénol 5g
- Eau distillée 100ml

3) Lugol :

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

4) KOVACS :

- Alcool amylique ou isoamylique 150ml
- P.étiméthylaminobenzaldéhyde 10g
- Acide chlorhydrique concentré 50ml
- Avec l'ajout de l'acide en dernier et lentement. conserver à +4°C

ANNEXE 2

Les milieux de culture

1)VRBG : (Gélrose biliée au cristal violet et au rouge neutre)

▪ Peptone	7g
▪ Extrait de levure	5g
▪ Sels biliaires	1.5g
▪ Glucose	10g
▪ Chlorure sodium	5g
▪ Rouge neutre	30mg
▪ Cristal violet	2mg
▪ Gélrose	12g

2)VRBL :

▪ Extrait de levure	5g
▪ Peptone	7g
▪ Sels biliaires	1.5g
▪ Lactose	10g
▪ Chlorure de Sodium	5g
▪ Rouge neutre	30mg
▪ Cristal violet	2mg
▪ Gélrose	12g
▪ PH	7.4

3) **Bouillon nutritif** :(milieu naturel ou « empiriques ») .

▪ Extrait de viande de bœuf	5g
▪ Peptone trypsine	10g
▪ Chlorure sodium	5g
▪ Eau distillée	1000ml

ANNEXE 3

1) Milieu MRS :

Liquide ou gélose a été proposé initialement pour la culture des Lactobacilles.
Il convient également pour les *Leuconostoc* et les *Pediocoques*.

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	2g
▪ Sulfate de magnésium ,7 H ₂ O	0.2g
▪ Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O	0.05g
▪ Glucose	20g
▪ Tween 80	1ml
▪ Eau distillée qsp	100ml
▪ PH	6.2

Stérilisation 15 min à 120°C.

2) Milieu M₁₇ . Milieu de base:

▪ Peptone tryptique de caséine	2.5g
▪ Peptone pépsique de viande	2.5g
▪ Peptone papainique de soja	5g
▪ Extrait de viande	5g
▪ Extrait de levure déshydraté	2.5g
▪ Glycérophosphate de sodium	19g
▪ Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0.25g
▪ Acide ascorbique	0.5g
▪ Agar	8 à 18g
▪ Eau	950ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau à ébullition . Laisser refroidir à 50°C.
Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7.1 à 7.2. Stériliser 20 min à 120°C.

ANNEXE 4

1) Mannitol. Mobilité :

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

2) TSI :

▪ Peptone	20g
▪ Extrait de viande	3g
▪ Extrait de levure	3g
▪ Chlorure de sodium	5g
▪ Glucose	1g
▪ Lactose	10g
▪ Saccharose	0.5g
▪ Hyposulfite de sodium	0.5g
▪ Rouge de phénol	25mg
▪ Gélose	12g

3) Citrate de SIMMONS : formule en gramme par litre d'eau distillée.

▪ Sulfate de magnésium	0.2g
▪ Citrate de sodium	2g
▪ Chlorure de sodium	5ml
▪ Phosphate d'ammonium	0.2g
▪ Bleu de bromothymol	0.08g
▪ Agar	15g

ANNEXE 5

1) Urée indole : (milieu synthétique)

▪ Urée	20g
▪ L-Tryptophane	3g
▪ Phosphate dipotassique	1g
▪ Phosphate monopotassique	1g
▪ Chlorure de sodium	5g
▪ Alcool de 95 °	10ml
▪ Rouge de phénol	25g
▪ Eau distillée qsp	1000ml

2) MEVAG :

▪ Extrait de viande	3g
▪ Chlorure de potassium	5g
▪ Rouge de phénol	20mg
▪ Gelose	3g

ANNEXE 6

1) ODC :

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

2) ADH :

▪ Arginine	5g
▪ Extrait de levure	3g
▪ Chlorure de sodium	5g
▪ Glucose	1g
▪ Pourpre de bromocrésol	16mg

3) LDC :

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

Effectué par: Bouzidi Chafia Boumaza Nadira Faour Manel	Titre: Etude de quelques aptitudes probiotiques de <i>L. plantarum</i> et <i>P. acidilactici</i> « <i>in vitro</i> » et « <i>in vivo</i> ».	Date de soutenance: 12 juillet 2006
---	---	---

Résumé:

Notre étude a porté sur des aptitudes probiotiques «*in vitro*» de *L. plantarum* «Bj 0021» et *P. acidilactici* sur la flore endogène du rat.

Le travail d'isolement et d'identification de bactéries du tube digestif a permis de mettre en place une collection de 13 souches à diversité remarquable.

Les résultats relatifs aux interactions «*in vitro*» indiquent que les deux probiotiques exercent des mécanismes d'inhibition vis-à-vis des souches isolées.

L'étude «*in vivo*» a montrée que les deux souches lactique *L. plantarum* et *P. acidilactici* ont une faculté de survivre et de proliférer dans le tractus digestif du rat.

Mots clés : Probiotiques , rat, flore endogène, interaction, survie.

Summary:

Our study carry out on the probiotic «*in vitro*» and «*in vivo*» of *L. plantarum* «Bj 0021» and *P. acidilactici* on the endogenous flora of rat.

The work of isolation and identification fill in place a number of 13 stumps where diversity is observed.

The relative results in interactions «*in vitro*» show that the two probiotics exercises the mechanisms of inhibition and stimulation opposite the isolated strains.

The study «*in vivo*» has shown that two lactic strains *L. plantarum* and *P. acidilactici* are able to survive and proliferate in the digestive tract of rat.

Key words: Probiotic, rat, endogenous flora, interaction, survival.

ملخص:

تمت دراستنا على القابليات البروبيوتكية «*in vitro*» و «*in vivo*» لـ «*L. plantarum*» «Bj 0021» و

P. acidilactici على الفلورا الداخلية للجرد.

أعطت عملية العزل والتعريف ليكتيريا الأنبوب الهضمي 13 سلالة متنوعة.

بينت النتائج المتعلقة بالتداخلات «*in vitro*» أن البروبيوتيكان أظهرتا ميكانزمات التنشيط والتثبيط إزاء

السلالات المعزولة.

أظهرت الدراسة «*in vivo*» أن كلا السلالتين «*L. plantarum*» «Bj 0021» و *P. acidilactici* لهما القدرة

على البقاء حية والتكاثر داخل الجهاز الهضمي للجرد.

الكلمات المفتاحية: خمائر لبنية، جرد، فلورا داخلية، لتداخل، بقاء.