

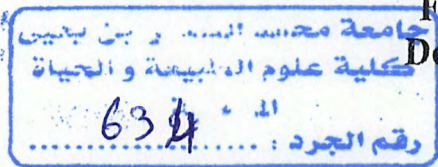
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
Département de microbiologie

vne par la présidente

M^{elle} Boulkour S

Bu



Mémoire

De fin d'études en vne de l'obtention de diplôme d'études
supérieures en biologie

Option : MICROBIOLOGIE

Thème

Isolément et identification des bactéries lactiques à propriétés probiotiques
à partir du tube digestif du poussin, du lapin, et les selles d'enfant

Membre de jury :

Présidente : M^{elle} BOULKOUR Sorya
Examinatrice : Mr BOUDJARDA Djamel
Encadreur : Mr IDOUI Tayeb



Présenté par :

Boulkour Rofia
Ben Makhlof Nacira
Boukabou nabila

Promotion 2004/2005

REMERCIEMENT

Nous remercions le bon dieu tout puissant qui nous a aidé à réussir nos études et nous tenon à exprimer notre profonde gratitude à notre promoteur Mr **Idoui Tayeb** de nous avoir confié ce sujet et pour ses conseils et ses encouragements.

Nos remerciements vont également à :

Mr **Ruikha** enseignant à l'université de Jijel

Dr vétérinaire **Ben chemême.A** pour l'aide qu'il nous a procuré, en mettant ses moyens personnels à notre disposition.

Mr. **R. Tarik** et Mr **Bamour Tarik**, pour l'aide qu'ils nous ont apporté.

Tous les techniciens du laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel surtout M^{elle} **Zennir Sonia**, pour les services qu'ils nous ont offerts le long de nos études. Nos vifs remerciements vont aux membres de jury, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Enfin nous exprimons notre reconnaissance pour tous ceux qui nous ont aidé et encouragé de près ou de loin.

A vous tous un grand Merci

Nabila, Nacira, Rofia.

Sommaire

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : les bactéries lactiques

I.1 Définition.....	03
-I.2 Caractères généraux.....	03
-I.3 Classification.....	03
-I.3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	04
-I.3.2. Le genre <i>Carnobacterium</i>	07
-I.3.3. Le genre <i>Streptococcus</i>	07
-I.3.4. Le genre <i>Pediococcus</i>	09
-I.3.5. Le genre <i>Leuconostoc</i>	11
-I.4. Habitat et écologie.....	15

CHAPITRE II : Rôle et intérêt des bactéries lactiques

-II.1 Introduction.....	18
-II.2. Rôle des bactéries lactiques en industrie alimentaire.....	18
-II.2.1. Les bactéries lactiques dans les produits fermentés.....	18
-II.2.1.1. Produits laitiers.....	18
-II.2.1.2. Panification.....	19
-II.2.1.3. Produits carnés.....	20
-II.2.1.4. Vinification et cidrerie.....	20
-II.2.1.5. Produits végétaux.....	20
-II.3. Propriétés technologiques	

PARTIE EXPERIMENTALE

II. Matériel et méthodes

-II.1. Matériel.....	25
-II.1.1. Matériel biologique.....	25
-II.1.2. Milieux de culture.....	25
-III.1.3. Les sucres.....	26

-II.1.4.Les réactifs.....	26
-II.1.5.Autre matériel.....	26
-II.2.Méthodes.....	27
-II.2.1.1 Isolement, purification et identification de bactéries lactiques.....	27
-II.2.1.2.Préparation des échantillons.....	27
-II.2.1.3.Purification.....	28
-II.2.1.4.Identification.....	28
a- Examen macroscopique.....	28
b- Examen microscopique.....	28
c- Tests physiologiques et biochimiques.....	29
III.2.2.Etude de quelques aptitudes technologiques.....	32
III.2.2.2.Etude du pouvoir acidifiant.....	32
III.2.2.1.Etude du pouvoir protéolytique.....	32
III.2.2.3.Production de dextrane.....	33
III. Résultat et discussion.....	34
III.1.Isolement, purification et identification des bactéries lactiques.....	34
III.1.1.Examen macroscopique.....	34
III.1.2.Examen microscopique.....	34
III.1.3.Tests physiologiques et biochimiques.....	34
III.1.4.Identification par profil de fermentation des sucres et logiciel.....	40
III.2.Etude de quelques propriétés technologiques	44
III.2.1. Pouvoir acidifiant	44
III.2.2. Pouvoir protéolytique.....	46
III.2.3. Production de dextrane.....	49
Conclusion	51
Références bibliographiques	
Annexe	

Abréviation

ADH	: Argénine dihydrolase.
ADN	: Acide dicarboxy-nucléique.
CO ₂	: Dioxyde de carbone.
pH	: Potentiel redox.
C	: Carbone.
C	: Cytosine.
G	: Guanine.
°C	: Degré celsius
°D	: Degré dornic.
H ₂ O	: Eau.
H ₂ O ₂	: Eau oxégynée
g	: Gramme
H	: Hydrogène.
L	: Litre.
mg	: milligramme.
mn	: Minute
Mm	: Millimètre.
g/l	: Gramme par litre.
H	: Heure.
Lb	: <i>Lactobacillus</i> .
Ln	: <i>Leuconostoc</i> .
St	: <i>Streptococcus</i> .
ssp	: sub espèce.

Liste des figures

Figure 1 : différents isomères de l'acide lactique.....	02
Figure 2 : La forme des <i>Lactobacillus</i>	05
Figure 3 : La forme des <i>Streptococcus</i>	07
Figure 4 : La forme des <i>Pediococcus</i>	09
Figure 5 :La forme des <i>Leuconostoc</i>	11
Figure 6 : production de gaz par les souches identifiées : souches hétérofermentaires et homofermentaires	35
Figure 7 : Profil des tests biochimiques	36
Figure 8 : répartition des espèces en pourcentages.....	43
Figure 9 : Aptitude protéolytique des bactéries lactiques	46
Figure 10 : Production des polysaccharides par les souches identifiées	49

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques.....	04
Tableau 2 : Principaux caractères des <i>Lactobacillus</i>	06
Tableau 3 : Principaux caractères des streptocoques (<i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i>).....	08
Tableau 4 : Principaux caractères des <i>Pediococcus</i>	10
Tableau 5 : Principaux caractères des <i>Leuconostoc</i>	12
Tableau 6 : Caractéristiques distinctifs des espèces <i>Bifidobacterium</i>	14
Tableau 7 : Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles...21	
Tableau 8 : profil biochimique	37
Tableau 9 : Profil fermentaire des sucres.....	38
Tableau 10: La répartition des espèces identifiées selon le niche écologique	41
Tableau 11 : les pourcentages des différentes espèces identifiées.....	43
Tableau 12 : Pouvoir acidifiant de quelques souches isolées du tube digestif du lapin, du poussin et les selles d'enfant	45
Tableau 13 : Activité protéolytique des bactéries lactiques identifiées.....	48
Tableau 14: Production des polysaccharides par les bactéries lactiques entifiées.....	50

première partie
analyse bibliographique

chapitres

- ❖ Les bactéries lactiques
- ❖ Rôle et intérêt des bactéries lactiques

Introduction

Introduction générale

L'idée qu'il existe des bactéries dont l'effet serait bénéfique pour la santé a été présentée pour la première fois par le lauréat du prix Nobel russe Elie Metchnikoff au début du 20^e siècle, la conclusion de ses travaux était que l'on peut annuler les effets pathogènes de certaines bactéries par l'adjonction de bactéries lactiques et prolonger la vie en consommant régulièrement des yaourts.

Au début des années 60, la flore intestinale fut l'objet de recherches plus intensives, et on étudia de manière approfondie les interactions entre entérobactéries et leur effet sur les animaux préalablement débarrassés de leurs bactéries.

En outre, un effet stimulant, pour la recherche au cours des 15 dernières années a été la conscience croissante des consommateurs en matière de santé, avec le changement des modes d'alimentation humaine qui s'est ensuivi. La demande accorde de produits naturels et bénéfiques pour la santé, avec le changement des modes d'alimentation humaine qui s'est ensuivi. La demande accrue de produits naturels et bénéfiques pour la santé, tels que les denrées alimentaires fermentées ou encore les cultures bactériennes utilisées comme médicaments pour la prévention des diarrhées ont incité l'industrie à mettre au point et à commercialiser de nouveaux produits.

Encore aujourd'hui, on connaît les bactéries et d'autres micro-organismes principalement comme agents pathogènes à maintenir sous contrôle au moyen d'antibiotique. Par contre, en ce qui concerne la capacité des bactéries à contribuer à la santé, c'est -à- dire, à avoir des effets probiotiques. Les connaissances restent toujours limitées. Non seulement les bactéries exercent une action probiotique, mais sans leur présence dans l'appareil digestif aucune vie normale ne serait possible pour l'être humain et l'animal. La microflore intestinale revêt, chez l'être humain comme chez l'animal, une importance fondamentale du fait de ses fonctions essentielles pour la vie.

A travers ces données bibliographiques, il serait intéressant d'investir nos connaissances sur ce sujet avec comme objectif isoler et identifier des souches qui auront probablement des aptitudes probiotiques.

Notre étude a pour objectif d'isoler et identifier les bactéries lactiques à propriété probiotique à partir de trois niches écologiques : le tube digestif du lapin, du poussin et les selles d'enfant.

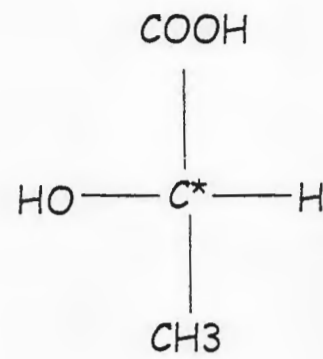
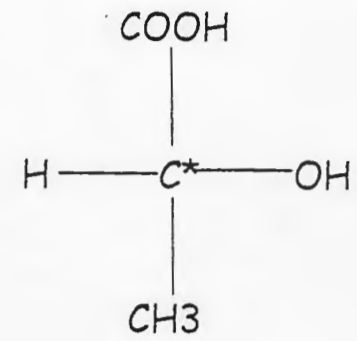
Notre travail comprend deux parties : Une étude bibliographique qui va faire les points de connaissance sur des bactéries lactiques, et le rôle des bactéries lactiques à propriétés probiotique pour l'homme et l'animal.

La deuxième partie expérimentale dans laquelle on va isoler les bactéries lactiques de la microflore de tube digestif humain (selles d'enfant) et animales (poussin et lapin), puis on va faire leur identification, par la suite on passera à l'étude de quelques propriétés technologiques de certaines souches.

I-1-Définition :

Les bactéries lactiques ont été décrites pour la première fois par ORLA-JENSEN au début du siècle .Elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique [21].

Une bactérie lactique est capable d'excréter l'acide lactique D(-), L (+) ou DL

**Dextrogyre L (+)****Lévogyre D(-)****Figure 01 : Différents isomères de l'acide lactique [19].****I-2- Caractères généraux :**

Les bactéries lactiques possèdent des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes, mais avec parfois peu d'homologie de leur acide nucléique, leurs principaux caractéristiques sont les suivantes [21] :

- Elles sont des Gram +
- Elles ne sont pas sporulées
- Elles sont pour la plupart immobiles
- Elles sont dépourvues de cytochromes, étant incapable d'effectuer la synthèse du noyau hème de porphyrines. De ce fait elles sont incapables de respirer mais peuvent seulement effectuer un métabolisme fermentative .
- Elles sont aéro-anaérobies facultatives (micro aérophile) uniquement capable d'effectuer la fermentation en aérobiose comme en anaérobiose .

Leur capacité de biosynthèse est faible, elles possèdent de ce fait une exigence élevée en facteurs de croissance : les acides aminés , les bases nucléiques , les acides gras et les vitamines.....

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites [21]

- ❖ **Homofermentaire** : L'acide lactique est le seul produit de la fermentation du substrat par voie : d'Ebden Meyrhof.Parnas [21][3].
- ❖ **Heterofermentaire** : La fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : ethanol, dioxyde de carbone et d'autres acides organiques par voie de Dikens- Horecker [21], [12].

I-3- Classification :

Sept genres principaux constitue le groupe de bactéries lactiques [21] :

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

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

De récentes études taxonomiques ont également conduit à différencier de nouveaux genres comme *Vagococcus*, *Oenococcus*, et *Tetragenococcus*.

Le tableau 1 regroupe les principaux caractères des différents genres de bactéries lactiques.

I-3-1-Le genre *Lactobacillus* :

Lactobacillus est le genre principale de la famille de Lactobacillaceae , il regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est illustrée par la variation du % G+C : 32 à 53 % [12] ,[21].

Les lactobacilles sont des bâtonnets droits ou incurvés, isolés ou en chaînettes, leurs culture s'accompagne d'une forte acidification qui convient à leur pH optimale de croissance (5.5 pour la plupart des souches) , ils sont très saccharolytiques, ils libèrent de l'acide lactique D, L ou DL , ils sont gélatine , caséine . indole, et H₂S négatif , ils ne sont jamais pathogènes [15],[12],[17]

Tableau 01 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques [21].

Genre	Morphologie	Fermentation	T° opt	NB espèces
<i>Lactobacillus</i>	Bacille	Homo ou heterofermentaire	Thermophiles Ou mésophiles	GI :23 GII :16 GIII :22
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Thermophiles Ou Mésophiles	19
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaire	Mésophiles ou Thermophiles	7
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Heterofermentaire	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

T° opt : température optimale de développement

NB espèces : nombre des espèces connues

G : groupe

La classification remaniée par Kandler et Weiss, les subdivise en 3 groupes selon leur type de fermentation [19].

- **Groupe I :** rassemble les espèces homofermentaires obligées et thermophiles , il correspond au genre *Thermobacterium* qui comprend 15 espèces .

On distingue dans ce groupe deux complexes d'espèces :

- L'un centré sur *Lb delbrueckii* , avec ses 3 sous espèces :
 - *Lb.delbrueckii* ssp .*delbrueckii*
 - *Lb delbrueckii* ssp .*bulgaricus*
 - *Lb delbrueckii* ssp.*lactis*

- L'autre est centré sur *Lb. acidophilus* mais , à la différence du précédent , est très hétérogène , on y trouve notamment :
 - *Lb. acidophilus*
 - *Lb. gasseri*
 - *Lb. crispatus*
 - *Lb. helveticus*

- **Le groupe II** : Correspond au genre *Streptobacterium* de la classification d'ORLA . JENSEN . Il comprend 11 espèces mésophiles à métabolisme hétéro-fermentaire facultatif
Ce groupe comprend trois «complexe d'espèces [19].

Le premier «complexe » correspond à *Lb. plantarum*

Le second «complexe » est formé de *Lb. Casei* et de ses sous espèces :

- *Lb. casei* ssp *casei*
- *Lb. casei* ssp *pseudopantarum*
- *Lb. casei* ssp *tolerans*
- *Lb. casei* ssp *rhamnosus*

-Le troisième «complexe » regroupe :

- *Lb. sake*
- *Lb. curvatus*
- *Lb. Bavaricus*

- **Le groupe III** : comprend les espèces hétérofermentaires obligatoires , c'est un groupe qui rassemble 18 espèces relativement hétérogènes surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. Kefir* , *Lb. sanfransisco*

Le figure suivant représente la forme des *Lactobacillus*[19].

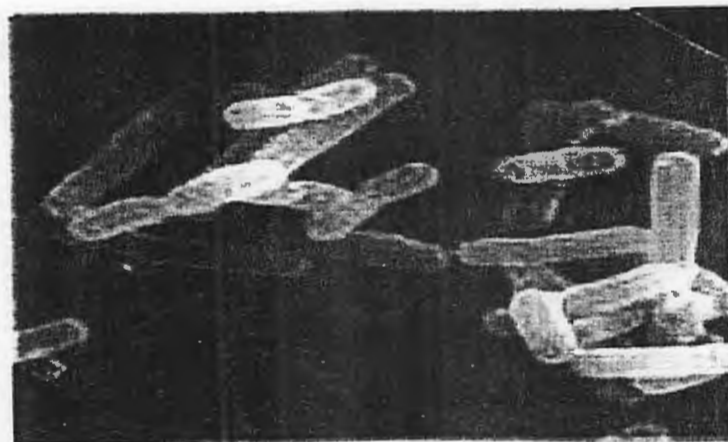


Figure 2 : la forme des *Lactobacillus*

Le tableau suivant résume les principaux caractères des *Lactobacillus*[19].

Tableau2 : principaux caractères des *Lactobacillus* [19].

	Croissance à 15°C	Croissance à 45°C	Lac	sac	glu	rib	xyl	ADH
<i>Lb.delbruecki. issp.delruekii</i>	-	+	-	+	-	-	-	+/-
<i>Lb.delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb.delbrueckii ssp.lactis</i>	-	+	+	+	-	-	-	+/-
<i>Lb.acidophilus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb.gasseri</i>	-	+	+/-	+	-	-	-	-
<i>Lb.crispatus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb.helveticus</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb.plantarum</i>	+	-	+	+	+	+	+/	-
<i>Lb.casei ssp casei</i>	+	-	+/-	+	+	+	-	-
<i>Lb.casei ssp pseudopantarum</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. casei ssp tolerans.</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Lb. Casei ssp rhamnosus.</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. suke</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb. curvatus</i>	+	-	+/-	-	+	+	-	-
<i>Lb. bavaricus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb bif fermentans</i>	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>Lb. brevis</i>	+	-	+/-	+/-	+	+	+/-	+
<i>Lb. buchneri</i>	+	-	+/-	+/-	+	+	+/-	+
<i>Lb. fermentum</i>	-	+	+	+	+	+	+/-	+
<i>Lb .Kefir</i>	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>Lb. confus</i>	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Lb. viridescens</i>	+	-	-	+/-	-	-	-	-

+ : Test positif.

- : Test négatif.

± : Résultat douteux.

lac: lactose.

Xyl:xylose

Rib:ribose.

glu:gluconate.

sac: saccharose.

I.3.2 *Carnobacterium* :

Les *Carnobacterium* ont été originellement décrits comme *Lactobacillus* mobiles, hétérofermentaires, peu acidifiants et psychotrophes, leur pourcentage en G+C de l'ADN varie de 33 à 37% [21],[2].

Ce genre regroupe des lactobacilles atypiques isolés de viande de bœuf, de poisson et de volaille emballés sous vide et stockée à basse température [2].

I.3.3 *Streptococcus* :

Dans le genre *Streptococcus*, les streptocoques lactiques forment un groupe distinct des autres espèces qui sont soit pathogène pour l'homme (*Sc.pyogenes*) ou pour les animaux (*Sc.agalactiae*) soit saprophytes de la cavité orale (*Sc.mutans*, *Sc.salivarius*), ou de l'intestin (*Sc.faecalis*), etc....[2].

Les streptocoques lactiques se composent de deux groupes distincts :

- Les streptocoques mésophiles (le genre *lactococcus*) regroupent deux espèces : *Sc.lactis* (*Sc.lactis* subsp.*lactis*, *Sc.lactis* subsp.*diacetylactis*, *Sc.lactis* subsp.*cremoris*) et *Sc.cremoris*, leurs propriétés communes sont : leur caractère non pathogène, la présence de l'antigène de groupe N, l'absence d'hémolyse-B mais parfois la présence d'une hémolyse- δ , une production d'acide lactique [2] une croissance optimale à température moyenne : de 20 à 30°C et une température minimale au moins égale à 10°C, leurs ADN contient 34-36% de G+C [2],[3].
- Les streptocoques thermophiles : l'espèce type est *Sc.thermophilus*. elle se distingue essentiellement des autres streptocoques lactiques par : sa croissance thermophile avec un optimum au tour de 42-43°C, l'absence de tout antigène de groupe, sa thermo-résistance à 60°C (parfois 65°C) pendant 30 minutes une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres et une forte sensibilité au Na Cl, le %GC de son ADN varie de 37 à 40% [2],[3].

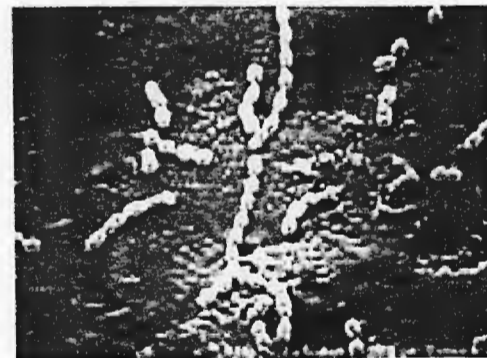


Figure 3: La forme des *Streptococcus*.

Tableau 3 : principaux caractères des streptocoques lactiques (*Lactococcus Streptococcus*)15

	<i>Lc.lactis</i> ssp			<i>Lc.rsffinolactis</i>	<i>St .thermophilus</i>
	<i>lactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>diacetylactis</i>		
Morphologie	0.5-1µm	0.5-1µm	0.6-1µm	ND	0.7-0.8µm
Culture a 10°C	+	+	+	+	-
Culture a 40°C	+	+	+	-	+
Culture a 45°C	-	-	-	-	+
Culture en lait :					
A 0.1%de BM	+	+	+	ND	-
A 0.3%de BM	+	+	+	-	-
Culture en NaCl :					
2.5%	+	+	+	+	+
4%	+	+	+	-	-
6.5%	V	-	V	-	-
Réductase	+	+	+	+	-
Citratase	-	-	+	ND	-
Acétoïne	-	-	+	ND	-
Hémolyse	Gamma	Gamma	Gamma	Gamma	alpha
Groupe sérologique	N	N	N	N	-

V : variable, lente ou faible

+ : test positif

- : test négatif

Nd : non déterminé.

L3.4. *Pediococcus* :

Les *Pediococcus* sont des coques homo fermentaires, mésophiles groupées en paires ou en tétrades [21][2]. fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique DL ou L (+). leurs exigences nutritionnelles, leur faible activité protéolytiques et chez la plupart des espèces leur incapacité d'utiliser le lactose ne leur permettent pas d'acidifier et de coaguler le lait [2].

Les *Pediococcus* sont aussi caractérisé par le χ en G-C de leur ADN 42%.

La classification de BERGEY (1886) recense 8 espèces dans le genre [19].

-*Pc. damnosus*.

-*Pc. parvulus*.

-*Pc. inopinatus*.

-*Pc. dextrinicus*.

-*Pc. pentosaceus*.

-*Pc. acidilactici*.

-*Pc. halophilus*.

-*Pc. urinaequi*.

Ces bactéries n'ont pas de pouvoir pathogène et elles correspondent au *Tetracoccus* de la classification d'ORLA JENSEN.

Le tableau ci-dessous résume les principaux caractères des *Pediococcus*. La figure illustre la forme [19].

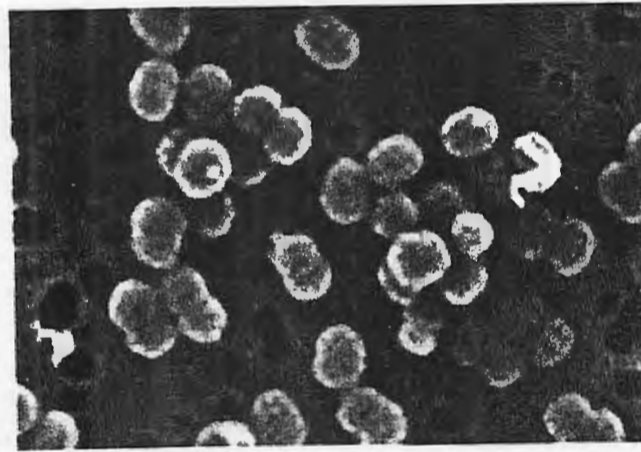


Figure 4 : La forme des *Pediococcus*.

Tableau 4: Principaux caractères des *Pediococcus* [19].

	<i>Pc.damnosus</i>	<i>Pc.parvulus</i>	<i>Pc.nopanitus</i>	<i>Pc dextinitus</i>	<i>Pc.pentosaceus</i>	<i>Pc.acidolactici</i>	<i>Pc.halophilus</i>	<i>Pc.urinae-equi</i>
Acide lactique produit	DL	DL	GL	L(+)	DL	DL	L(+)	L(+)
Croissance a 35°C	-	+	+	+	+	+	+	+
Croissance a 50°C	-	-	-	-	-	+	-	-
Croissance a pH=4.2	+	+	-	-	+	+	-	-
Croissance a pH=8.5	-	-	-	-	+/-	+/-	+	+
Croissance en NaCl							+/-	+
A 4%	-	+	+	+	+	+	+	-
A 6.5%	-	+	+	-	+	+		
A 18 %	-	-	-	-	-	-		

DL:Levogyre dextrogyre
 L(+) : Levogyre +
 +:test positif
 -: test negatif

I.3.5 *Leuconostoc* :

Le genre *Leuconostoc* rassemble les coques lenticulaires en paires ou chaînette, mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaires marqué avec production de l'acide lactiqueD (-), de CO₂ et d'éthanol, leur contenu en G+C%, de l'ADN est compris entre 38 et 44% [21][17].

Les *Leuconostoc* sont caractérisées par la production, à partir du citrate du lait, de diacétyle (et parfois d'acétate : *Ln.mesenteroides* subsp.*cremoris*) et parfois par la synthèse de dextrans et de lécanes extracellulaires en présence de saccharose [2]. Ils ont de grandes exigences nutritionnelles, vis-à-vis des vitamines et des acides aminés [19].

La classification de BERGEY (1986) fait apparaître 4 espèces [19] :

-*Ln.mesenteroides* qui comporte 3 sous espèces :

- *Ln.mesenteroides* ssp *mesenteroides*.
- *Ln.mesenteroides* ssp *dextranum*.
- *Ln.mesenteroides* ssp *cremoris*.

-*Ln.paramesenteroides*.

- *Ln.lactis*.
- *Ln.oenos*.

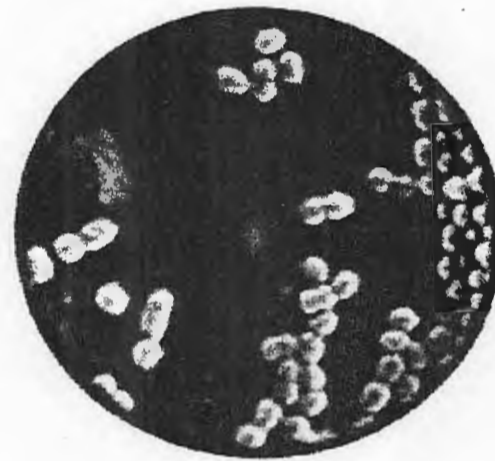


Figure 5 : la forme des *Leuconostoc*

Le tableau suivant illustre les principaux caractères de ce genre, la figure montre leur forme [19] :

	<i>Ln.mesenteroides</i>			<i>Ln. paramesenteroides</i>	<i>Ln.lactis</i>	<i>Ln.oenos</i>
	<i>Mesenteroides dextranicum cremoris</i>					
Culture à 10°C	+	+	+	+	+	+
Culture à 37°C	+	+	-	+	+	-
Culture à 39°C	-	-	-	-	+	-
Culture à 45°C	-	-	-	-	-	-
Hétéroferment°	+	+	+	+	+	+
Citratase	-	-	+	-	+	+
Formation de Dextrane	+	+	-	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	-	-

Tableau 5 : Principaux caractères des *Leuconostoc* [15].

+ : test positif

- : test négatif

I.3.7.LE Genre *Bifidobacterium*

Ces bactéries sont des bâtonnets de morphologie variée, cellules courtes, coccoïdales, cellules ramifiées, bifurquées, spatulées, isolées ou en chaînette, disposées en V ou en palissade [2][3]. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur % G+C élevé (57.2-64.5%), et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique (rapport 3/2), ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques [21][3].

Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C ; ils se développent à pH supérieur à 5 [21][2].

Le genre est divisé en 24 espèces pouvant présenter entre elles une homologie parfois importante. les caractéristiques distinctives de ces espèces sont résumés dans le tableau 6 [2].

Tableau 6 : Caractéristiques distinctifs des espèces de *Bifidobacterium* [2]

	G+C%	origine	D. rib	L.ara	lac	cel	MIZ	RAF	stl	Amy
<i>B. bifidum</i>	58	Homme, veau	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>B. longum</i>	58	Homme	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>B. infantis</i>	58	Homme	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>B. breve</i>	58	Homme	+	?	+	V	V	+	V	-
<i>B. adolescentis</i>	58	Homme, animaux	+	+	+	+	+	+	V	+
<i>B. angulatum</i>	59	Homme	+	+	+	-	-	+	V	V
<i>B. catenulatum</i>	55	Homme	+	+	+	+	-	+	+	V
<i>B. pseudocatenulatum</i>	57.5	Homme	+	+	+	V	-	+	V	V
<i>B. dentium</i>	61	Homme	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>B. globosum</i>	64	animaux	+	V	+	-	-	+	-	-
<i>B. pseudolongum</i>	60	animaux	+	+	V	V	V	+	-	-
<i>B. cuniculi</i>	64	Lapin	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. choerinum</i>	66	porc	-	+	+	-	-	+	-	-
<i>B. animalis</i>	60	animaux	+	-	+	V	V	+	-	-
<i>B. thermophilum</i>	60	animaux	-	-	V	V	V	+	-	-
<i>B. boum</i>	60	animaux	-	-	V	-	-	+	-	-
<i>B. magnum</i>	60	Lapin	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>B. pullorum</i>	67	Poulet	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>B. suis</i>	62	Porc	-	+	+	-	-	+	-	-
<i>B. minimum</i>	61.5	Egout	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtil</i>	61.5	Egout	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>B. coryneforme</i>		Abeille	+	+	-	+	-	+	+	+
<i>B. asteroides</i>	59	Abeille	+	+	-	+	-	+	-	V
<i>B. indicum</i>	60	Abeille	+	-	-	+	-	+	-	+

V: variable
 +: test positif
 -: test négatif

D.rib: D.ribose
 L.ara: L.arabinose
 Lac: lactose

cel : cellebiose
 stl: sorbitol
 Glcn: gluconate

Raf : raffinose
 Amy: amidon
 MIZ:mélézieose

I.4. Habitat et ecologie

I.4.1 Les *Lactobacillus* :

Les *Lactobacillus* sont présent dans des milieux naturels très divers sur des produits naturels d'origine animale et végétale et ont de ce fait une grande importance dans la plupart des technologies alimentaires comme ferment acidifiants et comme producteurs d'arôme et de la texture du produit [19] ,ils participent à l'élaboration du saucisson sec, choucroute et d'autres végétaux fermentés, les salaisons, le silos d'herbe ou de maïs fourrager [17].

Chez l'homme et les animaux, ils sont retrouvés de façon constante dans la bouche, le tractus vaginale et dans le contenu de tube digestif sur toute sa longueur [17].

I.4.2 *Carnobacterium* :

Les *Carnobacterium* sont isolés de produits carnés ou de produits de la mer ; le plus souvent conditionnés sous atmosphère modifié mais également du contenu intestinal ou du tissu rénal de salamonides [21].

I.4.3 *Streptococcus* :

Il comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale, dont certaines sont pathogènes comme : *St.pyogenes* et *agalactiae* ; d'autres sont impliqués dans la formation de la plaque dentaire (*S.mutans*). L'espece thermophile *S.thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique [21].

I.4.4 *Lactococcus* :

Les *Lactococcus*, comme beaucoup de *Streptococcus* non pathogène peuvent être isolées du lait ou des végétaux qui sont probablement leur réservoir naturel, mais peuvent avoir d'autres habitas [21]; commensaux [de la flore intestinale] des muqueuses de mamelles. on les retrouve aussi dans la flore minoritaire du rumen (104 cellules par gramme) [2].

I.4.5 *Leuconostoc* :

On les isole du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes en particulier de la betterave, des végétaux en fermentation, des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries [2].

I.4.6 *Pediococcus* :

Les *Pediococcus* sont des saprophytes des végétaux, rarement du lait et de ses produits. *Pc.acidilactici* et *Pc.pentosaceus* sont utilisés dans les produits carnés fermentés. *Pc.halophilus* est facilement isolé de préparation d'anchois salé [3][17].

I.4.7 *Bifidobacterium* :

Découverts dans les selles d'enfants nouveau nés, on peut les isolés de l'intestin, du vagin ou de la bouche des adultes .chez l'animal, ils sont surtout mis en évidence dans la flore intestinale [12][15].

D'une façon générale, les bactéries lactiques sont ré pondues dans le tube digestif de l'homme et de l'animal où elles jouent un rôle probiotique très important.

I.5 La flore intestinale

I.5.1 La flore intestinale de nourrisson :

Dés la naissance, l'intestin est colonisé par des micro-organismes. du fait du contacte avec la mère et l'air, 48 heures après la naissance, on peut mettre en évidence, dans les premières féces appartenant à la famille des enterobactériaceae et aux genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*.

Entre le 2ème et le 5ème jour apparaissent des espèces anaérobies de genre *Bifidobacterium*, *Bactéroides* et *Lactobacillus* qui deviennent dominante une semaine après la naissance, avec environ 10^{10} à 10^{21} par gramme de féces, la flore qui prédominait jusqu'alors est réduite de plusieurs ordre de grandeur. ces conditions demeurent stables pendant l'allaitement, en raison de la composition relativement constante du lait maternel.

Lors du sevrage et du passage à une alimentation, la microflore intestinal subit un autre changement fondamental : les espèces des genres *Bacteroides*, *Eubacterium* et *Peptostreptococcus* prolifèrent. tandis que la proportion des Bifidobacteries se réduit d'un facteur 10 à 100. les teneurs en *Lactobacillus*, en *Escherichia coli* et en *Streptococcus* restent stables, tandis qu'apparaissent des espèces *Clostridium*.

I.5.2 La flore digestive du poussin :

On distingue plusieurs types de population microbienne de la flore digestive du poussin qui soit :

-La population dominante (plus de 10^7 germes/g) renferme des lactobacilles et des Entérobactéries.

-La population sous-dominante (10^5 à 10^7 germes/g) est constituée de Streptocoques et d'Entérobactéries.

-Les populations transitoires ou passagères (moins de 10^5 germes/g) sont souvent des espèces Anaérobies stricts.

A noter que le Jabot et les Caeca sont les deux organes où la densité microbienne est la plus élevée (environ 10^{11} germes/g) et peut être la plus active [14].

I.5.3 La flore intestinale du lapin :

La flore intestinale du lapin apparaît comme une exception dans l'échelle animale dès la naissance, la flore s'établit très irrégulièrement [20].

- Une flore réduite ou même absente durant les trois premières semaines.

- Une flore anaérobie facultative dominée par les Streptocoques, les Lactobacilles étant rares ou absents, et rareté ou absence de Colibacilles chez le jeune, au moment de sevrage [23].

Le lapin abrite une flore microbienne sous-dominante constituée de *Enterococcus* et *Escherichia coli*, les clostridis, les staphyloques, *Pseudomonas. sp*, *Proteus. sp*, ainsi que divers champignons appartenants à la flore résiduelle. [23].

Chapitre II : rôle et intérêt des bactéries lactiques.

II.1. Introduction :

Les applications de l'activité des bactéries lactiques sont multiples, ce sont [10] :

- La production industrielle d'acide lactique.
- Les applications de l'industrie laitière (lait, beurres, crème, fromage).
- L'utilisation de leur action acidifiante en brasserie, boulangerie, distillerie.
- La préparation d'aliments fermentés (yayourt, kefyr).
- L'obtention de préparations thérapeutiques mettant à profit leur action antiputride.
- Leurs exigences spécifiques en aminoacides et en vitamines, qui font de ces bactéries de micro-organismes les mieux adaptés en dosage microbiologique de ces facteurs de croissance .

II.2. Rôle des bactéries lactiques en industrie alimentaire :

II.2.1. Les bactéries lactiques dans les produits fermentés :

La plupart des aliments fermentés font intervenir des bactéries lactiques, soit entant qu'agent principal de la fermentation, soit entant qu'agent secondaire [21].

II.2.1 .1 Produits laitiers :

Il s'agit du domaine d'application le plus courant des fermentations lactiques :

- ❖ Lait fermenté : On appelle lait fermenté, un lait pasteurisé, transformé seulement par l'action des micro-organismes principalement lactiques aboutissant à la formation d'un gel [12] [3].
 - Le yaourt : La technologie du yayourt et basée sur la mise en œuvre simultanée de deux espèces de bactéries lactiques : *Lactobacillus.bulgaricus*, l'agent d'acidification, de tenu, et d'arôme et *Streptococcus thermophilus*, ferment d'arôme, d'autre bactéries lactiques peuvent être ajoutées comme agents

probiotiques, sans intervenir nécessairement dans le processus : *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Bifidobacterium* [3]. [21]. [12].

- Le kéfir : subit à la fois une fermentation lactique par *Lactococcus lactis* (avec par fois en outre *Lactobacillus bulgaricus*, *Lb. casei*, *kefyr* et d'autres *Lactobacillus* mésophiles, etc.) et une fermentation sous l'action des levures [12].
- Le lait acidifié : il fait intervenir une fermentation par *Lactobacillus acidophilus* ou *Lb. bulgaricus* [12].
- Crème et beurre : ces produits subissent une maturation biologique qui fait intervenir des levains mésophiles d'acidité et d'arômes constitués essentiellement de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* et *cremoris*, *Leuconostoc citrovorum* et *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* [21] [12].
- Fromages : les fromages sont des conserves de lait obtenus par coagulation, égouttage et acidification de caillé.

Les levains mésophiles constituée de *Lactococcus* et *Leuconostoc* participent à la fabrication des fromages frais, fromages à pâte molle, persillée ou pressée.

Les sous espèces *lactis* et *cremoris* de *Lactococcus lactis* sont utilisées pour leurs propriétés acidifiants.

Les sous espèces *lactis* biovar *diacetylactis* et plusieurs espèces de *Leuconostoc*, sont des souches aromatisantes que l'on retrouve dans tous les types de fromages.

Les levains thermophiles associant *Streptococcus thermophilus*, *Lb. helveticus* et *Lb. delbrueckii* appartiennent à la flore des fromages à pâte cuites (emmental, gruyère) [21] [3].

II.2.1.2 Panification :

Les levains de panification sont constitués d'une flore sauvage issue de la farine. Elle comprend des levures qui assurent la fermentation, mais également une flore bactérienne variée au

Sein de laquelle les bactéries lactiques sont largement représentées et peuvent appartenir à de nombreux genres tels que : *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*, ce dernier (avec les espèces *plantarum*, *brevis*, *casei*, ou *sanfrancisco*) est le plus important puisqu'il représente au moins 80% des souches de bactéries isolées dans un levain [21] [3] .

II.2.1.3 Produits carnés :

Les bactéries lactiques interviennent comme agents de fermentation dans les préparation des viandes salées, épicées et ne subissant aucun traitement thermique d'assainissement, comme le saucisson, les bactéries ajoutées sont des lactobacillus principalement : *Lb. sake*, *Lb. curvatus* et *Lb. plantarum*[21].

II.2.1.4 Vinification et cidrerie :

En vinification, les bactéries lactiques interviennent dans la fermentation malo-lactique qui provoque la transformation de l'acide malique en acide lactique et CO₂, elle permet également de stabiliser le vin. L'étude du processus mis en jeu a montré qu'il implique essentiellement des bactéries lactiques du genre *Leuconostoc* et *Oenococcus*.

En cidrerie, les espèces représentatives de la flore lactique du cidre qu'ont été mises en évidence par SALIH et *al.*, (1988) sont : *Pediococcus* sp, *Leuconostoc mesentéroïdes*, *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus brevis* ; des souches de *Lactobacillus* hétérofermentaire ont été également isolées [21] [3].

II.2.1.5 Produits végétaux :

Les bactéries lactiques interviennent dans la préparation de nombreux produits végétaux fermentés. L'exemple le plus connu est la choucroute. obtenue par la fermentation lactique de lanières de chou en présence de sel. Elle interviennent trois espèces : *Leuconostoc mesentéroïdes*, *Lactobacillus.plantarum* et *Lactobacillus. Brevis* [21].

Le tableau 9 révèle les principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles [21].

Tableau 7: Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles [21].

laits fermentés	yaourt	<i>Lb.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>St.thermophilus</i> Acidification / texture / arômes(acétaldéhyde)
	enrichis en bactéries	Idem yaourt+ <i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> ou <i>Lb.casei</i> : rôle nutritionnel
	kéfyrou koumis	<i>Lb.brevis</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lc.lactis</i> Acidification / texture/ arôme
	lait ribot buttermilk	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> Texture / arôme
beurres et crèmes		<i>Lc,lactis ssp. diacetylactis</i> Arôme (diacétyle)
fromages	frais ou à pâte molle	<i>Lc.lactis</i> subs <i>cremoris</i> , <i>lactis</i> et <i>diacetylactis</i> acidification:formation du caillé
	à pâte persillée	<i>Leuconostoc</i> formation l'ouvertures facilitant la croissance de <i>Penicillium</i>
	à pâte pressée	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> arômes au cours de la maturation
	à pate pressée cuite (gruyère emmenthal).	<i>St.thermophilus</i> , <i>Lb.helveticus</i> , <i>Lb. delbruckii</i> subsp. <i>lactis</i> acidification: production de l'acide bactique utilisé par les bactéries propioniques/proteolyse

II .2.2 Bactéries lactiques dans les produits non fermentés :

D'une manière générale, il s'agit de denrées dont la transformation ou le conditionnement créent des conditions qui vont provoquer un déplacement de la flore naturelle vers la flore lactique : pH acide, salinité importante. On note comme exemple : les produits carnés, les produits de la mer et les bières ces produits sont contaminés par les bactéries lactiques, elles sont généralement absentes sur les viandes et les poissons frais et contaminent les produits lors des étapes de transformation [21].

II.2 .3 Action des bactéries lactiques dans les aliments :

Les bactéries lactiques ont deux rôles principaux dans les aliments, liés à leurs activités métaboliques.

- Un rôle positif ou technologique : il s'exerce principalement dans les produits fermentés avec des conséquences sur l'ensemble des facteurs de qualité.
- Un rôle négatif : il se traduit essentiellement par l'altération des denrées concernées, qu'elles soient ou non fermentées [21].

II .3 Propriétés technologiques des bactéries lactiques.

La participation de la flore lactique aux caractéristiques organoleptiques, technologiques, nutritionnelles et sanitaires des produits alimentaires s'exerce par différentes propriétés métaboliques [21].

II.3.1 Rôle sur la structure et la texture :

Certaines souches de bactéries lactiques ont la faculté de synthétiser des exopolysaccharides. glucanes (dextranes) et fructosanes (levanes), qui constituent la capsule cellulaire. ces macromolécules contribuent à modifier la texture des produits dans lesquels se développent les souches compétentes (cas de *st.thermophilus*, épaississants du yaourt)[19] .

Ce qui concerne les fromages, les laits fermentés, le rôle des bactéries lactiques est la formation d'un caillé provoqué par l'acidification [21].

II.3.2. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques :

En dehors de l'acide lactique et des autres acides organiques produits par fermentation lactique, les principaux composés impliqués dans l'amélioration des caractéristiques organoleptiques sont le diacétyle et l'acétaldéhyde, responsables notamment des saveurs caractéristiques du beurre, crème et du yaourt, ils sont produits à partir du pyruvate, mais aussi du métabolisme du citrate et de la dégradation de certains acides aminés [21] [19].

De plus, un grand nombre de composés issus de la protéolyse, des activités lipolytiques et estérases, responsable de saveur, caractéristique des fromages et saucissons [21].

II.3.3. Rôle sur conservation :

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

Dans de nombreux aliments ayant subi une fermentation lactique la croissance ultérieure des micro-organismes est réduite, voir impossible.

L'abaissement du pH due à l'accumulation d'acides organiques, acides lactiques et acétique essentiellement, est le principale facteur à l'origine de ces inhibitions.

Cependant, il est aujourd'hui admis que de nombreux autres phénomènes sont, pour parties responsable des antagonismes observés en présence de bactéries lactiques [12].

D'une part, les acides organiques peuvent exercer une action inhibitrice spécifique, d'autre part la production de nombreux autres agents inhibiteurs : peroxyde. D'hydrogène, diacétyle, éthanol, CO₂, antibiotiques et bactériocines a été démontrée [19].

Les bactériocines sont uniquement actives sur les bactéries à GRAM positif. Le diacétyle, produit du métabolisme, produit du métabolisme de citrate est capable d'inhiber des bactéries à GRAM négatif [21].

II.3.4 Rôle sur les caractéristiques nutritionnelles (aptitude probiotique) :

Les produits fermentés, notamment les laits fermentés sont depuis longtemps reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Ces propriétés ont fait l'objet de plusieurs études récentes [21] [13].

Il y a plusieurs explications possibles au fait que les micro-organismes probiotiques déplacent les agents pathogènes et augmentent le développement microbien et la stabilité de l'équilibre dans le gros intestin, il s'agit [9] [21] :

- D'une compétition avec les germes pathogènes pour les nutriments et les sites de fixation.
- De l'inactivation des toxines ou des métabolites des bactéries pathogènes.
- De la production d'inhibiteurs de la croissance des organismes pathogènes.
- De la stimulation de l'immunité spécifique.
-

Une grande variété de préparations probiotiques ont été brevetées à l'usage du bétail, des dèvres, des chevaux, des porcs, de la volaille, des moutons et autre animaux domestiques. Pour la plupart, elles contiennent des bifidobactéries. On a la preuve que certains micro-organismes probiotiques sont très bénéfiques à la santé humaine car ils apportent [9] [21] [13] :

- Une activité anti-cancérogène.
- Un contrôle des agents pathogènes intestinaux.
- Une amélioration de l'utilisation du lactose, chez les personnes souffrant d'une intolérance au lactose.
- Une réduction de la concentration du cholestérol sérique.
-

Bien que la probiotique en soit encore à ses débuts, de plus en plus de microbiologistes s'y intéressent, ils apporteront une meilleure compréhension de la microflore normale du gros intestin de l'homme et des animaux [9] [21].

*Deuxième partie
étude expérimentale*

Matériel et méthodes

II MATERIEL ET METHODES

II.1 MATERIEL

II.1.1 MATERIEL BIOLOGIQUE

Pour l'isolement des bactéries lactiques, on a utilisé (3) trois riches écologiques qui sont :

- le tube digestif du lapin.
- Le tube digestif du poussin.
- Les selles d'enfants.

II.1.2 MILIEUX DE CULTURE :

Dans notre travail on a utilisé des milieux sélectifs pour les bactéries lactiques qui sont les suivants :

- Milieu MAN-ROGOSA, SHARPE 1960 (MRS) : gélose et bouillon, ce milieu est propose pour les lactobacilles.
- Milieu TERZCHI et SANDINE 1975(M17) : il favorise le développement des streptocoques.
- Bouillon hyper salé à 4% de Na Cl et 6.5% de Na Cl pour éliminer les streptocoques fécaux.
- Lait de SHERMAN à 0.1 et à 0.3% de bleu méthylène pour étudier la sensibilité au colorant (préparé au niveau de notre laboratoire).
- Milieu GIBSON et ABDELMALEK : pour la recherche de type de fermentation (il est préparé dans notre laboratoire).
- Gélose hypersaccharosée (préparée au niveau de notre laboratoire) pour la recherche des polysaccharides (dextranes).
- Milieu YMA (Yeast Milk Agar) : pour la recherche de l'activité protéolytique.
- Lait tournesolé : pour la recherche de la réductase (préparé au niveau de notre laboratoire).
- Milieu CLARK et LUBS : pour la recherche d'acétoïne.
- Milieu MOLLER ADH : pour la recherche de l'arginine déshydrolyase.
- Milieu M.E.V.A.G sans sucre : pour la réalisation d'un profil de fermentation des sucres.

II .1.3 LES SUCRES :

Pour établir le profil fermentaire des souches isolées, on a utilisé les 18 sucres suivants : lactose, Saccharose, Ribose, Levulose, Amidon, Salicine, Rhamnose, Melibiose, Inositol, Cellobiose, Galactose, Adonitol, Dextrine, Raffinose, Sorbose, Maltose, Methylmanoside, Mannose

II. 1.4 LES REACTIFS :

Les réactifs que nous avons utilisés au cours de ce travail sont :

- Violet de gentiane. }
- Lugol. } Pour réaliser la coloration de GRAM
- Fushine. }
- Alcool.
- Bleu de méthylène. }
- La souche (Na OH) N/9. } Pour le dosage de l'acidité lactique
- Phénol phtaléine. }
- VPI solution alcoolique d' α naphtal } pour la mise en évidence de la production de
- VPII solution de soude 16% } l'acétoïne
- Teinture de tournesol
- eau oxygénée (H_2O_2) pour le test catalase.
- Chlorure de sodium.
- Tween 80 additionné au milieu MRS.

II .1.5-AUTRE MATERIEL :

La réalisation de la partie pratique a nécessité le matériel et appareillage suivants :

- Bain marie (GERHDT).
- Balance (DENYER instrument xp-600).
- Agitateur magnétique (MEIDOLPH. MR 3001).
- Autoclave (SHIAUX électronique).
- Etuve (WIB binches).
- Four Pasteur pour la stérilisation de verreries (CONTROLS).
- Microscope optique (OLYMPUS).

- Réfrigérateur (ENIEM).
- Burette.
- Bêchers.
- pH mètre.
- Tubes à essai.
- Boîtes de Pétri.
- Pipettes Pasteur et anses de platines.
- Bec Bensen.

II.2 METHODES

II.2.1-ISOLEMENT, PURIFICATION ET IDENTIFICATION DES BACTERIES LACTIQUES :

II.2.1.1 PREPARATION DES ECHANTILLONS :

Après abattage du lapin et d'un poussin, on a séparé les différentes parties de tube digestif de chacun des deux animaux. Dans des tubes stériles contenant du bouillon MRS ou M17, on a introduit ces différentes parties de tube digestif, ainsi :

- pour le lapin on a utilisé les parties suivantes : le gros intestin, l'intestin grêle, estomac, derniers segment intestinal et la muqueuse intestinale.
- pour le poussin, les parties étaient : le jabot, le gésier, le gros intestin, cloaque et le proventricule (ventricule succenturié).
- pour les selles d'enfant : on a préparé une suspension en ajoutant quelques gouttes des selles d'un nouveau né(15 jours) aux 9 ml d'eau distillée(solution mère),a partir de cette solution mère, on a réalisé des dilutions.

II.2.1.2 ISOLEMENT :

Pour la culture des bactéries lactiques, les milieux de culture doivent être très riches en sucres, matières azotées et surtout en facteurs de croissance [12,21].

Les boîtes de Pétri contenant la gélose MRS ou M17 préalablement coulés et séchées, sontensemencées à partir des dilutions des échantillons déjà préparés, l'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures, les bactéries lactiques ont une relative sensibilité à l'oxygène, les cultures sont

donc incubées dans des conditions particulières, visant à diminuer la tension d'oxygène, il est donc souhaitable de fermer les boîtes de Pétri hermétiquement en utilisant le ruban adhésif [19].

Après l'incubation, on a ciblé et repiqué les colonies caractéristiques des bactéries lactiques dans les bouillons (MRS et M17). Ces cultures sont soumises à une coloration de GRAM pour sélectionner les bactéries GRAM positif [21].

II.2.1.3 PURIFICATION :

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur les bouillons (MRS et M17) pour des colonies bien distinctes, dès qu'on obtient des colonies homogènes (même taille, même forme et couleur) on arrête la purification puis on conserve les souches sur bouillon nutritif.

II.2.1.4 IDENTIFICATION :

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

II.2.1.4.1-Examen macroscopique [11] :

La culture en boîte de Pétri après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, avec obtention des colonies séparées permet de déterminer l'aspect, la forme et la taille de ces dernières.

II.2.1.4.2-Examen microscopique [4] :

L'observation microscopique permet la caractérisation routinière de la morphologie, le mode de regroupement et la distinction entre les GRAM positifs et les GRAM négatifs, la coloration de GRAM peut être obtenue suivant divers protocoles techniques normalisés, obéissant tous au même principe comprenant les mêmes étapes :

- Étalement et fixation par la chaleur de la suspension bactérienne sur une lame porte objet.
- coloration pendant une minute au violet de gentiane.
- coloration au lugol pendant une minute (Mordant).
- décoloration à l'éthanol à 95° jusqu'à élimination du premier colorant (environ 30s).
- lavage à l'eau.

- contre coloration pendant 1 à 2 minutes par une solution de Fushine diluée à 10%.
- lavage à l'eau.

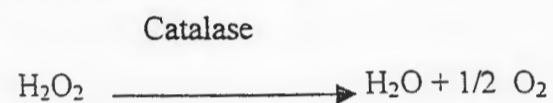
Après séchage, la lame peut être observée au microscope avec un objectif à immersion. Les bactéries à GRAM positive apparaissent en violet, et les bactéries à GRAM négative en rose.

II.2.1.4.3-Tests physiologiques et biochimiques [19] :

❖ Recherche de la catalase :

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air. Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes.

La culture à tester est mélangée dans une goutte d'eau oxygénée déjà placée sur une lame. un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase.



❖ Test de croissance à différentes températures :

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles, des bactéries lactiques thermophiles, après inoculation en milieu liquide (bouillon MRS et M17) avec une culture pure des germes à tester, les tubes sont incubés pendant 24 h à 48 h aux températures 20°C et 45°C, au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux.

Les bactéries mésophiles poussent à 20°C alors que les bactéries thermophiles ne le font pas .

❖ Test de croissance en milieux hostiles :

a. Lait de SHERMAN :

On teste l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène, pour obtenir un lait à 0.1% de bleu de méthylène, on ajoute au moment de l'emploi à 9 ml de lait stérilisé en tube 0.1 ml de bleu de méthylène à 1% stérilisé 20 min à 120°C.

Ce test est surtout intéressant pour différencier les *Streptococcus* des *Lactococcus*, ainsi *Lc.lactis* est capable de pousser en présence de 0.3% de bleu de méthylène.

b. Le bouillon hyper salé :

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

La culture à tester est ensemencée sur bouillon à 4% et 6.5% de Na Cl, après incubation, on note l'aptitude à croître sur ces milieux par l'apparition de trouble.

❖ Recherche de l'Arginine dihydrolase :

La mise en évidence de cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques, cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'arginine, pour réaliser ce test, on ensemence le bouillon Møller à arginine enrichie avec les germes à tester. La culture dans le milieu de base se manifeste par virage au jaune du milieu dû au métabolisme du glucose.

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

❖ Croissance sur le milieu Citrate de SIMMONS :

Le milieu citrate de SIMMONS permet de mettre en évidence la possibilité des bactéries d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone. Il contient le citrate (1^{er} intermédiaire du cycle de Krebs) un indicateur de pH (bleu de bromothymol) qui est vert à pH acide et bleu à pH alcalin.

On ensemence ce milieu par stries de bas en haut de la pente et on incube, à 37°C pendant 24 heures. L'utilisation du citrate qui est dégradé jusqu'au stade CO₂, aboutit à une alcalisation du milieu (teinte bleu).

❖ Production d'acétoïne : Réaction de VOSGES-PROSKAEUR :

Elle permet la mise en évidence de l'acétylméthylcarbinol (AMC) ou de l'acétoïne. après 48 heures d'incubation, 1ml de milieu CLARK et LUBS placé dans un tube à hémolyse est additionné de 0.5 ml de réactif à l' α naphthal et de 1 ml de soude à un délai de 10 min, une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol, cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude et combine avec l' α naphthal en donnant un complexe de couleur rouge.

❖ Recherche de type de fermentation :

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation de gaz CO_2 . on a préparé préalablement le milieu du GIBSON ABDELMALEK pour réaliser ce test, on ensemence le milieu de base et on fait couler du bouchon de la gélose à la surface et on incube à $37^\circ C$ pendant 24 à 48 heures.

Le déplacement du bouchon de la gélose vers le haut indique que la souche est hétérofermentaire.

II.2.1.4.4-Profil fermentaire des sucres [13] :

La fermentation des sucres est recherchée par ensemencement de tubes de milieu MEVAG sans sucre dans lequel on rajoute le sucre à étudier et pour favoriser l'anaérobiose, on a versé une quantité suffisante de l'huile de paraffine.

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

A noter que ce test à été réalisé sur 18 sucres qui sont : levulose, amidon, salicine, rhamnose, galactose, adonitol, dextrine, melibiose, inositol, cellobiose, raffinose, sorbose, maltose, mannose, saccharose, lactose et ribose, methylmanoside.

II.2.2 Etude de quelques aptitudes technologiques :**II.2.2.1- Etude du pouvoir acidifiant :****❖ Dosage de l'acide lactique [11,15]:**

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

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

Un flacon contenant 100 ml de lait écrémé à 9% est stérilisé et ensemencé. Il est ensuite incubé à 37°C. Après incubation à un intervalle du temps 2h, 4h, 6h et 24h, 10 ml de lait sont prélevés et titrés par la soude dornic(N/9) jusqu'au virage au rose.

L'acidité est déterminée par la formule : $ACIDITE [^{\circ}D]=V(Na OH).10$

V (Na OH): volume de Na OH utilisé pour titrer l'acide lactique.

❖ Détermination du pH [11,15]:

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

$$pH = \log 1 / [H_3O^+]$$

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

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

II.2.2.2- Etude de pouvoir protéolytique [19] :

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir protéolytique des bactéries lactiques.

On testé cette activité sur le milieu YMA (Yeast Milk Agar) qu'on a préparé au laboratoire, des disques de papiers WATMAN N°4 sont imbibés dans la suspension bactérienne qu'on a purifié préalablement, puis déposés sur la gélose YMA déjà coulée et solidifiée. Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

La lecture de résultats est effectuée par la mesure de diamètre de la zone clair au tour des disques.

II.2.2.3-Production de dextrane [21] :

Les souches à tester sontensemencées sur une gélose hypersaccharosée (100g/l de saccharose) de type MSE. Les souches productrices de polysaccharides se distinguent par la formation d'une pellicule opaque à la surface de la gélose .

III-Resultats et discussion

III.1 Isolement, purification et identification des bactéries lactiques :

Notre travail a aboutit à l'obtention d'un soucier lactique composé de 46 souches, huit souches d'origines lapin, trente quatre issus de tractus digestif de poussin et quatre souches de selles d'enfant.

III.1.1 Examen macroscopique :

Sur milieux solides MRS et M17, on a observé des colonies de différentes tailles, bien isolées de couleur blanchâtre, jaunâtre brillante, bombées, à bord régulier, certaines ont des formes lenticulaires (convexe).

III.1.2 Examen microscopique :

L'examen de préparation microscopique des souches purifiées révèle deux formes de bactéries lactiques à GRAM positif :

- Des bâtonnets isolés ou disposés en chaînette plus ou moins longues ce sont des lactobacilles qui représentent 58.68% de l'ensemble.
- Des coques disposés en paires ou en chaînette ; ce sont des lactocoques qui représentent 36.98% de la collection lactique.

D'après les résultats obtenus de l'observation microscopiques, la forme cellulaire dominante est cocci chez les souches isolées du tube digestif du lapin, par contre la forme bacillaire est la dominante pour le reste du soucier.

III.1.3 Tests physiologiques et biochimiques :

Les résultats documentés dans le tableau 8 révèlent le suivant :

- Les quarante six souches sont à catalase négatif.
- Vingt quatre souches sont capables de croître à 45°C, ce sont des thermophiles (l'apparition du trouble sur milieu liquide MRS et M17), le reste est des mésophiles. La recherche du citratase a révélé que toutes les souches sont incapables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone (aucune croissance observée). Pour la recherche d'acétoine, l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu CLARK et LUBS de 13 souches indique que ces dernières sont capables de produire l'acétoine.
- D'après les résultats du test ADH, on a remarqué que seize souches donnent des résultats positifs c'est-à-dire, capable de dégrader l'arginine et libérer

l'ammoniac (couleur violette), le reste donne des résultats négatifs (couleur jaune).

- Pour la recherche de réductase, le test de croissance sur le lait tournesolé montre que l'ensemble des souches est incapable de réduire le tournesol, mais il existe vingt cinq souches qui coagulent le lait, cinq souches donnent une coagulation intermédiaire, le reste est incapable de coaguler le lait.
- L'ensemble des lactocoques du souchier ont donné un résultat positif sur le lait de SHERMAN à 0.1% et 0.3% de bleu de méthylène, c'est-à-dire, il y a eu réduction de bleu de méthylène, mais avec ou sans coagulation du lait :
 - Sur le lait de SHERMAN à 0.1% de bleu de méthylène, six souches coagulent le lait, deux souches ont données une coagulation plus au moins, le reste est incapable de le faire.
 - Sur le lait de SHERMAN à 0.3% de bleu de méthylène, cinq souches provoquent la coagulation du lait, le reste (neuf souches) donne des résultats négatifs.
- Ce qui concerne la capacité des lactocoques de croître en présence de Na Cl, les souches du genre *Lactococcus* ont données des résultats positifs sur le bouillon hypersalé à 4% et négatif sur le bouillon hypersalé à 6.5% de Na Cl, alors que les *Streptococcus thermophilus* sont très sensible au Na Cl.
- Sur le milieu GIBSON et ABDELMALEK, il y a eu un déplacement du bouchon de la gélose chez six souches, ce sont des hétérofermentaires obligatoires (*Lc.lactis* ssp *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides*, *Lb. Casi* ssp *casei*, *Lb. Delbrueckii* ssp *lactis*) ou facultatives (*Lb.fermentum*, *Lb.plantarum*), pour le reste de la collection, il y a aucun déplacement du bouchon de la gélose, donc ce sont des homofermentaires.

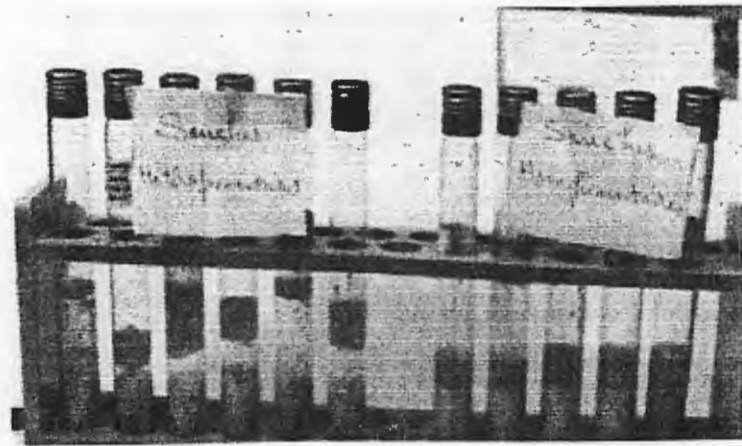


Figure 5: production de gaz par les souches identifiées : souches hétérofermentaires et homofermentaires .

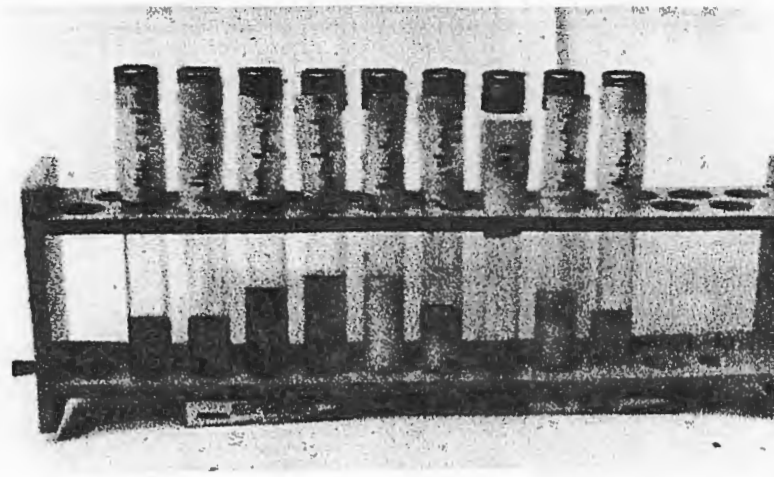


Figure 6 : profil des tests biochimique d'une souche lactique

Year	Month	Day	Time	Location	Activity	Remarks	Signature	Date
1980	Jan	1	10:00
1980	Jan	2	10:00
1980	Jan	3	10:00
1980	Jan	4	10:00
1980	Jan	5	10:00
1980	Jan	6	10:00
1980	Jan	7	10:00
1980	Jan	8	10:00
1980	Jan	9	10:00
1980	Jan	10	10:00
1980	Jan	11	10:00
1980	Jan	12	10:00
1980	Jan	13	10:00
1980	Jan	14	10:00
1980	Jan	15	10:00
1980	Jan	16	10:00
1980	Jan	17	10:00
1980	Jan	18	10:00
1980	Jan	19	10:00
1980	Jan	20	10:00
1980	Jan	21	10:00
1980	Jan	22	10:00
1980	Jan	23	10:00
1980	Jan	24	10:00
1980	Jan	25	10:00
1980	Jan	26	10:00
1980	Jan	27	10:00
1980	Jan	28	10:00
1980	Jan	29	10:00
1980	Jan	30	10:00
1980	Jan	31	10:00



P24	Bacille	-	-	-	-	-	hét	-	+	+	-	+						
P25	cocci	-	-	+/-	-	-	Hom	-	-	+	-	+	+	+	R:+	C:-	R:+	C:-
P26	Bacille	-	-	+	-	-	Hom	-	-	+	+/-	-						
P27	Bacille	-	-	-	-	-	hom	-	-	+	-	+						
P28	Bacille	-	-	-	+	-	Hom	-	-	+	+	+						
P29	Bacille	-	-	+/-	-	-	Hom	-	-	+	+	+						
P30	Bacille	-	-	-	-	-	Hom	-	-	+	+/-	+						
P31	Bacille	-	-	-	+/-	+	Hom	-	+	+	+	+						
P32	cocci	-	-	-	+	+	Hom	-	+	+	+/-	+	+	+				
P33	cocci	-	-	-	-	-	hom	-	+	+	-	+	+	+	R:+	C:-	R:+	C:-
P34	cocci	-	-	-	+	-	Hom	-	-	+	-	+	+	+				
S4	Bacille	-	-	-	+/-	-	Hom	-	-	+	-	+						

R : Réduction.

C : Coagulation.

Hom : Homofermentation.

Het : Hétéofermentation.

+ : Test positif.

- : Test négatif.

+/- : résultats douteux

Tableau 3 : Profil de fermentaire des sucres.

sucres bactérie s	levulose	amidon	salicine	rhamnose	mélibiose	inositol	Cellob- iose	galactose	adonitol	déxtrine	raffinose	sorbose	maltose	Méthyl- manoside	mannose	Sac	Lactose	ribose
L1	+	+	+	+/-	+/-	-	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	+
P1	+	+	+	+/-	-	-	-	-	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+	+	-
P2	+	+	+	+/-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+/-	+	+	+	+
P3	+	+	+	+/-	+	-	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	+/-
P4	-	+	+	+/-	+	-	-	-	+	+/-	-	-	+	+/-	+	+	+	-
P5	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+
P6	+	+	+	+/-	-	-	-	-	+	+/-	+/-	+/-	+	-	+	+	+	-
P7	-	+	+	+/-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	+
P8	+	+	+	+/-	-	-	-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	-
P9	+	+	+	+/-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+/-	+	+	+	-
P10	+	+	+	+	+	-	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	-
P11	+	+	+	+	+/-	-	+/-	-	+	+/-	-	-	+	-	+	+	+	+
S1	+	+	+	+	+	+/-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
S2	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+
S3	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

+ : test positif
 - : test négatif
 +/- : test plus ou moins.

III.1.4 Identification par profil de fermentation des sucres et logiciel :

Les profils fermentaires obtenus résumés dans le tableau 9 sont traités par un logiciel API LAB au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et génétique de l'université ES-SENIA ORAN, qui a confirmé les résultats en donnant le nom de l'espèce bactérienne correspondante à chaque profil fermentaire qui sont représentés dans le tableau 10.

L'aspect des souches bactériennes révèle la dominance de la forme bacillaire représentée par le genre *Lactobacillus* qui occupe 58.68% du total, le reste 36.98% est représenté par la forme sphérique dont le genre *Lactococcus* occupe la grande proportion 36.98% de l'ensemble à côté du genre *Streptococcus* qui représente 4.34%.

Par ailleurs, pour la localisation ou distribution de la flore lactique dans chacun des deux tubes digestifs (lapin et poussin) et les selles d'enfant, on peut montrer, d'après les souches isolées, que :

- ❖ Pour le lapin, la dominance de la forme sphérique qui représente presque 100% de la collection lactique du lapin, la souche *Lc.lactis* avec ses deux sous-espèces *Lc.lactis* ssp *cremoris* et *Lc.lactis* ssp *diacetylactis* est la plus répondue avec un pourcentage considérable de 75% à côté de *St.thermophilus* qui représente 12.5%, toute fois la seule souches isolée de forme bacillaire est *Lb.delbrueckû* ssp *lactis*. Tous ces souches sont isolées de gros intestin du lapin, mais la souche *Lc.lactis* ssp *diacetylactis* a été isolée aussi de l'estomac.
- ❖ Pour le poussin et comparativement au lapin, l'inverse est obtenu car la forme bâtonnet est dominée par le genre *Lactobacillus* avec un pourcentage de 76.47%. Ce genre regroupe les espèces suivantes :
 - *Lb.delbrueckû* ssp *lactis* représente 14.70% de collection lactique du poussin.
 - *Lb.fermentum* représente 8.82% de collection lactique du poussin.
 - *Lb.casei* occupe 14.70% de collection lactique du poussin.
 - *Lb.acidophilus* représente 2.94% de collection lactique du poussin.
 - *Lb.plantarum* représente 17.64%. collection lactique du poussin
 - *Lb.brevis* représente 2.94%.

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

Codes	Espèces	Evaluation du test	observation
L1	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
L2	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
L3	<i>St.thermophilus</i>	+	Colonies peu gluantes
L4	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetyllactis</i>	+	Colonies peu gluantes
L5	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
L6	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
L7	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetyllactis</i>	+	Colonies peu gluantes
L8	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetyllactis</i>	+	Colonies peu gluantes
P1	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P2	<i>Lb.fermentum</i>	+	Colonies peu gluantes
P3	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P4	<i>Lb.casei</i> ssp <i>pseudopantarum</i>	-	Colonies normales
P5	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P6	<i>Lb.debrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P7	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P8	<i>Lb.acidophilus</i>	-	Colonies normales
P9	<i>Lb.casei</i> ssp <i>tolerans</i>	+	Colonies peu gluantes
P10	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>Mesenteroides</i>	-	Colonies normales
P11	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>Mesenteroides</i>	-	Colonies normales
P12	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
P13	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P14	<i>Lc.lactis</i> <i>cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
P15	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P16	<i>Lb.debrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P17	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
P18	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
P19	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P20	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
P21	<i>Lb.brevis</i>	-	Colonies normales
P22	<i>St.thermophilus</i>	-	Colonies normales
P23	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P24	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P25	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
P26	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P27	<i>Lb. sp</i>	-	Colonies normales
P28	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P29	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P30	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P31	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P32	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetyllactis</i>	-	Colonies normales
P33	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P34	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetyllactis</i>	-	Colonies normales
S1	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
S2	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
S3	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
S4	<i>Lb.casei</i> ssp <i>tolerans</i>	-	Colonies normales

En outre, deux souches de *Leuconostoc.mesenteroides* ssp *mesenteroides* ont été isolées du gésier, les lactocoques sont représentés par la souche *Lactococcus.lactis* avec un pourcentage de 26.47, cette souche regroupe des sous espèces *Lc.lactis* ssp *lactis*, *cremoris* et *diacetylactis*. l'espèce *Streptococcus.thermophilus* a été isolée de gros intestin du poussin avec une faible proportion de 2.94%.

Le genre *Lactobacillus* est isolé de différentes parties de tractus digestif du poussin (jabot, gésier, proventricule et gros intestin) alors que le genre *Lactococcus* est isolé de gésier et du jabot.

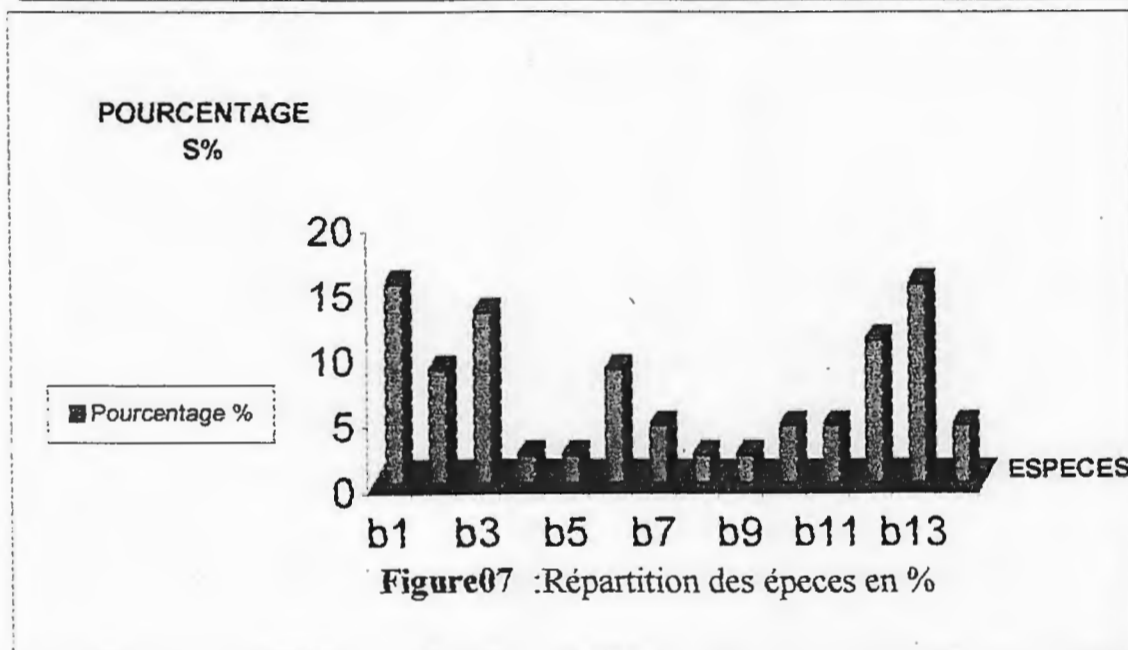
❖ Pour les selles d'enfant, toutes les souches isolées appartiennent au genre *Lactobacillus*.

Reste à signaler que notre soucier est répartis en :

- *Lb.delbruckii* ssp *lactis* représente 15.22%du soucier.
- *Lb.fermentum* représente 8.70%du soucier.
- *Lb.plantarum* représente 13.04%.
- *Lb.casei* ssp *pseudopantarum* représente 2.17%du soucier.
- *Lb.acidophilus* représente 2.17% du soucier.
- *Lb.casei* ssp *casei* représente 8.70% du soucier.
- *Lb.casei* ssp *tolerans* représente 4.35% du soucier.
- *Lb.sp* représente 2.17%.
- *Lb.brevis* représente 2.17% du soucier.
- *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides* représente 4.35% du soucier.
- *Streptococcus.thermophilus* représente 4.35% du soucier.
- *Lc.lactis* ssp *diacetylactis* représente 10.87% du soucier.
- *Lc.lactis* ssp *cremoris* représente 15.21% du soucier.
- *Lc.lactis* ssp *lactis* qui représente 4.35%du soucier.

Tableau 06 : Les pourcentages des différentes espèces identifiées.

ESPECES	Code	Pourcentage %
<i>Lb. delbrueckii ssp lactis</i>	b1	15.22
<i>Lb. fermentum</i>	b2	8.7
<i>Lb. plantarum</i>	b3	13.04
<i>Lb. casei ssp pseudopantarum</i>	b4	2.17
<i>Lb. acidophilus</i>	b5	2.17
<i>Lb. casei ssp casei</i>	b6	8.7
<i>Lb. casei ssp tolerans</i>	b7	4.35
<i>Lb. sp</i>	b8	2.17
<i>Lb. brevis</i>	b9	2.17
<i>Leuconostoc. mesenteroide ssp mesenteroide</i>	b10	4.35
<i>Streptococcus. Thermophilus</i>	b11	4.35
<i>Lc. lactis ssp diacetylactis</i>	b12	10.87
<i>Lc. lactis ssp cremoris</i>	b13	15.21
<i>Lc. lactis ssp lactis</i>	b14	4.35



- Les souches isolées de tractus digestif du lapin sont pour la plupart des streptocoques lactiques ; représentées par le genre *Lactococcus*, issues de gros intestin, alors que les lactobacilles sont rares.

Ces résultats sont en accord avec les données bibliographiques dont, des auteurs rapportent que la flore du lapin est dominée par les streptocoques, les lactobacilles sont rares [19].

Ce qui concerne le poussin, la collection isolée est dominé par les lactobacilles colonisant les compartiments du tube digestif (jabot, proventricule, gésier, gros intestin). La flore sous dominante est représentée par des streptocoques lactiques, nos résultats justifiés par des chercheurs qui concluent que la population dominante renferme des lactobacilles, la population sous dominante est constituée par les streptocoques [18].

De même les résultats concernant les selles d'enfant sont en accord à ceux documentés dans la littérature par Horzapfel et *al.*, (1998), GIBSON, (1998); et Roberfroid, (1993), la conclusion de ses travaux était que les lactobacilles deviennent dominante une semaine après la naissance.

III.2 Etude de quelques propriétés technologiques :

III.2.1 Pouvoir acidifiant :

Le tableau 12 regroupe les résultats de la production d'acide lactique par quelques souches de bactéries lactiques.

D'après les résultats, il apparaît clairement qu'il y a une hétérogénéité dans la production de l'acide lactique aux seins des souches et en fonction de niches d'isolement.

En premier temps ; 2 heures après l'incubation, les valeurs du pH varient de 6.31 à 6.38, en parallèle les valeurs d'acidité se situent dans l'intervalle 50°D à 77°D, puis, on remarque un décroissement lent de pH alors qu'il existe en parallèle une augmentation lente de l'acidité, ce qui traduit un faible pouvoir acidifiant sauf pour la souche *Lb.fermentum* issue de selles d'enfant qui a produit un maximum de 7.7g de l'acide lactique par litre de lait, donc cette souche serait intéressante en biotechnologie pour la fabrication des laits fermentés.

Le faible rendement est observé chez les espèces : *Lb.delbrueckii ssp lactis*, *Lb.casei ssp casei* avec 5g d'acide lactique par litre de lait, et *St.hermophilus* avec une production d'acide lactique de l'ordre de 5.1g par litre.

D'une façon générale, les lactobacilles sont plus acidifiants que les *St. thermophilus*.

Des auteurs confirment que la culture des lactobacilles s'accompagne d'une forte acidification qui convient à leur pH optimal de croissance (5.5 pour la plupart

Tableau 12 : pouvoir acidifiant de quelques souches isolées du tube digestif du lapin, du poussin et les selles d'enfant

CODE	2H		4H		6H		8H	
	pH(M)	°D	pH(M)	°D	pH(M)	°D	pH (M)	°D
L3	6.36	18	6.37	6.21	6.28	21	5.02	51
L5	6.37	19	6.38	20	6.35	24	4.92	53
L6	6.37	20	6.37	21	6.32	22	5.08	52
L7	6.38	15	6.39	17	6.35	20	4.90	60
P29	6.36	17	6.39	20	6.36	21	4.91	58
P13	6.38	17	6.37	20	6.36	20	4.95	52
P16	6.38	20	6.37	20	6.31	21	4.94	50
P24	6.38	18	6.37	18	6.37	21	4.91	58
S1	6.37	15	6.39	22	6.31	24	4.33	77
S2	6.35	18	6.32	18	6.21	20	5.32	50
S3	6.31	20	6.33	21	6.25	21	5.23	53

L3 :*St.thermophilus*

L5 :*Lc.lactis ssp cremoris*

L6 :*Lc.lactis ssp cremoris*

L7 :*Lc.lactis ssp diacetylactis*

P29 :*Lb.plantarum*

P13 :*Lb.delbrueckû ssp lactis*

P16 :*Lb.delbrueckû ssp lactis*

P24 :*Lb.plantarum*

S1 :*Lb.fermentum*

S2 :*Lb.casei ssp casei*

S3 :*Lb.delbrueckû ssp lactis*

A noter que ces souches sont choisies au hasard.

III.2.2 Pouvoir proteolytique :

Les résultats de la protéolyse des souches lactiques observés sur le milieu YMA sont représentés dans le tableau 16.

- les souches non protéolytiques représente 54.34% réparties comme suivant :
- 8.69% de la collection d'origine lapin.

III.2.2 Pouvoir protéolytique :

Les résultats de la protéolyse des souches lactiques observés sur le milieu YMA sont représentés dans le tableau 13.

Les souches non protéolytiques représentent 54.34% réparties comme suit :

- 8.69% de la collection d'origine lapin.
- 43.48% de la collection d'origine poussin.
- 2.17% de la collection d'origine selles d'enfant.

Les souches qui ont un pouvoir protéolytique se caractérisent sur le milieu YMA par la présence des zones de lyse de différents diamètres et elles représentent 45.65% du souche, leur préparation selon leur origine est la suivante :

- 8.69% de souche sont d'origine lapin.
- 30.43% de souche sont d'origine poussin.
- 6.53% de souche sont d'origine selles d'enfant.

A noter que le pouvoir protéolytique maximum est remarqué chez la souche *Lb.delbrueckii ssp lactis* avec une zone de lyse de 22mm de diamètre, alors que le pouvoir protéolytique minimum est obtenu avec la souche *Lc.lactis ssp cremoris* et *Lc.lactis ssp diacetylactis*.

La figure ci-dessous illustre les zones de lyse de quelques souches.

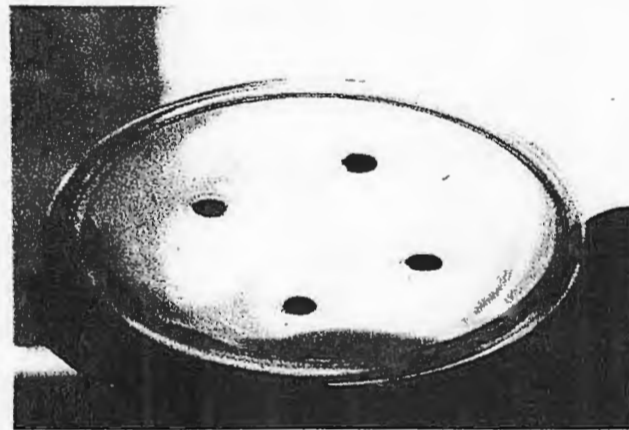


Figure 8 : Aptitude protéolytique des bactéries lactiques.

Nos résultats sont en accord avec les résultats documentés dans la littérature, qui affirment que les streptocoques ont été caractérisés par leur système protéolytique. Ils possèdent en particulier des protéinases extracellulaires liées au paroi qui dégradent les caséines en peptides[5].

Certains enzymes de protéolyse ont été caractérisées particulièrement chez *St.cremoris* [8].

Chez les lactobacilles, les activités protéolytiques sont aussi très diversifiées quand à leur nature et à leur niveau d'activité spécifique, ce ci est vrai au niveau des espèces comme au niveau des souches d'une même espèce.

Des auteurs ont effectué une étude globale de la libération des acides aminés par les lactobacilles cultivant dans le lait.

Ces résultats ont été confirmés par la mise en évidence des systèmes protéolytique chez les lactobacilles [8].

Les lactobacilles mésophiles possèderait plutôt des systèmes protéolytiques intercellulaire, ce qui pourrait expliquer, que le lait leur soit un milieu de culture plutôt peu favorable. *Lb.casei* est caractérisée par une activité caséolytique globalement faible [22].

Tableau 13 : activité protéolytique des bactéries lactiques identifiées.

code	Nom d'espèce	Evaluation du test	Diamètre mm	observation
L1	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
L2	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
L3	<i>St.thermophilus</i>	+	10	Croissance avec protéolyse
L4	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
L5	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	+	02	Croissance avec protéolyse
L6	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	+	12	Croissance avec protéolyse
L7	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>	+	16	Croissance avec protéolyse
L8	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P1	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P2	<i>Lb.fermentum</i>	+	08	Croissance avec protéolyse
P3	<i>Lb.plantarum</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P4	<i>Lb.casei ssp pseudopantarum</i>	+	06	Croissance avec protéolyse
P5	<i>Lc.lactis ssp lactis</i>	+	04	Croissance avec protéolyse
P6	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	+	06	Croissance avec protéolyse
P7	<i>Lb.plantarum</i>	+	08	Croissance avec protéolyse
P8	<i>Lb.acidophilus</i>	+	02	Croissance avec protéolyse
P9	<i>Lb.casei tolerans</i>	+	10	Croissance avec protéolyse
P10	<i>Leuconostoc.mesenteroides ssp mesenteroides</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P11	<i>Leuconostoc.mesenteroides ssp mesenteroides</i>	+	10	Croissance avec protéolyse
P12	<i>Lb.fermentum</i>	+	08	Croissance avec protéolyse
P13	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	+	14	Croissance sans protéolyse
P14	<i>Lc.Lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P15	<i>Lb.plantarum</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P16	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	+	22	Croissance avec protéolyse
P17	<i>Lb.fermentum</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P18	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P19	<i>Lc.lactis ssp lactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P20	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P21	<i>Lb.brevis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P22	<i>St.thermophilus</i>	+	10	Croissance avec protéolyse
P23	<i>Lb.casei ssp casei</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P24	<i>Lb.plantarum</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P25	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P26	<i>Lb.casei ssp casei</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P27	<i>Lb.sp</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P28	<i>Lb.plantarum</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P29	<i>Lb.plantarum</i>	+	04	Croissance avec protéolyse
P30	<i>Lb.casei ssp casei</i>	+	04	Croissance avec protéolyse
P31	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	+	04	Croissance avec protéolyse
P32	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P33	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
P34	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>	-	00	Croissance sans protéolyse
S1	<i>Lb.fermentum</i>	+	08	Croissance avec protéolyse
S2	<i>Lb.casei ssp casei</i>	+	08	Croissance avec protéolyse
S3	<i>Lb.delbrueckii ssp lactis</i>	+	06	Croissance avec protéolyse
S4	<i>Lb.casei ssp tolerans</i>	-	00	Croissance sans protéolyse

III.2.2.3 Production de dextrane :

D'après les résultats documentés dans le tableau 17 on distingue :

Les souches non productrices de dextrane représentent 80.43% de souchier.

Les souches productrices de dextrane représentent 19.56% de souchier, la plupart de ces résultats sont de forme cocci : 77.77%

Ces résultats sont en accord avec les résultats déjà obtenus par les autres chercheurs, donc on confirme que l'espèce *St.thermophilus* et dotée de cette aptitude technologique pour laquelle elle est utilisée dans la production industrielle des produits laitiers [18].

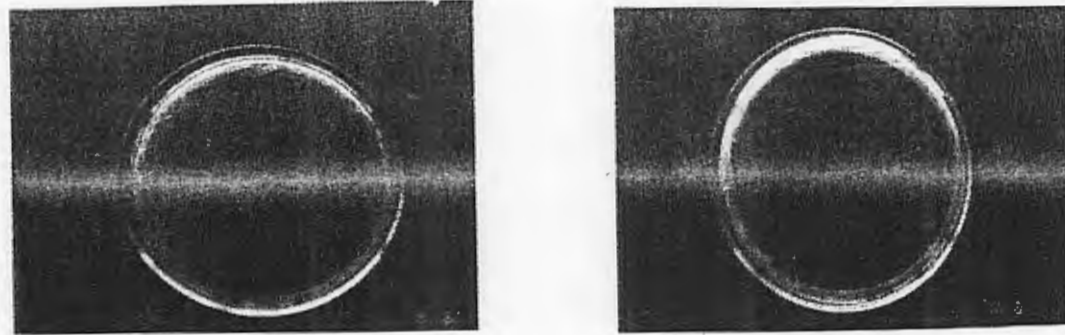


Figure 9 : Production des polysaccharides par les souches identifiées

Tableau 14 : production de polysaccharides par les bactéries lactiques identifiées.

Codes	Espèces	Evaluation du test	observation
L1	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
L2	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
L3	<i>St.thermophilus</i>	+	Colonies peu gluantes
L4	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	+	Colonies peu gluantes
L5	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
L6	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
L7	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	+	Colonies peu gluantes
L8	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	+	Colonies peu gluantes
P1	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P2	<i>Lb.fermentum</i>	+	Colonies peu gluantes
P3	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P4	<i>Lb.casei</i> ssp <i>pseudopantarum</i>	-	Colonies normales
P5	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P6	<i>Lb.debrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P7	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P8	<i>Lb.acidophilus</i>	-	Colonies normales
P9	<i>Lb.casei</i> ssp <i>tolerans</i>	+	Colonies peu gluantes
P10	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>Mesenteroides</i>	-	Colonies normales
P11	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>Mesenteroides</i>	-	Colonies normales
P12	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
P13	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P14	<i>Lc.lactis cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
P15	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P16	<i>Lb.debrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P17	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
P18	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
P19	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P20	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	+	Colonies peu gluantes
P21	<i>Lb.brevis</i>	-	Colonies normales
P22	<i>St.thermophilus</i>	-	Colonies normales
P23	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P24	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P25	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	-	Colonies normales
P26	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P27	<i>Lb.sp</i>	-	Colonies normales
P28	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P29	<i>Lb.plantarum</i>	-	Colonies normales
P30	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
P31	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P32	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	-	Colonies normales
P33	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
P34	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	-	Colonies normales
S1	<i>Lb.fermentum</i>	-	Colonies normales
S2	<i>Lb.casei</i> ssp <i>casei</i>	-	Colonies normales
S3	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	-	Colonies normales
S4	<i>Lb.casei</i> ssp <i>tolerans</i>	-	Colonies normales

Conclusion

Conclusion générale

L'isolement, la purification et l'identification était la première partie de notre travail qui a aboutit à l'obtention de 46 souches isolées de trois niches écologiques, du tube digestif du lapin, du poussin et les selles d'enfant.

Notre collection renferme 9 espèces appartenants aux genres suivants : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus* avec les proportions : 30.43%, 58.68%, 4.34% et 4.34% respectives.

Ces genres ont une importance considérable puisqu'ils interviennent dans une large gamme de produits comme flore technologiques où ils jouent un rôle dans la conservation grâce a leur production d'acide lactique et des agents antimicrobiens, un rôle texturant dû à la production des exopolysaccharides et à l'activité protéolytique.

L'étude de quelques aptitudes technologiques de quelques souches isolées, à savoir l'aptitude acidifiante, la protéolyse et l'aptitude texturante montre que nos souches sont acidifiantes avec un maximum de 7.7g d'acide lactique par litre produit par *Lb.fermentum*, par ailleurs la recherche de l'activité protéolytique montre que 22 espèces possèdent cette aptitude, neuf souches ont la faculté de synthétiser des polysaccharides, ces macromolécules contribuent à modifier la texture des produits laitiers.

Enfin, cette étude doit être complétée par l'évaluation des activités probiotiques, la détermination des acides aminés dus à la protéolyse, la recherche de l'ADN plasmidique et la recherche des phages.

ANNEXE I

Réactifs:

1.violet de gentiane :

- Violet de gentiane.....1g.
- Ethanol a 90%.....10 ml.
- Phénol.....2g.
- Eau distillée.....100 ml.

2.Fushine de Ziel:

- Fushine basique.....1g.
- Alcool éthylique a 90%.....10ml.
- Phénol.....5g.
- Eau distillée100 ml.

3.Lugol:

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

4.Bleu de méthylène:

- Bleu de méthylène.....1g.
- Ethanol10 ml.
- Phénol.....2g.
- Eau distillée.....100 ml.

ANNEXE II

Milieux d'isolement et de purification:

1. MRS (bouillon et gélose) :

- Peptone.....10g.
- Extrait de viande.....8g.
- Extrait d levure.....4g.
- Acétate de sodium.....5g.
- Phosphate dipotassique.....2g.
- Citrate d'ammonium.....2g.
- Sulfate d magnésium ,7H₂O.....2g.
- Sulfate de manganèse ,4H₂O.....0.05g.
- Glucose.....20g.
- Tween80.....1ml.
- Agar (dans le cas de gélose).....15g.
- Eau distillée qsp.....1000ml.

pH : 6.2

Autoclaver 15min à 120°C

2. M₁₇ (bouillon et gélose) :

- Peptone tryptique de caséine.....2.5g.
- Peptone pepsique de viande.....2.5g.
- Peptone papainique de soja.....5g.
- Extrait de viande5g.
- Extrait de levure déshydraté.....2.5g.
- Glycérophosphate de sodium.....19g.
- Sulfate de magnésium, 7H₂O.....0.25g.
- Acide ascorbique.....0.5g.
- Agar (dans le cas de gélose).....15g.
- Eau.....950ml.

pH:7.1-7.2

Autoclaver 15min à 120°C

3. Gélose nutritive ordinaire:

- Peptone.....10g.
- Extrait de viande.....5g.
- Chlorure de sodium.....5g.
- Agar.....15g.

pH : 7.2

Autoclaver 20min à 120°C

ANNEXE III**Milieux d'identification:****1. Citrate de simmons:**

Formule en grammes par litre d'eau distillée.

- Sulfate de magnésium.....0.2g.
- Citrate de sodium.....2g.
- Chlorure de sodium.....5ml.
- Phosphate d'ammonium.....0.2g.
- Phosphate d'ammonium monosodique.....0.8g.
- Bleu de bromothymol.....0.08g.
- Agar.....15g.

2. MEVAG sans sucre :

- Extrait de viande3g.
- Chlorure de potassium.....5g.
- Rouge de phénol.....20mg.
- Agar.....3g.

3. CLARK et LUBS:

- Peptone10g.
- Phosphate dipotassique.....2g.
- Glucose5g

pH : 7

Autoclaver 20 min à 120°C

4. Milieu GIBSON et ABDELMALEK

- Extrait de levure2.5g
- Glucose.....50g.
- Jus de tomate.....100ml.
- Lait.....50ml.
- Gélose nutritive ordinaire.....200ml.

pH: 6.5

Repartir en tube (8x10ml).

Stérilisation par tyndallisation 3fois 30min à 100°C

5. Lait de SHERMEN:

- 9ml de lait écrémé (0%) stérile en tube.
1ml de bleu de méthylène à 0.1%.
- 7ml de lait écrémé (0%) stérile en tube.
3ml de bleu de méthylène à 0.3%.

6. Milieu hypersalé:

- Gélose.....5g.
- Extrait de viande5g.
- Peptone15g.
- NaCl.....65g.
- Eau distillée qsp.....1000ml.

pH :7.5

Stérilisation 20min à 120°C.

On varie la concentration en NaCl de 6.5% à 4%

ANNEXE IV

7. Réductase:

- Lait écrémé stérilisé en tube (15%).

- Teinture de tournesol.

Autoclavage 15min à 121°C.

Milieux pour les aptitudes technologiques:

1. Milieu YMA (Yeast Milk Agar):

- Peptone.....5g.
- Extrait de levure3g.
- Lait écémé.....1g.
- Agar.....15g.
- Eau distillé qsp.....1000ml.

pH: 7.1

Stérilisation 20min à 120°C.

2. Milieu hypresaccharosé:

- Extrait de viande.....10g.
- Extrait de levure.....3g.
- Bactropeptone.....2.5g.
- Saccharose.....150g.
- K₂HPO₄.....2g.
- NaCl.....1g.
- MgSO₄.7H₂O.....0.2g.
- Agar.....1.5g.
- Eau distillée qsp.....1000ml.

pH: 6.8-7

Stérilisation 20min à 120°C

Présenté par : BEN MAKHLOUF Nacira
BOULKOUR Rofai
BOUKABOU Nabila

Date de soutenance : juillet 2005

Thème :

isolement et identification des bactéries lactiques à propriété probiotique à partir de tube digestif du lapin, du poussin et les selles d'enfant

Resume

Du fait de leur importance sur l'échelle industrielle, nutritionnelle, sanitaire et médicale, les bactéries lactiques forment un sujet très important pour les microbiologistes ainsi que les biochimistes.

Le point de départ de cette étude est l'isolement de 46 souches de bactéries lactiques à partir de trois niches écologiques, le tube digestif du poussin, du lapin et les selles d'enfant suivi d'une caractérisation et une identification. Les espèces identifiées appartiennent aux genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*.

L'étude de quelques aptitudes technologiques de certaines souches a permis d'apprécier l'intérêt de ces dernières dans la production de l'acide lactique, dans la protéolyse et la production des facteurs d'onctuosité.

Mots clés : Bactéries lactiques, Niches écologiques, Aptitudes technologiques

Summary

Because of their importance on the scale industrial, nutritional, sanitary and medical, the lactic bacteria form a very important subject for the microbiologists as well as the biochemists.

The starting point of this study is the isolation of 46 stumps of lactic bacteria from three ecological niches, the digestive tract of chick, of the rabbit and kid stools followed by a characterization and an identification. The identified species belong to the kinds: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* and *Leuconostoc*.

The study of some technological aptitudes of certain stocks made it possible to appreciate the interest of these last in the production of the lactic acid, the proteolysis and the production of the factors of consistency.

Key words Lactic bacteria, ecological Niches, technological Aptitudes.

ملخص:

لأن لها أهمية على المستوى الصناعي، الغذائي، الصحي والطبي، أصبحت البكتيرية اللبنية محور اهتمام علماء الأحياء المجهرية وحتى علماء الكيمياء الحيوية.

إن نقطة انطلاقنا في هذه الدراسة هي عزل وتنقية 46 سلالة من البكتيرية اللبنية انطلاقا من الجهاز الهضمي للأرنب، الجهاز الهضمي للصيغ، وفضلات رضيع حديث الولادة. ثم قمنا بتحديد وإعطاء الاسم العلمي لكل سلالة. الأنواع البكتيرية المعزولة تنتمي إلى الأجناس *Leuconostoc*

Lactococcus, *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

وتطرقنا أيضا لدراسة بعض الأبعاد الصناعية لبعض السلالات ومنها إنتاج الحمض اللبني، قدرتها على تحليل البروتينات، وإنتاج عوامل معطرة و منكهة.

كلمات المفتاح : بكتيريا لبنية، مصادر بيئية، أبعاد تكنولوجية.