

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

MB.11.04

*Mémoire*

*De fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme des études  
supérieures en biologie*

*Option : MICROBIOLOGIE*

**ETUDE DES INTERACTIONS  
IN VITRO ET IN VIVO ENTRE LES  
BACTERIES LACTIQUES  
ET LES  
ENTEROBACTERIES**



Présenté par :

Membre de jury :

Encadreur : Mr. IDOULT

Président : Mr. LEGHOUCHE

Examineur : Mr. BOUDJERDA.D



MERABET Karima  
BOUBNIDER Amina  
BOUREZAK Farida

Promotion 2003/2004

# Remerciements

*Nous remercions le bon dieu qui nous à donner le courage, la patience et la force pour continuer.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à Mr.IDOUI.T Enseignant à l'université de JIJEL, pour son encadrement précieux, sa patience, et ses conseils.*

*Nos remerciements vont également à :*

- ⊕ *Mr.BOUDJERDJA.D, Enseignant dans l'université de JIJEL pour l'aide qu'il nous a procuré, en mettant ses moyens personnels à notre disposition.*
- ⊕ *Melle ZENNIR Sonia, responsable de laboratoire de Microbiologie de l'université de JIJEL, Nadjiba, Soumia, Massika, Sonia, Fouzia, Assia, Rachid, Yahia pour les services qu'ils nous ont offrent le long de nos études.*

*Nous passons un merci au directeur de laboratoire d'hygiène, et Mr.LOUNIS Mohamed, pour l'aide qu'ils nous ont apporté.*

*Nous remercions également à nos enseignants, et tous ceux qui ont aide de près ou de loin, qu'ils trouvent ici notre profonde gratitude.*

*Sans oublier également les membres de jury qui ont bien accepté de juger notre travail.*

*A vous tous, un grand Merci*

# Dédicace

*C'est avec un grand plaisir et honneur que je dédie ce modeste travail à :  
Mon très cher père qui n'a jamais cessé de me solliciter d'avoir continuer  
ce précieux chemin ;*

*A ma très chère maman qui m'a entouré tout au long de ma vie, de son  
amour et sa tendresse.*

*A mes sœurs : Sihem, Nihad.*

*A mes frères : Mohamed Ali, Merwan, Houssam-eddine.*

*Toute la famille BOUREZAK et KEMHA.*

*A mes amies : Karima, Amina, Nawel, Samia, Fouzia et spécialement à  
Toufika, Lilia, Ratiba, Sabrina.*

*A mes professeurs respectueux : IDOUI Tayeb, BOUDJERDA Djamel.*

*A notre amie ZENNIR Sonia pour sa patience et ces aides précieuses.*

*A tous ceux <sup>que</sup> j'aime.*

*Farida*

# Dédicace

*C'est avec un grand plaisir et honneur que je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents « que dieu me les garde et les protège ».*

*Mon époux pour tous ces bienfaits, sa tendresse, sa patience qui a orienté ma vie dans la bonne direction et ma belle mère, « que dieu me les garde ».*

*Mes frères faïçal, Mohamed, Ahmed amine, Mes sœurs Ahleme, Rîma et Amira. Mes belles sœurs Zoulikha, Laila , Séhame, Hayet à la famille BOUBENIDER et BOUDOUHANE..*

*La fleur de ma vie, ma petite fille Imène.*

*A les petits à Islame, Nabila Taha, Chawki.*

*A mes amies amies Karima et Farida.*

*A mes professeurs respectivement IDOUI Tayeb, BOUDJERDA Djamel.*

*A notre amie ZENNIR Sonia pour sa patience et ces aides précieuses.*

*A tous les amies.*

*Amina*

# Dédicace

*Parce qu'il y a des choses plus faciles à écrire qu'à dire, je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère mère qui m'a encouragé au long de mes études....*

*A mon cher père en lui disant merci infiniment pour son aide....*

*A tous mes frères et sœurs Bilal, Ali, Souad, Samira, Hamida et en particulier Mourad et Nabila.*

*A mes chers amis chacune de son nom et en particulier Farida, Amina, Karima, Saida, Imène, Fouzia et surtout Fahima.*

*A toute la famille.*

*A mes collègues de la promotion de Microbiologie et de Biochimie 2004.*

*A ceux qui m'ont encouragé et aidé dans la réalisation de ce projet.*

*Aux enfants du Palestine et l'Irak,*

*Karima*

# Résumé

Cette étude a porté, sur les interactions entre les souches lactiques et les différents entérobactéries *in-vitro*, et l'effet des probiotiques sur les performances du lapin local *in-vivo*.

Les résultats obtenus *in-vitro* soit sur les milieux solides ou liquides indiquent que les mécanismes d'inhibitions les plus remarquables, et les plus fiables, correspondent à ceux de *Lb.plantarum* « BJ 0021 » avec les huit souches entérobactéries, sans oublier que les profils biochimiques de ces souches montrent qu'il existe une hétérogénéité au sein de l'espèce.

Par ailleurs, l'efficacité des résultats concernant les paramètres microbiologiques, zootechniques et sanguins est enregistrée chez les sujets recevant le probiotique « BJ0021 ».

A l'égard de cette étude, on conclut que le probiotique « BJ021 » considéré comme un meilleur promoteur de croissance.

---

**Mots clés :** interaction, bactéries lactiques, probiotiques, lapin, entérobactéries, inhibition, *Lb.plantarum* « BJ 0021 ».

# Summary

This study related, to the interactions between the lactic stocks and the various nitrobacteria's in-vitro, and the effect of probiotic on the performances of local rabbit in-vivo. The results obtained in-vitro is on the solid media or liquids indicate that the mechanisms of the most remarkable inhibitions, and most reliable, correspond to those of *Lb.plantarum* "BJ 0021" with the eight stocks enterobacteries, without forgetting that the biochemical profiles of these stocks show that there is a heterogeneity within the species. In addition, the effectiveness of the results is concerning the microbiological, zootechnical and blood parameters are recorded at the subjects receiving probiotic "the BJ 0021". With regard to this study, one concluded that probiotic "the BJ0021" considered as better promoter from growth.

---

**Key words:** interaction, bacteria lactic, probiotic, rabbit, enterobacteries, and inhibition, *Lb.plantarum* "BJ 0021".

## Abreviations

<b>ADH</b>	: Arginine dihydrolase.
<b>C°</b>	: Degré sessus.
<b>C.C.M</b>	: Chnomatographie sur couche mince
<b>cm</b>	: Centimètre.
<b>D°</b>	: Degré dornic.
<b>D.O</b>	: Densité optique.
<b>g</b>	: gramme.
<b>G. B</b>	: Globules blancs
<b>G. R</b>	: Globules Rouges
<b>G.M.Q</b>	: Gain moyen quotidien.
<b>g/l</b>	: gramme par litre.
<b>g/j</b>	: gramme par jours.
<b>h</b>	: heure.
<b>HDL</b>	: Hight Density Lipoproteines.
<b>I.C</b>	: Indice de consommation.
<b>j</b>	: jours.
<b>Kg</b>	: Kilogramme
<b>l</b>	: litre.
<b>Lb</b>	: Lactobacillus.
<b>LDC</b>	: Lysine décarboxylase.
<b>MF</b>	: Matière fécale.
<b>mn</b>	: minute.
<b>nm</b>	: Nanomètre.
<b>ODC</b>	: Ornithine décarboxylase.
<b>P</b>	: Période.
<b>pH</b>	: Potentiel hydrogène.
<b>T</b>	: Témoin.
<b>UI</b>	: Unité internationale.
<b>U/L</b>	: Unité par litre.
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoproteines.



# LISTE des tableaux

<b>Tableau. 01 :</b> Caractéristiques des genres de bactéries lactiques.....	03
<b>Tableau. 02 :</b> Les critères différentiels entre les groupes de genre <i>Lactobacillus</i> .....	05
<b>Tableau. 03 :</b> Quelques propriétés biochimiques de <i>Lb.plantarum</i> .....	06
<b>Tableau. 04 :</b> Les principales bactériocines de <i>Lb.plantarum</i> .....	09
<b>Tableau. 05 :</b> Les principaux caractères d'identification biochimique de <i>Salmonella</i> .....	17
<b>Tableau. 06 :</b> Les principales infections causées par <i>Escherichia.coli</i> .....	20
<b>Tableau. 07 :</b> Quelques composantes sanguines relativement stables ou cours de la croissance.....	24
<b>Tableau. 08 :</b> La composition des de rations alimentaires.....	27
<b>Tableau. 09 :</b> Les tests d'identification des souches des <i>Salmonella</i> .....	47
<b>Tableau. 10 :</b> Les tests d'identifications des souches d' <i>E.coli</i> .....	48
<b>Tableau. 11 :</b> Les principales caractéristiques d'identification des souches lactiques.....	49
<b>Tableau. 12 :</b> Résultats des interactions sur milieu solide : <i>Salmonella</i> / les bactéries lactiques.....	53
<b>Tableau. 13 :</b> Résultats des interactions sur milieu solide : <i>E.coli</i> / les bactéries lactiques.....	54
<b>Tableau. 14 :</b> Evolution des interactions entre <i>lactis</i> et les souches de <i>Salmonella</i> .....	56
<b>Tableau. 15 :</b> Evolution des interactions entre CHT25 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	56
<b>Tableau. 16 :</b> Evolution des interactions entre 0051 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	57
<b>Tableau. 17 :</b> Evolution des interactions entre 0021 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	58
<b>Tableau. 18 :</b> Evolution des interactions entre <i>lactis</i> et les souches d' <i>E.coli</i> .....	58
<b>Tableau. 19 :</b> Evolution des interactions entre CHT25 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	59
<b>Tableau. 20 :</b> Evolution des interactions entre 0051 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	60
<b>Tableau. 21 :</b> Evolution des interactions entre 0021 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	60
<b>Tableau. 22 :</b> Les interactions du filtrat de lyse sur les entérobactéries.....	63
<b>Tableau. 23 :</b> Evolution du nombre de la FTAM.....	64
<b>Tableau. 24 :</b> Evolution du nombre de coliformes totaux.....	65
<b>Tableau. 25 :</b> Evolution du nombre de C.T.T.....	65
<b>Tableau. 26 :</b> Evolution du nombre de <i>Staphylococcus.Sp</i> .....	67

# Liste des figures

## Partie bibliographique

<b>Figure. 01 :</b> Différents isomères de l'acide lactique.....	02
<b>Figure. 02 :</b> La forme de <i>Lactobacillus</i> .....	04
<b>Figure. 03 :</b> La forme bactérienne de <i>Salmonella</i> .....	16
<b>Figure. 04 :</b> La forme bactérienne d' <i>Escherichia.coli</i> .....	18
<b>Figure. 05 :</b> L'évolution clinique de l'entérocolite hémorragique due à <i>E.coli</i> 0157 :H7.....	21
<b>Figure. 06 :</b> Schéma des différents éléments du tube digestif du lapin.....	23
<b>Figure. 07 :</b> Préparation du lapin .....	36
<b>Figure. 08 :</b> Voie d'administration du probiotique.....	38
<b>Figure. 09 :</b> Profil d'identification d' <i>E.coli</i> .....	50
<b>Figure. 10:</b> Profil d'identification de <i>Salmonella</i> .....	50
<b>Figure. 11:</b> Profil d'identification de souches de bactéries lactiques.....	50
<b>Figure. 12:</b> Interaction entre les bactéries lactiques et <i>Salmonella</i> S6 .....	51
<b>Figure. 13:</b> Evolution de l'interaction entre <i>Lactococcus.lactis</i> et les souches de <i>Salmonella</i> ...	56
<b>Figure. 14:</b> Evolution de l'interaction entre CHT25 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	57
<b>Figure. 15:</b> Evolution de l'interaction entre 0051 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	57
<b>Figure. 16:</b> Evolution de l'interaction entre 0021 et les souches de <i>Salmonella</i> .....	58
<b>Figure. 17:</b> Evolution de l'interaction entre lactis et les souches d' <i>E.coli</i> .....	59
<b>Figure. 18:</b> Evolution de l'interaction entre CHT25 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	59
<b>Figure. 19:</b> Evolution de l'interaction entre 0051 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	60
<b>Figure. 20:</b> Evolution de l'interaction entre 0021 et les souches d' <i>E.coli</i> .....	61
<b>Figure. 21:</b> Profil chromatographique des protéines.....	62
<b>Figure. 22:</b> Profil chromatographique des sucres.....	62
<b>Figure. 23:</b> Evolution du nombre de CTT par gramme de matière fécale.....	66
<b>Figure. 24:</b> Evolution du nombre de <i>Staphylococcus.Sp</i> par gramme de matière fécale.....	67
<b>Figure. 25:</b> Evolution de l'indice de consommation .....	72
<b>Figure. 26:</b> Evolution du poids vif.....	72
<b>Figure. 27:</b> Evolution du G.M.Q .....	74

<b>Figure. 28:</b> Evolution des quantités moyennes d'aliment ingéré/jour(en gramme) .....	75
<b>Figure. 29:</b> Autopsie :ballonnement .....	76
<b>Figure. 30:</b> Problèmes urinaires.....	76
<b>Figure. 31:</b> Résultats de l'analyse bactériologique.....	78
<b>Figure. 32:</b> Autopsie dégénérescence du foie.....	79
<b>Figure. 33:</b> Abscédation du foie.....	79
<b>Figure. 34:</b> La mort des lapereaux .....	80
<b>Figure. 35:</b> Les lapins d'abattage.....	81
<b>Figure. 36:</b> Evaluation du nombre globules rouges pendant l'expérimentation .....	85
<b>Figure. 37:</b> Evaluation du nombre globules blancs pendant l'expérimentation .....	86

## SOMMAIRE

Introduction	
Partie I : Bibliographie	
Chapitre I : Les bactéries lactiques	
I-1- Définition .....	
I-2- Caractères généraux .....	2
I-2- Classification .....	3
I-3-1- le genre <i>Lactobacillus</i> .....	4
I-3-1-1- Etude de l'espèce <i>Lb. plantarum</i> .....	5
I-4- Identification .....	6
I-4-1- Moyens utilisés pour l'identification .....	6
I-5- Le métabolisme de bactéries lactiques.....	7
I-5-1-Utilisation des sucres .....	7
I-5-2- Utilisation de citrate .....	7
I-5-3- Dégradation des protéines .....	7
I-5-4- Dégradation des lipides et des esters .....	7
I-5-5- Le métabolisme de l'oxygène.....	7
I-5-6- Le métabolisme des sels minéraux .....	7
I-6- Action des bactéries lactiques .....	8
I-7- Rôle de Bactéries lactiques dans la production de facteurs antimicrobiens .....	8
I-7-1- Rôle de l'acide lactique et de pH.....	8
I-7-2- Production de bactériocines .....	8
I-7-3- Composés divers .....	9
Chapitre II : Les probiotiques	
II-1- La flore intestinale.....	10
II-2- Définition des probiotiques.....	10
II-3- Condition de l'utilisation des micro-organismes probiotiques .....	10
II-4- L'intérêt de probiotiques pour les animaux .....	10
II-5- Propriétés et conditions d'administration des probiotiques.....	11
II-5-1- Colonisation – Adhésion.....	11
II-5-2- Les doses .....	11
II-5-3- Espèces bactériens .....	11
II-5-4- Production de métabolites .....	12
II-6- Effets cliniques et mécanismes d'action des probiotiques .....	12
II-7- Effets thérapeutiques ou préventifs .....	13
II-7-1- Malabsorption du lactose .....	13
II-7-2- Diarrhée, gastro-entérite .....	13
II-7-3- Syndrome du côlon irritable.....	13
II-7-4- Les maladies intestinales inflammatoires .....	13
II-7-5- Cancer .....	13
II-8- Type de bactéries probiotiques les plus courantes .....	13
Chapitre III : Entérobactéries	
III-1- Définition.....	15
III-2- Caractères généraux .....	15
III-2-1- Caractères morphologiques.....	15
III-2-2- Caractères cultureux .....	15
III-2-3- Caractères antigéniques .....	15
III-3-3- Habitat et pouvoir pathogène.....	15

III-4- Données générales sur <i>Salmonella</i> et <i>E. coli</i> .....	15
III-4-1- Généralités sur les Salmonelles.....	15
III-4-1-1 Historique.....	15
III-4-1-2 Habitat.....	16
III-4-1-3 Caractères généraux.....	16
III-4-1-4 Classification.....	17
III-4-1-5- Pouvoir pathogène.....	17
III-4-2- <i>E. coli</i> .....	18
III-4-2-1- Historique.....	18
III-4-2-2- Habitat.....	18
III-4-2-3- Caractères généraux.....	18
III-4-2-4- Les facteurs de pathogénicité.....	19
III-4-2-5- Les infections causées par <i>E. coli</i> .....	19

#### Chapitre 4 : Physiologie du lapin

IV-1- Rappels des physiologies digestifs.....	22
IV-1-1- Caecotrophie.....	22
IV-1-2- La flore cæcale chez lapin.....	23
IV-1-3- Les paramètres sanguins.....	24
IV-1-3-1- Données hématologiques.....	24
IV-1-3-2- Données biochimiques.....	24
IV-3- Effets sur les performances du lapin.....	25
IV-3-1- Performance de croissance.....	25
IV-3-2- La mortalité et l'effet du probiotique.....	25
IV-4- Amélioration de la digestivité.....	25

#### PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

II-1- Matériel.....	26
II-1-1- Matériel biologique.....	26
II-1-2- Produits.....	27
II-1-3- Autre matériel.....	29
II-2- Méthodes.....	29
II-2-1- Revéification et identification des souches.....	29
II-2-1-1- Tests d'indentification.....	29
II-2-1-1-1- Examen Microscopique.....	29
II-2-1-1-2- Recherche d'une catalase.....	29
II-2-1-1-3- Recherche d'une oxydase.....	30
II-2-1-1-4- Métabolisme prtéique et acides aminés.....	30
II-2-1-1-5- Utilisation de citrate de SIMMONS.....	31
II-2-1-1-6- Métabolisme glucidique.....	31
II-2-1-1-7- Profil de fermentation des sucres.....	33
II-2-1-1-8- Tests supplémentaires pour l'identification des bactéries lactiques.....	33
II-2-2- Interactions bactériennes.....	34
II-2-2-1- Interactions sur milieu solide.....	34
II-2-2-2- Interactions sur milieu liquide.....	34
II-2-3- Effet de filtrat de lyse cellulaire des lactiques sur les Entérobactéries.....	34
II-2-4- Qualification du contenu de filtrat de lyse.....	35
II-2-5- Etude <i>in-vivo</i> .....	36
II-2-5-1- Préparation du lapin.....	36

II-2-5-2- Préparation du probiotique .....	36
II-2-5-3- Evaluation de l'évolution de la flore endogène.....	38
II-2-5-3-1- Echantillonnage .....	38
II-2-5-3-2- Dénombrement des flores bactérienne.....	38
II-2-5-6- Estimation des paramètres hématologiques et biochimiques.....	42
II-2-5-6-1- Paramètres hématologiques.....	42
II-2-5-6-2- Paramètres biochimiques .....	42
II-2-5-7- Traitement statistique.....	45

### PARITE III RESULTAT ET DISCUSSION

III-1- Revivification et identification .....	46
III-1-2- Les testes biochimiques .....	46
III-2- Interactions bactérienne.....	51
III-2-1- Interactions sur milieu solide.....	51
III-2-2- Interactions sur milieu liquide .....	55
III-3- Composition du filtrat de lyse .....	61
III-3-1- Effet du filtrat de lyse sur les entérobactéries .....	62
III-5- L'effet des probiotiques sur la flore endogène du lapin.....	63
III-5-1- Evolution du nombre de la flore mésophile totale .....	63
III-5-2- Evolution du nombre des coliformes totaux.....	64
III-5-3- Evolution du nombre de C.T.T. ....	65
III-5-4- Evolution du nombre de <i>Staphylococcus</i> .sp. ....	66
III-5-5- Evolution du nombre de <i>Salmonella</i> et <i>Clostridium</i> .....	67
III-6- Test de fragilité.....	67
III-7- Paramètres zootechniques .....	70
III-7-1- Indice de consommation.....	70
III-7-2- Poids vif .....	71
III-7-3- Gain moyen quotidien .....	72
III-7-4- Ingestion de l'aliment .....	74
III-7-5- La mortalité.....	75
III-8- Les paramètres de carcasses .....	80
III-9- Composantes du rendement et paramètres d'abattage.....	80
III-10- Poids des différents organes .....	82

CONCLUSION

REFERENCE

ANNEXE



# Introduction

Depuis quelques années, de nombreuses études scientifiques ont démontré les effets positifs des probiotiques dans l'alimentation animale, qui ouvre des perspectives très intéressantes en élevage cynicole.

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants (bactéries, levures) qui sont ajoutés à l'alimentation, et qui ont un effet bénéfique sur la santé.

Il a pu être montré au cours de ses dernières années que les probiotiques pourraient aussi jouer un rôle dans le traitement des diarrhées chroniques inflammatoires, ainsi que dans la prévention d'infections respiratoires et de maladies allergiques.

Les troubles chez le lapin et en particulier chez le jeune lapereau sevré, constituent la principale cause de mortalité dans les élevages rationnels, qui peuvent occasionner des pertes économiques importantes. Une des explications de ce phénomène est l'inadaptation relative de la flore intestinale du jeune à l'alimentation proposée lors du sevrage.

Les Vertus probiotique des bactéries lactiques sont admises et reconnues depuis très longtemps. Ces Vertus se manifestent par une inhibition de différents micro-organismes indésirables et en particulier les bactéries Gram négatif, on attribue également à certaines souches un pouvoir anticholérémiant, un effet antitumoral ainsi que des effets positifs sur les paramètres zootechniques et les paramètres sanguins (globules blancs, globules rouges, glycémie, triglycéridémie, urécémie).

L'étude de l'amélioration des performances zootechniques du lapin local par l'utilisation des probiotiques reste mal connue à ce jour, c'est à l'égard de cette dernière, que s'inscrit notre étude qui porte sur « Etude de l'effet de deux probiotiques de *Lb.plantarum* sur les paramètres zootechniques, sanguins et la flore endogène du lapin local ».

Nous avons divisé ce travail en deux parties :

Une étude bibliographique qui va faire les points de connaissance sur les bactéries lactiques, les probiotiques, les entérobactéries et enfin la physiologie du lapin.

La deuxième partie expérimentale dans laquelle nous établirons des profils d'identification de quatre souches lactiques et huit entérobactéries (*Salmonella* et *E.coli*), par la suite on passe à l'étude des interactions « *in-vitro* » entre les GRAM<sup>+</sup> et GRAM<sup>-</sup> et pour finir cette partie, suivre l'évolution des paramètres zootechniques, sanguins et les flores endogènes du lapin local après administration de deux probiotiques de *Lb.plantarum* 0021 et CHT25.



# Partie

# I

## *Partie bibliographique*

### Chapitres

- ⊕ **Les bactéries lactiques.**
- ⊕ **Les probiotiques.**
- ⊕ **Les entérobactéries.**
- ⊕ **La physiologie du lapin.**

# Chapitre I

## Les bactéries lactiques

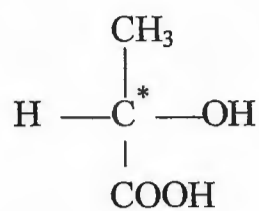
---

- ☞ Notions générales sur les bactéries lactiques.
- ☞ Rôle et actions des bactéries lactiques.

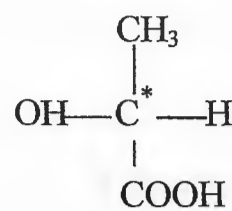
### I.1. Définition.

Les bactéries lactiques ont été décrites pour la première fois par Orla.Jensen au début du siècle. Ils constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. [24].

Une bactérie lactique est capable d'excréter l'acide lactique D(-), L(+) ou DL. [19]



**Lévogyre D(-)**



**Dextrogyre L(+)**

**Figure.01 : Différents isomères de l'acide lactique. [28] .**

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. [11].

### I.2. Caractères généraux.

Ce sont des bactéries à Gram positif, toujours ou presque immobiles, et asporulées. Les bactéries lactiques sont classées dans la famille des *Lactobacteriaceae*, et répondent aux caractéristiques suivantes : [11].

- ☞ Ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase) ;
- ☞ Donnant une réaction de l'oxydase négative ;
- ☞ Nitrate réductase négative ;
- ☞ Elles sont dépourvues de cytochromes, étant incapable d'effectuer la synthèse du noyau HEME de porphyrines, de ce fait elles sont incapables de respirer mais peuvent seulement effectuer un métabolisme fermentaire ;
- ☞ Anaérobies ou aérotoles, uniquement capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose ;
- ☞ Leurs capacité de biosynthèse sont très faibles, elles possèdent de ce fait une exigence élevée en facteurs de croissance : acides aminés, bases nucléiques, acides gras, les vitamines surtout du groupe B. [28] .

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

▪ **Homofermentaire.**

Dans laquelle, l'acide lactique est le seul produit du métabolisme excrété à partir du substrat, par la voie d'Embden-Meyerhof Parnas. [11].

▪ **Hétérofermentaire.**

Conduisant à l'acide lactique en mélange avec d'autres produits d'excrétion comme le CO<sub>2</sub>, l'acide acétique, l'éthanol...selon les bactéries considérées.

Par l'utilisation de la voie de Dickens-Horecker et Enter-Doudoroff [11].

**I.3. Classification des bactéries lactiques. [37].**

On distingue les groupes suivants :

- Le genre *Lactobacillus*.
- Les genres *Lactococcus* ,et *Streptococcus*.
- Les genres *Pediococcus*.
- Les genres *Leuconostoc*.

Les principales caractéristiques de ces genres sont présentées dans le tableau suivant :

**Tableau.01 : Caractéristiques des genres de bactéries lactiques. [11].**

Genre	Morphologie	Fermentation	T°opt	NB espèces
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétérofermentaires	Thermophiles ou Mésophiles	G I : 23 G II : 16 G III : 22
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles Ou Mésophiles	19
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Thermophiles Ou Mésophiles	7
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25
<p><b>T° Opt</b> : température optimale de développement</p> <p><b>NB espèces</b> : nombre des espèces connues</p> <p><b>G</b> : groupe</p>				

Seuls les *Lactobacillus*, les *Enterococcus*, les *Streptococcus* et éventuellement les *Lactococcus* sont utilisés comme probiotique en alimentation animale et humaine. [29] .

**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 4,5-6,4 mais s'arrête à pH 4,0-3,6. La classification remaniée par KANDLER et WEISS, les subdivise en 3 groupes selon leur type fermentaire : [10] .

❖ **Groupe I :**

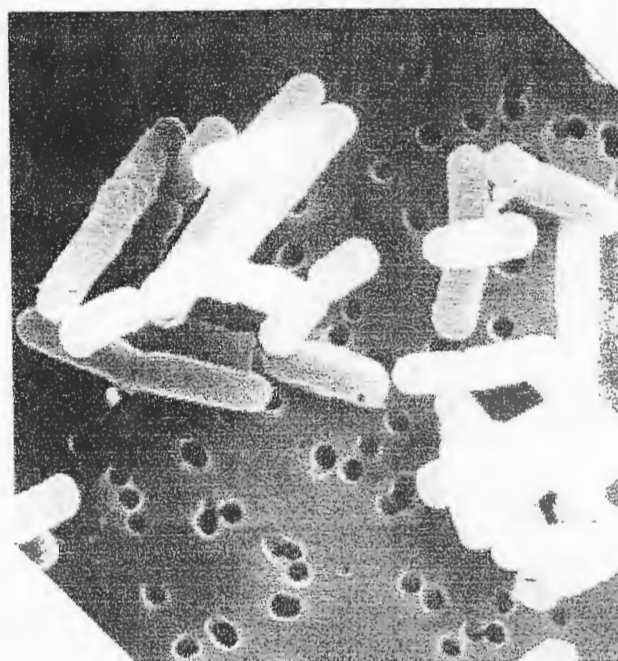
Anciennement appelé *Thermobacterium*. Ces bactéries ont un métabolisme strictement homofermentaire. Elles se développent à 45°C, mais pas à 15°C. [29] .

❖ **Groupe II :**

Anciennement appelé *Streptobacterium*. Ce groupe comprend des espèces à métabolisme hétérofermentaire facultatif. [10] .

❖ **Groupe III :**

Anciennement appelé *Betabacterium*. Ces espèces ont un métabolisme strictement hétérofermentaire. [29] .



**Figure.02 : La forme des *Lactobacillus*. [44] .**

Le tableau №2 regroupe les critères différentiels entre les groupes de genre *Lactobacillus*.

Tableau.02 : Les critères différentiels entre les groupes de genre  
*Lactobacillus*. [10] .

Caractéristiques	Groupe I	Groupe II	Groupe III
	Homofermentation obligatoire	Hétérofermentation facultative	Hétérofermentation 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 <sub>2</sub> à partir du glucose	-	-	+
CO <sub>2</sub> à partir du gluconate	-	+a	+a
Présence de FDP aldolase	+	+	-
Présence de phosphokétolase	-	+b	+
a : quand c'est fermenté	<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. brevis</i>
b : induit par les pentoses	<i>Lb. delbruekii</i>	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. buchneri</i>
Lb : <i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. fermentum</i>
DFP : Fructose 1,6- Diphosphate	<i>Lb. salivarius</i>	<i>Lb. sake</i>	<i>Lb. reuteri</i>

### I.3.1.1. Étude de 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 *Lb. plantarum* peut synthétiser une catalase si le milieu contient un dérivé hématinique (milieu au sang).

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  $\alpha$  glycérophosphate oxydase. [10] .

*Lb. plantarum* peut libérer de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à partir du lactate dans un milieu où le glucose est épuisé. [10] .

Le tableau.N°3 rassemble quelques caractéristiques biochimiques *Lb. Plantarum*.

Tableau.03 : Quelques propriétés biochimiques de *Lb.plantarum*. [10] .

Caractéristiques	<i>Lb.Plantarum</i>
Croissance à 45°C	-
Peptidoglycane	-
Acide lactique	DL
Nitrate réductase	±
<b>Fermentation du :</b>	
Ribose	+
Arabinose	±
Mannitol	+
Sorbitol	+
Raffinose	+
Mélibiose	+
Saccharose	+
Maltose	+
lactose	+

+ : test positif, - : test négatif, ± : variable.

#### I.4. Identification des bactéries lactiques.

##### I.4.1. Moyens utilisés pour l'identification. [15] .

- ☞ Pouvoir hémolytique et le sérogroupage : les *Streptococcus*, et *Enterococcus*.
- ☞ Croissance en conditions extrêmes de sel (6,5% et 4%) ou de T° (50°C) *Pediococcus*, *Tetragenococcus*.
- ☞ La dégradation de l'arginine.
- ☞ Production de dextrane, plus l'isomère de l'acide lactique.
- ☞ Galerie biochimique : on pourra utiliser la galerie de Sherman ancestrale avec :
  - ✓ Un bouillon Glucose tamponné (lyse par la bile).
  - ✓ Un bouillon Glucose tamponné hypersalé.
  - ✓ Lait au bleu de méthylène.
  - ✓ Un bouillon Glucose tamponné 45°C, 10°C (culture à différentes températures).

**I.6. Action des bactéries lactiques.**

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. [1].
- **Un rôle négatif** : il se traduit essentiellement par l'altération des denrées concernées, qu'elles soient ou non fermentées. [1].

**I.7. Rôle des bactéries lactiques dans la production de facteurs antimicrobiens.****I.7.1. Rôle de l'acide lactique et du pH. [2].**

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

Parmi les bactéries non lactiques, rares sont celles qui peuvent croître à des valeurs de pH inférieurs à celles obtenues avec les germes lactiques. Ainsi une bonne acidification lactique entraîne une inhibition de la croissance de *Escherichia.coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella* et des *Clostridium*.

L'abaissement du pH dû à l'accumulation d'acides organiques, acides lactiques et acétiques essentiellement, est le principal facteur à l'origine de ces inhibitions.

**I.7.2. Production de bactériocines.**

Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés, par un très grand nombre de souches de bactéries lactiques. Ils sont généralement thermorésistants inhibiteurs d'autres germes microbiens.

Les bactériocines sont bactéricides mais la nisine est souvent un sporostatique ou un bactériostatique. Beaucoup de bactériocines sont en fait bactériostatiques dans leurs applications alimentaires. [10].

Les bactériocines des bactéries lactiques sont réparties selon leur structure chimique en 4 classes dont les principales sont illustrées dans le tableau suivant :



Tableau.04 : Les principales bactériocines de *Lb. plantarum*. [2] .

Organismes Producteurs	Bactériocines	Spectre d'activité	Caractéristiques
<i>Lb. plantarum</i>	Plantaricine A	<i>Lb. plantarum</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i> <i>Lc. lactis</i> <i>Ec. faecalis</i>	8 KDa. Stable 30 min à 100°C Active de pH 4 à 6,4
<i>Lb. plantarum</i>	Plantaricine S,T	<i>Cl. tyrobutyricum</i> <i>Ec. faecalis</i>	2,5 KDa
<i>Lb. plantarum</i>	Plantaricine C19	<i>Listeria</i> . <i>B. coagulans</i> <i>Enterococcus</i> <i>Pc. pentosaceus</i> <i>St. aureus</i>	3,5 KDa thermostable. Stable aux pH acide
<i>Lb. plantarum</i>	Plantacine B	<i>Ln. mesenteroïdes</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Pc. damnosus</i>	Sensible aux protéases, lipases, amylase
<i>Lb. plantarum</i>	Bactériocine	<i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Pediococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Streptococcus</i>	Sensible aux protéases, lipases, amylase. Stable 30min à 100°C. Plasmidique

### I.7.3. Composés divers.

Le diacétyl produit par nombre de bactéries lactiques, est un inhibiteur actif contre de nombreux micro-organismes : bactéries ou moisissures. [9] .

L'action inhibitrice est accrue en milieu acide, les bactéries Gram négatif sont plus sensibles que les Gram positives. En plus de ça, de nombreuses souches de bactéries lactiques peuvent libérer du peroxyde d'hydrogène à des concentrations suffisantes pour provoquer leur auto-inhibition ou inhiber d'autres contaminations de leur environnement. [30] .

### II.1. La flore intestinale.

Bien des gens ne savent pas que les bactéries trouvent un terrain propice dans le corps humain. Il y a d'avantage de bactéries dans notre système digestif que de cellules dans tout notre corps, qu'on estime à environ cent billions. Leur poids total est d'environ 1,8 kilos, l'équivalent du volume du foie.

A l'instar de bien des groupes de cellules vivantes, les bactéries comptent des populations pathogènes (les mauvaises bactéries) et non pathogènes (les bonnes bactéries).

Nous sommes en général conscient de l'existence des bactéries pathogènes : nous connaissons bien la souffrance et les dommages infligés par les bactéries telles que : *Escherichia.coli* et *Salmonella Spp.* Lorsqu'elles ont libres cors dans notre corps.

Par contre, nous ne sommes pas toujours au courant du rôle que peuvent jouer les bonnes bactéries. Leur principale fonction est d'équilibrer et de neutraliser les mauvaises bactéries dominant, des problèmes de santé peuvent en résulter notamment la flatulence, les ballonnements, la toxicité intestinale, la constipation et la mauvaise assimilation des nutriments. [15] [33]

### II.2. Définition des probiotiques.

Le terme de probiotique « pour la vie » s'oppose à celui des antibiotiques « contre la vie », qui utilise des substances chimiques afin de tuer des bactéries indésirables.

Les probiotiques sont des bactéries bénéfiques, qui empêchent la croissance des bactéries indésirables. Les probiotiques sont donc des bactéries vivantes, qui ingérés en quantité convenable, ont des effets bénéfiques sur la santé, en améliorant l'équilibre microbien intestinal sont surtout utilisés les genres *Lactobacillus*, et *Bifidobacterium* qui appartiennent au groupe des bactéries lactiques. [14] [15] [33] .

### II.3. Conditions de l'utilisation des micro-organismes probiotiques. [14] •

Les probiotiques doivent remplir les conditions suivantes :

- ☉ Etre non pathogènes, et non toxiques ;
- ☉ Exercer un « effet bénéfique » sur l'hôte ;
- ☉ Contenir un nombre élève de cellules viable posséder une survie élevée dans le tractus gastro-intestinal ;
- ☉ Exercer un effet métabolique pendant le transit intestinal ;
- ☉ Rester viables pendant le stockage et l'utilisation ;
- ☉ Enfin, avoir de bonnes propriétés gustatives.

### II.4. L'intérêt des probiotiques pour les animaux.

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

Il semble, en effet exister une inadéquation à cet âge, entre l'aliment proposé et la flore intestinale, on dit alors que le servage représente un stress alimentaire pour le jeune . [32] •

De plus, des travaux indiquent une capacité à réguler la fermentation ruminale et à surmonter quelques facteurs problématiques liés à l'ingestion de concentré chez les ruminants.

Par ailleurs, on note une amélioration de l'éclosabilité des œufs des poules reproductrices « chaire ». [35].

En cuniculture, une réduction du taux de mortalité, en utilisant une association de culture de levures et bactéries lactiques a été observée. [20].

## **II.5. Propriétés et conditions d'administration des probiotiques. [44]**

### **II.5.1. Colonisation-Adhésion.**

Actuellement, il n'existe pas d'exemple qu'un probiotique ait réussi à persister durablement dans le tube digestif. 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.

A ce concept de « colonisation » est associé celui « d'adhésion », mesuré *in vitro* sur des cellules en culture, qui constitue actuellement un critère de sélection de nombreux probiotiques. Beaucoup de bactéries résidentes vivent associées au mucus du tube digestif.

Inversement le mucus est source de nutriments pour les bactéries, ce qui peut favoriser leur persistance. Cependant, ce concept colonisation/adhésion doit encore être supporté par plus de preuves, *in vivo*.

### **II.5.2. Doses.**

Plusieurs études sur souris gnotoxéniques montrent qu'une bactérie résidente a un effet sur l'hôte des 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) et ainsi un critère important pour avoir un effet, pour des doses ingérées faibles, la fréquence d'administration pourrait suivant les effets immunomodulateurs considérés, avoir un effet aditif conduisant à une stimulation mais il y a peu d'études sur ce sujet.

Il est important de signaler qu'une différence importante existe au niveau des parties hôtes de l'intestin grêle entre les bactéries résidentes et probiotiques : alors que les premières colonisent très peu ces régions ( $10^4$  à  $10^5$  g), les probiotiques vont transiter en nombre parfois supérieur à  $10^8$ . Les conséquences de cette différence quantitative ne sont pas connues.

### **II.5.3. 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 probiotique. Cette différence pourrait s'expliquer par l'induction d'un profil de cytokines variable suivant l'espèce bactérienne, avec pour conséquence une modulation différente des réponses immunes mesurées au niveau intestinal et systémique.

- ☉ Stimulation de la réponse immunologique aux germes pathogènes.

## II.7. Effets thérapeutiques ou préventifs.

### II.7.1. Malabsorption du lactose.

La malabsorption du lactose est très fréquente, et est due à une activité inexistante de la lactase. Les symptômes sont généralement les suivants ; douleurs abdominales, crampes, flatulences. Les bactéries lactiques vivantes peuvent améliorer en grande partie cette malabsorption par l'enzyme bêta-galactosidase active qu'elles contiennent [39] [40] [32] .

### II.7.2. Diarrhée, gastro-entérite.

La diarrhée peut survenir après la prise d'antibiotiques qui entraînent une perturbation de l'équilibre de la flore intestinale.

La diarrhée du voyageur, résultant d'un brusque changement d'alimentation (ou du contact avec des bactéries pathogènes) et la diarrhée infectieuse d'origine bactérienne, virale, voire parasitaire sont les formes les plus fréquentes.

Les probiotiques peuvent jouer un rôle à la fois préventif et curatif [7] [15] [41] .

### II.7.3. Syndrome du côlon irritable.

Cette maladie touche 15 à 20% de la population et se caractérise par une mauvaise motilité intestinale et une mauvaise fermentation du côlon. Cette dernière s'accompagne souvent d'une prolifération de *Klebsiella* et d'entérocoques tandis que le nombre de Lactobacilles et de bifidobactéries diminue. [22] [41] .

### II.7.4. Maladies intestinales inflammatoires.

Les deux maladies intestinales inflammatoires les plus importantes sont la recto-colite ulcéro-hémorragique et la maladie de CROHN. L'utilisation des probiotiques permet de restaurer la flore intestinale permettant à l'intestin de jouer son rôle de barrière. Ils diminuent aussi l'inflammation intestinale. [3] [2] .

### II.7.5. Cancer.

Les probiotiques peuvent prévenir le cancer par une modulation du système immunitaire et parce qu'elles empêchent la formation de substances cancérogènes. [31] [5] .

## II.8. Types de bactéries probiotiques les plus courants. [44] .

- ❖ *Lactobacillus (acidophilus, bulgaricus)* : homofermentaire, optimum : 40°C.
- ❖ *Lactobacillus (casei, plantarum)* ; hétérofermentaire facultatif, optimum 30°C-37°C.

- ❖ *Lactococcus.lactis*, *Streptococcus.thermophilus* : homofermentaire, optimum 30°C-37°C.
- ❖ *Bifidobacterium (bifidum, longum)*: hétérofermentaire stricte, optimum 30°C-37°C.

# Chapitre III

## Les Entérobactéries

---

- ☞ Généralités sur les Entérobactéries.
- ☞ *Salmonella*.
- ☞ *Escherichia.coli*.

**III.1. Définition. [19]**

Les Entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles GRAM négatif, mobiles grâce à une ciliature pérétriche ou immobiles.

**III.2. Caractères généraux.****III.2.1. Caractères morphologiques. [30] .**

Ce sont des bacilles à GRAM négatif de 2 à 3  $\mu$  m de long et de 0.6  $\mu$  m de large, les espèces mobiles grâce à une ciliature pérétriche, certains sont immobiles.

**III.2.2. Caractères culturaux. [19] .**

Les Entérobactéries se multiplient facilement sur milieu ordinaire à pH neutre, à une température de 37° C, elles donnent des colonies apigmentées lisses ou rugueuses de 1 à 3 mm de diamètre, les plus fréquemment sont : *E. coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*.

**III.2.3. Caractères antigéniques. [18].**

On distinguera surtout les antigènes O et H, plus rarement K.

- ▶ **Les antigènes O** : sont des antigènes de paroi constituées de lipopolysaccharides (lps) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou à l'acide.
- ▶ **Les antigènes H** : sont des antigènes flagellaires, constituées d'une protéine, la flagéline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.
- ▶ **Les antigènes K** : capsulaires, sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique.

**III.3. Habitat et pouvoir pathogène. [18] .**

Parmi les nombreuses espèces d'*Entérobacteriaceae*, certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autre chez les végétaux ou les animaux. Il en est qui ont un pouvoir phytopathogène. Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certaines sont constamment pathogènes d'autre espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infection chez les malades fragilisés.

Leur identification est une part importante du travail du laboratoire de bactériologie.

**III.4. Données générales sur *Salmonella* et *E.coli*.****III.4.1. Généralités sur les Salmonelles.****III.4.1.1. Historique. [30] .**

La première souche de bactérie *Salmonella* fut découverte en 1885 par un Vétérinaire américain le Dr. Daniel E. Salmon.

La bactérie *Salmonella* est un organisme unicellulaire qu'il est impossible de voir, toucher ou goûter. Les bactéries sont communes dans les intestins et les matières fécales du bétail de la volaille, des chiens, chats, rats et autres animaux à sang chaud.

#### III.4.1.2. Habitat [18] .

Ce sont des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux, ils ont été également retrouvé dans le milieu extérieur, dans les eaux d'égout, en particulier dans les farines de poissons ou poudre d'os utilisées pour l'alimentation des animaux.

#### III.4.1.3. Caractères généraux.

- **Caractères morphologiques. [24].**

Ce sont de petits bâtonnets à Gram négatif de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long et 0.6 à 0.8  $\mu\text{m}$  de large, présentant une ciliature périférique.

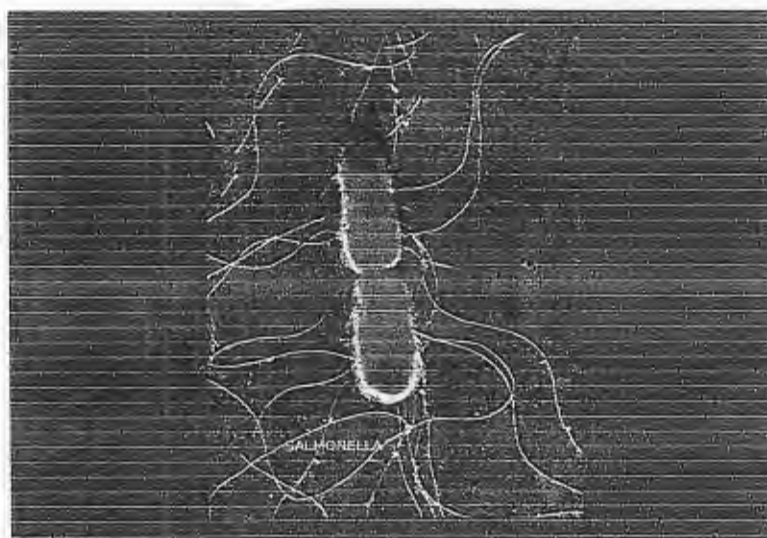


Figure. 03 : La forme bactérienne de *Salmonella*. [44] .

- **Caractères cultureux. [30] .**

Les *Salmonelles* cultivent bien sur des milieux nutritifs ordinaires et donnent en 18 à 24 heures d'incubation des colonies de 3 à 4 mm de diamètre.

- **Caractères biochimiques. [18] .**

Les principaux caractères permettant l'identification biochimiques du genre *Salmonella* sont regroupés dans le tableau suivant :



**Tableau.05: Les principaux caractères d'identification biochimique de *Salmonella*. [24]**

		<i>Salmonella</i>
Milieu de	glucose	+
Hajna-Kliger	gaz	+sauf <i>S. typhi</i>
	Lactose	-
	B-galactosidase	-
	H <sub>2</sub> S	+sauf <i>S. paratyphi A</i> et <i>S. choleraesuis</i> .
	LDC	+ sauf <i>S. paratyphi A</i>
Milieu		
Mannitol-mobilité	Mannitol	+
	Mobilité	+sauf <i>S. gallinarum</i>
	Nitratase	+
Milieu		
Urée-indole	Uréase	-
	TDA	-
	Indole	-
C.S	Citrate de simmons	+
Gly.	Ep+1% glycérol	-/(+)

+ : positif en 1ou 2 jours, (+) : positif entre 3et 7 jours, - : négatif.

#### III.4.1.4. Classification : [19] .

Actuellement, la classification des Salmonelles est basée sur les sérotypes et définit deux espèces, *Salmonella choleraesuis* (= *S. enterica*), qui est divisée en sous-espèces correspondant en gros aux groupes de KAUFFMANN : I (subsp *choleraesuis* =subsp *enterica*), II (subsp. *Salamae*), III divisé en IIIa (subsp *arizonae*) et IIIb (subsp *diarizonae*), IV (subsp *houtenae*) plus une sous-espèce IV (subsp *indica* ), et *Salmonella Bongori* ).

#### III.4.1.5. Pouvoir pathogène : [24] .

Les rapports développés par les Salmonelles avec leurs hôtes peuvent entraîner un portage sain strictement limité au tube digestif, avec des nombres excrétés par gramme de matière fécale allant de moins de 10 à plus de 10<sup>7</sup> germes de Salmonelles par gramme de

fèces, un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents. Elles provoquent également une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient.

### III.4.2. E.coli

#### III.4.2.1. Historique.

Cette espèce a été isolée pour la première fois par THOMAS ESCHERICH en 1885, *E.coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour les travaux de physiologie [18]. Elle est par excellence la bactérie des infections urinaires.

*E. coli* est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. On l'appelle communément « colibacille » pour rappeler le « bacille » du côlon. [18]

#### III.4.2.2. Habitat. [18]

Elle est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif présente à raison de  $10^7$  à  $10^9$  cellule bactérienne par gramme de selles

#### III.4.2.3. Caractères généraux.

- **Caractères morphologiques. [19]**

- Les *Escherichia.coli* sont des bacilles Gram négatifs de 1 à 5 $\mu$ m de long et 0.3 à 1 $\mu$ m de large, formé d'une paroi, d'un cytoplasme, d'un noyau, de flagelles et de pili .



Figure.04 :La forme bactérienne d'*Escherichia.coli*. [44] .

- **Caractères cultureux. [18] .**

*E.coli* se développe en 24h à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes lisses, à bords réguliers de 2 à 3mm de diamètre, non pigmentées, sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques.

- **Caractères métaboliques.**

- a. **Principaux caractères positifs.**

Indol +, B- galactosidase+, mannitol+. [24] •

Principaux caractères positifs de façon moins constante.

lysine décarboxylase, ornithine décarboxylase, l'arginine dihydrolase, sorbitol, production de gaz lors d'attaque du glucose. [18]

- b. **Caractères toujours négatifs.**

Tryptophane désaminase, voges-proskauer, urée gélatinase, citrate de Simmons, inositol, H<sub>2</sub>S.

- **Les antigènes. [18] [19].**

Chez *E.coli*, on distingue :

- **Les antigènes O** : somatiques ou lipopolysaccharidique, ils comprennent 180 types antigéniques, détectables par agglutination. Thermostables, alcoolostables.
- **Les antigènes K** : capsulaires, polysaccharidiques environ 93 antigènes ont été reconnus.
- **Les antigènes H** : flagellaires ou protéiques, ils sont thermostables et détruits par l'alcool.

### III.4.2.4. Les facteurs de pathogénicité.

- a-**Les adhésines ou antigènes d'adhésion.**

Ce sont des structures filamenteuses « pili » d'autre protéique, qui entourent le corps bactérien à la manière d'une fourrure, elles possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales. Elles sont codées par des plasmides transférables. [19].

- b-**Les entérotoxines :**

Les souches E.T.E.C peuvent en produire 2 types :

L'entérotoxine LT qui est thermolabile inactivée a 60°C, proche de la toxine cholérique. l'entérotoxine ST thermostable, les cytotoxines SLT1, SLT2. ces sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes, on les appelle encores : viro-toxines. [19].

### III.4.2.5. Les infections causées par *E.coli*

Les principales infections causées par *E.coli* sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau.06 : Les principales infections causées par *Escherichia.coli*. [24]

<p><b><u>Infections intestinales</u></b></p> <p><i>E.C.E.T</i> : <i>E. coli</i> entérotoninogènes : diarrhée des voyageurs.</p> <p><i>E.C.E.P</i> : <i>E.coli</i> entérotoxigènes : gastro-entérites infantiles.</p> <p><i>E.C.E.I</i> : <i>E.coli</i> entéroinvasifs : syndromes dysentériques.</p> <p><i>E.C.E.H</i> : <i>E.coli</i> entérohémorragiques : colites hémorragiques.</p> <p><b><u>Infections extra-intestinales</u></b></p> <p>Infection de l'arbre urinaire : cystites, pyélonéphrites.</p> <p>Infections para intestinale : - Apendicites - Cholécystites. - Péritonites.</p> <p>Septicémies, méningites, infections ostéo / articulaires.</p>
---

La figure suivante illustre l'évolution cliniques de l'entérocolite hémorragique due à *E.coli* 0157 :H7.

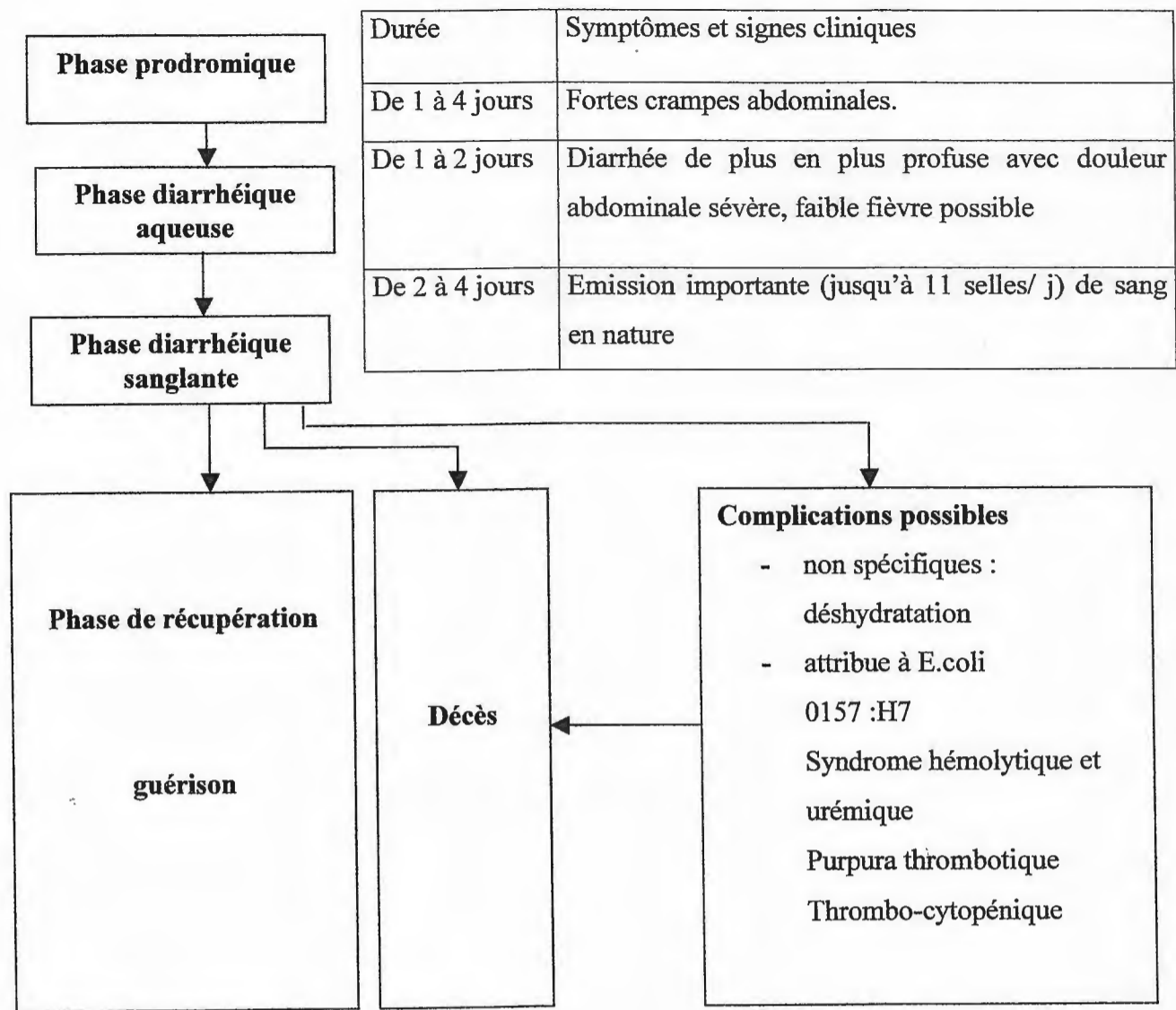


Figure.05 : L'évolution clinique de l'entérocolite hémorragique due à *E.coli* 0157 :H7. [24]

# Chapitre

# IV

## Physiologie du lapin

---

- ☞ Physiologie digestive du lapin.
- ☞ Paramètres sanguins.
- ☞ L'influence du probiotique sur la flore intestinale du lapin.

## IV.1. Rappels de physiologie digestif.

### IV.1.1. Caecotrophie.

La principale particularité physiologique du lapin est la caecotrophie, c'est-à-dire l'alternance au cours d'une journée de l'émission de caecotrophie ou crottes molles qui sont réingérées par l'animal et l'émission des excréments « normaux » qui sont rejetés à l'extérieur avec les crottes dures. [25] •

Le côlon proximal a un fonctionnement dualiste. En effet, si le contenu caecal s'engage dans le côlon au début de la matinée, il y subit peu de transformations biochimiques et il y a fabrication des caecotrophes, si par contre le contenu caecal s'engage dans le côlon à un autre moment de la journée son sort est différent. [25] •

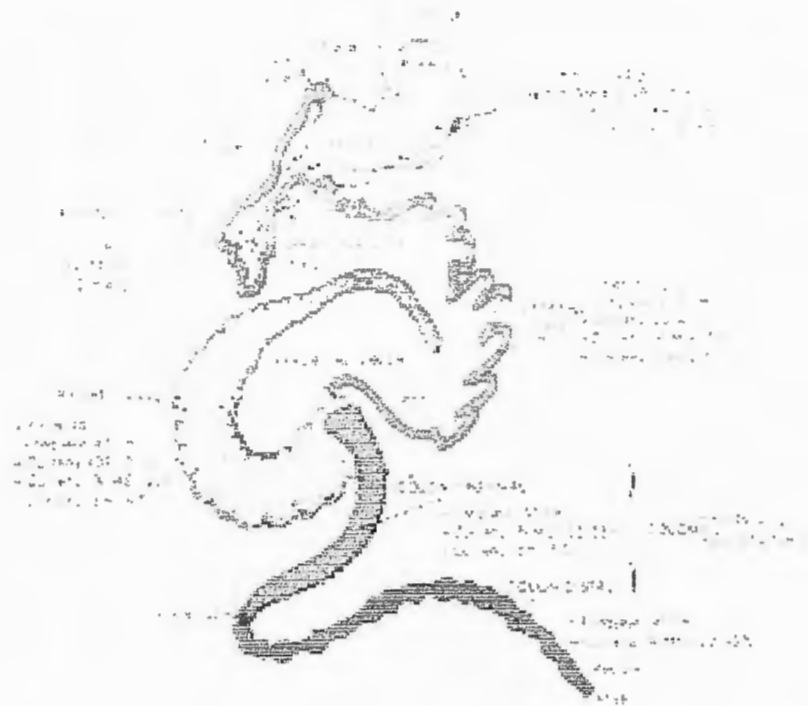
Lorsqu'il y a peu de grandes particules dans le côlon au moment de la fabrication des crottes dures, le refoulement vers le caecum fonctionne à son maximum. Le temps de séjour moyen dans le caecum s'accroît et avec lui le transit dans l'ensemble du tube digestif. [25] •

Mais cet allongement du temps ne favorise pas les bactéries qui fabriquent les acides gras volatiles à partir de la cellulose, de l'hémicellulose mais aussi des glucides fermentescibles. [25].

A l'inverse, les bactéries capables de trouver leur énergie dans le radical carboné des acides aminés sont dans un milieu favorable riche en protéines, et pour utiliser cette source d'énergie, ces bactéries éliminent dans le milieu, le radical « amine » sous forme d'ammoniaque. [25] •

Or si d'autres bactéries sont capables de resynthétiser des protéines à partir de l'ammoniaque, elles ont besoin de trouver des sucres fermentescibles pour leur fournir de l'énergie. L'élévation du pH favorise donc la production d'ammoniaque qui peut intoxiquer les animaux mais il favorise aussi le développement des colibacilles qui peuvent sécréter différentes formes de toxines. [25] •

Il est donc nécessaire de rappeler que tous les facteurs susceptibles de perturber le déroulement normal de la caecotrophie favorisent les troubles digestifs. Il s'agit aussi bien du choc thermique ou sonore que de la qualité de l'est présent dans l'aliment. [32] •



**Figure.06 : Schéma des différents éléments du tube digestif du lapin. [27]**

#### IV.1.2. La flore cœcale chez lapin.

La flore intestinale du lapin apparaît comme une exception dans l'échelle animale. Dès la naissance, la flore s'établit très irrégulièrement. [32] .

- 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. [43].

Le lapin abrite une flore microbienne sous-dominante constituée de *Enterococcus* et *Esherichia.coli*, les *Clostridis*, les *Staphylocoques*, *pseudomonas sp.*, *proteus sp.*, ainsi que divers champignons appartenant à la flore résiduelle. [23] .

Tout déséquilibre du rapport optimal « flore sous- dominante » sur « flore résiduelle » favorise, chez les animaux d'élevage fragilisés par une somme croissante de stress et une altération des performances.

Lorsque survient parfois une domination des germes pathogènes occasionnels, il s'en suit alors une infection intestinale entraînant la mort. [23] .

La flore intestinale normale du lapin est constituée à 90% de bactéries anaérobies strictes ou facultatives, homo ou hétérofermentaires, telles que les bactéroïdes.

La flore secondaires représentant les 10% restant est composée de *E.coli* et des *Entérocoques*, les *Clostridium* et *Staphylocoques*, ...etc. ne représentent pas plus de 0.01% de



la flore. Si la flore secondaire augmente aux dépens de la flore principale, alors l'animal tombe malade. [23].

#### IV.1.3. Paramètres sanguins.

##### IV.1.3.1. Données hématologiques. [26] .

Un ordre de grandeur des valeurs hématologiques rencontrées chez un lapin adulte, puis au cours d'un cycle de reproduction.

Au cours de la croissance le lapereau part de valeur beaucoup plus basses. Ainsi, à 28 jours de gestation un lapereau n'a que 2.4 millions de globules rouges par mmi, contre 5.2 en moyenne chez l'adulte. De même, le nombre de leucocytes (0.4 milliers \ mmi) n'est que le dixième de celui de sa mère au même moment (3.8 milliers \ mmi).

##### III.1.3.2. Données biochimiques. [26] .

La teneur du sang en différents éléments varie significativement en fonction du cycle de reproduction ou de l'âge des animaux. Les valeurs observées à 120 jours peuvent être considérées comme représentatives de celles de l'adulte. La majorité des autres éléments, les valeurs sont beaucoup plus constantes.

Le tableau suivant illustre quelques composantes sanguines relativement stables au cours de la croissance, moyenne  $\pm$  écart-type.

**Tableau.07 : Quelques composantes sanguines relativement stables au cours de la croissance. [26] .**

Paramètres et unité	Valeurs	Paramètres et unité	valeurs
Glucose (mmol/L)	7,3 $\pm$ 0,6	Chlore (mmol/L)	100 $\pm$ 3
Triglycérides (mmol/L)	0,75 $\pm$ 0,04	Aspartate aminotransférase (U/l)	18,5 $\pm$ 3,2
Magnésium (mmol/L)	1,01 $\pm$ 0,01	Alanine aminotransférase (U/l)	25,5 $\pm$ 6,5
Sodium (mmol/L)	144 $\pm$ 5	Lactate déshydrogénase (U/l)	220 $\pm$ 27
Potassium (mmol/L)	4,5 $\pm$ 0,4		

#### IV.2. Influence du probiotique sur la flore cœcale.

Les probiotiques utilisés pour le lapin sont des souches vivantes de bactéries Lactobacilles, Streptocoques, et bacilles qui par leur action sur la flore intestinale permettent de limiter les diarrhées chez les lapereaux et obtenir une meilleure croissance même en absence de troubles digestifs. [32] .

Leur présence permet une diminution du pH du tractus digestif et ils secrètent aussi différentes substances qui limitent ainsi la prolifération anarchique de colibacilles, *Clostridium*, ...etc., et *E. coli* qui apprécie un milieu plus basique. [23] .

Par ailleurs, ont révèlè que le nombre relativement important de *Streptococcus faecium* ingéré (120 millions/ g) dans l'aliment permet . [23] .

- D'abaisser ou d'inhiber les bactéries de la flore secondaire susceptible d'envahir le tube digestif du lapin.
- De provoquer un stimulus, sur la muqueuse intestinale en activant le mucus protecteur.

Le mucus secrète en continu exerce un effet antagoniste au développement de la flore secondaire.

### **IV.3. Effets sur les performances du lapin.**

#### **IV.3.1. Performance de croissance.**

La restauration et le maintien de l'équilibre de la micro flore intestinale, intéresse directement l'alimentation animale, car les probiotiques vont intervenir pour une utilisation, et par conséquent, une augmentation de la croissance. [23] .

La limitation des diarrhées chez le jeune et par leurs activités métaboliques (sécrétion d'enzymes, production d'acides aminés, de vitamines), les probiotiques permettent une meilleure croissance du lapereau. [32] .

#### **III.3.2. La mortalité et l'effet du probiotique.**

La période la plus critique de la vie d'un lapin est constituée des quelques semaines suivant son servage, une mortalité de 26-27% est habituellement rencontrée , car la séparation de la mère, le transport, le nouveau logement et le changement d'alimentation, désormais solide, sont d'importants facteurs de stress pour l'animal, terminés généralement par des troubles digestifs. [23] .

Les troubles digestifs, chez le lapereau sont dus principalement à un dérèglement de la flore intestinale qui est à l'origine des entérites. [33] .

D'autre part, ont montre que l'orsqu'apparait une pathologie digestive, un pourcentage des mortalités aux alentours de 20 à 40% du lot atteint est enregistré. [43] .

#### **III.4. Amélioration de la digestibilité.**

D'après les résultats obtenus par LACZA-SZABO et *al.*,(1990), il y a une amélioration de la digestibilité de la cellulose brute en présence de *Streptococcus faecium*, présumée par l'effet positif de la multiplication des bactéries cellulolytiques du cæcum.

Partie

II

*Matériel et méthodes*

L'ensemble de notre étude a été réalisée au laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel, avec la coordination de laboratoire d'hygiène pour l'évaluation de quelques paramètres sanguins.

Ce présent travail couvre les principaux objectifs, qui sont les suivants :

- Revéification et identification de huit souches à GRAM négatif à savoir quatre : *Esherichia.coli* (E<sub>1</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>), et quatre *Salmonella* : (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>7</sub>, S<sub>9</sub>) cela d'une part, d'autre part quatre probiotique de bactéries lactiques (0021,0051,CHT25,*Lactococcus lactis*).
- Étude des interactions *in-vitro* entre les souches de bactéries lactiques et les souches d'*Esherichia.coli* et *Salmonella*, par deux techniques différents, en milieu solide, et en milieu liquide.
- Étude de l'effet du filtrat de culture des bactéries lactique sur les différentes souches entérobactéries avec qualification du contenu du filtrat de lyse.
- Étude de l'effet de deux probiotiques sur la flore endogène, les paramètres zootechniques et quelques paramètres plasmatiques du lapin local.

## II.1. Matériel.

### II.1.1. Matériel biologique.

#### a. Les souches bactériennes.

Notre travail a porté sur l'étude de 8 souches des entérobactéries isolée à partir des organes de volaille au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem et quatre bactéries lactiques isolées du beurre traditionnel de la région de Jijel. Nos souches sont codées de la manière suivantes :

Bactéries lactiques : *Lactobacillus plantarum* : 0021, 0051, CHT25, et *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 043.

- ▶ *E.coli* : E<sub>1</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>.
- ▶ *Salmonella*: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>7</sub>, S<sub>9</sub>

#### b. Lapin.

L'essai a été conduit sur seize lapereaux de population local, issus de lapines différentes dont l'élevage est traditionnel.

#### c. Probiotique.

Les cultures bactériennes utilisées comme probiotiques sont des bactéries lactique, ce sont deux biotypes de *Lb. plantarum* « BJ 0021 », et *Lb. plantarum* « CHT25 ».

### II.1.2. Produits.

#### a. Aliment.

L'expérimentation a été réalisée avec deux rations, dont la composition est consignée au tableau suivant :

**Tableau.8 : La composition des deux rations alimentaires.**

Ration I	Quantité	Ration II	Quantité
Orge	200 g	Blé	200 g
Blé	200 g	Herbe	200 g
Mais	150 g	vert(chaumeton)	
Son	200 g		
Paille	200 g		
Herbe vert	300 g		
	distribution à volonté		distribution à volonté

#### b. Les milieux de culture.

C'est le lieu où les différentes espèces bactériennes peuvent être cultivées en vue de leur isolement et identification. En fonction de la disponibilité des ingrédients de milieu de culture, on a adopté pour réaliser notre travail les milieux suivants :

- ✓ **Gélose nutritive** : pour la flore totale aérobie mésophile (voir l'annexe n°2).
- ✓ **Gélose Hektoen** : pour *Escherichia.coli*, et *Salmonella* (voir l'annexe n° 2).
- ✓ **Gélose Chapman** : pour les Staphylocoques, dont la composition est illustrée dans l'annexe n° 3.
- ✓ **Gélose Viande foie ( avec l'addition de NA+ Alain de fer )** : pour les clostridium ( annexe n° 3).
- ✓ **Gélose V.R.B.G** : pour les Entérobactéries : les coliformes totaux, et les coliformes thermotolérants ( annexe n°3).
- ✓ **Milieu de MAN ROGOSA SHARPE ( MRS )** : pour les *Lactobacillus* ( annexe n° 7).
- ✓ **Milieu M17** : pour les Streptocoques lactiques ( annexe n°7).

On a utilisé également le bouillon M17, et le bouillon nutritif ( annexe n° 4).

**c. Produits chimiques et réactifs.**

- C.C.M des sucres
  - Solvant : Méthyle,ethyl, cétone/ acide acétique/méthanol (3 :1 :1)
  - Solutions témoins : Amidon/Fructose/Galactose/ Glucose/Maltose/Saccharose (5%)
  - Révélation non spécifique : avec le réactif de Molish
  
- C.C.M des lipides
  - Solvant : éther de pétrole/éther éthylique/acide acétique (4 :1 :1)
  - Solutions témoins : acide palmitique 2% acide oléique 50µl/ml, acide linoléique 2%
  - Révélation : iode sublimé
  
- C.C.M des protéines
  - Solvant : n-butanol/acide acétique/eau (60V/20V/20V)
  - Solutions témoins : Albumine/ovalbumine (5%)
  - Révélation : Ninhydrine
  
- Coloration de GRAM
  - Violet de Gentiane
  - Lugol
  - Alcool
  - La fushine
  - Huile d'immersion : pour l'observation microscopiques
  
- Détermination de l'acidité dornic
  - Phénolphataleine 1%
  - La soude dornic (N/9)

❖ Le réactif VPI, VPIL, Rouge de méthyle, le réactif de KOVACS , les disques ONPG, disque d'oxydase ,bleu de méthylène, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, papier cellulosique(whattman), PROCAINE, eau physiologique, l'AZARUZ.

### II.1.3. Autre matériel.

On a utilisé un autre matériel pour la réalisation de notre étude et qui est le suivant :

- ❖ Spectrophotomètre, pH mètre, centrifugeuse, burette, appareil de filtration sous-vide sur disque filtrant, cuve de C.C.M, plaque de silice, lampe U.V, séchoir, étuve, bain marie, cellule malassez.

## II.2. Méthodes.

### II.2.1. Revéification et identification des souches .

Pour réaliser cette partie, on a utilisé la méthode classique [ 19 ].

La revéification de souches, consiste à réaliser des repiquages sur les bouillons nutritifs, pour des colonies bien distinctes et homogènes. Les cultures en milieu liquide sont incubées à 37° C, pendant 24h, après incubation, on a purifié par repiquage sur les milieux Gélosés HEKTOEN (*E. coli* et *Salmonella*) et MRS pour les bactéries lactiques. Après incubation, les boîte sont soumis à un examen macroscopique qui vise la taille des colonies, leurs couleurs et formes sur leurs milieux sélectifs.

#### II.2.1.1. Tests d'identification. [19] .

##### II.2.1.1.1. Examen microscopique.

Il permet d'identifier les GRAM<sup>+</sup> des GRAM<sup>-</sup> en examinant le frottis au microscope. Les bactéries qui retiennent le violet de gentiane après le lugol, l'alcool et la fushine sont dites GRAM<sup>+</sup>.

Les douze souches ont été soumis à la coloration de GRAM dont la technique est la suivante :

- ▶ On a prélevé une goutte de la suspension bactérienne puis on a étalée sur une lame.
- ▶ On a laissé sécher en flambant légèrement jusqu'au séchage complet. (fixation par la chaleur)
- ▶ La lame est recouvrir de solution de violet de gentiane, on a laissé agir 01 minute.
- ▶ on a ajouté le mordant (lugol) et on laisse agir pendant une minute.
- ▶ Décoloration de l'étalement bactérien par l'alcool-acétone jusqu'à ce que ce dernier soit incolore.
- ▶ Lavage à l'eau courante.
- ▶ La recoloration de la préparation par la fushine diluée et prête à l'emploi 01 minute.
- ▶ Rinçage abondamment, séchage et observation à l'objectif 100( à immersion ).

##### II.2.1.1.2. Recherche d'une catalase.

Les catalases sont des ferroporphyrines de poids moléculaire élevé, qui existe chez toutes les bactéries aérobie. Ils ont la propriété de décomposer l'eau oxygénée. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.

Sur une lame de verre, on a déposé une goutte d'  $H_2 O_2$ , puis on ajoute une anse du germe étudié.

Un dégagement de bulles d'oxygène, indique la présence d'une catalase.

### II.2.1.1.3. Recherche d'une oxydase.

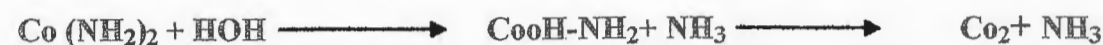
L'oxydase du cytochrome assure la fixation de l'oxygène moléculaire sur le cytochrome réduit. On la met en présence, de la di ou tri-méthyle paraphénylene. Une coloration violette apparaît, due à la formation d'indole-phényl sur une lame en verre, on a déposé un disque imprégné de solution d'oxydase, et trempé préalablement dans de l'eau distillée. On a prélevé la colonies à étudier, et la déposer sur le disque.

La présence d'oxydase se traduit par l'apparition une coloration violacée après 30 à 50 sec. Puis elle prend la coloration noire, la coloration violacée persiste pendant 15mn.

### II.2.1.1.4. Métabolisme protéique et des acides aminés.

#### a. Recherche d'uréase et la production d'indole.

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



A partir du chaque milieux gélosés contenant la culture pure, on aensemencé une ôse de culture dans le milieu urée-indole et on incubé à  $37^\circ C/ 6h$ .

Le virage de l'indicateur de pH au rouge, l'alcalinisation du milieu témoigne la présence d'une uréase. Par la suite la suite, on a ajouté 3 gouttes de réactifs d'Erlick-KOVACS le long des parois du tube, on homogénéise et on laisse reposé.

La présence d'indole se traduit, par la formation d'un anneau rouge en surface.

#### b. Recherche de l'arginine-dihydrolyse : (ADH).

L'arginine est decarboxylée en agmatine, puis hydrolysée en putrescine. On aensemencé le milieu MOELLER enrichi avec de l'arginine par une culture fraîche et on a porté à l'étuve à  $37^\circ C/ 24h$ .

L'apparition d'une couleur violette, témoigne la présence d'une ADH.

#### c. Recherche de decarboxylase pour l'ornithine (ODC) .

La decarboxylation de l'ornithine conduit au putrescine et libération de  $CO_2$ . On aensemencé ce le milieu MOELLER enrichi avec de l'ornithine par le germe à tester et on incubé à  $37^\circ C/ 24h$ . Le virage au violet indique la présence de l'ODC (la réaction est positive).

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



#### d. Recherche de la lysine-Décarboxylase (LDC).

Certaines bactéries possèdent une décarboxylase qui agit sur un acide aminé particulier la lysine, en produisant la cadaverine qui réagit avec la Ninhydrine en donnant une coloration violette.

On aensemencé le milieu MOELLER enrichi de la lysine par une öse de culture, puis on incube à 37°C/ 24h.

La présence d'une LDC se traduit par une coloration violette.

#### II.2.1.1.5. Utilisation de citrate de SIMMONS .

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 révélé par le virage de l'indicateur coloré du vert au bleu.

On aensemencé le milieu citrate de SIMMONS en surface par stries longitudinale. Les tubes sont incubés à 37°C/ 24h.

Le développement bactérien s'accompagne avec le virage du couleur du vert au bleu qui indique la présence d'une citrate-perméase.

#### II.2.1.1.6. Métabolisme glucidique .

##### a. Attaque du mannitol :( Mannitol-mobilité).

Le mannitol est un produit dérivé du D-mannose. Sa dégradation est comparable à celle du glucose, et conduit à la formation d'acide à chaînes très courtes. Le milieu mannitol-mobilité permet d'étudier, outre la dégradation du mannitol, la mobilité des germes, et la présence d'une nitrate réductase. On aensemencé les tubes du milieu mannitol-mobilité par piqûre centrale avec les souches à étudier, que l'on incube à 37°C/24h.

La fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune, dans le cas contraire, le milieu garde sa couleur initiale.

Les germes mobiles diffusent à partir de la strie d'ensemencement, en créant un trouble du milieu. Les bactéries immobiles cultivent uniquement le long de la strie d'ensemencement.

##### b. 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, acidifié de plus en plus le milieu. Le milieu estensemencé par piqûre centrale dans le culot, suivi par des stries superficielles sur la pente du milieu, après incubation à 37°C/24h, on fait la lecture :

- ❖ glucose fermenté : le culot vire au jaune.
- ❖ Production de gaz, se traduit par la formation de bulles de gaz dans la masse du milieu et contre les parois, ou une poche gazeuse repoussant la totalité du milieu vers le haut.
- ❖ Lactose est fermenté : la pente vire au jaune.
- ❖ Les péptones et les acides aminés sont dégradés, la pente vire au rouge.

- ❖ Production du sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ) au dépens des acides aminés à radical
- ❖ soufre : la pente et le culot sont noirs.

### c. Recherche d'une B-galactosidase ( ONPG ).

Pour que le lactose soit attaqué par une bactérie, il faut qu'il pénètre dans la cellule microbienne. Cette pénétration va dépendre d'une enzyme lactose perméase, une autre enzyme intracellulaire B-galactosidase catalysant la scission du lactose en glucose et galactose au niveau de la liaison B-galactosidase. On a commencé par la préparation d'une suspension dense d'une culture bactérienne dans 0.5ml d'eau physiologique ( NaCl 9%).

Après, on a ajouté le disque ONPG. L'incubation se fait à 37°C/24h.  
La solution devient jaune, si la bactérie possède une B-galactosidase.

### d. Recherche des dérivées de l'acide pyruvique sur milieu Clark et lubs.

Le but de ce test, rechercher la production d'acétoïne à partir de la fermentation du glucose, ce métabolisme glucidique est mis en évidence par deux réactions :

#### ▪ Réaction au rouge de méthyle (R. M).

La réaction au rouge de méthyle permet de caractériser la fermentation acide mixte. Que se soit en aérobiose ou en anaérobiose, on obtient à partir de l'acide pyruvique des acides organiques à courtes chaînes.

Lorsqu'ils sont produits, ces acides organiques maintiennent le pH de la culture à un degré suffisamment bas pour que le rouge de méthyle garde sa coloration rouge (pH inférieur à 5).

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

- ▶ La réaction positive : coloration rouge, le milieu est acide avec un pH < 5.6.
- ▶ La réaction négative : coloration jaune, le milieu alcalin, et le pH > 7.

#### ▪ Réaction de voges-proskauer (V.P ).

La réaction de voges-proskauer permet de caractériser la présence d'acétyl-méthyl-carbinol ou acétoïne qui est un corps intermédiaire dans la formation du butylène glycol (= 2.3. butane diol ).

On a ajouté 0.5ml V.PI ( 0.5 ml d' $\alpha$  - naphthol à 6% dans l'alcool absolu ), et 0.5ml VpII ( 0.5ml d'une solution de potasse à 15% d'eau distillé ) au 3ml de la culture sur milieux Clark et Lubs.

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

### II.2.1.1.7. Profil fermentation des sucres.

Le test permet d'apprécier la capacité des souches à fermenté quelques sucres (rhamnose, raffinose, mélibiose, arabinose, dulcitol, adonitol). Ce test est réalisé sur milieu MEVAG (milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides) dans les tubes à essai. Pour réaliser ce test, on a ajouté au milieu fondu et refroidi à 37°C, quelques gouttes (5 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 positif.

### II.2.1.1.8. Tests supplémentaires pour l'identification des bactéries lactiques.

#### a. Test de croissance à différentes températures.

Nous avons incubé des tubes contenant le bouillon M<sub>17</sub> avec les milieux pures. L'incubation dure 24 et 48 heures aux températures 15°C - 40°C et 45°C. au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen du milieu. Les bactéries lactiques mésophiles poussent à 10°C, alors que les bactéries thermophiles ne le font pas.

#### b. Test de croissance en milieux hostiles .

##### ❖ Le lait de SHERMAN .

Ce test donne l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène. Pour obtenir un lait 0.1% de bleu de méthylène, on a ajouté au moment de l'emploi à 9ml de lait stérilisé en tube, 1ml de bleu de méthylène à 1%, stérilisé 20minutes/ 120°C. ce test est surtout intéressant pour différencier les *Streptococcus* et les *Lactococcus*.

On a refait le teste avec 0.3% de bleu de méthylène. On a ensemencé le lait à 0.1% et 0.3% de bleu de méthylène pour les 4 souches lactiques et on incube à 37°C/ 24h. La lecture consiste à apprécié, la réduction du bleu de méthylène avec ou sans coagulation du lait.

##### ❖ Le bouillon hypersalé .

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux pour l'identification. Pour cela on a préparé des milieux à 4% et 6.5% de NaCl. Les quatre souches lactiques à tester sont inoculés dans les deux milieux et incubés à 37°C/24h.

La croissance est appréciée par apparition de trouble, seul les Streptocoques fécaux poussent à 6.5% de NaCl.

#### c. Recherche de la réductase .

Pour réaliser le test, on a préparé des tubes contenant du lait écrémé à pH=7. additionné de teinture de tournesol de façon à obtenir une coloration bleu. Après ensemencement des tubes par les germes à tester, on incube à 37°C/ 24h. Les Lactocoques proprement dits réduisent le tournesol avant de coaguler le lait.

#### d. Recherche du type fermentaire .

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation de gaz ( CO<sub>2</sub>). Le test est réalisé sur le milieu de GIBSON-ABDELMALEK , qui est préparé au préalable.

On aensemencé le milieu de base préalablement fondu, et en laisse refroidir. L'incubation est fait à 37°C/ plusieurs jours après avoir coulé en surface un bouchon de gélose blanche stérile.

Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose.

Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse au contraire le bouchon de gélose vers le haut du tube.

### II.2.2. Interactions bactériennes [41].

#### II.2.2.1. Interactions sur milieu solide.

Pour mettre en évidence ces interactions, on a utilisé deux méthodes : Méthode de Fleming et *al.*, (1975) et Hardy (1987) : les bactéries lactiques sontensemencées en touches par un clou stérilisé en surface de la gélose MRS, lorsque les dépôts sont secs, on couvre la culture avec 07ml de la gélose HEKTOEN contenant 0.5ml d'une culture d'*E.coli* ou *Salmonella*.

Les boites sont incubées à 37°C/ 24h, (le croisement inverse a été réalisé).

Méthode modifiée de Fleming et *al.*, (1975) : par manque de multipoint approprié à la technique sus-cité, on a utilisé le principe de l'antibiogramme sur milieu solide.

Après avoir couler et solidifier les milieux de culture, on a pris 1ml de la culture, puis on aensemencé par inondation la gélose correspondante , on laisse sécher, puis avec une pince stérile, on déposé les disques imbibés de cultures différentes de la précédente à la surface du milieu.

Après incubation à 37°C/ 24h, on a déterminé le diamètre des zones d'inhibitions.

#### II.2.2.2. Interaction en milieu liquide . [41] .

Les bactéries lactiques et les entérobactéries ont étéensemencées respectivement sur bouillon M<sub>17</sub> et bouillon nutritif. Après incubation à 37°C/ 6h ( phase exponentielle), l'interaction entre les lactiques et les entérobactéries est réalisée sur bouillon M<sub>17</sub> par ensemencement de souches ( lactique/ *E.coli* et lactique/ *Salmonella*) à raison de 1ml/ 1ml, (v/v) . la croissance est contrôlée par la lecture de la D.O à 660nm chaque 2h d'incubation. A noté que les courbes de croissance des lactiques ont été réalisées on appliquant la même technique sus-citée ( technique spectrale) à même longueur d'onde.

### II.2.3. Effet de filtrat de lyse cellulaire des lactiques sur les Entérobactéries.

#### a. Technique de récupération du filtrat de lyse . [36] .

Le bouillon M<sub>17</sub> étaitensemencé par les bactéries lactiques et incubé à 37°C durant 6h. après incubation, on a réalisé la congélation pendant 6h, suivie d'une décongélation à la

température ambiante. Pour l'obtention d'une bonne lyse du contenu, on a répété les deux procédés. Puis, on a centrifugé le bouillon décongelé, pendant 15mn, pour une vitesse de 40.00 tour/ 1mn. Une filtration sous vide, sur papier whattman n° 4 a été réalisée.

#### b. Test d'interaction.

On a fondu la gélose Hektoen et laisser refroidir, on l'ensemence par inondation puis on laisse séché dans l'incubateur. Après on a imbibé les disques par le surnageant, et on a déposé ces derniers en surface de la gélose.

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition après incubation à 37°C/ 24h.

#### II.2.4. Qualification du contenu de filtrat de lyse. [36] .

On a réalisé une série de chromatographie d'adsorption sur couche mince, dont l'objectif est de déterminer la nature protéique, glucidique et lipidique à partir de surnageant des souches de bactéries lactiques.

##### a. Mode opératoire.

- ✓ Préparation de chromatogramme : on a préparé une feuille de sélice 21cm x 25 par la suite,  
On a tracé une ligne de dépôt à l'aide d'un crayon à environ 2.5 à 3 cm du bord de la feuille : on indique les points correspondant à l'emplacement des sucres, des protéines ou des lipides à des distances égale à 2 cm.
- ✓ On a déposé l'échantillon à l'aide de la micropipette, il faudrait 3 gouttes pour chaque dépôt, en séchant après chaque goutte à l'aide d'un séchoir à air chaud.
- ✓ On a placé la feuille dans la cuire à chromatographie, contenant le mélange ( solvant) à une hauteur de 1 à 1.5 cm.
- ✓ On a recouverts, pour le suivi de développement du chromatogramme.
- ✓ Le séchage du chromatogramme à l'air.
- ✓ La révélation se fait par pulvérisation du réactif révélateur, puis séchage à l'étuve à 105°C pendant 10 mn.

##### b. Composition protéique.

La phase mobile est un mélange : n-butanol/ acide acétique/ eau ( 3 :1 :1), et révélée par la ninhydrine. Les témoins étalons étaient : albumine/ ovalbumine (5%).

##### c. Composition glucidique.

La plaque de silice est développée par le solvant suivant : Méthyle-éthyl- cétone/ méthanol/ acide acétique (3 :1 :1), et révélée par le réactif de Molish. Les témoins étalons : amidon/fructose/galactose/glucose/maltose/saccharose (reconstitué à 3%).

#### d. Composition lipidique

pour la détermination de la nature lipidique, on a utilisé comme solvant : éther de pétrole / éther éthylique / acide acétique (4 : 1 : 1), le révélateur est l'Iode sublimé. On a utilisé comme solution témoins : acide palmitique 2% / acide oléique 50µl / ml / acide linoléique 2%.

### II.2.5. Etude *in-vivo*

#### II.2.5.1. Préparation du lapin .

Dans le cadre de l'étude *in-vivo*, on a utilisé 16 lapereaux, qui sont distribués équilibrément en trois lots : selon le sexe ( males/ femelles ), et le poids de chaque individu dont chaque cage porte les dimensions suivantes : 110cm x 100cm.

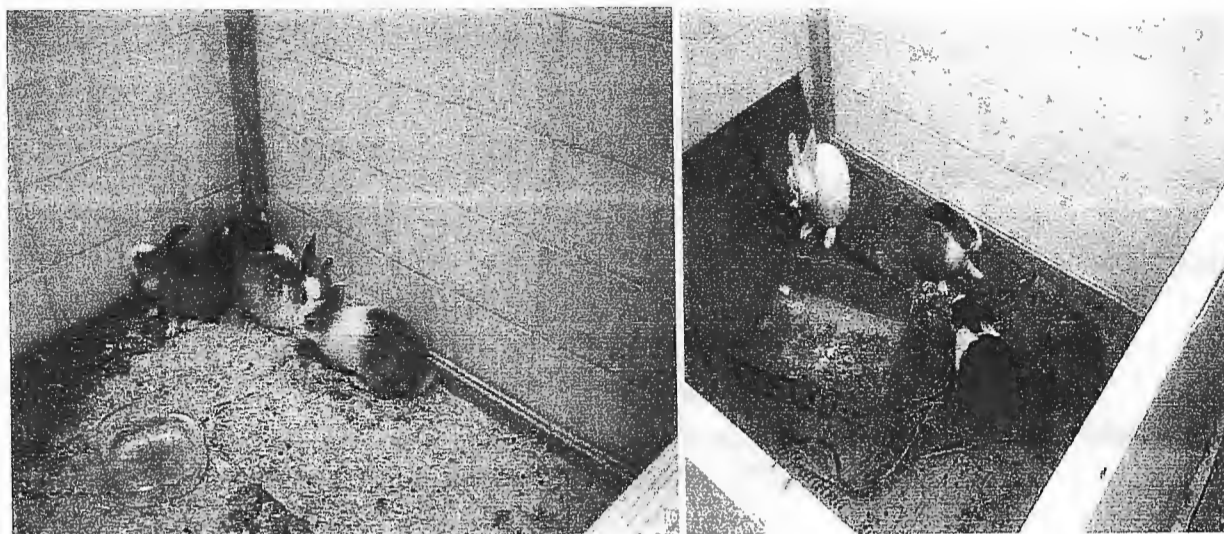


Figure.07 : Préparation du lapin.

#### II.2.5.2. Préparation du probiotique.

Au début de l'expérimentation, et pour la préparation du probiotique, on a réalisé une étape très importante, qui est le dénombrement des germes, dont les étapes les suivantes :



**Figure.08 :Voie d'administration du probiotique.**

### **II.2.5.3. Evaluation de l'évolution de la flore endogène.**

#### **II.2.5.3.1. Echantillonnage.[19] .**

L'échantillonnage pour analyse microbiologique de la matière fécale des lapins, s'effectue en 4 endroits, à raison de 4g par endroit, le total de prélèvement est de 16g pour chaque lot, on a mélangé le tout puis on a prélevé un échantillon élémentaire de 4g de la matière fécale de chaque lot.

#### **II.2.5.3.2. Dénombrement des flores bactérienne. [19] .**

##### **▪ Préparation des dilutions.**

Pour obtenir la solution mère, 4g de la matière fécale de chaque lot, sont broyés dans un mortier additionné de 40ml de l'eau physiologique stérile.

La première dilution décimale ( $10^{-1}$ ) est obtenue en ajoutant 1ml de la solution mère à 9ml d'eau physiologique stérile.

On renouvelle le processus à partir de la dilution ( $10^{-1}$ ) pour la dilution ( $10^{-2}$ ) et à partir de cette dernière on obtient la dilution ( $10^{-3}$ ). on a continué les dilutions jusqu'à  $10^{-6}$ . on doit changer de pipette après chaque dilution.

##### **▪ Mode opératoire.**

Après la réalisation des dilutions décimales, on ensemence les boites de pétris contenant le milieu de culture, l'ensemencement se fait en profondeur pour les flores anaérobies ( exemple : Entérobactéries ) et en surface pour les flores aérobies ou aéro-anaérobies ( exemple : *Pseudomonas Sp* ).

**☞ Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile ( FTAM ).**

On prélève 1ml de dilution  $10^{-6}$  et l'introduire dans la boîte de pétri, en le déposant au centre et en le répartissant en goutte au fond de la boîte, ensuite on coule la gélose nutritive préalablement fondue au bain marie (  $90^{\circ}\text{C}$  ) et refroidi à  $45^{\circ}\text{C}$ , on homogénéise et on laisse refroidir, on place les boîtes de pétri retournées sur leurs couvercles dans l'incubateur à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

Enfin, on compte avec soin les colonies en les marquant à l'aide d'un marqueur sur le fond extérieur de la boîte.

**☞ Dénombrement des Entérobactéries ( CT et CTT ).**

On introduit au fond de chaque boîte de pétri 1ml de la dilution  $10^{-6}$ , puis on verse la gélose VRBG en surfusion et refroidi à  $45^{\circ}\text{C}$ , on mélange et on laisse prendre en masse pour le CT, on incube à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ , alors que pour les CTT les boîtes sont incubées à  $44^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Toutes les colonies rouges de diamètre minima de 0.5mm en 24h sont considérées comme des Entérobactéries ( coliformes ).

**☞ Dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs.**

On place les échantillon dans le bain marie à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes. On prélève 1ml de dilution  $10^{-6}$  et l'introduire dans la boîte de pétri, en le déposant au centre et en le répartissant en goutte au fond de la boîte, ensuite on coule la gélose viande foie préalablement fondue au bain marie (  $90^{\circ}\text{C}$  ) et refroidi à  $45^{\circ}\text{C}$  on homogénéise et on laisse refroidir on place les boîtes de pétri retournées sur leur couvercle dans l'incubateur à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Le Clostridium donne des colonies noires sur ce milieu.

**☞ Dénombrement de *Staphylococcus Sp.***

On coule la gélose Chapman fondue au préalable et refroidi à  $45^{\circ}\text{C}$  dans des boîtes de pétri. Après solidification du milieu, on inocule ces boîtes avec 0.1ml à partir de la dilution désirée  $10^{-6}$ , puis les répartir en surface à l'aide d'un râteau préparé en utilisant une pipette pasteur. On place les boîtes de pétri dans l'incubateur à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. Le *Staphylococcus* donne des colonies jaunes sur ce milieu.

**☞ Recherches des *Salmonella*.**

La recherche des *Salmonella* s'effectue par un enrichissement d'un gramme de la matière fécale dans 9ml d'un milieu sélectif, l'eau péptonnée, puis on incube pendant 24h à  $37^{\circ}\text{C}$ . L'isolement est ensuite réalisé sur milieu sélectif classique HEKTOEN, l'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

*Salmonella* donne des colonies vertes ou Vertes à centre noire sur gélose HEKTOEN.



**☞ Test de fragilité.**

Ce test a été réalisé en parallèle avec l'évaluation de la flore endogène du lapin : pour chaque flore recherchée, en semence le milieu de culture correspondant par étalement au rateau, on laisse sécher puis, on dépose des disques imprégnés des cultures de bactéries lactiques (*Lb. plantarum* 0021 et CHT25) à la surface des boîtes gélosées ensemencées. On détermine le diamètre de zones de lyse après 24 heures d'incubation à 37°C.

**☞ Dénombrement des flores intestinales après abattage.**

De chaque animal, on prélève une partie de l'intestin que l'on introduit dans un tube contenant le bouillon nutritif, l'incubation est faite à 37°C/ 24h. Après 24 heures d'incubation, on a réalisé des dilution jusqu'à 10<sup>-6</sup>, ensuite on ensemence la culture dans tous les milieux des flores étudiées, en utilisant les techniques précédentes.

**II.2.5.4. Paramètres zootechniques. [14] .****● Pesée des animaux.**

Les lapereaux sont pesés au moment du sevrage, puis une fois chaque trois jours à heure fixe jusqu'à l'âge de l'abattage.

**● Pesée de l'aliment .**

La pesée de l'aliment était effectuée quotidiennement, et dans la même heure, nous pesons l'aliment distribuée et celui refusé .

$$\text{Quantité consommée} = \text{quantité distribuée} - \text{quantité refusée} .$$

**● Paramètre de croissance.**

- Evolution de la consommation et de l'indice de consommation(IC).

$$I.C = \frac{\text{Quantité d'aliment consommé}}{\text{Gain du poids}}$$

- Evolution du poids vif moyen du sevrage à l'abattage

$$\text{Poids vif} = \frac{\text{Ensemble des pesées}}{\text{Nombre de sujet dans le lot}}$$

- **Evolution du gain moyen quotidien (GMQ)**

$$\text{G.M.Q} = \frac{\text{Poids moyen fin 3}^{\text{ème}} \text{ jours} - \text{poids moyen premier jour}}{3 \text{ jours}}$$

- **Taux de mortalité**

$$\text{T.M} = \frac{\text{Taux de sujets morts durant la période}}{\text{Effectif initial}} \times 100$$

- **Volume d'eau abreuvé**

Volume d'eau abreuvé = volume distribué – volume refusé.

### II.2.5.5. Paramètres de carcasses. [14] .

- **Abattage des animaux.**

De chaque lot, un animal est abattu par saignée directe à l'âge de 21 jours. A leur abattage on pèse les carcasses chaudes, et leurs viscères. Le deuxième jour, les carcasses sont pesées après ressuyage.

- **Poids de la carcasse chaude.**

C'est le poids de la carcasse, 15 à 30 minutes après l'abattage la carcasse n'inclut pas le sang, la partie distale de la queue et le cinquième quartier.

- **Poids de la carcasse commerciale.**

C'est le poids de la carcasse décrite auparavant conservée pendant 24 heures dans une chambre froide à 4°C.

- **Poids de la peau commerciale.**

La peau est séparée du corps à la base des oreilles (au niveau de la 3<sup>ème</sup> vertèbre cervicale), du museau et de la queue.

Le poids de la peau inclut ainsi le poids des parties des oreilles, du museau et de la queue, mais exclut la partie distale des pattes postérieures et antérieures.

Le poids de la peau inclut aussi le poids du gras hypodermique et autre type de gras qui lui adhèrent.

**● Poids du foie, du cœur et des reins.**

Le foie est pesé avec la vésicule biliaire. Le cœur avec son contenu sanguin, cela est de même pour les reins, mais sans dépôt de gras périrénal.

**● Poids de la tête et des pattes postérieures et antérieures.**

Après la séparation du corps, la tête a été pesée ainsi que les pattes postérieures et antérieures.

**● Pourcentage de perte au ressuyage.**

C'est la différence entre le poids de la carcasse chaude et le poids de la carcasse commerciale divisée par le poids de la carcasse chaude  $\times 100$ .

**● Pourcentage de carcasse par rapport au poids vif.**

Il est défini par le rapport entre le poids de la carcasse froide et le poids vif  $\times 100$ .

**II.2.5.6. Estimation des paramètres hématologiques et biochimiques. [20131]****II.2.5.6.1. Paramètres hématologiques.**

Pour l'évaluation des globules rouges et blancs, on a suivie la règle suivante :

- ▶ Pour les G.R : 1000 $\mu$ l (eau physiologique) – 10 $\mu$ l.
- ▶ Les 10 $\mu$ l écartés, sont remplacés par 10 $\mu$ l de sang.
- ▶ Pour les G.B : 200 $\mu$ l (l'azaruz) – 10 $\mu$ l.
- ▶ 10 $\mu$ l de l'azaruz, remplacé par 10 $\mu$ l de sang.

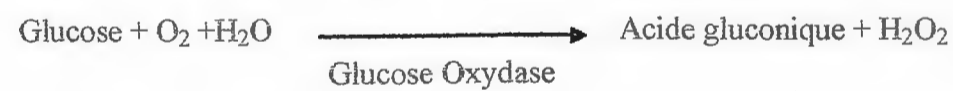
L'observation microscopique et la numération se fait à l'aide de la cellule Malassez.

**II.2.5.6.2. Paramètres biochimiques.**

Ces paramètres ont été évalués après abattage des animaux.

**a. Glucose.**

**Principe :** détermination enzymatique du glucose, selon les réactions suivantes :



**Le réactif utilisé :**

Le standard glucose (1g/l).

**Mode opératoire :**

- **Longueur d'onde :** 505 nm
- **Température :** 37°C.
- **Cuve :** 1cm d'épaisseur.

On a ajusté le zéro du spectrophotomètre avec le blanc réactif.

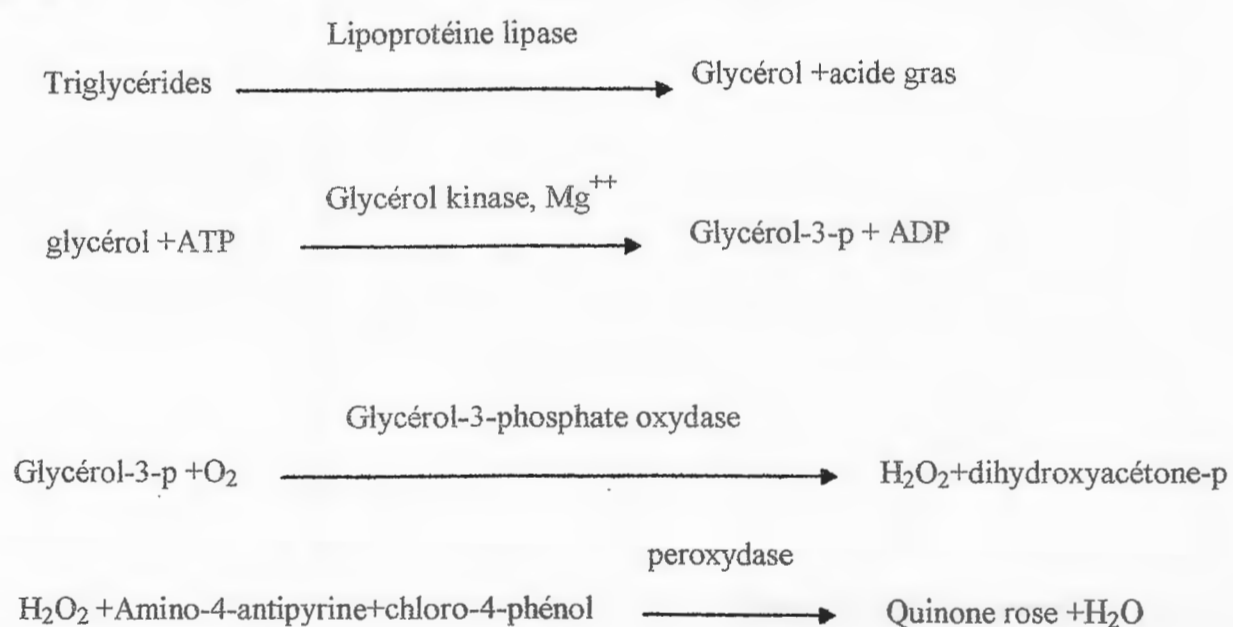
	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		10µl	
Echantillon			10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

On a mélangé le tout, la lecture de la densité optique est faite après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 minutes à 20-25°C.  
Le calcul est donné par la formule suivante :

$$\text{Glucose} = \frac{\text{D.O échantillon}}{\text{D.O standards}} \times n \quad / n=1g/l$$

**b. Triglycérides.****Principe :**

Par l'action de lipases spécifiques, les triglycérides sont hydrolysés par voie enzymatique en glycérol et en acide gras libres. Le glycérol est ensuite transformé selon les réactions suivantes :



**Réactif :** (Ref:20131)

<b>Réactif 1: solution tampon</b>	<b>Tampon pipes pH 7,2</b>	<b>50 mmol/L</b>
	<b>Chloro-4-phénol</b>	<b>2 mmol/L</b>
<b>Réactif 2 : Enzymes</b>	Lipopratéine lipase	150000 U/L
	Glycérol kinase	800 U/L
	Glycérol 3.p. oxydase	4000 U/L
	Peroxydase	440 U/L
	Animo antipyrrique	0,7 U/L
	ATP	0,3 U/L
<b>Réactif: standard</b>	Standard glycérol	200 mg/L
	( en trioléine)	2g/L
		2,28 mmol/L

**Solution de travail :**

Le contenu du réactif 2 est dissout avec le contenu du flacon du réactif 1.  
L'homogénéisation de la solution est assurée par des retournements successifs des flacons. La stabilité de la solution de travail est d'une semaine à 20-25°C et de quatre semaines à 2-8°C.

**Mode opératoire :**

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>échantillon</b>
<b>Réactif du travail</b>	1ml	1ml	1ml
<b>Standard</b>	-	10µl	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10µl

Les différents tubes sont mélangés et placés au bain marie à 37°C pendant 5mn ou de 10mn de 100 à 25°C.

Les absorbances sont mesurées à 505 nm , la coloration est stable pendant 30mn.

Le calcul est donné par la formule suivante :

$$TG = \frac{D.O \text{ Echantillon}}{D.O \text{ Standard}} \times n$$

n=2g/L.

n=200mg/L.

**c. Urée.**

Même principe de triglycéride et de glucose, c'est-à-dire la méthode spectrale.

Étalon : urée.

Pour le mode opératoire, on a mis 10 $\mu$ l de sérum avec 1ml de premier réactif (réactif 1), on attend 10mn, puis on additionne le deuxième réactif (réactif 2). On laisse la culture 10mn, par la suite on fait la lecture de la densité optique avec une longueur d'onde 505nm.

**II.2.5.7. Traitement statistique.**

L'analyse statistique de nos résultats a été réalisée par une analyse de variance par le biais du dispositif monofactoriel en randomisation total.

L'analyse de variance est suivie d'une comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls aux seuils de 1% et 5%.

Partie

III

Résultats et discussion

### III.1. Revéification et identification

L'examen de préparation microscopique révélé par la coloration de GRAM, nous a permis de distinguer une diversité de formes de différentes souches à identifier :

- ❖ Pour les bactéries lactiques, les formes observées sont des bâtonnets (*Lactobacillus*), coques disposées par paire, et en chaînes (*Lactococcus*). Les formes ont une couleur bleu-violet.
- ❖ En ce qui concerne les souches d'*E.coli* et *Salmonella*, l'observation microscopique nous a permis de distinguer des formes de bacilles, diplocoques, des cocci et coccobacilles disposés en chaînes. Les formes de bactéries sont de couleur rose.

#### III.1.2. Tests biochimiques.

Les tableaux 9, 10 et 11 regroupent les résultats des profils de *Salmonella*, des souches d'*E.coli* et celles de bactéries lactiques.

Le profil biochimique des bactéries lactiques montre que les quatre espèces sont à GRAM+, catalase-, poussent à 15°C mais pas à 45°C, donc ce sont des mésophiles, de même elles fermentent le lactose sans production de gaz, de ce fait elles sont homofermentaires, leur culture sur le lait de SHERMAN a montré leur abilité à réduire le bleu de méthylène avec coagulation de lait, par contre seuls les deux biotypes de *Lb.plantarum* CHT25 et BJ0051 arrivent à réduire le tournesol avec coagulation du lait (réductase<sup>+</sup>). Une variabilité entre les souches de *Lb.plantarum* a été obtenue avec l'utilisation du ribose, ainsi la CHT25 est la seule à utiliser ce sucre. Reste à noter que la figure 11 montre les principaux tests de l'identification des bactéries lactiques étudiées.

Par ailleurs, d'après les résultats répertoriés dans le tableau, il apparaît que ces profils coïncident à ceux de l'entérobactérie thermotolérante. *E.coli*, ainsi la coloration de GRAM a montré que les souches sont à GRAM<sup>-</sup>, de forme coccobacille, ces dernières ont le pouvoir de dégrader le tryptophane avec production de l'indole, de même, elles disposent d'un complexe enzymatique actif vis à vis de la dégradation (hydrolyse et décarboxylase) de la lysine, l'ornithine et l'arginine. Elles sont mobiles, et produisent du gaz à partir du lactose. Cependant, il est à signaler qu'une variabilité est notée à l'égard de l'utilisation des sucres, ainsi *E.coli* E<sub>1</sub> et E<sub>5</sub> utilisent le raffinose mais E<sub>4</sub> et E<sub>6</sub> sont incapables de le faire, cela définit des biovars de cette espèce.

Enfin, le profil de l'identification de l'entérobactérie pathogène montre que les quatre GRAM<sup>-</sup>, coccobacilles sont incapables d'utiliser le lactose et le Saccharose mais produisent du gaz avec de l'H<sub>2</sub>S, elles utilisent le mannitol et prouvent leur mobilité, de même, elles ont une défaillance enzymatique vis-à-vis de l'utilisation de l'urée, de la dégradation du tryptophane et de l'utilisation de citrate, par contre elles peuvent métaboliser la lysine, l'ornithine et l'arginine mais à l'exception de la S<sub>1</sub> qui ne peut pas utiliser l'ornithine.

Les figures 9 et 10 montrent quelques tests de l'identification de *E.coli* et *Salmonella*.



Tableau.09 : Les tests d'identification des souches des *Salmonella*.

Tests souches	TSI		Mannitol Mobilité	Lactose (ferment.)	Uréase	Indole	VP	RM	Citrate	LDC	ODC	ADH	ONPG	Rhamnose	Raffinose	Melibiose	Arabinose	Dulcitol	Adonitol	GRAM+Morphologie	
	Gaz <sup>+</sup>	H <sub>2</sub> S											Catalase								
S1	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	+ +	Mob <sup>+</sup> Mannit <sup>+</sup>	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	G <sup>-</sup> Bacilles	
S2	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	+ +	Mob <sup>+</sup> Mannit <sup>+</sup>	-	±	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	G <sup>-</sup> Diplocoques coccobacilles	
S7	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	+ +	Mob <sup>+</sup> Mannit <sup>+</sup>	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	G <sup>-</sup> Diplocoques coccobacilles	
S9	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	+ +	Mob <sup>+</sup> Mannit <sup>+</sup>	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	-	G <sup>-</sup> Bacilles Diplocoques Cocci en chaînettes

Résultats et discussion  
 Tableau.10 : Les tests d'identification des souches d'E.coli.

Tests	souches		E1	E4	E5	E6
	G	Bacilles				
TSI	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	G	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup> Glu <sup>+</sup>
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-
Mannitol	Mob <sup>+</sup>	Mob <sup>+</sup>	Mob <sup>+</sup>	Mob <sup>+</sup>	Mob <sup>+</sup>	Mob <sup>+</sup>
Mobilité	+	+	+	+	+	+
Lactose (ferment)	Gaz <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup>	Gaz <sup>+</sup>
Uréase	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-
RM	-	-	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-
ADPH	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	fragmentation	fragmentation	fragmentation	fragmentation	fragmentation	fragmentation
Arabinose	+	+	+	+	+	+
Méthibiose	-	-	-	-	-	-
Raffinose	+	+	+	+	+	+
Dulcitol	+	+	+	+	+	+
Adonitol	+	+	+	+	+	+
Diplocoques	G	G	G	G	G	G
Bacilles	-	-	-	-	-	-
Cocci en chaînes	-	-	-	-	-	-

Tableau.11 : Les principales caractéristiques d'identification des souches lactiques.

	GRAM	Catalase	4% Nacl, 6,5% Nacl		15°C	45°C	Gaz	Culture en lait		Saccharose	Ribose	Réductase	Acétoïne	ADH
			4%	6,5%				0,1% BM	0,3% BM					
							Lactose							
0051	G <sup>+</sup> bâtonnets	-	+	-	+	-	- +	+	+	+	-	Réduction + coagulation	+	+
0021	G <sup>+</sup> bâtonnets, diplocoques en chaînettes	-	+	-	+	-	- +	+	+	+	-	Réduction sans coagulation	+	+
lactis	G <sup>+</sup> Cocci	-	+	-	+	-	- +	Réduction + coagulation		+	-	Réduction sans coagulation	+	+
CH125	G <sup>+</sup> Cocci	-	+	-	+	-	- +	Réduction + coagulation		+	+	Réduction + coagulation	+	-

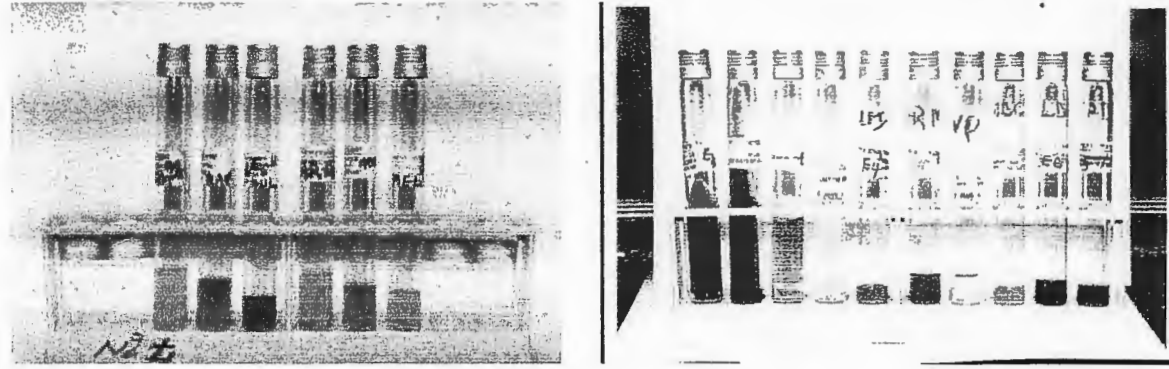


figure.9 :profil d'identification d'*E.coli*.

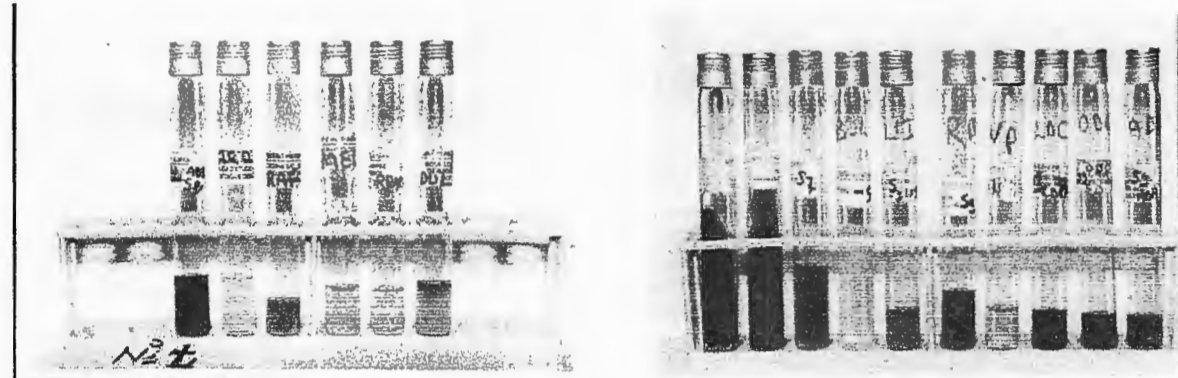


figure.10 :profil d'identification de *salmonella*

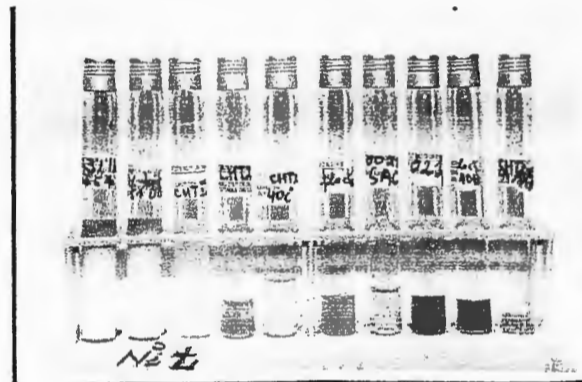


figure.11 :profil d'identification de souches de bactéries lactiques.

II.2. Interactions bactériennes.

III.2.1. Interactions sur milieux solides.

Les tableaux n°12 et 13 représentent les résultats obtenus, concernant les interactions sur des milieux solide, entre les souches de bactéries lactiques et les souches d'*E.coli*, et celles de *Salmonella*.

Ces résultats mettent en évidence deux phénomènes, entre les différentes souches :

- ❖ Une inhibition de deux souches différentes, quand l'une est en contact de l'autre, c'est le cas de *Lactobacillus plantarum* « 0021 » ensemencé en touche avec les souches de *Salmonella* ensemencées en masse.
- ❖ Une stimulation entre deux souches différentes, c'est le cas des *Lactobacillus plantarum* « 0021 » ensemencée en touche, on a pris le cas de « 0021 » et de « 0051 » qui peuvent inhiber la croissance des souches d'*E.coli* et de *Salmonella* ensemencées en masse, mais dans le croisement inverse aucune inhibition n'est marquée.

Le second type de réponses est celui où la souche en touche inhibe régulièrement les souches en masse, l'inhibition des souches ensemencées en touche persiste si elles sont ensemencées en masse. C'est le cas observé chez « CHT25 » avec E<sub>4</sub> et E<sub>5</sub>. la figure n°14 illustre une inhibition, caractérisée par la présence de zones d'inhibition, cas de S<sub>6</sub> ensemencée en masse et les souches lactiques ensemencées en touche.



Figure 14: Interaction entre les bactéries lactiques et *Salmonella* S<sub>6</sub>.

Enfin, il apparaît clairement que le probiotique *Lb. Plantarum* 0021 est la plus active sur les souches entérobactéries testées. Les interactions négatives ou inhibition s'explique par la production de divers métabolites telles que :

- ➔ Les bactériocines et les antibiotiques : la production de bactériocines par les bactéries lactiques est une cause d'inhibition. Les bactériocines se définissent par une activité antibactérienne au spectre d'action étroit [13] .



- Le pH et les acides, notamment l'acide lactique ( Païrd et Desmazeaud 1991 ), la principale modification des conditions physico-chimiques du milieu responsable de phénomènes d'inhibitions est très certainement le gradient de protons dû à la production d'acide lactique. Ainsi, une bonne acidification lactique, entraîne une inhibition de la croissance de *Esherichia.coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella* et des *Clostridia*. Si le pH n'est pas maintenu constant, c'est l'ion  $H_3O^+$  qui inhibiteur [17] .
- La compétition vis à vis du substrat : lorsque plusieurs souches, sont mises en culture dans un même milieu, elles entrent nécessairement en compétition, si elles utilisent le même substrat. [11] .

Tableau.12 : Résultats des interactions sur milieu solide : *Salmonella*/ bactéries lactiques.

<i>Salmonella</i> (touche)	Bactéries lactiques (masse)				<i>Salmonella</i> (masse)	Bactéries lactiques (touche)			
	lactis	0021	0051	CHT25		S1	S2	S7	S9
S1	+ φ= 1cm	-	+ φ=0,9cm	+ φ= 1cm	CHT25	-	+ φ= 1cm	-	-
S2	-	-	+ φ=1,2cm	-	0021	+ φ=0,8cm	+ φ=0,9cm	+ φ=0,8cm	-
S7	+ φ=0,9cm	-	-	+ φ=1,2cm	0051	+ φ=0,8cm	+ φ=0,9cm	+ φ=0,9cm	+ φ= 1cm
S9	+ φ=0,8cm	-	+ φ= 1,2cm	+ φ=0,9cm	lactis	-	-	+ φ=0,8cm	-

Tableau.13 : Résultats des interactions sur milieu solide : *E.coli*/ bactéries lactiques.

<i>E.coli</i> (touche) \ Bactéries lactiques (masse)	CHT25	0051	Lactis	0021	<i>E.coli</i> (masse) \ Bactéries lactiques (touche)	E1	E2	E7	E9
E1	-	-	+ φ=1,4cm	-	CHT25	-	+ φ= 1cm	+ φ=0,9 cm	+ φ=0,9cm
E2	+ φ=1,2cm	-	+ φ=1,3cm	-	0051	-	+ φ=1,2cm	+ φ=1 cm	+ φ=0,8cm à 0,9 cm
E7	+ φ=1 cm	-	+ φ=1,3cm	-	Lactis	-	+ φ=0,7cm	-	+ φ=0,8cm
E9	-	-	+ φ= 1,2cm	-	0021	+ φ=2,4cm	+ φ=0,7cm	-	+ φ=0,6cm



### III.2.2. Interactions sur milieu liquide.

Les tableaux 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 rassemblent les différents résultats de croissance des souches lactiques pures et de leurs interactions avec les entérobactéries sur un milieu liquide. L'analyse de les résultats permet de dégager les observations suivantes :

- ✓ Une très bonne vitesse de croissance des lactiques est notée sur le milieu M<sub>17</sub>.
- ✓ Les souches pures sont en phase exponentielle de croissance après 6h d'incubation sauf le *Lactococcus lactis subsp lactis* qui entre en phase stationnaire à partir de la 4<sup>ème</sup> heures d'incubation.
- ✓ Une variation de la survie en fonction de la souche testée, par ailleurs, la lecture des figures et relatives à l'utilisation des lactiques avec les quatre souches de *E.coli* montre le suivant :
  - ▶ L'utilisation des bactéries lactiques en cultures mixtes avec *E.coli* a diminué la vitesse de croissance des bactéries probiotique ainsi, on remarque que la souche *E.coli* E<sub>6</sub> affecte nettement la vitesse de croissance de bactéries BJ 0021, BJ 0051, et *Lactobacillus lactis subsp lactis*, toute fois, cette espèce interféré à la croissance de la CHT25 dont la courbe de croissance en témoigne ( figure n° 14 ).
  - ▶ Cependant, les interactions avec la *Salmonella* illustrées par les figures 15, 16, 17, 18, montrent que les *Salmonella* ont des effets plus remarquable que *E.coli* sur la vitesse de croissance des probiotiques, ainsi il apparaît clairement qu'il y' a un effet inhibiteur nettement marqué par lac hutte des courbes en phase exponentielle qui se traduit par vitesse de prolifération très limite, cela explique la présence d'une compétition entre les probiotiques et les souches de *Salmonella* soit vis- à-vis des nutriments, soit par production de facteurs antimicrobiens ( bactériostatique ou bactéricide ), mais la coloration de GRAMA mis en évidence la présence des deux formes GRAM<sup>+</sup>, et GRAM<sup>-</sup>, par ailleurs, la figure 17 témoigne que *Lb.plantaum* 0051 est la plus efficace vis-à-vis de *Salmonella* dont les valeurs obtenues après les 6h d'incubation en témoignent.
- ◆ L'effet de bactériocines sur la viabilité des cellules en phase logarithmique de croissance, avec une diminution rapide du nombre de cellules viables à 37°C a été déjà démontré [10] .

En effet, des phénomènes de dominance dans les populations mixtes des bactéries lactiques peuvent se présenter. Et comme nous l'avons vus précédemment, de nombreuses souches produisent des bactériocines capables d'éliminer d'autres souches de bactéries.

- ◆ Les changements de composition de mélanges de souches mises en cultures continue, les changements qui sont les conséquences des différences entre les taux de croissance spécifiques, donc il apparaît clairement qu'une des souches est amenée à disparaître ( compétition vis-à-vis de substrat ).



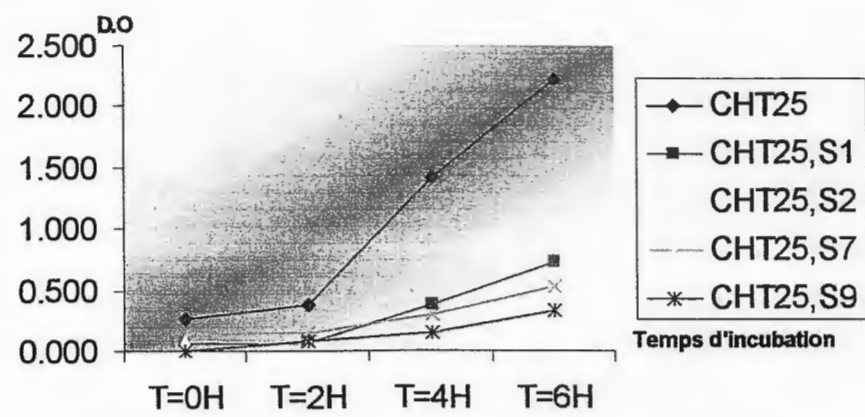


Figure.14 : Evolution de l'interaction entre le CHT25 et les souches de *Salmonella*.

Tableau.16 : Evolution de l'interaction entre le 0051 et les souches de *Salmonella*.

	0051	0051,S1	0051,S2	0051,S7	0051,S9
T=0H	0.184	0.002	0.002	0.002	0.081
T=2H	0.296	0.093	0.016	0.055	0.037
T=4H	1.734	0.481	0.298	0.574	0.510
T=6H	2.100	1.176	0.852	1.140	1.207

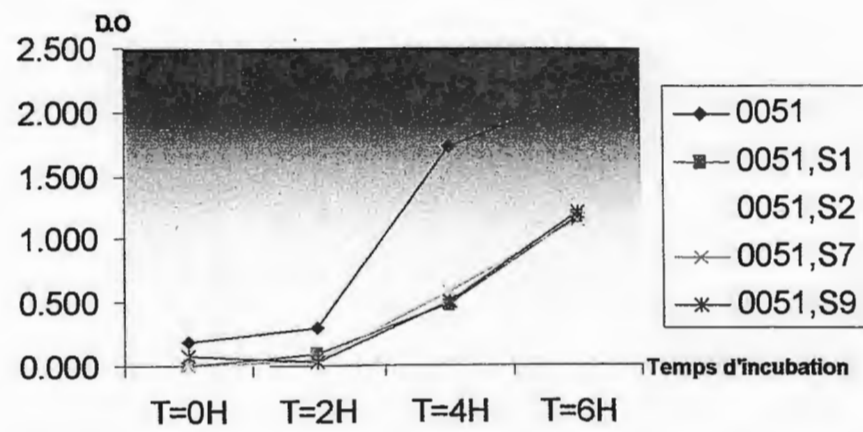


Figure.15 : Evolution de l'interaction entre le 0051 et les souches de *Salmonella*.

Tableau. 17: Evolution de l'interaction entre le 0021 et les souches de *Salmonella*.

	0021	0021,S1	0021,S2	0021,S7	0021,S9
T=0H	0.507	0.041	0.016	0.020	0.028
T=2H	0.905	0.041	0.129	0.023	0.183
T=4H	1.740	0.246	0.318	0.023	0.230
T=6H	1.950	0.520	0.610	0.297	0.470

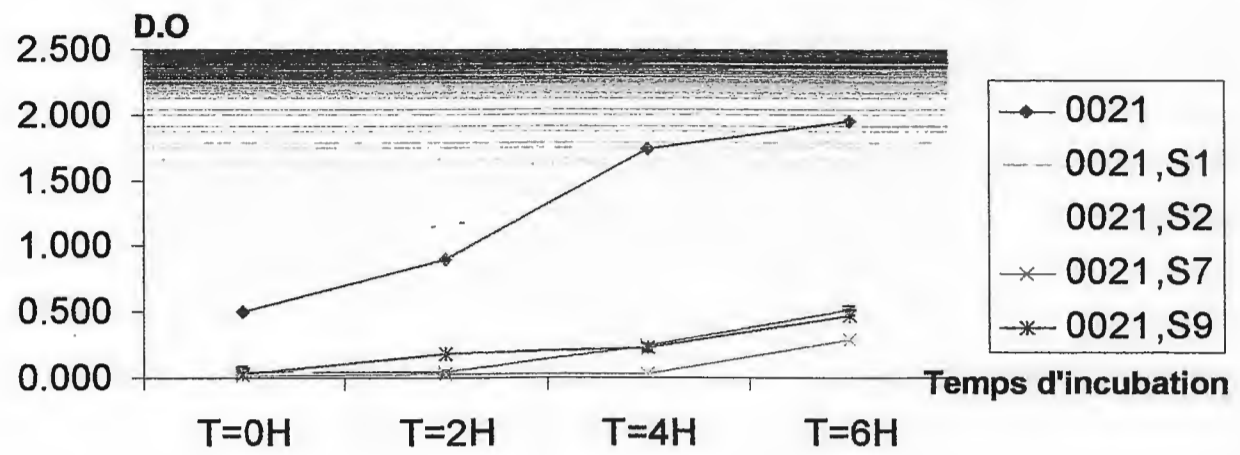


Figure.16 : Evolution de l'interaction entre le 0021 et les souches de *Salmonella*.

Tableau. 18 : Evolution de l'interaction entre le lactis et les souches d'*E.coli*.

	lactis	lactis,E1	lactis,E4	lactis,E5	lactis,E6
T=0H	0.501	0.121	0.162	0.071	0.067
T=2H	0.748	0.311	0.302	0.280	0.193
T=4H	1.981	0.881	0.575	0.756	0.476
T=6H	1.900	1.651	1.359	1.480	1.228

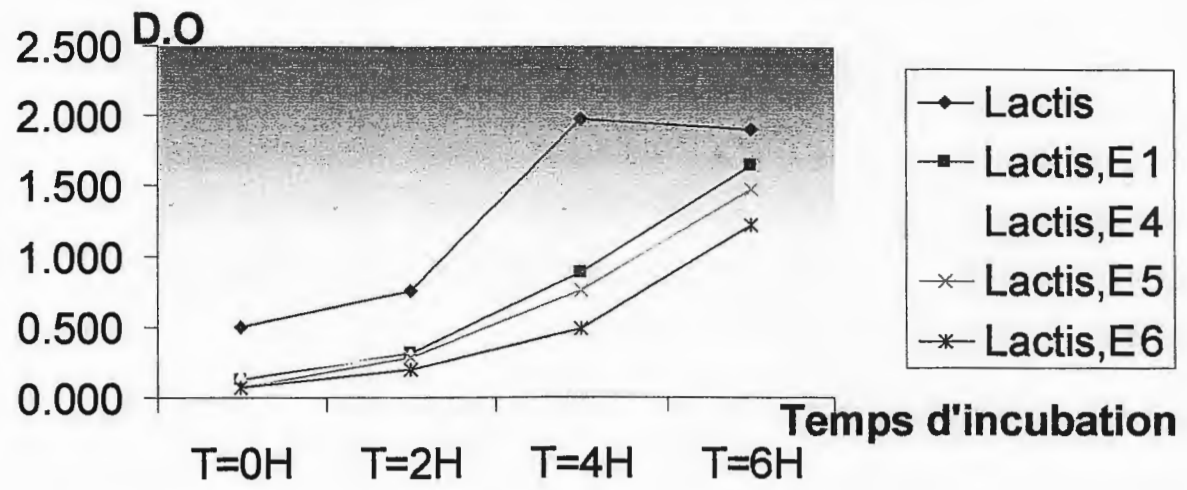


Figure 17 : Evolution de l'interaction entre le lactis et les souches d'*E.coli*.

Tableau. 19: Evolution de l'interaction entre le CHT25 et les souches d'*E.coli*.

	CHT25	CHT25,E1	CHT25,E4	CHT25,E5	CHT25,E6
T=0H	0.263	0.157	0.300	0.155	0.125
T=2H	0.379	0.297	0.494	0.167	0.339
T=4H	1.410	0.722	0.814	0.174	0.877
T=6H	2.223	1.049	1.344	0.193	1.089

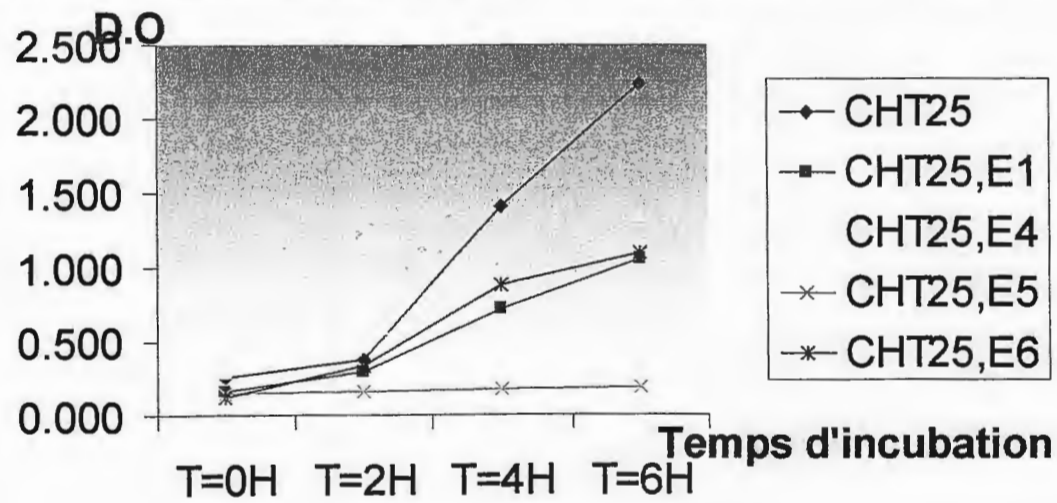


Figure 18 : Evolution de l'interaction entre le CHT25 et les souches d'*E.coli*.

Tableau. 20 : Evolution de l'interaction entre le 0051 et les souches d'*E.coli*.

	0051	0051,E1	0051,E4	0051,E5	0051,E6
T=0H	0.184	0.114	0.271	0.182	0.098
T=2H	0.296	0.366	0.437	0.407	0.225
T=4H	1.734	1.061	0.982	0.994	0.722
T=6H	2.100	1.802	1.741	1.673	1.448

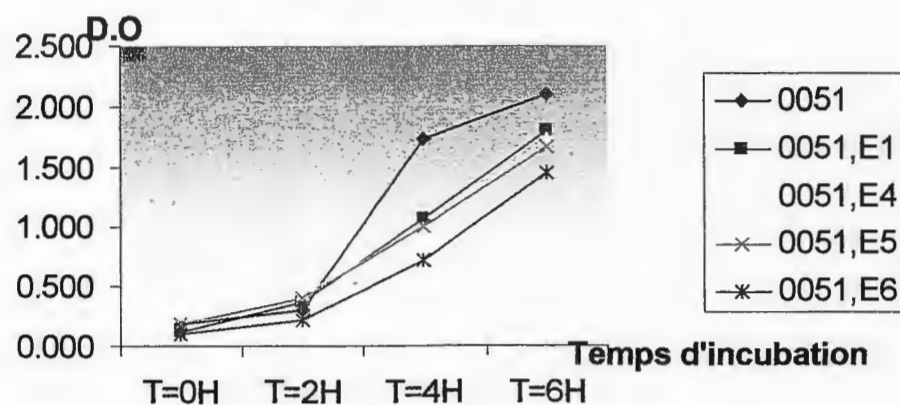


Figure. 20 Evolution de l'interaction entre le 0051 et les souches d'*E.coli*.

Tableau. 21: Evolution de l'interaction entre le 0021 et les souches d'*E.coli*.

	0021	0021,E1	0021,E4	0021,E5	0021,E6
T=0H	0.507	0.089	0.124	0.106	0.076
T=2H	0.905	0.369	0.284	0.464	0.252
T=4H	1.740	1.035	0.758	1.133	0.807
T=6H	1.950	1.798	1.465	1.780	1.580

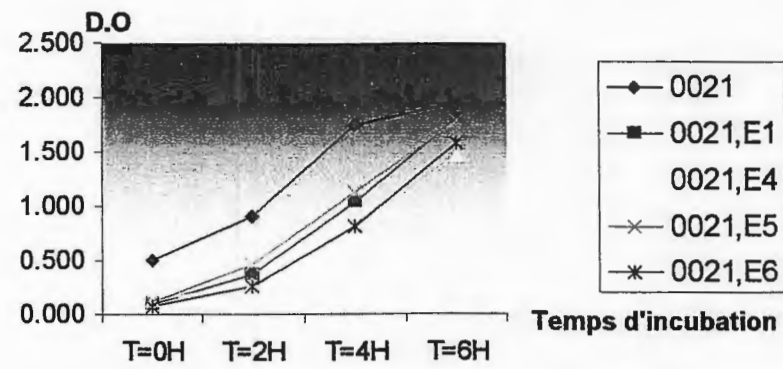


Figure.20 : Evolution de l'interaction entre le 0021 et les souches d'*E.coli*.

### III.3. La composition du filtrat de lyse.

La séparation chromatographique du filtrat de lyse sur plaque de sélice permet d'obtenir les mêmes résultats chez les 4 bactéries. Pour la chromatographie des protéines, on a obtenu trois taches, chacune caractérisée par un rapport frontal.

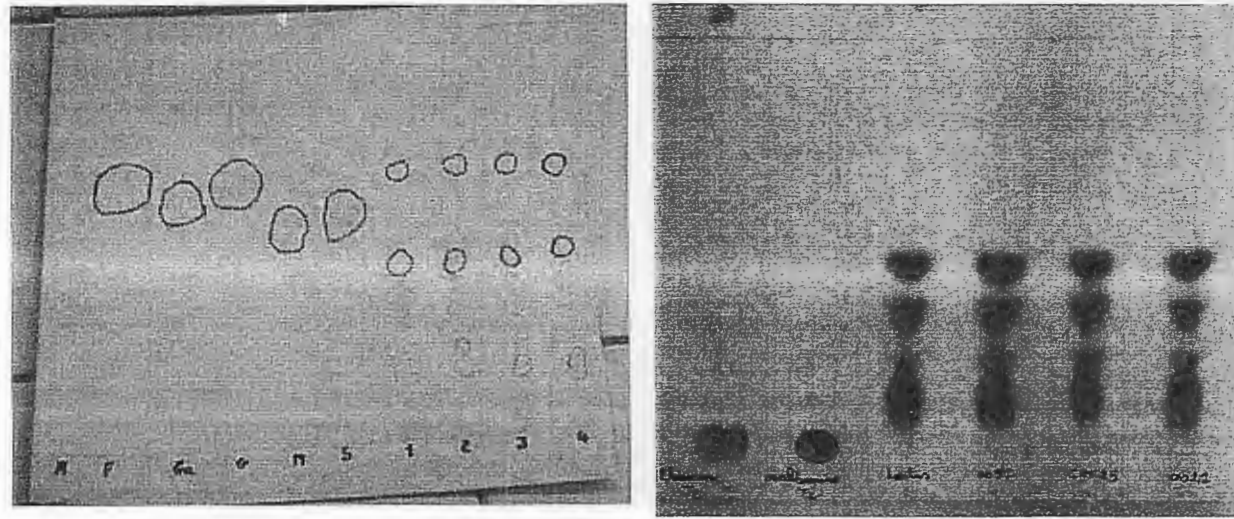
La première tache possède le même niveau de migration de l'albumine avec un rapport frontal de  $Rf_1 = 0.18$ , pour le reste des deux taches, les rapports frontales étaient de  $Rf_2 = 0.33$  et  $Rf_3 = 0.45$ .

Donc le filtrat de lyse comporte des substances protéiques avec une composition en acides aminés proche de celle de l'albumine (figure n° 21).

Pour la chromatographie des glucides, on a obtenu 5 taches chacune était caractérisée par son rapport frontal, dont la 1<sup>ère</sup> tache possédait un rapport frontal égal à 0.61, ce dernier est ideme à celui du fructose et glucose, la 2<sup>ème</sup> tache correspond à celle du maltose avec un  $Rf_2 = 0.41$  par ailleurs les restes des taches sont caractérisées par des rapports frontales ne correspondant à aucun des sucres témoins .

La lecture des résultats relatifs à la chromatographie des lipides montre que le filtrat de lyse ne contient pas de composés semblable à nos témoins (acide palmitique/ acide oléique/ acide linoléique).

D'après ces résultats, il est vraisemblable que la composition du filtrat de lyse est à dominance : protéo-glucidique.



**Figure.21 :** Profils chromatographiques des protéines. *Sucres*  
**Figure.22 :** Profils chromatographiques des sucres. *protéines*

**III.2.3. Effet du filtrat de lyse sur les entérobactéries.**

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau n° 22  
 Ces résultats illustrent la sensibilité, et la résistance des souches d'*E.coli* et *Salmonella* vis-à-vis du contenu des souches de bactéries lactiques, donc le travail que nous avons réalisé, permet de mettre en évidence la présence de substances à activité inhibitrice vis-à-vis des souches testées, à partir de surnageant. Ces résultats sont soutenu par la détermination de la nature protéique, glucidique et lipidique de surnageant. D'après les résultats de la chromatographie sur couche mince, on détecte la présence de substance de nature protéique.



Tableau.22 : Les interactions du filtrat de lyse sur les entérobactéries.

	E1	E4	E5	E6	S1	S2	S7	S9
<b>Lactis</b>	-	+ $\phi=1,5$ cm (0,41 cm)	+ $\phi=0,7$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1,4$ cm (0,4 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=1,2$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=0,9$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,3 cm)
<b>0021</b>	+ $\phi=1,2$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1,4$ cm (0,4 cm)	+ $\phi=1,2$ cm (0,3 cm)	-	+ $\phi=0,9$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=0,9$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1,1$ cm (0,3 cm)
<b>0051</b>	+ $\phi=0,7$ cm (0,1 cm)	+ $\phi=1,6$ cm (0,4 cm)	-	+ $\phi=1,2$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1$ cm (0,3 cm)
<b>CHT25</b>	+ $\phi=0,9$ cm (0,3 cm)	+ $\phi=1,4$ cm (0,4 cm)	+ $\phi=1,2$ cm (0,4 cm)	+ $\phi=0,9$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=0,8$ cm (0,1 cm)	-	+ $\phi=0,9$ cm (0,2 cm)	+ $\phi=1,2$ cm (0,2 cm)

### III.5. L'effet des probiotiques sur la flore endogène du lapin.

#### III.5.1. Evolution du nombre de la flore mésophile totale.

Le tableau ci-dessous, exprime les résultats concernant le dénombrement de la flore mésophile totale dans la matière fécale.

- Entre la 1<sup>ère</sup> période et la 2<sup>ème</sup>, on enregistre les valeurs les plus élevées dont on obtient toujours un tapis microbien signe d'une compétition entre le probiotique et la flore endogène d'une part, et une conséquence des troubles digestifs d'autre part.
- Entre la 3<sup>ème</sup> période et la 4<sup>ème</sup>, le nombre de cette flore dans la matière fécale des sujets recevant les probiotiques *Lb.plantarum* « 0021 » et « CHT25 » a connu une réduction remarquable c'est l'effet de probiotique, qui permet d'abaisser proportionnellement la quantité de bactéries de la flore excrétée avec la matière fécale, c'est à dire que les probiotiques ont rétabli l'équilibre de la flore endogène ou encore il y a eu une symbiose entre le probiotique et la flore autochtone.
- Pour le lot témoin, les 4 périodes sont caractérisées par un désordre de contenu intestinale avec le dysfonctionnement de certains organes vitales chez certains lapereaux.

Enfin, on constate que les lapereaux supplémentés de deux probiotiques *Lb.plantarum* « 0021 » et « CHT25 » donnent le meilleur résultat sur le nombre trouvé de microorganismes chassés vers l'extérieur, cela dit, on pense que nos probiotiques sont capables de moduler l'écologie de la flore endogène du lapin.

Tableau.23 : Evolution du nombre de la FTAM.

$\times 10^6$	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>
LOT 1	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis
LOT 2	Tapis	1148	820	480
LOT 3	Tapis	1288	920	688

### III.5.2. Evolution du nombre des coliformes totaux.

Le tableau suivant illustre l'évolution de la flore des coliformes totaux chez les lapereaux des 3 lots.

D'après ces résultats, on constate que le nombre le plus élevé des coliformes est obtenu au cours de la 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> période de l'élevage, cela peut s'expliquer par l'apparition des diarrhées au cours de ces périodes.

Par la suite, la 4<sup>ème</sup> période est caractérisée par une stabilité et une réduction du nombre de bactéries excrétée avec la matière fécale cela est probablement dû à l'effet de *Lb.plantarum* car MARIONNET et LEBAS, (1990) ont démontré que les microorganismes introduits par le probiotique entrent en compétition avec les autres germes présents à la surface des muqueuses intestinales. Ils occupent le terrain et limitent ainsi le développement des souches non désirables. C'est ainsi que parmi les effets de probiotique, on note la réduction des diarrhées chez les jeunes lapereaux.

D'autre part, une supplémentation contenant 120 millions/ g de *Streptococcus faecium* « M-74 » permet d'abaisser proportionnellement la quantité de bactéries de la flore secondaire susceptible d'envahir le tube digestif du lapin.

Finalement, on conclut que le lot supplémenté de probiotique « 0021 » est considéré comme le meilleur, par des résultats et des effets positifs sur le nombre des germes trouvés dans la matière fécale.

Tableau.24 : Evolution du nombre des coliformes totaux .

$\times 10^6$	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>
LOT T	238	Tapis	580	353
LOT 2	3	Tapis	500	350
LOT 3	191	508	888	298

### III.5.3. Evolution du nombre de C.T.T.

La figure n° 25 illustre l'évolution de la flore des matières fécales, des lapereaux des 3 lots. Il apparaît clairement que la courbe du lot témoin est caractérisée par un pic à la deuxième période ce qui correspond à un nombre très élevé de germes, chassé vers l'extérieur (2472 germe/ g de MF) tableau n° .

Ce résultat est intimement lié à l'apparition des diarrhées au cours de cette période de même pour le lot 2 supplémenté de *Lb.plantarum* « 0021 » avec un nombre de 2564 germes/ g de MF, dans la deuxième période, et de 2520 germes/ g de MF observé dans la 4<sup>ème</sup> période, par la suite, on observe une réduction du nombre de germes excrété avec la matière fécale. Pour le lot 03, supplémenté de *Lb.plantarum* « CHT25 », on observe que le nombre de C.T.T excrété vers l'extérieur est presque comparable le long de la période expérimentale.

D'une part, une supplémentation contenant 120 millions/ g de *Streptococcus faecium* « M-74 » permet d'abaisser proportionnellement la quantité de bactéries de la flore secondaire susceptible d'envahir le tube digestif du lapin.

Tableau.25 : Evolution du nombre de C.T.T.

	Lot T	Lot 02	Lot 03
P <sub>1</sub>	122	146	296
P <sub>2</sub>	2472	2564	271
P <sub>3</sub>	960	774	322
P <sub>4</sub>	720	2520	223
P <sub>5</sub>	122	146	296

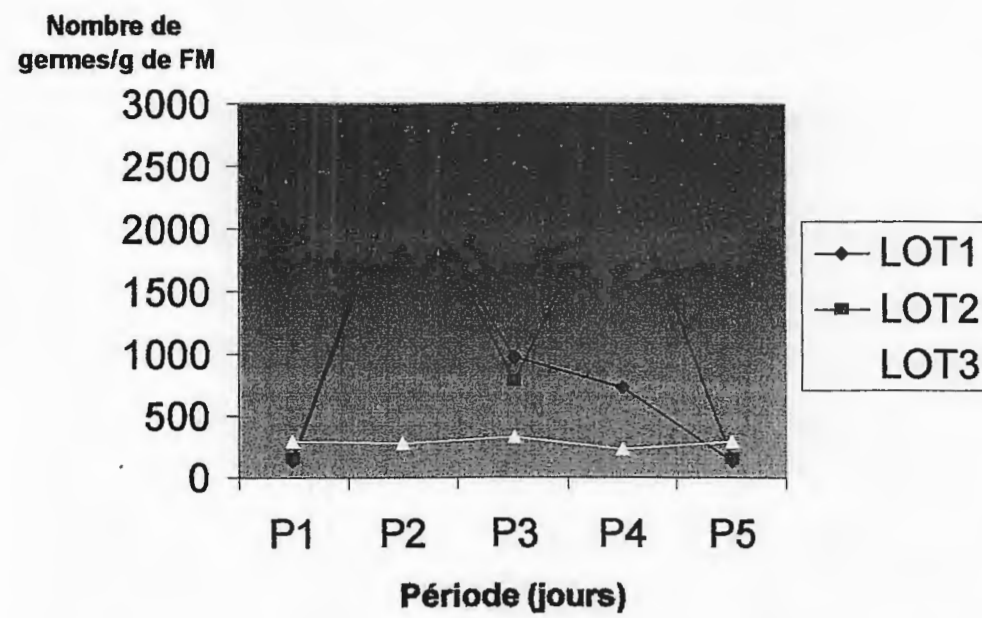


Figure.23: Evolution du nombre de C.T.T par gramme de matière fécale.

#### III.5.4. Evolution du nombre de *Staphylococcus.sp.*

La figure n° 24, représente l'évolution du nombre de *Staphylococcus.sp.* Au début de la 2<sup>ème</sup> période jusqu'à la 3<sup>ème</sup> période, nous observons nettement pour les lapereaux recevant *Lb.plantarum* « 0021 » un nombre très élevé des staphylocoques coagulase positive dans la matière fécale et la même chose pour le lot 03 supplémenté de *Lb.plantarum* « CHT25 », et le lot témoin .

Entre la 2<sup>ème</sup> période et la 3<sup>ème</sup>, aucun effet de probiotique « 0021 » et « CHT25 » sur le nombre de *Staphylococcus.Sp* excréte n'a été signalé, car dans les deux lots, les lapereaux étaient atteints par des diarrhées aiguës donc il y a évacuation de ce germe dans les jours qui précèdent le prélèvement.

Le nombre élevée de *Staphylococcus.sp* trouvé dans la matière fécale, des lapereaux supplémentés avec *Lb.plantarum* « CHT25 » est probablement dû à l'effet des métabolites excrétés par la flore lactique, notamment l'effet de l'acide lactique et des bactériocines, notre justification est confirmée par plusieurs auteurs, qui signalent que l'ingestion de bactéries lactiques s'oppose à la prolifération de *Staphylococcus. aureus*, de *Salmonella typhimurium* de *Clostridium. Perfrengens* et *E.coli*. la fixation des bactéries lactiques sur le tube digestif empêche la colonisation par les bactéries pathogènes, et par cela, l'élimination de ces dernières vers l'extérieur.

Tableau.26 : Evolution du nombre de *Staphylococcus.sp*

	Lot T	Lot 02	Lot 03
P <sub>1</sub>	37	18	46
P <sub>2</sub>	120	227	175
P <sub>3</sub>	246	532	720
P <sub>4</sub>	200	80	780
P <sub>5</sub>	37	18	46

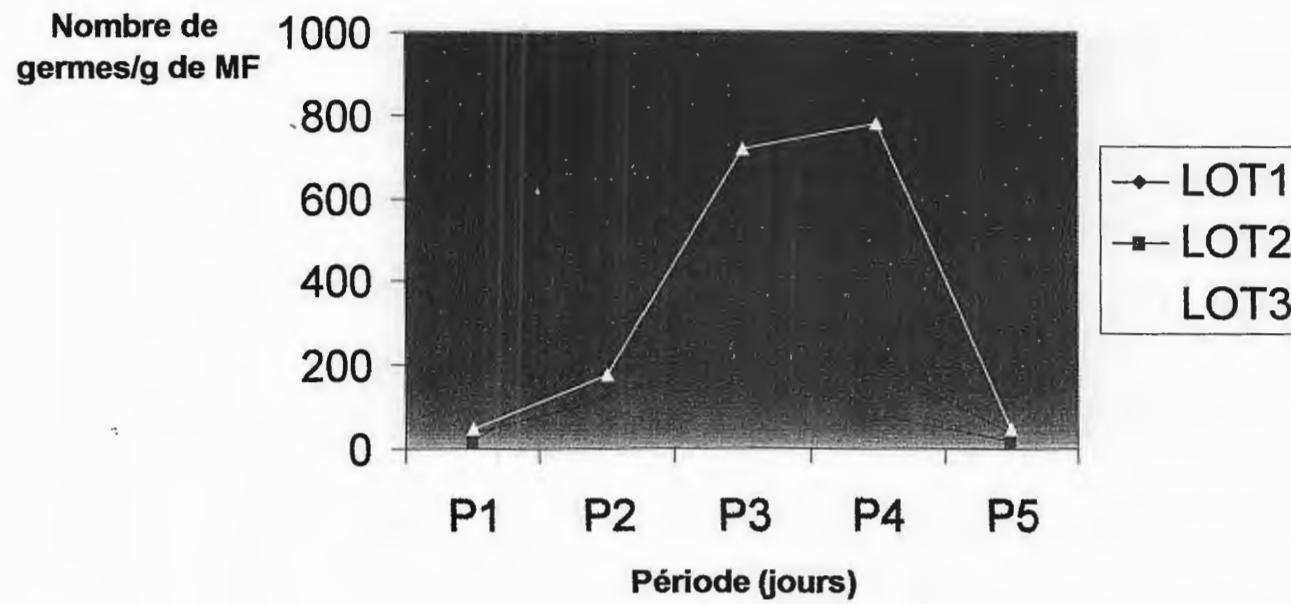


Figure.24: Evolution du nombre de *Staphylococcus.sp* par gramme de matière fécale.

III.5.5. Evolution du nombre de *Salmonella* et *Clostridium*.

Au cours de notre expérimentation, on a noté une absence totale de ces deux germes dans la matière fécale des différents sujets.

III.6. Test de fragilité.

Ce test va mettre en évidence les interactions « *in-vitro* » entre les probiotiques et la flore spécifique de chaque milieu gélosé. A l'instar des résultats obtenus (tableau n° 27) il en ressort le suivant :

- Sur le milieu gélose nutritive, et mise à part la 1<sup>ère</sup> période le probiotique 0021 est le plus actif sur la FTAM avec une présence permanente de zone de lyse témoignent la production de substances inhibitrices par cette souche. En revanche, le probiotique CHT25 à montre un

● Sur le milieu des entérobactéries, le probiotique 0021 exerce son pouvoir antagoniste vis à vis des entérobactéries totaux et thermotolérants et au deux températures d'incubation, cela dit et d'après la composition de son filtrat de lyse, on peut avancer l'hypothèse de la production d'une bactériocine analogue à celle produite par *Lb.plantarum* de référence et qui exerce un effet inhibiteur vis à vis des GRAM<sup>+</sup> aussi bien que des GRAM<sup>-</sup>.

Cependant, le probiotique CHT25 est moins actif sur les Entérobactéries avec des fréquences d'inhibition de 1/4, 0/4 et 2/4 pour les lots témoin, à probiotique 0021 et 0051 respectivement, de même ce probiotique et à température d'incubation de 44°C, il est plus efficace sur la flore issue de la matière fécale des animaux supplémenté par ce dernier, cela est probablement liée à la dominance de ce dernier « in vivo ».

Enfin, sur gélose Chapman, il y a une croissance des probiotique sans lyse cellulaire. Les phénomènes observées au cours de ce test, notamment l'aptitude antagoniste est probablement liée à la présence de plasmides dans les cellules, ces derniers renferment des gènes codant pour la synthèse de substances à activité bactériostatique ou bactéricides.

Les vertus des probiotiques se manifestent par inhibition de différents micro-organismes indésirables et en particulier les bactéries GRAM négatives. [15].

Tableau.27 : Résultats de test de fragilité pendant l'expérimentation.

	10 <sup>3</sup>	FTAM		CT		CTT		Streptocoques	
		0021	CHT25	0021	CHT25	0021	CHT25	CHT25	0021
Lot 1	Période 1	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation
	P2	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=0,8 cm (φD=0,2 cm)	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=0,6 cm (φD=0,1 cm)	Zone de lyse	Symbiose	Symbiose	Symbiose
	P3	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	Croissance normale	Zone de lyse	Co-habitation	Croissance normale	Croissance normale
	P4	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	symbiose	Zone de lyse	Symbiose	Croissance normale	Croissance normale
Lot 2	P1	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation
	P2	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=0,7 cm (φD=0,1 cm)	Zone de lyse	symbiose	Zone de lyse	Pas de croissance	Symbiose	Symbiose
	P3	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	Croissance normale	Zone de lyse	Zone de lyse	Co-habitation	Co-habitation
	P4	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	symbiose	Zone de lyse	Co-habitation	Symbiose	Symbiose
Lot 3	P1	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation	Co-habitation
	P2	Zone de lyse	Zone de lyse	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=0,9 cm (φD=0,2 cm)	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=0,8 cm (φD=0,2 cm)	Symbiose	Symbiose
	P3	Zone de lyse	Zone de lyse	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	Zone de lyse	Croissance normale	Croissance normale
	P4	Zone de lyse	Co-habitation	Zone de lyse	symbiose	Zone de lyse	Zone d'inhibition φ=1,3 cm	Co-habitation	Co-habitation

### III.7. Paramètres zootechniques.

#### III.7.1. Indice de consommation.

Tout en négligeant les résultats de la première période ( celle de l'adaptation ), marqué par la chute du poids vif enregistré dans les lots, les indices de consommation montrent des variations tout au long de la période expérimentale ceux-ci est nettement observé dans le lot témoin par une augmentation durant la 3<sup>ème</sup> période, cela est de même pour les animaux du lot supplémenté par le probiotique CHT25 et à la même période avec un indice de consommation de 16.35 par ailleurs, la mauvaise valorisation de l'aliment persiste chez ces animaux pour le reste des probiotique dont les indices étaient de 22.55 et 15.58 pour les périodes P<sub>4</sub> et P<sub>5</sub> respectivement. Par contre, on remarque une amélioration de cet indice pour le lot supplémenté de probiotique : *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 ».

L'augmentation visible de l'indice de consommation durant la 3<sup>ème</sup> période entre les deux lots expérimentaux à savoir le lot témoin et à probiotique CHT25 est du principalement à la température élevée, mauvaise aération, la présence du poulets pendant le long de l'expérimentation et la présence des sujets malades issus de la région de Beni-Ahmed ( nécrose hépatique ) d'une manière générale, on constate une amélioration de l'indice de consommation pour les lapereaux supplémentés par *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » notamment pour la 3<sup>ème</sup> période de plus 5.39% dont le G.M.Q est à son maximum.

Les mêmes résultats ont été trouvé par LACZA-SZABO et al., (1990) utilisant *Streptococcus faecium* « M-74 » (-2 à 3.3% de l'indice de consommation). Il est à penser que le probiotique *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » est un économiseur d'aliment.

**Tableau.28 : Evolution de l'indice de consommation.**

Régime / Période	Témoin ( lot 1 )	Probiotique : «BJ0021 » ( lot 2 )	Probiotique: «CHT25 ( lot3 )
P <sub>1</sub>	12.36	19.69	10.20
P <sub>2</sub>	8.53	6.94	6.44
P <sub>3</sub>	11.61	5.39	16.35
P <sub>4</sub>	9.73	9.91	22.55
P <sub>5</sub>	6.96	7.52	15.58



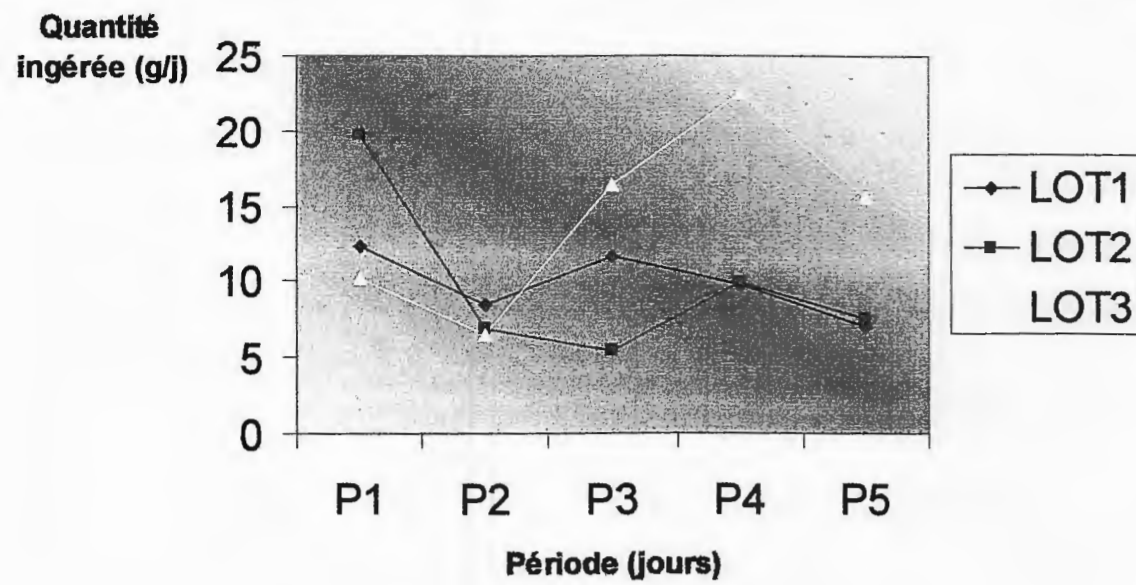


Figure.25 : Evolution de l'indice de consommation.

Les résultats relatifs à l'analyse de variance n'a montre aucun effet significatif que se soit de la part du probiotique ou de la durée de l'élevage ( $P > 0.05$ ).

### III.7.2. Poids vif.

Le poids vif du début de l'expérimentation jusqu'au début de la 3<sup>ème</sup> période est presque homogène entre les lots expérimentaux.

Les lapins recevant les deux probiotiques montrent une augmentation croissante durant toute la période d'élevage, par contre les lapins supplémentés avec *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » donnent des meilleurs résultats par rapport au sujets des deux autres lots.

Ces résultats sont en concordance avec les travaux de DUPERRAY et ROBERTON, (1990). Le meilleur rendement est marqué par les lapereaux supplémentés de probiotique *Lactobacillus plantarum* qui agit sur l'amélioration de l'état digestif du lapin.

Il apparaît clairement qu'à partir de la 2<sup>ème</sup> période, les lapereaux du lot 2 sont les moins performantes avec un poids de 618.75g, donc des différences de -1.25g et -66.25g par rapport aux lapereaux témoins et ceux du lot à probiotique CHT25 respectivement. Toute fois, au delà de cette période, ces lapereaux donnent les meilleurs résultats témoignant, le bien fait du probiotique au niveau de leurs tractus digestifs par l'amélioration de l'utilisation digestive des aliments.

Tableau.29 : Evolution du poids vif.

Régime	Témoin	Probiotique :	Probiotique :
Période	( lot 1 )	« BJ0021 » ( lot 2 )	« CHT25 » (lot 3 )
P <sub>1</sub>	550g	507.50	558.75
P <sub>2</sub>	620	618.75	685
P <sub>3</sub>	686.25	763.33	733.75
P <sub>4</sub>	772.50	846	771
P <sub>5</sub>	863	933	810

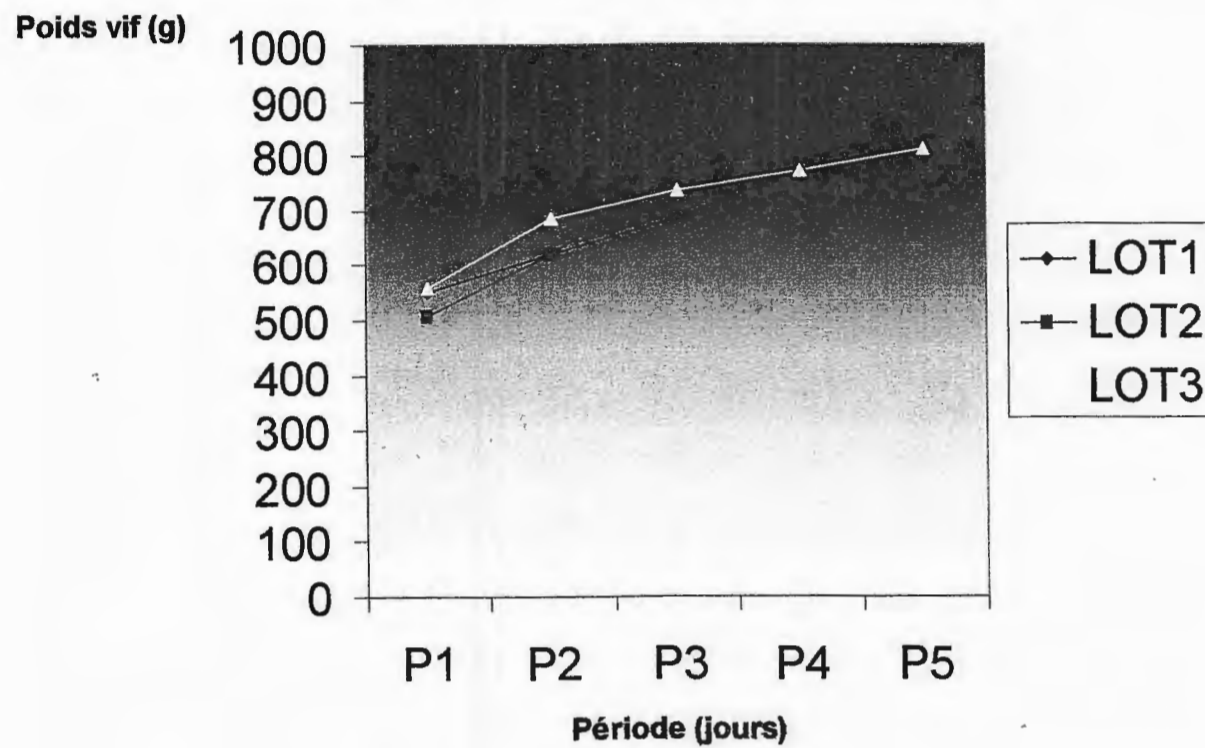


Figure.26 : Evolution du poids vif.

Un effet hautement significatif a été noté avec la durée de l'étude sur l'évolution du poids vif (P<0.01).

### III.7.3. Gain moyen quotidien. (G.M.Q )

Le G.M.Q a présenté des variations tout au long de l'expérimentation en excluant la première période d'adaptation qui est marquée par des chutes de poids pour certains sujets, suite aux conséquences du sevrage accompagné de l'inadaptation à l'aliment et aux conditions de l'élevage, en effet, le maximum du gain de poids pour le lot témoin a été enregistré dans la

dernière période et qui est de l'ordre de 30.16g/j alors que le plus faible est remarqué dans la 3<sup>ème</sup> période ( 11.61g/j ).

Pour le lot supplémenté de *Lactobacillus plantarum* « BJ 0021 » le maximum du gain de poids a été enregistré dans la 3<sup>ème</sup> période (48.19g/j) alors que le plus faible a été obtenu en 1<sup>ère</sup> période (12.16g/j).

Pour le lot supplémenté de *Lactobacillus plantarum* « CHT25 » le maximum du gain de poids a été enregistré au cours de la 2<sup>ème</sup> période (42.08g/j) alors que le plus faible a été enregistré en 4<sup>ème</sup> période qui est de l'ordre de 12.41g/j, ces résultats sont étroitement liés au quantité d'aliment ingérés.

Selon la figure, le meilleur rendement a été enregistré dans le lot 2 supplémenté de *Lactobacillus plantarum* « BJ 0021 » pendant l'élevage malgré que ces sujets étaient chétifs en période d'adaptation.

Enfin, l'essai sur lapin du type local démontre l'intérêt du *Lactobacillus plantarum* « BJ 0021 » en tant que promoteur de croissance avec un G.M.Q très élevé.

Reste à noter que le probiotique CHT25 n'est pas efficace dans l'élevage de lapin. Le maintien de la flore intestinale normale va permettre une meilleure digestion, ainsi qu'une limitation des diarrhées permettant d'utiliser mieux l'aliment proposé et d'avoir une bonne croissance du lapereau. ■

**Tableau.30 : Evolution du gain moyen quotidien ( G.M.Q ) .**

Régime	Témoin	Probiotique : « BJ	Probiotique :
Période	( lot 1)	0021 »(lot2)	« CHT25 » (lot3)
P <sub>1</sub>	20.33	12.16	20.58
P <sub>2</sub>	23.33	37.08	42.08
P <sub>3</sub>	11.61	48.19	16.35
P <sub>4</sub>	28.75	27.55	12.41
P <sub>5</sub>	30.16	29	13

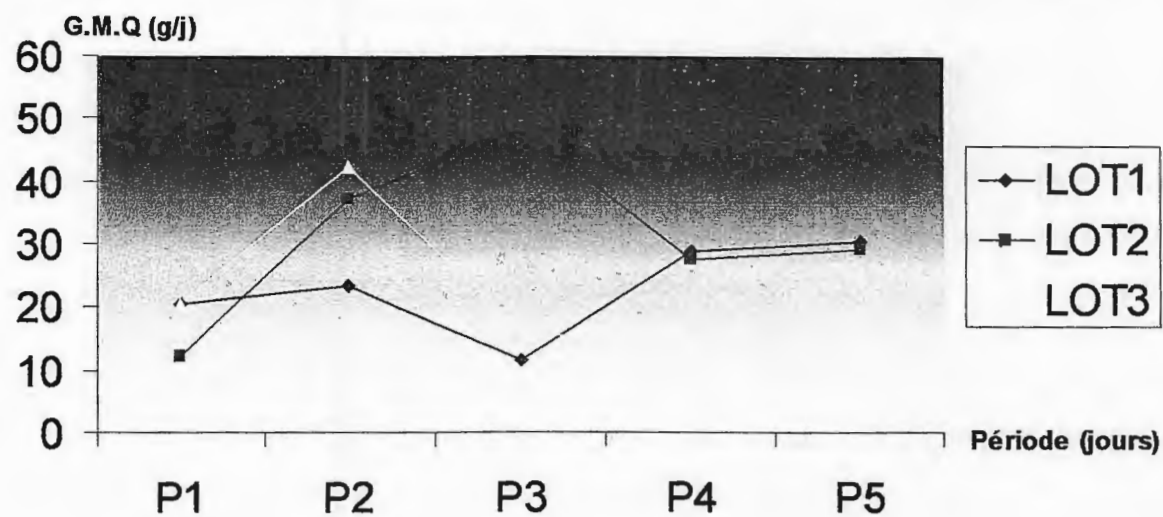


Figure.29 : Evolution du G.M.Q

l'analyse de variance a montré que la durée de l'élevage a un effet significatif sur l'évolution du G.M.Q ( $P < 0.05$ ).

#### III.7.4. Ingestion de l'aliment.

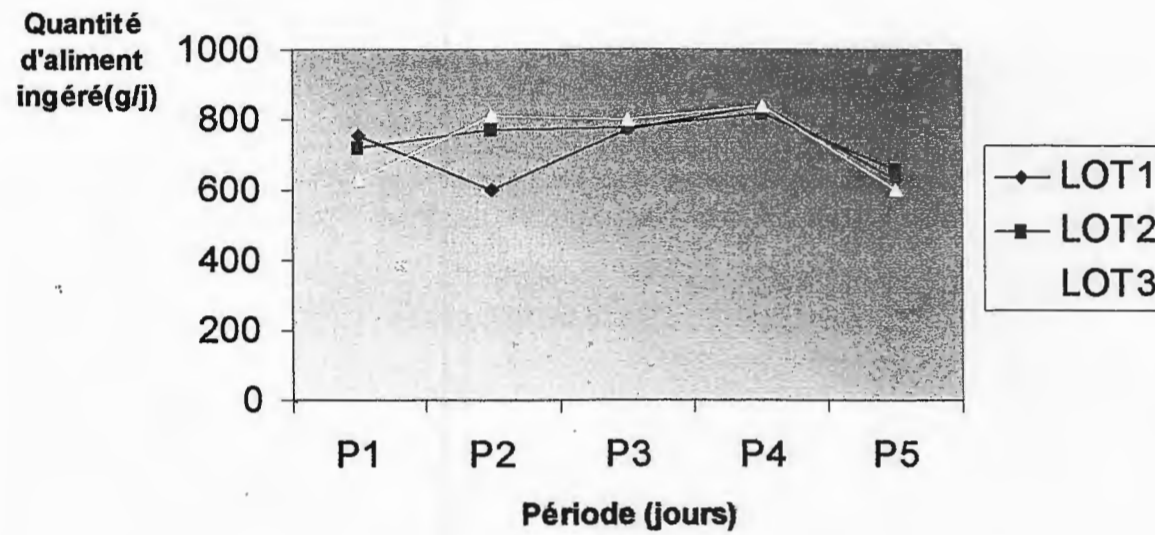
Les quantités moyennes consommées par jours, illustrées par le tableau 31 sont marquées par des valeurs croissantes durant la période d'élevage sauf pour la 2<sup>ème</sup> période pour le lot témoin, et la 5<sup>ème</sup> période pour les 3 lots où on remarque une diminution due probablement aux températures élevées enregistrées au niveau de l'animalerie durant cette période et la mauvaise aération.

Toute fois, les animaux du lot à probiotique 0021 consomment une moyenne proche des autres lots mais il y'a une volarisation de l'aliment qui s'est répercutée positivement sur le poids des animaux dont chez ces derniers la protéogenèse est en bonne activité malgré l'influence des mauvaises conditions de l'élevage.

Enfin, les meilleurs résultats sont enregistrés au niveau du lot 2.  
L'augmentation visible de l'ingéré moyen dans les trois lots est confirmée par les résultats de LEBAS, (1975) et LEBAS et *al.*, (1990) qui constate une évolution de l'ingéré en fonction de l'âge pour les lapins de 5 à 12 semaines.

**Tableau.31 : Evolution des quantités moyennes d'aliment ingéré/ jour (en gramme).**

Régime	Témoin (lot 1)	Probiotique1 : « BJ 0021 »(lot2)	Probiotique2 : « CHT25 »(lot3)
P <sub>1</sub>	754	719	630
P <sub>2</sub>	597.17	772.20	814.14
P <sub>3</sub>	769.7	779.3	797.3
P <sub>4</sub>	840	820	840
P <sub>5</sub>	630	655	600



**Figure 30 : Evolution des quantités moyennes d'aliment ingéré/ jour (en gramme).**

Ces résultats de l'analyse de variance ont montré que seule la durée de l'élevage agit sur les quantités consommées avec une différence significative entre les trois lots ( $P < 0.05$ ).

### III.7.5. La Mortalité.

La période la plus critique de la vie d'un lapin est constituée des quelques semaines suivant son sevrage, plus de la moitié de la mortalité globale intervient au cours de cette période.

La mortalité la plus élevée enregistrée durant l'expérimentation se manifeste dans notre lot 2 au cours de la phase d'adaptation avec un taux de 75% comme l'indique le tableau n° 32, ce taux est supérieur à celui observée par LACZA-SZABO et al., (1990) qui est de 30%. Après autopsie des animaux, il y a eu à noter les symptômes suivants :

- Cœur dilaté.
- Ballonnement intestinale avec présence de lésion hémorragique.
- Une dilatation de la vessie, une rétention urinaire et une présence de pus sous forme de granula.

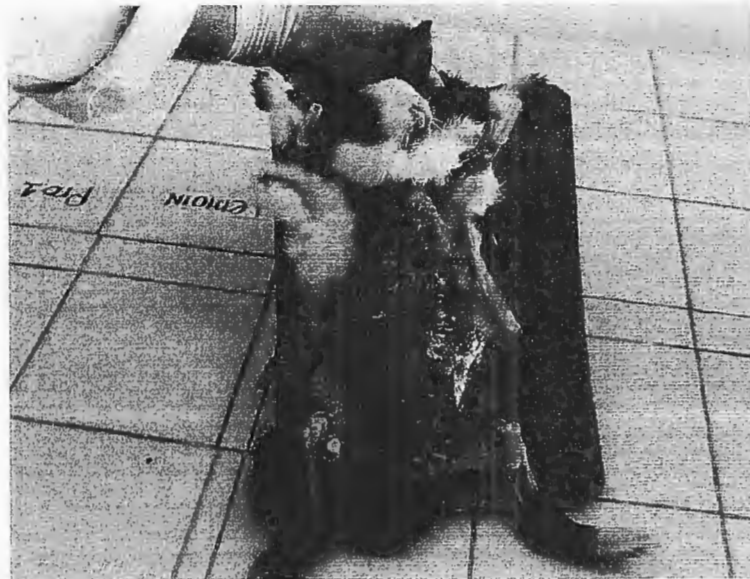


Figure.31 : Autopsie : ballonnement



Figure.32: problèmes urinaires

Par ailleurs, l'analyse microbiologique du contenu intestinale (matière fécale et villosité intestinales) à montré que les coliformes thermotolérants (*E.coli*, *Citrobacter*, *Entérobacter*) sont devenus la flore dominante au niveau de l'intestin (tableau n° 32) de même on a noté la présence de *Staphylococcus* à coagulase positive.

Tableau.32 : Résultats de l'analyse microbiologique.

	GRAM +	TSI + H <sub>2</sub> S	urée	indole	Mannitol Mobilité	ODC	LDC	ADH	catalase	identifier à
Intestin milieu HeKtoN	G <sup>-</sup> Cocci + diplocoques	Gaz <sup>+</sup> Glucose <sup>+</sup> H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>	-	+	Mannitol <sup>+</sup> Mobilité <sup>+</sup>	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
Intestin milieu HeKtoN(CTT )	G <sup>-</sup> Cocci + diplocoques	Gaz <sup>+</sup> Glucose <sup>+</sup> H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>	-	-	Mannitol <sup>+</sup> Mobilité <sup>+</sup>	+	-	+	+	<i>Citrobacter</i> Ou <i>Entérobacter</i>

<b>Matière fécale</b> <b>Milieu</b> <b>HeKtoen</b>	G <sup>-</sup> Cocci + diplocoques	Gaz <sup>+</sup> Glucose <sup>+</sup> H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>	-	+	Mannitol <sup>+</sup> Mobilité <sup>+</sup>	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
<b>Intestin</b> <b>Milieu</b> <b>Chapman</b>	G <sup>-</sup> Cocci + diplocoques	Gaz <sup>+</sup> Glucose <sup>+</sup> H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>	-	+	Mannitol <sup>+</sup> Mobilité <sup>+</sup>	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
<b>Matière fécale</b> <b>Milieu viande</b> <b>de</b> <b>fois</b>	G <sup>-</sup> Cocci + diplocoques	Gaz <sup>+</sup> Glucose <sup>+</sup> H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>	-	+	Mannitol <sup>+</sup> Mobilité <sup>+</sup>	+	+	+	+	<i>E.coli</i>

Vers la 3<sup>ème</sup> période on a eu à constater la mort de 2 sujets faisant partie du lot à probiotique 0021, en signalant des troubles digestifs.

Le diagnostic a révélé que le coeur des lapereaux était gonflé, signe d'une entérotaxémie, la vésicule biliaire était inapparente donc un dysfonctionnement du métabolisme des lipides et notamment le métabolisme du cholestérol qui va se respecter négativement sur l'absorption intestinale (par d'émulsion des corps gras) enfin, le contenu intestinal témoigne la présence d'une diarrhée.

Par ailleurs, les résultats de l'analyse microbiologique ont montré la présence d'*E.coli* au niveau du coeur, du foie et de l'intestin.

**Tableau.33 : L'observation microscopique des organes après l'autopsie.**

Organes	GRAM
<b>Foie</b>	Cocobacilles, diplocoques. (G <sup>-</sup> )
<b>Intestin</b>	Cocobacilles, diplocoques. (G <sup>-</sup> )
<b>Coeur</b>	Diplocoques, Cocobacilles. (G <sup>-</sup> )
<b>Isolement sur Hektoen</b>	Présence d' <i>E.coli</i>

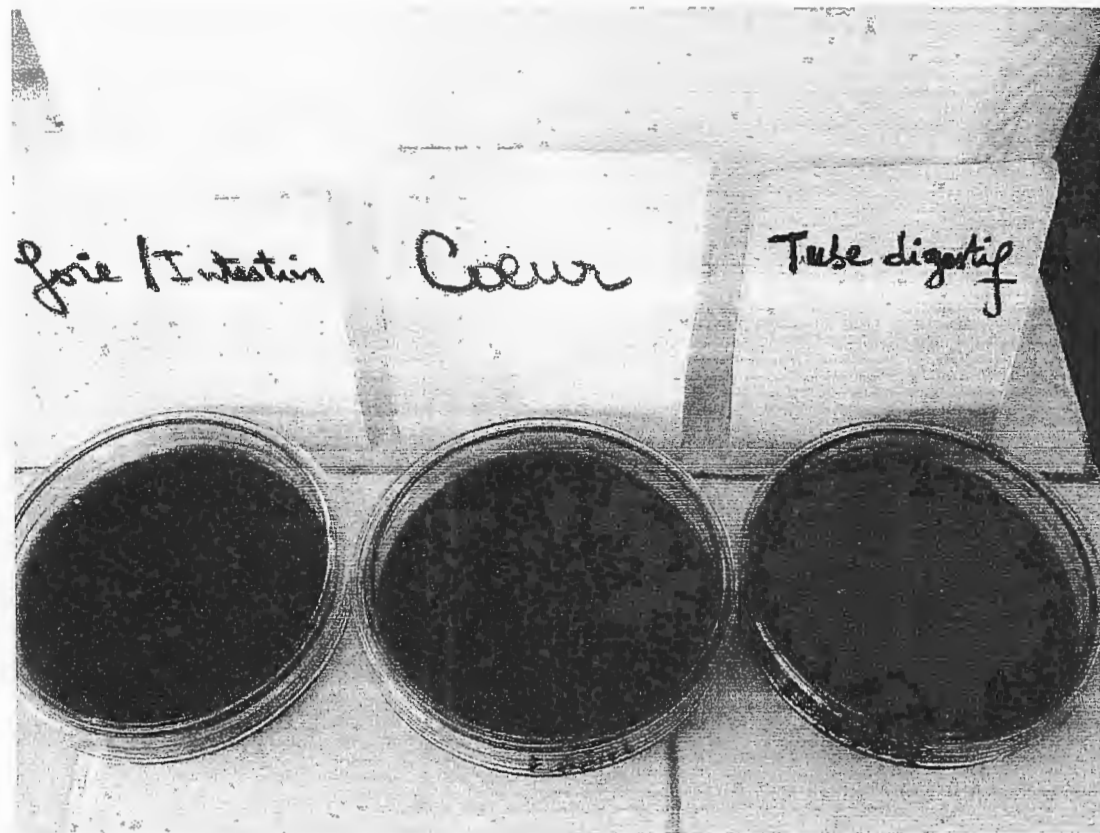


Figure.34: Résultats de l'analyse bactériologique.

#### La période 5 :

Il y a eu la mort d'un animal témoin et un autre du lot 3 à probiotique CHT25.  
Le diagnostic du lapin témoin a montré le suivant :

- Entérotoxémie.
- Cirrhose totale.
- Foie avec nodosites.
- Dégénérescence du foie par absédation.





**Figure.34 :** Autopsie : dégénérescence du foie.



**Figure.35 :** Abscédation du foie.

Par contre le lapin 2 était jeune dont la consommation d'herbe vert pollué par un ciment est la cause de sa mortalité car l'ensemble du cinquième quartier n'a révélé aucune anomalie apparente.

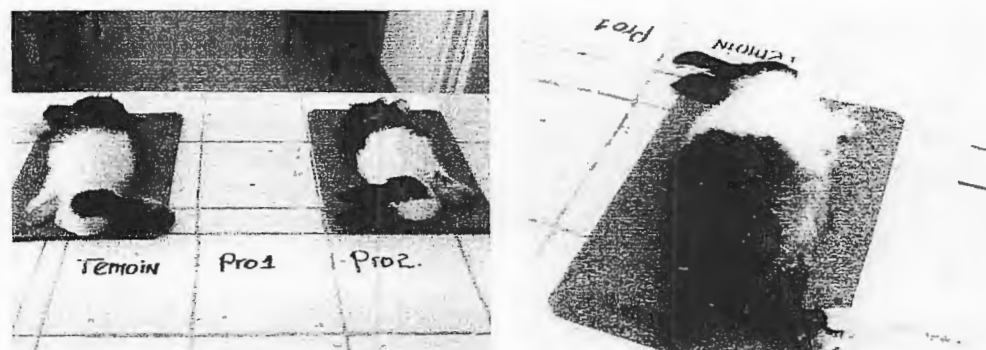


figure.3 la mort des lapereaux .

Le post-sevrage est caractérisé par des troubles digestifs liés à des diarrhées aiguës, le taux élevé de la mortalité est dû à des mauvaises conditions d'élevage :

- ❖ Mauvaise ventilation, l'augmentation de la température : il est impératif de maintenir le lapin dans un endroit calme (existence de poulet), tous dérangement ou bruits peuvent entraîner des abandons de portée, du cannibalisme ou des troubles plus généraux d'ordre respiratoire ou digestif, sans oublier que la population de Beni-Ahmed est en mauvaise santé.

Les analyses microbiologiques effectuées dans le laboratoire ont confirmé que la mortalité est due à une prolifération très importante d'*E.coli* au niveau de l'intestin et du tube digestif.

### III.8. Les paramètres de carcasses.

Les rendements à l'abattage moyens enregistrés sont de l'ordre de 33.25%, 39.38%, 33.09% respectivement pour le lot témoin les sujets supplémentés avec *Lactobacillus plantarum* « BJ 0021 » et *Lactobacillus plantarum* « CHT25 ».

La différence entre les lots semble être comparable sauf pour les lapins recevant le probiotique *Lactobacillus plantarum* « BJ 0021 » qui est légèrement supérieure avec une différence de +6.13% par rapport au témoin.

Les faibles rendements moyens enregistrés sur les lapereaux du lot témoin et celui recevant le probiotique *Lactobacillus plantarum* « CHT25 » peuvent être expliqués par le fait du faible poids vif moyen obtenu à l'âge de 21 jours, ainsi qu'aux faibles vitesses de croissance, conséquences des mauvaises conditions de l'élevage et la présence de sujet atteints de maladies.

### III.9. Composantes du rendement et paramètres d'abattage.

Les lapins traités au probiotique *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » et *Lactobacillus plantarum* « CHT25 » enregistrent les meilleurs poids vif à l'abattage à cause de l'hétérogénéité du poids des animaux sacrifiés.

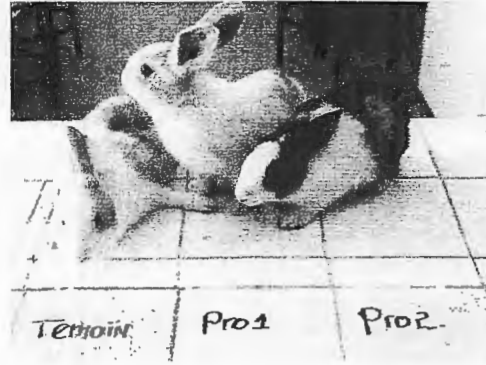


figure.35 les lapins d'abattage.

D'après les résultats du tableau n°34 il en ressort le suivant :

- Le meilleur rendement après ressuyage est obtenu avec le sujet du lot à probiotique BJ0021 estimé à 39.38%, malgré que le poids de certains composants de la carcasse sont importants à savoir la tête (93.70g), le 5<sup>ème</sup> quartier 324.04g et le poids de la peau 93.84g.
- Le plus faible rendement a été enregistré avec le sujet à probiotique CHT25 car ce dernier était malade dont l'anomalie était sise au niveau de son foie (poids : 46.86g avec nécrose).
- Enfin un rendement de 33.25% a été note à l'égard du sujet témoin avec un poids de la carcasse ressuyée de 285.96g avec un poids de la tête de 77.36g, celui du 5<sup>ème</sup> quartier de 304.76g.

Tableau.34 : Les composantes du rendement à l'abattage.

Paramètres \ Régime	Témoin (lot 1)	Probiotique1 : « BJ021 »(lot2)	Probiotique2 : « CHT25 »(lot3)
Poids vif (g)	860	930	920
Poids de la peau	61.46	93.94	56.48
Poids de la tête	77.36	93.70	82.82
Poids de 5 <sup>ème</sup> quartier	304.76	324.04	369.24
Poids de carcasse chaude	292.14	370.52	312.98
Poids de carcasse froide après 24h de ressuyage	285.96	366.30	304.46
Perte au ressuyage (%)	2.11%	1.13%	2.72%
Rendement de la carcasse (%)	33.25%	39.38%	33.09%

### III.10. Poids des différents organes.

Le tableau n° 35 illustre qu'il existe une différence entre le poids moyen du foie dans les lots supplémentés et du témoin, ce dernier est de l'ordre de 45.30g et de 29.24g chez le sujet recevant le probiotique : « BJ 0021 » et 46.86g chez le lapereau à probiotique « CHT25 ».

A noter que le foie de l'animal à probiotique CHT25 était totalement nécrosé dont les nodosités occupant toute sa surface témoignent que cette animal était déjà malade avant le début de notre expérimentation. Par contre aucune différence n'a été signalée pour le poids des reins.

Toute fois, des différences ont été notées à l'égard du poids du cœur avec +1.84g et +0.14g du poids des reins du lapin à probiotique 0021, par rapport à ceux du témoin et à probiotique CHT25 respectivement, en revanche le poids des poumons du lapin malade (lot 3) dépasse celui du témoin de +0.98g et celui du lot 2 de +1.50g.

Ces différences observées, ne peuvent avoir des explications fondées par manque de données bibliographiques relatives à ces paramètres mais des hypothèses peuvent être avancées.

**Tableau.35 : Poids de certains organes .**

Régime Paramètres	Témoin ( lot 1 )	Probiotique 1 : « BJ0021 » (lot2)	Probiotique2 : « CHT25 »(lot3)
Poids du cœur( g)	1.98	3.82	3.68
Poids du foie	25.30	29.24	46.86
Poids des reins	6.16	6.78	5.84
Poids des poumons	4.54	4.02	5.52
Poids des pattes antérieure et postérieure	23.80	28.92	24.66

### III.11. Les paramètres sanguins.

Le tableau n°36 représente le taux de glucose de l'urée et des triglycérides dans le sang du lapin des trois lots, après l'abattage.

D'après les résultats, la glycémie des jeunes lapereaux était de 1,01g/l, 1,12g/l et 1,10g/l pour le lot témoin et les deux lots supplémentés par les probiotiques 0021 et CHT25 successivement, mais la valeur la plus élevée, c'est celle de lot 02, supplémenté de *Lb.plantarum* « 0021 » avec un écart de +0,11g/l par rapport au témoin et +0,02 à celui au probiotique CHT25, ainsi il apparaît qu'il n'y a aucune signification entre les différents lots.

GHERICATO et RIZZI, (1999) ont rapporté que la glycémie du lapin au cours de la croissance est relativement stable, elle est de  $7,3 \pm 0,6$  mmol/l.

Cependant, pour la concentration d'urée, les résultats montrent qu'elle oscille entre 0,32g/l et 0,62g/l et cela chez les sujets des lots à probiotique CHT25 et 0021 respectivement le lot témoin montre une valeur de 0,52g g/l, aussi le cycle de l'urée est plus actif chez les animaux à probiotique « 0021 ».

Les mêmes auteurs sus-cités ont rapporté que l'urécémie du lapin en phase de croissance est presque stable, elle atteint une valeur de  $0,75 \pm 0,04 \text{ mmol/l}$ , ce résultat est probablement lié à l'effet du probiotique sur la valorisation du contenu protéique de la ration qui aboutit à une bonne dégradation de ces dernières suivie d'une bonne absorption.

Enfin, pour les triglycérides, et contrairement à la glycémie et l'urécémie, la valeur la plus basse, est celle de lot 2 qui est de  $0,91 \text{ g/l}$ , les animaux du lot témoin ont une triglycéridémie de  $1,05 \text{ g/l}$ , ceux du lot à probiotique CHT25, elle est de  $1,60 \text{ g/l}$ .

GHERICATO et RIZZI, (1999) ont constaté que la triglycéridémie chez le lapin à l'âge de 37 jours est de  $0,95 \text{ mmol/l}$ . Toutefois, l'augmentation visible de ce paramètre plasmatique chez les sujets à probiotique CHT25 est probablement liée à une défaillance du métabolisme des lipoprotéines car les VLDL formées par le foie sont plus riches en triglycérides qui contribuent à la formation de LDL (petites et denses).

Le foie met en circulation de nouvelles lipoprotéines, les VLDL, les lipides constitutifs sont issus du métabolisme hépatique endogène ou proviennent de la circulation sanguine. Donc, il se peut que cette valeur soit une conséquence de l'augmentation des VLDL dans le sang avec une réduction des HDL.

**Tableau.36 : Evaluation des paramètres sanguins après l'abattage.**

	Lot 1 (T)	Lot 2	Lot 3
<b>Glycémie</b>	1,01 g/l	1,12 g/l	1,10 g/l
<b>Urecémie</b>	0,52 g/l	0,62 g/l	0,32 g/l
<b>Triglycéridémie</b>	1,05 g/l	0,91 g/l	1,60 g/l

A l'instar des résultats représentés dans le tableau n°37 et illustrées par les figures 33, 34 et 35, on constate que le nombre des globules rouges est en augmentation permanente chez les animaux des trois lots avec un nombre lors de la première prise de  $0,123 \times 10^6 \text{ cellules/mm}^3$ ,  $0,125 \times 10^6 \text{ cellules/mm}^3$  et  $0,13 \times 10^6 \text{ /mm}^3$  chez les lapereaux du lot témoin et ceux à probiotique BJ0021 et CHT25 respectivement. Par ailleurs il est clair que le sang des animaux à probiotique 0021 est le plus riche en globules rouges avec un écart de  $+163000 \text{ GR/mm}^3$  par rapport au sang des sujets témoins et  $+36550 \text{ GR/mm}^3$  par rapport à celui des animaux à probiotique CHT25, ces différences sont vraisemblablement liées soit aux caractéristiques génétiques et physiologiques du lapin soit à un effet positif exercé par le probiotique en question.

Si, on compare ces résultats à la norme de référence d'un lapin adulte de six mois avec un poids moyen de 2Kg qui est de  $4 \times 10^6 \text{ /mm}^3$ , il apparaît que les jeunes lapereaux en phase de croissance du lot 2 ont un sang riche en G.R.

Cependant, l'analyse des résultats de l'évolution de nombre de G.B montre une augmentation visible lors des trois premières périodes de ce paramètre chez les sujets à probiotique CHT25.

Cela est probablement liée à une lutte contre des antigènes générés par les conditions hostiles de l'animalerie, ou à l'invasion par des germes tels que *E.coli* qui était la cause de certaines mortalité et des diarrhées, par contre on a enregistré des fluctuations au seins des deux lots restants.

Toutes fois, il est a noter qu'il eu une fonte des G.B au cours de la 4<sup>ème</sup> période dont on enregistre une diminution de presque  $\frac{1}{4}$  chez les sujets témoins et à probiotique 0021 et de  $\frac{1}{3}$  chez les sujets à probiotique CHT25.

Si, on compare nos résultats à la norme d'un lapin adulte, de poids de 2Kg qui est de  $8000/\text{mm}^3$ , on remarque que l'ensemble des sujets n'ont pas cette composition globulaire chiffrée car les lapereaux sont en phase de croissance avec un poids ne dépassent pas 1Kg.

Enfin, ces résultats ne peuvent être discuter par manque de données bibliographiques relatives à l'effet des probiotiques sur les paramètres sanguins du lapin.

Tableau.37 : Évolution du nombre des globules rouges et globules blancs au cours de l'élevage.

		Lot T	Lot 2	Lot 3
P1	GR	123 000 /mm <sup>3</sup>	125 000 /mm <sup>3</sup>	130 000 /mm <sup>3</sup>
	GB	4600 /mm <sup>3</sup>	4720 /mm <sup>3</sup>	3200 /mm <sup>3</sup>
P2	GR	142 000 /mm <sup>3</sup>	161 750 /mm <sup>3</sup>	167 000 /mm <sup>3</sup>
	GB	5400 /mm <sup>3</sup>	4050 /mm <sup>3</sup>	3600 /mm <sup>3</sup>
P3	GR	164 750 /mm <sup>3</sup>	248 750 /mm <sup>3</sup>	244 000 /mm <sup>3</sup>
	GB	4700 /mm <sup>3</sup>	5050 /mm <sup>3</sup>	3900 /mm <sup>3</sup>
P4	GR	274 250 /mm <sup>3</sup>	290 550 /mm <sup>3</sup>	254 000 /mm <sup>3</sup>
	GB	1150 /mm <sup>3</sup>	1440 /mm <sup>3</sup>	1025 /mm <sup>3</sup>

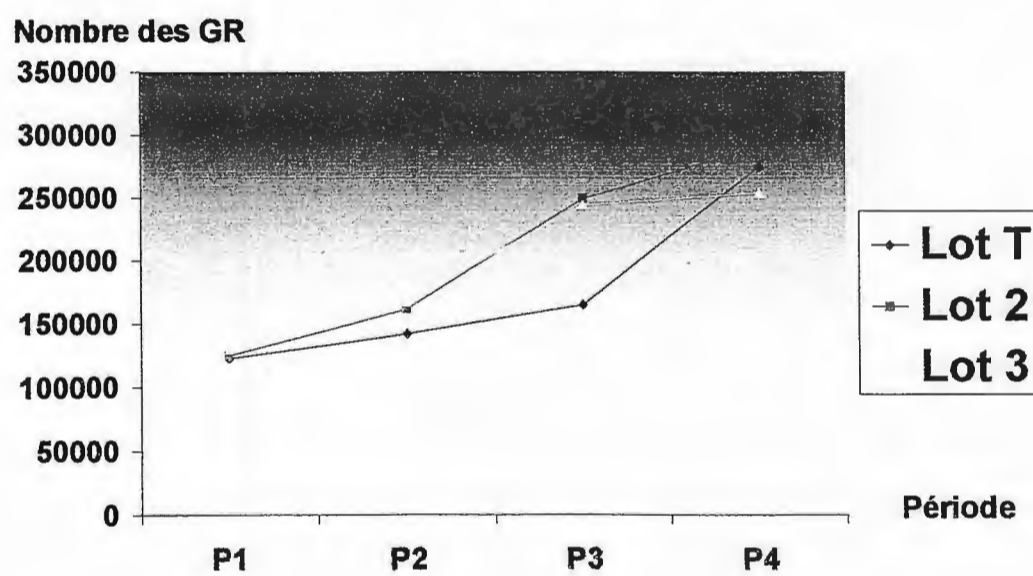
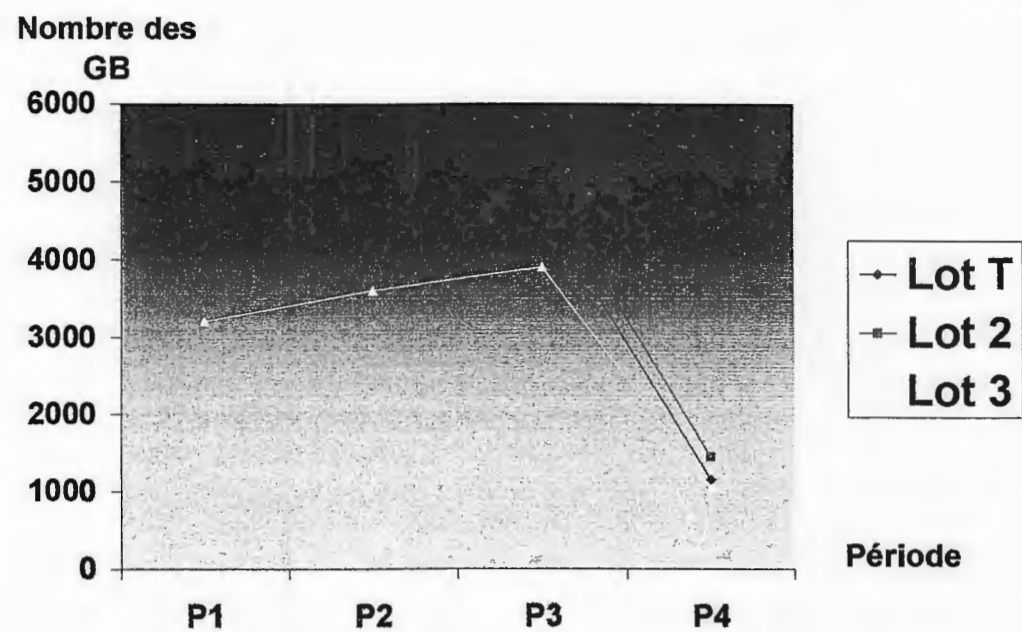


Figure.36 : Evaluation du nombre de globules rouges pendant l'expérimentation.



**Figure.37 : Evaluation du nombre de globules blancs pendant l'expérimentation.**

● **Globules rouges :**

L'analyse statistique a montré que le probiotique n'affecte pas le nombre des hématies ( $P > 0.05$ ) mais la durée de l'élevage agit sur l'évolution de ce paramètre avec un effet hautement significatif ( $P < 0.01$ ).

● **Globules blancs :**

L'analyse de variance a montré que le probiotique et la durée de l'élevage affecte le nombre de globule blanc avec un effet allant du significatif ( $P < 0.05$ ) à hautement significatif ( $P < 0.01$ ).



## Conclusion.

Notre étude comportait plusieurs parties expérimentales.

Le travail de réisolement et réidentification des différentes souches a montré que les souches codées S1, S2, S7, S9, appartiennent au genre *Salmonella*, celles codées E1, E4, E5, E6 sont des espèces typiques d'*E.coli*, toutefois il y a eu une hétérogénéité à l'intérieur de l'espèce *Lactobacillus plantarum*.

L'étude des interactions bactériennes *in-vitro* nous a permis de voir les effets de stimulation et d'inhibition aussi la mise en évidence de la production des substances inhibitrices. Sur les milieux solides par la mesure d'halo d'inhibition et liquides par l'évaluation de la densité optique, il apparaît que le probiotique le plus actif vis-à-vis des huit souches entérobactéries et le *Lb. plantarum* « BJ 0021 ».

Par la suite, on a réalisé une série de chromatographie, pour la détermination de la nature de surageant des quatre souches lactiques, dont les résultats ont montré que la composition est de nature protéino-glucidique.

Les résultats relatifs aux performances de croissance ont montré que :

- Les meilleurs indices de consommation sont enregistrés avec les sujets recevant le probiotique « BJ 0021 », cela est obtenu pour le gain de poids et le poids vif.

Les résultats relatifs aux paramètres sanguins ont montré que le sang des sujets à probiotique 0021 est plus concentré en globules rouges, de même pour les globules blancs. Cependant, ces sujets ont montré des valeurs de glycémie et urecémie supérieur à ceux des deux autres lots mais une triglycéridémie inférieure.

Les paramètres microbiologiques ont montré que le *Lb. plantarum* « BJ 0021 », agit en faveur de l'équilibre de la flore endogène du lapin local.

Enfin, les paramètres de carcasses n'ont montré aucune différence entre les trois animaux des différents lots.

Ces résultats doivent être confirmés par des études ultérieures, montrant l'effet de ces probiotiques sur les paramètres zootechniques, et les paramètres sanguins du lapin local, de même que pour d'autres animaux, mais surtout pour essayer d'illustrer le mécanisme ou le mode d'action de ces probiotiques sur la physiologie de l'animal pour une meilleure utilisation.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]-ANTOINE J.M.;ADAM F.;FAZEL A.et HRILEY D.,1993 :Bactéries lactiques (II)Aspects fondamentaux (VI).
- [2]-ASPERGER.,1985.
- [3]-BELIARD E. et THUANLT.,1989 :Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques.tome 02.les fermentations alimentaires .
- [4]-BOUHNİK et al.,1993 : Utilisation des probiotiques chez l'homme.29 N°5.245.
- [5]-BOUHNİK y.,MARTEAU Ph, et RAMBAUD J.G .,1993 :Utilisation des probiotiques chez l'homme Gastroenteol Hepatol.29, N°5.
- [6]-BERTAND.COUTURE.,1990 :Bactériologie médical. Etude et méthode d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical.
- [7]-BOTAZZI .,1983 .
- [8]-BOUDRAA et al.,1990 : Effedt of feeding yogurt verus milk in children with persist diarrhea.J.Pediatric gastroenterol.Nutr.10 .
- [9]- Bouix et Leveau.,1998 : Microbiologie industriel .
- [10]-C.M.Bourgois.J.p,LARPENT.lavoisier.,1989 : Microbiologie alimentaire.tome 02.
- [11]- C.M.Bourgois.J.p,LARPENT.,1996 : Microbiologie alimentaire .aliments fermentés et fermentations alimentaires. tome 02.
- [12]- DAKEY., 1981.
- [13]-DESMAZEAUD M.,1992: Les bactéries lactiques I.N.R.A .
- [14]-FLORENT J.M.,ROBERTON.,1997 : L' action bénéfique des probiotiques en poulets .
- [15]-FULLER.,1991 : Probiotic in humain medecin GUT.32.
- [16]-GRIMAUD et al.,1991 .
- [17]-J.LENOIR,J.HERMIER,F.WEBER.,1992 : Les groupes microbiens d'intérêt laitier .
- [18]-JEAN.Ioup.Avril, HENRY D.A.BERNAT, FRANÇOIS DE NIS, HENRY MONTEIL.,1992 : Bactériologie clinique
- [19]-JOSEPH.PIERRE GUIRAUD.,1998 : Microbiologie alimentaire . 1<sup>ere</sup> édition DUNOD PARIS .
- [20]-JUNOD.G.,1993 : La revue de l'alimentation animale mensuel N°468 .
- [21]-KAMPMAN et al.,1994 : Fermented dairy products, calcium, and colerectol cancer in the netherlands cohort study.cqncer reserch,54.
- [22]-KOZASA.,1986: Les Probiotiques pour demain, Revue de l'alimentation animale N°397.

- [23]-LACZA-SZABO S., GIPPERT T., HULLAR I et VIRAG G., 1990 : Utilisation de *Streptococcus faecium* M74 dans l'alimentation du lapin de chair. Revue cuniculture, 96 .
- [24]-LAURENT SUTRA., MICHEL FEDERIGHI, JEAN LOUIS-JOUVE. ,1998 : Manuel de bactériologie alimentaire .
- [25]-LEBAS F.,1975 : Le lapin de chair, ses besoins nutritionnels et son alimentation pratique Doc.T.Tavi .
- [26]-LEBAS F.,1989 : L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volaille.INRA 2<sup>ème</sup> édition .
- [27]-LEBAS F.,1990 : Relation entre alimentation et pathologie digestive chez le lapin en croissance . Revue cuniculture,54 .
- [28]-LEVEAU J.Y.,BOUX M et DEROISSART M .,1991 : La flore lactique, technique d'analyse de contrôle dans les I.A.A :03,2<sup>ème</sup> édition .
- [29]-LEVEAU J.Y, BOUX M.,1993 : La microbiologie industriel .
- [30]-LEON LEMINOR., MICHEL VERON. ,1989 : Bactériologie médical 2<sup>ème</sup> édition .
- [31]-MARTEAU et al.,1990 : Effect of the microbial lactase activity in yogurt on the intestinal absorption of lactose :an in vitro study in lactose-deficient humans.Br.J.Nutr,64 .
- [32]-MARRIONNET D et LEBAS F.,1990 : Séminaire approfondit ( Dossier probiotique et lapin) cuniculture N°96-17 .
- [33]-MAERTENS L.,1992 : Levures vivantes(BIOSAF) sur les performances des lapins cuniculture N°104-19 .
- [34]-MAERTENS L et DUCATELLER.,1996 : Tolerance off rabbits to a diatry overdose of live yeast (BIOSAF SC47).Reviews,3 .
- [35]-MC DANIEL.,1991 : La revue de l'alimentation animale, Mensuel N°468 .
- [36]-P.KAMOOUN.,1977 : Appareil et méthodes en biochimie .2<sup>ème</sup> édition  
FLAMMARION.MEDECINE.SCIENCES PARIS .
- [37]-PILET et al.,1979 .
- [38]-POCHAR et al.,1992 : Survival of bifidobacteria ingested in a fermentad milk during their passage in the human small intestine: an *in vivo* study using intestinal perfusion.Am.J.Clin.Nutr.,5.
- [39]- POUCHAR.,1994 : Les laits fermentés dans la nutrition des enfants diarrhéiques .Cah.Nutr.Diet.,XXIX,6 .
- [40]-SAAVEDRA et al.,1994 : Feeding of Bifidobacterium to infants in hospital of diarrhea and shedding of rotavirus.Lancet,344 .

[41]-SEROT *et al.*,1990 : Isolation and partial purification of antibacterial substance produced by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir

[42]-SITONEN S *et al.*,1990: Effects of Lactobacillus GG yogurt in prevention of antibiotic associated diarrhea .Ann .Medicine,22 .

[43]-TOURNUTJ *et* CAMGUILHEMR.,1983 .

## Web bibliographique

[44]-[http://ww.cerin.org/recherche/articles/syn\\_2001\\_CD63\\_probiotiques.asq](http://ww.cerin.org/recherche/articles/syn_2001_CD63_probiotiques.asq)

Ref : 2031.

# Annexe 1

## Réactifs.

### 1. Violet de gentiane.

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

### 2. Fushine de Ziel.

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

### 3. Lugol

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

### 4. Kovacs

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

### 5. Bleu de méthylène.

➤ Bleu de méthylène	1 g
➤ Ethanol à 90%	10 ml
➤ Phénol	2 g
➤ Eau distillée	100 ml

### Réactif de Molish

$\alpha$ -naphтол	0,25 g.
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 20%	50 ml
Ethanol absolu	50 ml
100-110°C. 10 mn	

# Annexe 2

## Les milieux de culture.

### 1. Gélose nutritive ordinaire.

➤ Peptone	10 g.
➤ Extrait de viande	5 g.
➤ Chlorure de Sodium	5 g.
➤ Gélose	15 g.

pH= 7,2. Autoclaver 20mn à 120°C.

### 2. Gélose HEKTOEN.

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

### 3. Dsoyholate 1%

➤ Peptone	10 g.
➤ Lactose	10 g.
➤ Désoxyholate de sodium	0,5/1 g.
➤ Chlorure de sodium	5 g.
➤ Rouge neutre	30 mg.
➤ Gélose	12 g.

pH=7,1. Stériliser par 5 minutes d'ébullition.

# Annexe 3

## 1. VRBG (gélose biliée au cristal violet et au rouge neutre).

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

## 2. Viande de foie V.F.

➤ Extrait viande de foie	30 g.
➤ Glucose	2 g.
➤ Amidon	2 g.

## 3. Chapman.

➤ Extrait de viande	1 g.
➤ Chlorure de sodium	5 g.
➤ Peptone	10 ml.
➤ Mannitol	10 g.
➤ Rouge de phénol	25 g.
➤ Gélose	15 g.

pH 7,4. Autoclaver 15 mn à 120°C.

# Annexe 5

## 1. Bouillon lactosé.

➤ Peptone trypsique de gélatine	5 g.
➤ Extrait de viande	3 g.
➤ Lactose	5 g.

pH 6,9. Répartir en tubes à essais (5-10 ml). L'ajout éventuellement d'une cloche Durham.

Autoclaver 15mn à 120°C.

## 2. Clarks et Lubs.

➤ Peptone	10 g.
➤ Phosphate dipotassium	2 g.
➤ Glucose	5 g.
➤ pH 7. Autoclaver 20 mn à 120°C.	

## 3. Eau peptonée tamponnée

➤ Peptone	20 g.
➤ Chlorure de sodium	5 g.
➤ Phosphatédisodique	9 gr.
➤ Phosphate monopotassique	1.5 g.

pH 7,2. Autoclaver 30 mn à 115°C.



# Annexe 6

## 1. ODC.

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

## 2. ADH. (Milieu pour mise en évidence de l'arginine dihydrolyse).

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

## 3. ADH.

➤ Lysine	5 g.
➤ Extrait de levure	3 g.
➤ Chlorure de sodium	5 g.
➤ Glucose	1 g.
➤ Pourpre de bromocrésol	160 mg.

# Annexe >

## ● Milieu MRS.

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

Il convient également pour les leuconostoc et les pedicoques.

La composition est la suivante :

➤ Peptone	10 g.
➤ Extrait de viande	8 g.
➤ Extrait de levure	4 g.
➤ Acétate de sodium	5 g.
➤ Phosphate bipotassique	2 g.
➤ Citrate d'ammonium	2 g.
➤ Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	0.2 g.
➤ Sulfate de manganèse, 4 H <sub>2</sub> O	0.05 g.
➤ Glucose	20 g.
➤ Tween 80	1 ml.
➤ Eau distillée qsp	100 ml.
➤ pH	6.2.

Stérilisation 15mn à 120°C.

## ● Lait de SHERMAN

- 9 ml de lait écrémé stérilisé en tube.
- 1 ml de bleu de méthylène à 1% stérilisé 20mn/ 120°C.
- 9 ml de lait écrémé stérilisé en tube.
- 3 ml de bleu de méthylène à 1% stérilisé 20mn/ 120°C.

## ● Bouillon hypersalé

➤ Glucose	5 g.
➤ Extrait de viande	5 g.
➤ Peptone	15 g.
➤ Nacl	65 g.
➤ Eau distillée Asp	1000 ml.
➤ pH final	7,5.

Stérilisation 20 mn à 120°C.  
On varie la concentration en NaCl de 6,5% à 4%.

● **Réductase.**

- Lait écrémé stérilisé en tube (15%).
- Teinture de tournesol.
- Autoclavage 121°C/ 15mn.

● **Milieu M<sub>17</sub>. Milieu de base**

➤ Peptone trypsique de caséine	2.5 g.
➤ Peptone pepsique de viande	2.5 g.
➤ Peptone papainique de soja	5 g.
➤ Extrait de viande	5 g.
➤ Extrait de levure deshydraté	2.5 g.
➤ Glycérophosphate de sodium	19 g.
➤ Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	0.25 g.
➤ Acide ascarbique	0.5 g.
➤ Agar	8 à 18 g.
➤ Eau	950 ml.

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 20mn à 120°C.

ANNEXE 8 :  
Dispositif Mono-Factorial en bloc

$$tCG = \frac{\left[ \sum_{i=1}^{tb} x_i \right]^2}{tb}$$

$$SCE_T = \sum_{i=1}^{tb} x_i^2 - tCG$$

$$SCE_{fE} = \frac{\sum_{j=1}^t \left( \sum_{i=1}^b x_{ji} \right)^2}{b} - tCG$$

$$SCE_{fC} = \frac{\sum_{p=1}^b \left( \sum_{i=1}^t x_{ip} \right)^2}{t} - tCG$$

$$SCE_r = SCE_T - (SCE_{fE} + SCE_{fC})$$



Analyse de la variance

$\sum CE$	SCE	ddl	CM	F <sub>abs</sub>
f.E		t - 1	$\frac{SCE_{fE}}{t - 1}$	$\frac{CM_{fE}}{CM_r}$
f.C		b - 1	$\frac{SCE_{fC}}{b - 1}$	$\frac{CM_{fC}}{CM_r} = b$
r		(t-1)(b-1)	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

- t : nombre de traits.
- b : nombre de blocs.
- tCG : taux globale.
- SCE : la somme des carrés des écarts.
- f.E : facteurs étudiés.
- f.C : facteurs contrôlés.
- r : écarts résiduelle.
- SCE<sub>r</sub> : la somme des carrés des écarts résiduelle.