

# ***Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose***

**Présentée par : KOÏCHE Malika**

*Directeur de thèse:* DILMI BOURAS A. Professeur UHB Chlef  
Année Universitaire : 2010 - 2011

Jury d'examen : *Président* : BELLAL M.M. Professeur ENSA Alger *Examineurs* : FERRADJI A. Maître de conférences ENSA Alger ALLEM R. Maître de conférences UHB Chlef BENSAID A. Maître de conférences UHB Chlef



# Table des matières

Remerciements . .	6
LISTE DES ABREVIATIONS . .	7
Résumé . .	8
ص خ لم . .	9
Abstract . .	10
INTRODUCTION . .	11
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE . .	13
I/ LE LACTOSE . .	13
1/ Définition . .	13
2/ Teneur en lactose . .	14
3/ Synthèse du lactose . .	16
4/ Rôles fonctionnels du lactose . .	17
5/ Transformation biologique du lactose . .	17
6/ Avantages et inconvénients du lactose . .	19
II/ LA LACTASE . .	21
1/ Généralités . .	21
2/ Classification de la $\beta$ - galactosidase . .	21
3/ Lactase intestinale . .	21
4/ Activité lactasique . .	23
III/ INTOLERANCE AU LACTOSE . .	25
1/ Historique . .	25
2 / Définition . .	25
3/ Origine de la malabsorption . .	26
4/ Causes . .	27
5/ Aspect clinique et nutritionnel de l'intolérance au lactose . .	29
6/ Les symptômes et signes de l'intolérance au lactose . .	32
7/ diagnostic de l'intolérance au lactose . .	32
8/ Différence entre allergie et intolérance . .	33
VI/ LES BACTERIES LACTIQUES . .	33
1/Généralités . .	33
2/ Origine et Habitat des bactéries lactiques . .	34
3/ Propriétés générales . .	34
4/ Bactéries lactiques du yaourt . .	34
PARTIE EXPERIMENTALE : MATERIEL ET METHODES . .	44
PARTIE 1: Prévalence de l'intolérance au lactose dans la région de Chlef . .	44
PARTIE 2 : ETUDE <i>IN VITRO</i> . .	45
1/ MATERIEL . .	45
2/ METHODES . .	47
PARTIE 3 : ETUDE <i>IN VIVO</i> . .	52
1/ MATERIEL . .	52

2/ METHODES . . .	53
RESULTATS ET DISCUSSION . . .	57
PARTIE 1 : Etude de la prévalence de l'intolérance au lactose dans la région de Chlef . . .	57
PARTIE 2 : ETUDE <i>IN VITRO</i> . . .	60
1/ Isolement, identification et caractérisation de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i> . . .	60
2/ Criblage des souches pour préparation du yaourt . . .	61
3/ Survie des bactéries du yaourt dans des conditions extrêmes simulées du tube digestif . . .	74
PARTIE 3: ETUDE <i>IN VIVO</i> . . .	78
1/ Survie des ferments lactiques dans le tube digestif du lapin . . .	78
2/ Evaluation de l'activité lactasique du lapin . . .	83
3/ Utilisation du yaourt local par les intolérants au lactose (essai sur l'humain) . . .	87
CONCLUSION . . .	90
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . . .	93
ANNEXES . . .	106
Annexe 01 . . .	106
Annexe 02 . . .	106
Annexe 03 . . .	107
Annexe 04 . . .	107
Annexe 05 . . .	108
Annexe 06 . . .	109
Annexe 07 . . .	109
Annexe 08 . . .	110
Annexe 09 . . .	110
Annexe 10 . . .	110
Annexe 11 . . .	111
Annexe 12 . . .	111
Annexe 13 . . .	111
Annexe 14 . . .	111
Annexe 15 . . .	112
Annexe 16 . . .	112
Annexe 17 . . .	112
Annexe 18 . . .	113
Annexe 19 . . .	113
Annexe 20 . . .	114
Annexe 21 . . .	114
Annexe 22 . . .	115
Annexe 23 . . .	115
Annexe 24 . . .	115
Annexe 25 . . .	116

Annexe 26 . .	116
Annexe 27 . .	117

## Remerciements

Le mérite de ce travail, réalisé au laboratoire de bioressources naturelles locales à l'université Hassiba Benbouali de Chlef, revient à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à sa réalisation par leurs encouragements et leurs aides, et aux quelles d'ailleurs j'exprime ma profonde reconnaissance.

La réussite de ce travail ne saurait être possible sans le grand apport de mon directeur de thèse, Mr. Dilmi Bouras A., Professeur à l'université Hassiba Benbouali de Chlef. Je le remercie de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce projet au sein de son équipe, pour ses conseils précieux, ses orientations scientifiques, sa disponibilité ainsi que son optimisme affiché malgré toutes les contraintes, pour la confiance qu'il m'a témoigné le long de la réalisation de ce travail, pour son encadrement tant apprécié assuré pendant la rédaction de la thèse, sa rigueur scientifique, ses encouragements et ses conseils judicieux. Je n'oublierais jamais que ma formation dans ce domaine lui est redevable. Le mot « Merci » ne suffira jamais pour lui exprimer ma profonde et éternelle gratitude.

Mes vifs remerciements s'adressent également Mr. Bellal M.M., Professeur à l'école nationale supérieure d'agronomie d'Alger, pour avoir accepté la lecture du manuscrit, et la présidence du jury, en dépit de ses nombreuses occupations, en m'apportant ses observations et ses critiques.

Que Mr. Ferradji A., Maître de conférences à l'école nationale supérieure d'agronomie d'Alger, à qui j'ai eu le privilège d'avoir comme directeur de thèse pour mon magister, trouve entre ces lignes l'expression de ma profonde gratitude d'avoir accepté de siéger parmi ce jury et de faire part de ses remarques.

J'adresse aussi mes remerciements à Mme. Allem R., Maître de conférences, à l'université Hassiba Benbouali de Chlef, pour ces qualités humaines, ces encouragements, ces suggestions pertinentes, ainsi que je la remercie aimablement pour avoir bien voulu juger ce travail.

Mes remerciements vont aussi à Mr. Bensaid A., Maître de conférences, à l'université Hassiba Benbouali de Chlef, pour ses conversations scientifiques et ses encouragements, je le remercie aussi d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail. Ces remarques et suggestions ne feront que perfectionner ce manuscrit.

Ce projet n'aurait pu être une réussite sans la contribution, directement ou indirectement, de plusieurs personnes en l'occurrence:

Professeur Arroume N., du Laboratoire BIOGEM de l'université Lille 1, France, à qui je dois une reconnaissance toute particulière pour son aide et ses directives.

Dr. Sebahia M. Maître de conférences, à l'université Hassiba Benbouali de Chlef à qui j'exprime mes vifs remerciements pour son aide ainsi que sa contribution scientifique et efficace.

Je n'oublierai évidemment pas de remercier toutes les personnes auxquelles revient le mérite de ma formation ainsi que toute ma famille et mes amies pour leur soutien moral.

Enfin je n'oublierai pas de dire merci à tous ceux qui ont partagé avec moi les moments les plus difficiles de la réalisation de ce travail, et tous ceux qui m'ont souhaité bon courage.

## LISTE DES ABREVIATIONS

- Cell : Cellules
- C : Degré Celsius
- D.O : Densité optique
- D : Degré Dornic
- EST : Extrait Sec Total
- J : jours
- G : Groupe
- g : Gramme
- L : Litre
- Lm : Lait maternel
- *Lb.* : *Lactobacillus*
- *Lb.b* : *Lactobacillus bulgaricus*
- mL : Millilitre
- Nbre : Nombre
- R.S. : Régime standard
- S.B. : Sels biliaires
- *Sc.* : *Streptococcus*
- *Sc.t* : *Streptococcus thermophilus*
- UFC : Unités formants colonies
- YSLB : Yaourt (à *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*)

## Résumé

L'étude porte sur l'isolement et l'identification de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* locales, à haut pouvoir de dégradation de lactose d'une part, et d'autres part sur le test de la résistance, de la croissance et de l'activité de ces bactéries. Les souches et les cultures mixtes ayant dégradé des quantités importantes de lactose (supérieur à 80 %) et qui ont gardé une bonne viabilité (supérieure à  $10^7$  cellules / mL) sont mises dans des conditions extrêmes du tube digestif. Les résultats ont montré des variations considérables entre genres, espèces et souches de la même espèce dans la dégradation du lactose en cultures pures et en cultures mixtes ; ainsi qu'à croître à différents pH en absence et en présence de sels biliaries. Les résultats de l'expérimentation sur les lapins confirment ceux trouvés *in vitro*, car l'ingestion des yaourts YSLB1, YSLB2 et YSLB3 conduit à une présence des bactéries au niveau des différentes parties du tube digestif, pendant une durée et avec un nombre appréciable de bactéries. Ce nombre reste important tant que les lapins consomment les yaourts. Après arrêt de la consommation, les bactéries restent vivantes dans l'estomac, dans le duodénum et dans le gros intestin à des taux supérieurs à  $10^7$  cellules / mL pendant 4 jours mais disparaissent après 6 jours. L'ingestion des yaourts YSLB1, YSLB2 et YSLB3 a nettement amélioré l'activité lactasique chez les lapins. Le lot des lapins recevant 3x5 mL de lait à 12 % d'EST et 3x5 mL du YSLB1 par jour, pendant deux semaines, présente une activité lactasique six fois plus importante que celle du lot témoin.

L'étude de la prévalence de l'intolérance au lactose chez des enfants de moins de 3 ans a révélé la présence de 28.22% de cas d'intolérants au lactose et celle des adultes (280 étudiants volontaires), soumis un régime alimentaire incluant 2x150 mL de lait / j, a montré que 43,92 % ingèrent le lactose sans aucun symptôme après 7 jours de consommation ; alors qu'ils étaient 35% au début de l'expérimentation. Les 8.92 % des cas ayant présenté des symptômes d'intolérance au lactose ont repris leurs activité enzymatique après avoir réintégré le lait dans leurs régime alimentaire. Ces derniers représentent donc une intolérance secondaire, alors que 56.07 % présentent toujours plusieurs symptômes d'intolérance qui peut être primaire ou congénitale. Par ailleurs, Les intolérants au lactose (56.07 %) ont été soumis à un régime alimentaire enrichi en lait et en yaourt local YSLB1 (RS + LAIT + YSLB1) et au bout de 7 jours de consommation, 71.33 % ont retrouvé leurs activité lactasique, renforcée par la lactase des bactéries de YSLB1, alors que 28.66 % n'ont pas pu retrouver une bonne activité et qui sont probablement des intolérants congénitaux ou primaires sévères.

**Mots clés :** Survie, tube digestif, lapin, Yaourt, activité lactasique, bactéries lactiques extrêmophiles, intolérance au lactose, lactose.

## ص خلم

إن الدراسة تتمحور حول العزل و التعرف بالبكتيريا المحلية *Streptococcus* و *Lactobacillus bulgaricus* و *thermophilus* ذات القدرة المرتفعة على هضم اللاكتوز من ناحية و من ناحية أخرى دراسة المقاومة والنشاط و نمو البكتيريا.

البكتيريا المزروعة منفردة أو بطريقة مزدوجة تمكنت من هضم كميات مخيرة من اللاكتوز (أكثر من 80% و الموجودة حية بقيمة أكبر من  $10^7$  خلية/ملل) وضعوا تحت الظروف الموجودة في الجهاز الهضمي. النتائج أثبتت أن هناك اختلافات مخيرة بين أصناف و أنواع البكتيريا في كمية هضم اللاكتوز و كذلك النمو في درجات الحموضة المختلفة بوجود و عدم وجود الأحماض المرارية.

نتائج التجربة على الحيوان (الأرانب) تؤكد التجارب المخبرية حيث أن استعمال اليوغورت أدى إلى وجود البكتيريا في مختلف مناطق الجهاز الهضمي لمدة معينة و بعدد معين. هذا العدد يبقى ثابتاً أثناء تناول الأرانب للبكتيريا و بعد إنهاء تناولها تبقى البكتيريا حية في المعدة و الإثني عشر و المعى الخليط لمدة أربع أيام بنسب أكبر من  $10^7$  خلية/ملل و تختفي كلياً بعد ستة أيام.

استعمال اليوغورت YSLB1, YSLB2, YSLB3 أدى إلى تحسين هضم اللاكتوز عند الأرانب. المجموعة التي استهلكت  $5 \times 3$  ملل من الحليب مع اليوغورت يومياً لمدة أسبوعين ارتفعت نسبة نشاط إنزيم هضم اللاكتوز إلى 6 مرات أكثر من الأنزيم في ال حالة الطبيعية.

إن دراسة وجود مرض سوء هضم اللاكتوز عند الأطفال أقل من 3 سنوات أثبتت وجود 28.22 بالمئة من الحالات مصابة بالمرض بينما وصلت عند الكبار (280 حالة) الذين استهلكوا  $2 \times 150$  ملل يومياً إلى 43.92% دون أي أعراض للمرض بعد 7 أيام بينما كانت بنسبة 35% في بداية التجربة. نسبة 8.92% التي كانت تعاني من المرض هضمت اللاكتوز بطريقة طبيعية بعد استئناف استهلاك الحليب في الوجبات اليومية لذا فهم يعانون من مرض عسر هضم اللاكتوز الثانوي بينما 56.07% بقوا يعانون من المرض الذي قد يكون أولي أو وراثي.

عندما أصيب اليوغورت المحلي إلى الحليب في الوجبات 71.33% استطاعوا هضم اللاكتوز دون أي أعراض للمرض مما يثبت أن أنزيمات البكتيريا المحلية ساعدت الأنزيم الموجود عند الإنسان في هضم اللاكتوز بينما يبقى منهم 28.66% بنفس الأعراض السابقة مما يدل أنهم يعانون من حالات حادة لمرض صعوبة هضم اللاكتوز.

## كلمات مفتاحية

اليوغورت - الأرانب - هضم اللاكتوز - البكتيريا

## Abstract

The aim of this study concerned the isolation and the identification of local strains of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, with have a high capacity to degrade lactose on the one hand, and other share to test resistance, growth and activity of these bacteria. Strains and mixed cultures having degraded significant quantities of lactose (higher than 80 %) and which kept a good viability (superior than  $10^7$  cells/mL), are subjected to extreme conditions of the digestive tract. The results showed considerable variations between genera, species and strains of the same species in the degradation of lactose in pure and mixed cultures like growing with pH different in absence and in the presence of bile salts. The results of the experimentation on rabbits confirmed those found *in vitro*, because the ingestion of yoghourts YSLB1, YSLB2 and YSLB3 led to a presence of the bacteria on the level of the various parts of the digestive tract, for one length of time and with an appreciable number of bacteria, this number remains significant as long as the rabbits consume yoghourts. After stop of consumption, the bacteria remain present in the stomach, the duodenum and the large intestine aerates superiors with  $10^7$  cells/mL during 4 days but disappear after 6 days. The ingestion of yoghourts YSLB1, YSLB2 and YSLB3 clearly improved the lactase activity in rabbits. The rabbits group receiving 3x5 mL of milk to 12 % and 3x5 mL of the YSLB1 per day have the best result with a lactase activity six times more significant than that of the control group having a standard mode after two weeks of consumption of yoghourt.

The study of the prevalence of intolerance to lactose in the children of less than 3 years revealed the presence of 28.22% cases of intolerance to lactose, and that of the adults (280 voluntary students) who were subjected to one diet including 2x150 mL/day of milk showed that 43.92 % introduce lactose without any symptom at the end of the 7<sup>th</sup> day of the test, whereas they were 35% at the beginning of the experimentation. The 8.92 % cases having presented symptoms of intolerance at lactose took again their enzymatic activity after having to reinstate milk in their diet; they represent a secondary intolerance, whereas 56.07 % always present several symptoms of intolerance which can be primary or congenital intolerance. The intolerant ones at the lactose (56.07 %) were subjected to a diet enriched with milk and local yoghourt YSLB1 (SD + MILK + YSLB1) and at the end of 7 days of consumption, 71.33 % found their lactasic activity, reinforced by bacterial lactase of YSLB1, whereas 28.66 % who could not find a good lactasic activity in 7 days of consumption of the bacteria of yoghourt are probably severe primary or congenital intolerant.

**Key words:** Survival, digestive tract, rabbit, yoghourt, lactase activity, lactic acid bacteria, extrêmophile, intolerance to lactose, lactose.

---

# INTRODUCTION

Le lait a traversé des siècles, et reste toujours un des aliments les plus ancrés dans notre consommation et le plus présent dans notre quotidien, mais malheureusement la présence de son sucre essentiel, le lactose, peut provoquer une maladie nutritionnelle connue sous le nom d '**intolérance au lactose** (Dupuy, 2004.,Lecleire, 2008).

Le lactose est un diholoside présent en quantité importante dans le lait des mammifères. Au niveau du tube digestif humain, il est dégradé par la lactase intestinale ( $\beta$  galactosidase) en glucose et galactose (Marteau et Marteau, 2005).

Environ 75 % de la population mondiale adulte présente un déficit en lactase à l'origine de troubles digestifs lors de l'ingestion de lait (Emond, 2004., Lomer et *al.*, 2008).La réduction des taux excessifs de lactose dans l'intestin peut diminuer les risques de ces troubles (ballonnement, diarrhées, vomissements ...) (Cerf-Bensussan, 2002).

L'hypothèse que certains microorganismes sont capables de diminuer le lactose dans l'intestin et d'améliorer les propriétés nutritionnelles, diététiques et thérapeutiques est maintenant sujette de plusieurs recherches (Dilmi Bouras et *al.*, 2007), notamment Les bactéries lactiques qui provoquent sa transformation chimique en dégradant le lactose en acide lactique grâce à l'enzyme même (Clinquart, 2005)

C'est pour cette raison, que de nombreux chercheurs se sont intéressés à étudier l'incidence que peuvent avoir ces bactéries sur la santé humaine (Dilmi Bouras, 2006). Il semble bien que leurs rôles soient propices, sous réserve du choix correcte des souches et des modalités pratiques d'application (Givry, 2006).Parmi les effets revendiqués, la modulation de l'activité lactasique du fait que la digestion du lactose du yaourt est assurée par les enzymes des bactéries, voir la  $\beta$  galactosidase qui le converti en glucose et galactose au cours du transit dans le tube digestif (Drouault et *al.*, 2002).

Les ferments du yaourt sont des microorganismes étrangers aux sujets qui les ingèrent. Pour qu'ils puissent exercer des rôles bénéfiques sur la santé humaine, il faut qu'ils soient viables et actifs lors du transit intestinal (Piaia et *al.*, 2003., Corthier, 2004). Ainsi ces ferments doivent pouvoir passer sans dommage irréversible la barrière acide de l'estomac, puis l'effet inhibiteur éventuel des sels biliaires (Dilmi Bouras et Sadoun, 2002a).

La présente étude est consacrée à:

- Etudier la prévalence de l'intolérance au lactose dans la région de Chlef chez les enfants de moins de trois années et chez les adultes ;
- Isoler des souches lactiques appartenant à l'espèce *Lactobacillus bulgaricus* et à *Streptococcus thermophilus* à partir des laits de vaches collectés des régions de Chlef et de Ain Defla ;
- Sélectionner des souches ayant une grande capacité de dégradation de lactose et une bonne résistance aux conditions extrêmes du tube digestif (acidité et sels biliaires) *in vitro*, pour pouvoir à la fin sélectionner un yaourt dont les bactéries restent viables dans le tube digestif du lapin et arrivent à améliorer la digestion du lactose en cas d'ingestion et remplacer la lactase intestinale , absente ou faible par celle

des bactéries lactiques, qui peuvent être utilisées comme alicament par la suite chez l'homme et contribuer ainsi à corriger l'intolérance au lactose ;

- Préparer un yaourt avec des ferments résistants aux différentes barrières du tube digestif et pouvant remplacer la lactase intestinale chez les lapins ;
- Une fois ce yaourt mis au point, il peut être utilisé par l'homme et contribuer ainsi à corriger l'intolérance au lactose.

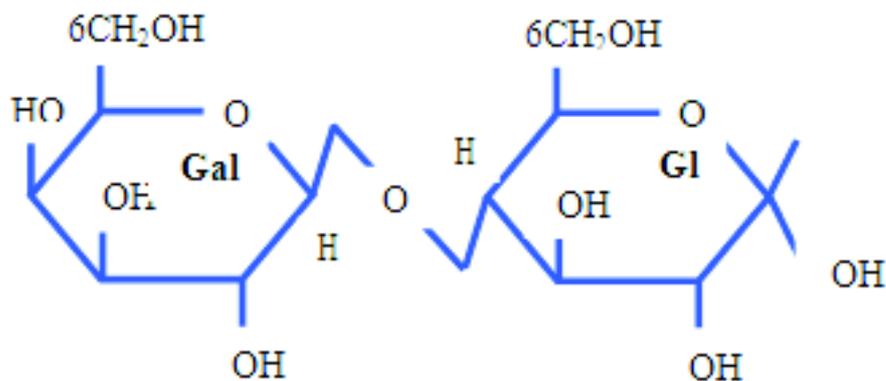
# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## I/ LE LACTOSE

### 1/ Définition

Le lactose, solide blanchâtre en solution, est un glucide se trouvant exclusivement dans le lait et les produits laitiers, il constitue près de 40% des glucides totaux (Romain et *al.*, 2000., Amiot et *al.*, 2002), c'est le constituant majeur de la matière sèche du lait et son constituant le plus abondant après l'eau (Mathien, 1998). Il est présent dans la quasi-totalité des laits des mammifères, sauf celui de la lionne de mer, (Schaafsma, 2008) à des teneurs variées, (Jennes et *al.*, 1987., IFN, 2008).

Le lactose est un disaccharide formé par l'union du D-glucose et du D-galactose par un lien glycosidique (1-4) (Debry, 2001., Masson, 2002). La figure 1 indique la structure du lactose.



**Figure 1:** Structure du lactose (-D-galactopyranosyl (14)-D-glucofuranose) (Masson, 2002).

Puisque le carbone anomérique (C<sub>1</sub>) du D-glucose n'est pas engagé dans le lien glycosidique, le lactose est un sucre réducteur pouvant exister sous deux formes cycliques: la forme α lactose et la forme β lactose (Raul, 2001., Amiot et *al.*, 2002) (figure 2).

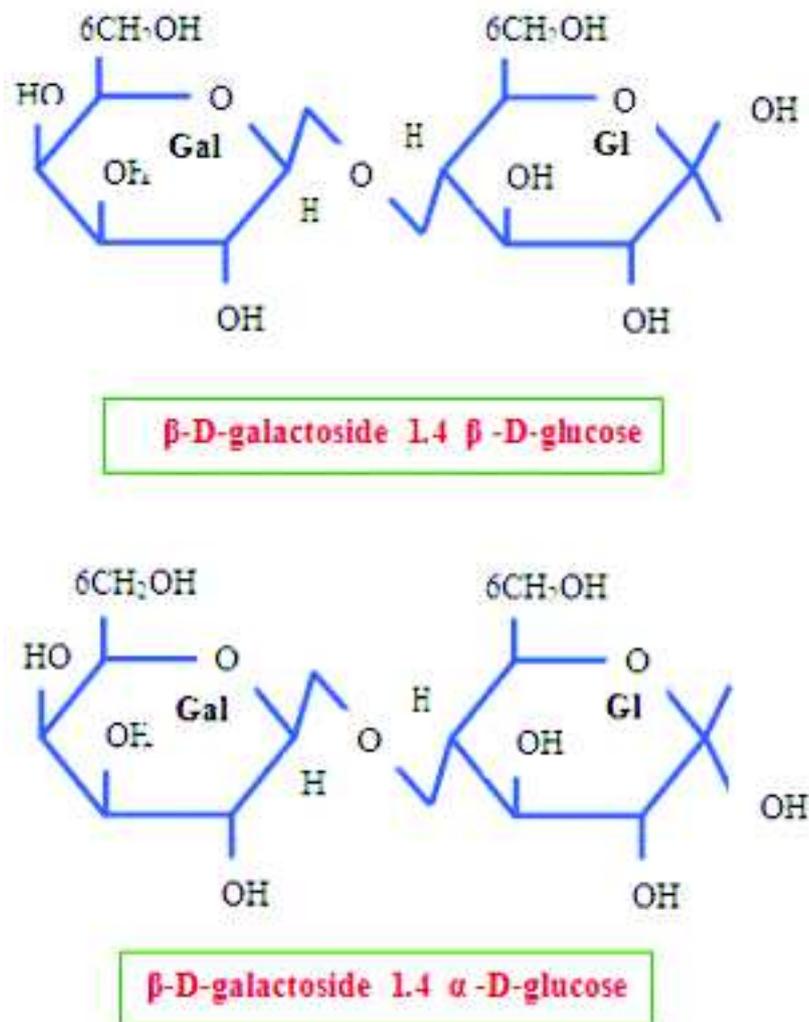


Figure 2: Formation du lactose et structures cycliques (Amiot et al., 2002)

## 2/ Teneur en lactose

---

### 2-1/ Dans les différents laits

Le lactose est le principal glucide du lait des mammifères, il est prédominant dans le lait des ruminants et le lait humain (Raul, 2001). Par contre, il se trouve à des concentrations très faibles dans les laits très gras des cétacés, environ 1% (Alais et Linden, 1997). En fait, le lactose est à des concentrations très variables selon les différents laits (tableau I).

	Eau	Extrait sec	Matière grasse	Protéines			Glucide	Matières minérales
				Totales	caséine	albumine	Lactose	
<u>Lait maternel</u>								
	905	117	35	12-14	10-12	4-6	65-70	3
<u>Équidés</u>								
<u>Jument</u>	925	100	10-15	20-22	10-12	7-10	60-65	3-5
<u>Ânesse</u>	925	100	10-15	20-22	10-12	9-10	60-65	4-5
<u>Ruminantia</u>								
<u>Vache</u>	900	130	35-40	30-35	27-30	3-4	45-50	8-10
<u>Chèvre</u>	900	140	40-45	35-40	30-35	6-8	40-45	8-10
<u>Brebis</u>	860	190	70-75	55-60	45-50	8-10	45-50	10-12
<u>Bufflonne</u>	850	180	70-75	45-50	35-40	8-10	45-50	8-10
<u>Renne</u>	675	330	160-200	100-105	80-85	18-20	25-50	15-20
<u>Suidés</u>								
<u>Truie</u>	850	185	65-65	55-60	25-30	25-30	50-55	12-15
<u>Carnivores et rongeurs</u>								
<u>Chienne</u>	800	250	90-100	100-110	45-50	50-55	30-50	12-14
<u>Chatte</u>	850	200	40-50	90-100	30-35	60-70	40-50	10-13
<u>Lapine</u>	720	300	120-130	130-140	90-100	30-40	15-20	15-20
<u>Cétacés</u>								
<u>Marsouin</u>	430	600	450-460	120-130	-	-	10-15	6-8

**Tableau I :** Composition en lactose dans les laits des différentes espèces animales (g/L).

Source : Perrin (2008)

## 2-2/ Dans les différents produits laitiers

Des dérivés du lait tel que le yaourt, la crème fraîche, la crème glacée peuvent contenir 3 à 4 % de lactose (Raul, 2001), les fromages frais peuvent en contenir de 3 à 6 %. Les fromages affinés n'en contiennent pas ou seulement des traces (Schaafsma, 2008). Le tableau II présente la teneur en lactose des principaux produits laitiers.

Tableau II: Teneur en lactose des principaux produits laitiers.

## Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose

Aliments	Portions (mL)	Teneur en lactose (mL)
Lait (3,25 %, 2 %, 1 %)	250	10-15
Yaourt	125	6
Crème glacé	125	5
Lait glacé	125	5
Lait évaporé	250	24
Sorbet	125	2
Crème fraîche	15	0,6
Crème fouetté	125	3
Crème moitié-moitié	125	5
Beurre, Margarine	25	Trace
Fromages		
Cottage	125	4
Cheddar	28	0,5
Camembert	28	0,1
Gruyère	30	1-2
bleu	30	1-2
Parmesan	30	1-2

Source: Emond (2004)

### 3/ Synthèse du lactose

Le lactose est synthétisé dans la glande mammaire par pination de liaison 1-4 d'un galactose sur un glucose (Pougheon et Goursaud, 2001). La figure 3 explique la synthèse du lactose.

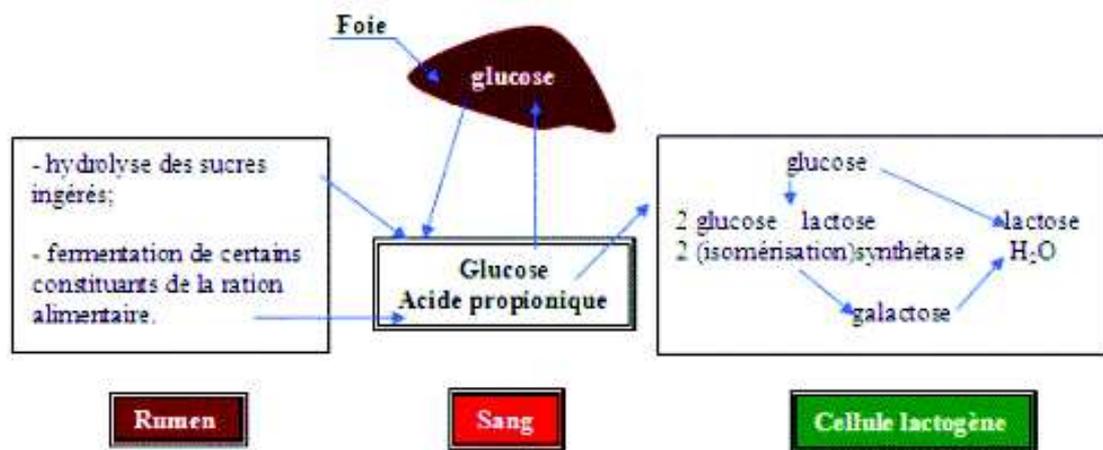


Figure 3: Synthèse du lactose (Pougheon et Goursaud, 2001)

Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du lactose sanguin, produit est en grande partie, par le foie. Il provient aussi pour une faible part de l'hydrolyse des sucres ingérés, saccharose par exemple, qui passent dans le sang au travers de la paroi intestinale.

Les cellules lactogènes ont la faculté d'isomérisation, elles transforment, une partie du glucose prélevé en galactose, d'unir leurs molécules et ainsi produisent du lactose dans l'appareil de golgi (Mathien, 1998).

## 4/ Rôles fonctionnels du lactose

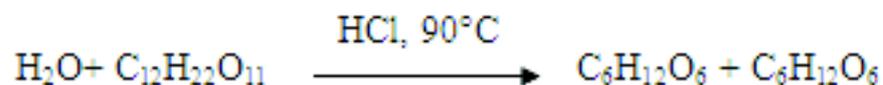
- Outre son rôle énergétique important (il fournit du glucose notamment au nouveau-né), le lactose participerait au développement cérébral de l'enfant (Schaafsma, 2008).
- Sur le plan nutritionnel, le lactose favorise l'assimilation de différents nutriments : protéines, calcium... (Mahaut et al., 2000).
- Il a l'avantage de ne pas participer à la formation de la plaque dentaire responsable majeur des caries dentaires (Lupien, 1995).
- De plus, des études récentes semblent montrer que le lactose pourrait aussi avoir un effet pré-biotique au niveau du tube digestif. Il favorise l'activité des bifidobactéries et des lactobacilles, des composantes de la flore considérées comme bénéfiques au bon fonctionnement de l'intestin (Schaafsma, 2008).
- Il contribue à stabiliser le pH intestinal d'où une meilleure utilisation digestive du calcium et du phosphore (Luquet, 1990).
- Par ailleurs alors que dans les autres glucides alimentaires la plupart des liaisons sont de type  $\alpha$  1-4, elles sont ici type  $\beta$  1-4 limitant le risque de prolifération de certaines bactéries pathogènes (Alston – Mills, 1995).
- Les liaisons  $\beta$  1-4 favorisent le développement d'une flore lactique fermentant le lactose et s'avèrent avoir un effet favorable sur la microflore intestinale appelée effet probiotique (Vidailhet, 2001).
- Cet effet favorable de la fermentation du lait, favorise sa conservation par formation d'acide lactique, acétique et d'acide gras volatils (Alston – Mills, 1995).
- Le galactose est un constituant essentiel des cérébrosides qui compose le tissu nerveux (Luquet, 1990).
- Du fait de ses propriétés technologiques (pouvoir sucrant, fermentation, cristallisation...), le lactose est employé dans de nombreux produits alimentaires (biscuits, charcuteries, plats cuisinés, produits diététiques...) et très utilisé par l'industrie (Schaafsma, 2008).

## 5/ Transformation biologique du lactose

### 5.1/ Hydrolyse du lactose

L'hydrolyse du lactose est assez difficile, car il est stable vis à vis des agents chimiques, il est donc nécessaire d'utiliser selon Pougheon et Goursaud (2001) :

- - Soit un acide à haute température



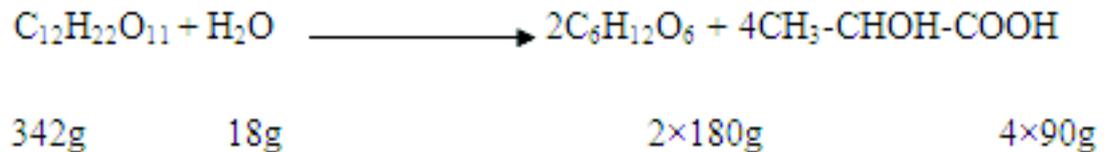
- - Soit la voie enzymatique par action d'une lactase ( $\beta$ - galactosidase)

### 5.2/ Métabolisme – hydrolyse enzymatique

Le métabolisme du lactose débute dans le jéjunum par l'action de la  $\beta$ -galactosidase intestinale qui libère lentement le glucose et le galactose au sein de l'organisme, qui sont ensuite employés dans les cycles biologiques du métabolisme après phosphorylation (Pougheon et Goursaud, 2001).

### 5.3/ Fermentation lactique

La fermentation est la transformation physicochimique du lactose la plus importante dans le domaine laitier (Amiot et *al.*, 2002). Quelques bactéries adaptées au métabolisme du lactose (possédant une  $\beta$ -galactosidase) réalisent cette fermentation qui donne comme métabolite final essentiellement de l'acide lactique (Pougheon et Goursaud, 2001).



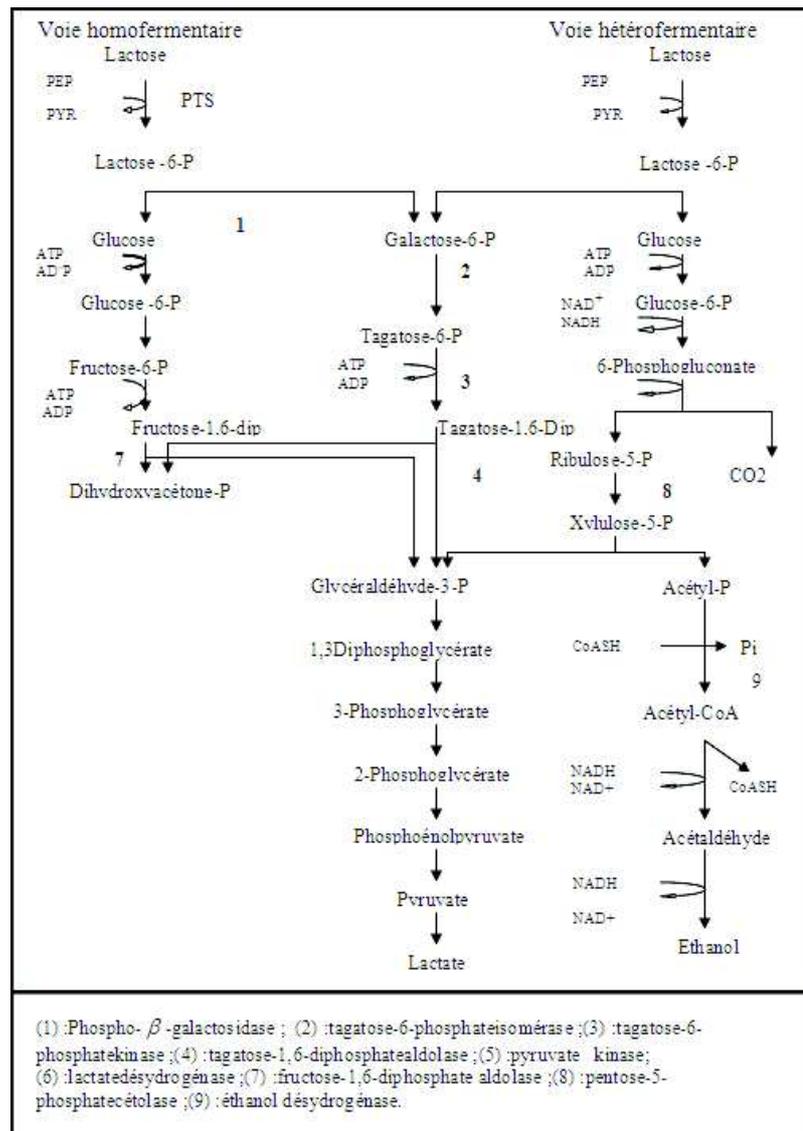
Le métabolisme-hydrolyse enzymatique du lactose par les bactéries lactiques s'opère selon De Roissart (1986) en trois phases:

- le transport à travers la membrane avec accumulation dans l'espace intracellulaire qui s'opère soit par des perméases ATP-dépendantes, soit par des phosphotransférases phosphoenolpyruvate dépendantes ;
- Le clivage du disaccharide en ses composants (D-galactose et D-glucose) par une  $\beta$ -galactosidase ;
- La dégradation des monosaccharides par des voies métaboliques différentes selon l'espèce bactérienne.

D'après Romain et *al.*(2000) l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose revêt un double avantage, nutritionnel et technologique.

sur le plan nutritionnel le lactose ne peut être assimilé qu'après hydrolyse en glucose et galactose sous l'action de la  $\beta$ - galactosidase de l'intestin grêle et sur le plan technologique son hydrolyse améliore le pouvoir sucrant, le pouvoir réducteur et la solubilité ce qui simplifie les techniques de concentration et de séchage.

Les bactéries lactiques présentes dans le lait ou ajoutées lors de différentes étapes de fabrication décomposent le lactose selon la voie de Meyerhof-Embden (Amiot et *al.*, 2002). La figure 4 montre la fermentation du lactose chez les bactéries lactiques. Les bactéries des genres *Lactobacillus* et *Streptococcus* sont utilisées en industries pour l'obtention de lait fermenté, yaourt ou de fromage frais par baisse de pH lors de l'acidification lactique ou encore pour la fabrication de fromage affiné (Pougheon et Goursaud, 2001).



**Figure 4:** Fermentation du lactose chez les bactéries lactiques (voie homofermentaire et hétérofermentaire) (Novel, 1993).

## 6/ Avantages et inconvénients du lactose

### 6.1/ Avantages

Le lait de la plus part des mammifères terrestres comporte le lactose comme principal hydrate de carbone, il est logique de penser que cette prédominance doit comporter des avantages (Vidailhet, 2001) :

- Le lactose a l'avantage d'exercer une pression osmotique deux fois moindre pour un apport énergétique du glucose et du galactose après l'action de la β-galactosidase intestinale limitant ainsi l'osmolarité intraluminaire du grêle (Vidailhet, 2001);
- D'un point de vue nutritionnel, la présence du lactose dans le tube digestif favorise l'implantation d'une flore lactique qui s'oppose à l'installation d'une flore de putréfaction par abaissement du pH (Amiot et al., 2002);

- C'est une source de galactose, est un sucre de structure, qui se trouve sous forme de galactolipides, principalement dans les cellules cérébrales (Antoine et Fripiat, 1986), en particulier des galactocérébrosides du système nerveux (Debry, 2001) ;
- Le lactose présente un intérêt diététique fondamental, puisqu'il représente la seule source d'hydrate de carbone de tous les petits mammifères, y compris l'homme. Il constitue la base de tous les produits destinés à remplacer le lait maternel et comme tous les sucres, il apporte environ 4 kilocalories par gramme (Luquet, 1990);
- Le lactose favorise l'absorption de cholestérol ainsi que des acides biliaires, il stimule la synthèse de plusieurs vitamines hydrosolubles par la microflore intestinale (Atkinson et al., 1957);
- Il active par un mécanisme dépendant des autres mécanismes, l'absorption du calcium, et d'autres minéraux. Cela a été démontré chez l'homme pour le calcium (Cochet et al., 1983) et chez le rat pour les autres minéraux (Andrieux et Saquet, 1983).

Selon Britten (2002), on exploite plusieurs propriétés du lactose en transformation alimentaire:

- Il permet de réduire l'intensité de la saveur sucrée des produits;
- Il intensifie et prolonge la perception des arômes et stabilise les colorants;
- Il retarde la cristallisation du sucrose et contribue à la texture des produits de confiserie, des caramels et des chocolats;
- Il augmente la consistance et la résistance mécanique des pâtes;
- Il intervient comme agent antiagglomérant dans les produits en poudre;
- Le lactose est utilisé dans la fabrication des chips et pomme de terre frites pour favoriser les réactions de brunissement et de caramélisation (Luquet, 1990).

### 5.2/ Inconvénients

Le lactose présente quelques inconvénients qu'il est bon de connaître pour éviter de les rencontrer dans les produits alimentaires

- D'un point de vue technologique, le lactose dont le pouvoir hygroscopique est élevé, pose des problèmes de cristallisation néfastes à la texture des produits à base de lait. Le phénomène de cristallisation du lactose peut provoquer par ailleurs, une coagulation de la caséine et entraîner certaines réactions d'altération type réaction de Maillard qui aboutissent au blocage de la lysine (Britten 2002),
- Son pouvoir sucrant faible était considéré comme un défaut (Luquet, 1990);
- La présence du lactose en quantité supérieure à la capacité intestinale exerce un effet hydrogogue qui favorise les accidents diarrhéiques et diminue l'absorption des autres nutriments du lait notamment le P, Ca et Fe (Hussein et al., 1989).
- Le lactose, naturellement présent dans le lait, en est le composant cariogène, compte tenu de leurs teneurs en lactose, le lait de vache (4,8g / 100g) et le lait de femme (7g / 100g) devraient faire considérer ces laits comme aliments cariogènes (Moynihan, 1998). Les laits au lactose pour nourrisson seraient plus cariogènes que les préparations au soja sans lactose, car celle-ci contiennent du sirop au glucose (Moynihan et al., 1996). Le calcium, le phosphore, la caséine et les lipides contenus dans le lait sont des facteurs de protection efficace contre le potentiel cariogène du lactose (Folliguet et Derby, 2001).
- L'intolérance au lactose (Raul, 2001), il faut remarquer que chez certains individus, on constate une intolérance au lactose due à une déficience en lactase intestinale.

---

Dans ce cas, l'absorption de lactose doit se faire très progressivement pour permettre l'implantation d'une flore intestinale pour prendre le relais en le métabolisant le lactose (Luquet, 1990).

## III/ LA LACTASE

### 1/ Généralités

---

La  $\beta$  galactosidase est une enzyme d' *Echerichia coli*; lorsque cette bactérie pousse sur un milieu riche en lactose, elle exprime la  $\beta$  galactosidase qui est un gène de l'opéron lactase (Raisonnier, 2001., Prescottte et al., 2003). Cette enzyme est spécifique de l'hydrolyse des  $\beta$  -galactosides en glucose et galactose (Vangansen, 1994). 1g de lactase peut hydrolyser 10000g de lactose par heure (Stewart et Amerine, 1973).

D'après Alais et al. (2003), cette enzyme existe chez les plantes (amandes, pêches, abricots, pomme... etc) et dans l'intestin des animaux sevrés. La déficience en cette enzyme peut entraîner des problèmes de digestibilité qui se traduit par des troubles intestinaux variés, dont l'intolérance au lactose est la conséquence de cette déficience (Lecleire, 2008).

### 2/ Classification de la $\beta$ - galactosidase

---

Les enzymes sont regroupées en six classes principales selon la nature des réactions qu'ils catalysent (Debatisse, 1981), chaque enzyme est désigné par 4 nombres (Durand et Monsson, 1982). Le numéro systématique de la lactase est Ec 3-2-1-23: Ec pour l'enzyme commission, le premier nombre (3) pour la classe des hydrolases, le deuxième (2) pour la sous classe des glucosidases, le troisième (1) pour la sous-sous-classe des hydrolases catalysant l'hydrolyse d'une liaison -O- glycosidique, et le quatrième (23) pour le numéro d'ordre dans la sous-sous classe (Quintard et Guilloton, 1996).

La  $\beta$  -galactosidase est l'une des plus grandes et des plus compliquées des protéines étudiées avec 1023 acides aminés dans la chaîne de polypeptide. Chaque unité de  $\beta$  -galactosidase se compose de cinq domaines, le tiers est un emplacement actif. Cette enzyme peut être dédoublée en deux peptides, LacZ $\alpha$  et LacZ $\Omega$  (Matthews et al., 2005) .

### 3/ Lactase intestinale

---

C'est une glycoprotéine qui est synthétisée sous la forme d'un précurseur de haut poids moléculaire, elle est ancrée dans la membrane intestinale par son extrémité carboxy-terminale

(Jacob et al., 1997). Elle est clivée lors de son transport intracellulaire vers le pôle apical de la cellule avant son intégration dans la membrane de la bordure en brosse des entérocytes de l'intestin grêle (Raul, 2001).

La lactase est localisée dans la bordure en brosse des entérocytes, cellules qui tapissent la muqueuse intestinale. Elle n'est pas active dans les entérocytes les plus « jeunes » (situées au fond des cryptes) mais son activité est maximale dans les cellules plus âgées (situées dans la moitié supérieure des villosités). La répartition de l'enzyme le long de

l'intestin grêle est également irrégulière : maximale dans le jéjunum proximal et faible dans le duodénum et l'iléon. Ceci explique pourquoi un renouvellement cellulaire accéléré, après un processus d'inflammation locale par exemple (gastro-entérite), peut diminuer l'activité de la lactase. La lactase hydrolyse également les glycolipides des membranes des globules gras du lait (Marteau et Marteau, 2005).

La quasi-totalité de la molécule se trouve dans la lumière intestinale au contact des nutriments, la molécule mature présente deux sites actifs qui hydrolyse le lactose (Waker et al., 1992) . La figure 5 montre la localisation de la lactase intestinale.

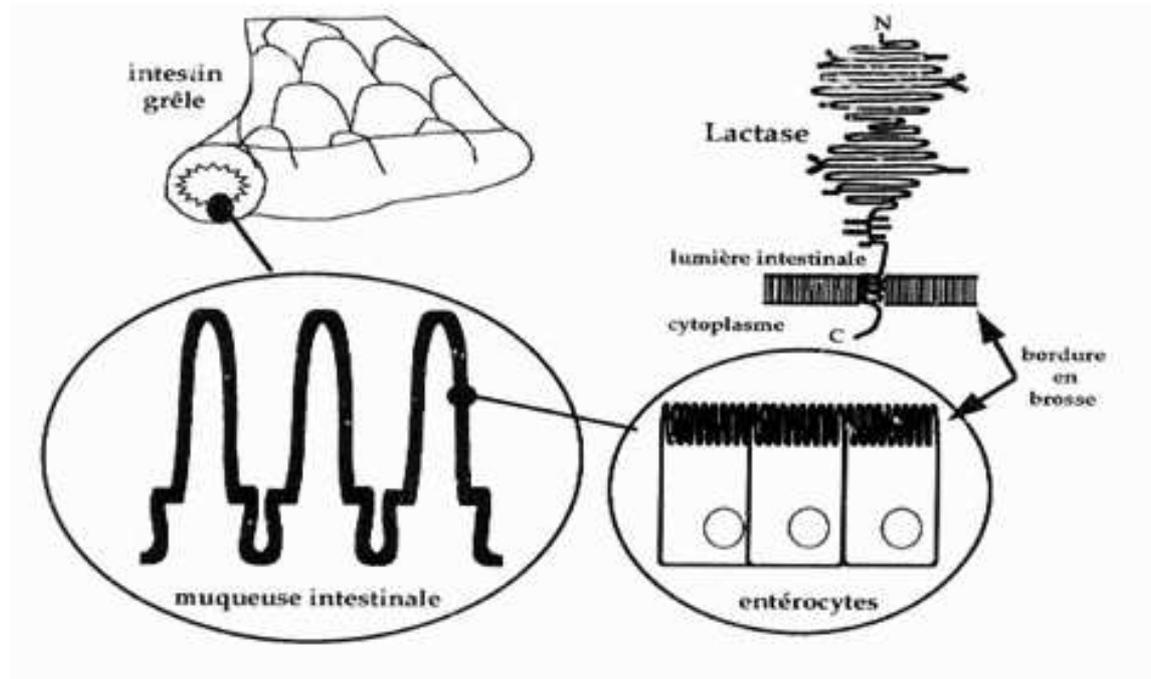


Figure 5: localisation de la lactase intestinale (Raul, 2001)

### 3.1/ Rôle du lactose dans l'induction de la lactase

Au cours de la dégradation du lactose deux enzymes interviennent, la galactosidase et la galactoside perméase. Ces deux enzymes sont sous la dépendance de deux gènes de structure localisés sur le même chromosome.

En absence de lactose, les deux enzymes, ne sont formés qu'à l'état de traces, leur synthèse est inhibée par la présence d'un répresseur qui bloque l'activité de l'opérateur (Raisonnier, 2001).

En présence de lactose le répresseur modifie dans sa structure, à cause des liaisons qu'il établit avec l'inducteur, le lactose n'est plus susceptible d'assurer le blocage de l'opérateur, l'inhibition est levée et ces deux enzymes sont synthétisées (Leclerc, 1983 ., Well, 1983).

### 3.2/ Action de la lactase

Lorsque le lactose est absorbé dans l'intestin grêle, il sera dégradé dans le côlon sous l'action de lactase, cette enzyme le décompose en glucose et en galactose pour générer l'ATP (Antoine et Fripiat, 1986), la figure 6 résume ce mécanisme.

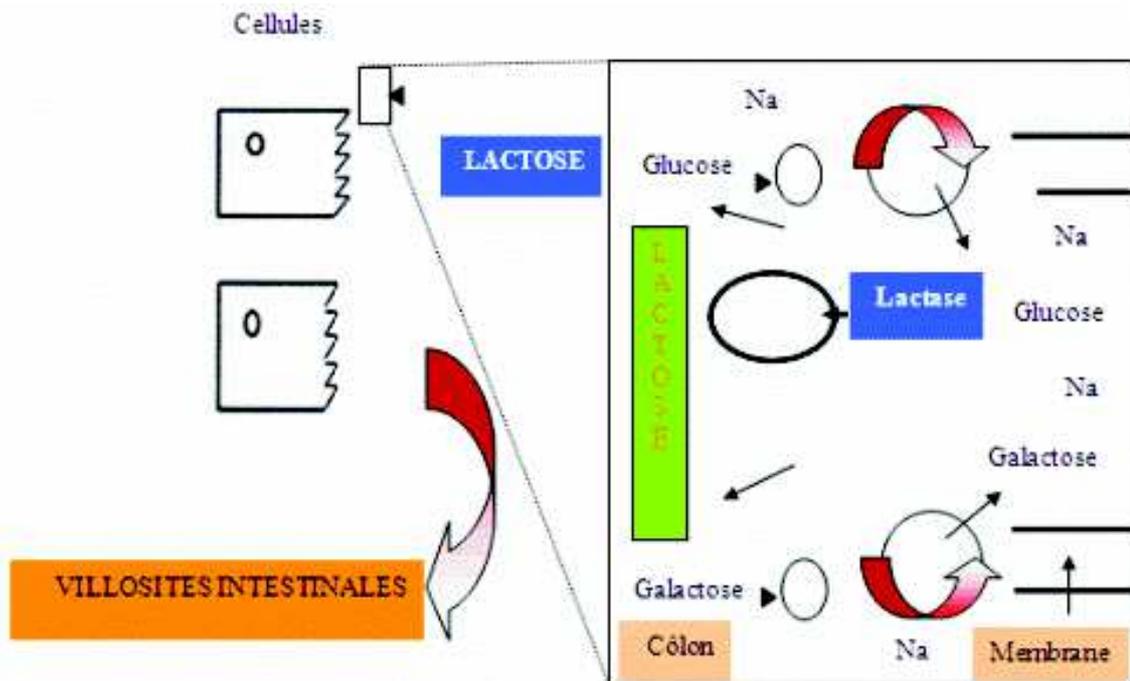
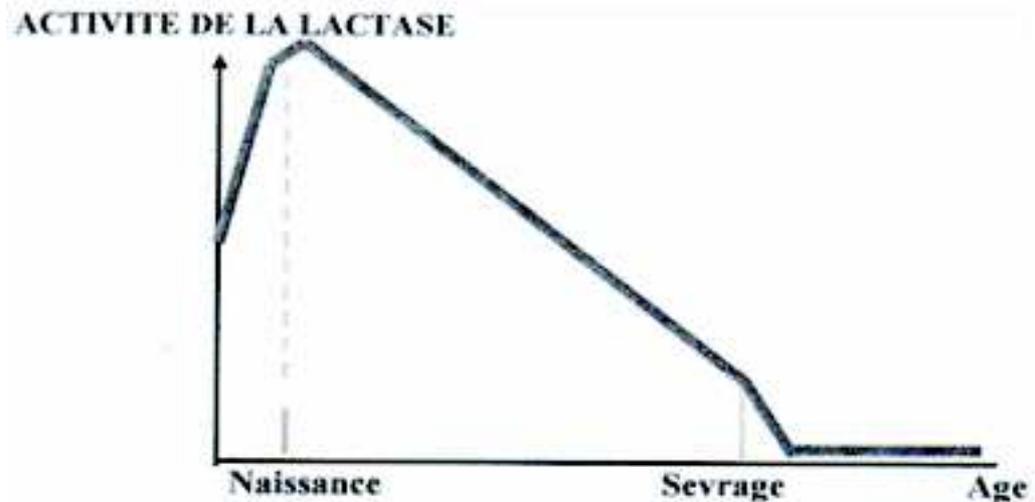


Figure 6 : Action de la lactase (Antoine et Fripiat, 1986).

#### 4/ Activité lactasique

L'activité enzymatique est une mesure de la quantité d'enzymes active dans une préparation. Le Katal (Kat) est l'unité suggérée par l'union internationale de biochimie, il s'est défini comme une quantité d'enzymes qui transforme une mole de substrat par seconde dans des conditions opératoires définies (Scriban, 1999).

L'activité lactasique est retrouvée sur l'intestin humain embryonnaire à partir de la huitième semaine de gestation. Elle augmente en fin de gestation et tout de suite avant la naissance, où elle atteint son maximum. Puis dans la petite enfance, l'activité de la lactase diminue progressivement pour ne plus représenter à l'âge adulte qu'environ 10% de ce qu'elle était à la naissance (Absolonne, 1989). La figure 7 explique l'évolution avec l'âge de l'activité de la lactase intestinale chez les mammifères.



**Figure 7:** Evolution avec l'âge de l'activité de la lactase intestinale chez les mammifères (Raul, 2001)

Le moment et la vitesse de disparition de l'activité varient, les facteurs conditionnant les changements chez l'homme ne sont pas connus (Adrian et Lepen, 1987). Selon Bolin (1979), l'activité lactasique classe les différentes populations en trois groupes distincts:

1. Le premier se compose en forte proportion (>80%) de sujets adultes dont l'activité lactasique a disparu. Cet ensemble est représenté par la majorité des Africains et leur descendant
2. noir, Américains, la plupart des communautés juives, les Asiatiques, les Esquimaux, les Aborigènes Australiens et les Indiens d'Amérique du nord et du sud;
3. Le deuxième groupe qui est composé en forte proportion (80%) de sujets adultes ayant une activité lactasique persistante et uniquement représenté par les européens du nord et leur descendants et du Moyen Orient (certaines tribus pastorales Arabes Saoudiennes);
4. Dans le troisième groupe on dénombre, dans des proportions moins tranchées, à la fois des sujets ALP, est composé des populations arabes du littoral méditerranéen de l'Est, des Grecs, des Italiens, des populations slaves d'Europe centrale de certaines communautés juives et des populations noires Urbaines du Nigeria.

### 4.1/ Influence des paramètres physicochimiques sur l'activité lactasique

#### 4.1.1/ Température

Dans l'intervalle de température de 10 °C à 40 °C la vitesse enzymatique augmente pour atteindre une valeur maximale (palier) au-delà, on note une baisse de la vitesse de réactions par suite d'une dénaturation thermique de la protéine enzymatique. La température optimale pour les lactases de *Kluyveromyces* se situe entre 30 °C et 40 °C. Un des buts du génie génétique est de conférer une meilleure stabilité thermique à des enzymes qui sont utilisées industriellement à des températures élevées et pour cela, ils ont utilisé la mutation afin d'acquies cette caractéristique (Scriban, 1999).

#### 4.1.2/ pH

Selon Scriban (1999), le pH optimal de l'activité de la -galactosidase varie selon son origine, par exemple, l'enzyme issue de *Saccharomyces lactis* est active à un pH compris entre 6.6- 6.8, en revanche le pH optimale de la lactase d'*Aspergillus niger* est compris entre 3.5 et 4.5 alors que l'activité de la lactase de *Klyveromyces fragilis* est optimale à pH compris entre 6.5 et 7.

#### 4.1.3/ Minéraux

L'activité de la -galactosidase peut être modifiée par différents éléments selon son origine, les ions  $K^+$ ,  $Mg^+$  et  $Mn^{++}$  activent les lactases (Mahoney et Adamchuk, 1998), alors que le  $Ca^{++}$  et le  $Na^+$  sont inhibiteurs (Boïng, 1981).

## III/ INTOLERANCE AU LACTOSE

### 1/ Historique

Différentes hypothèses ont été émises en ce qui concerne l'intolérance au lactose (Luquet, 1986) :

- Ethnique

Les races noires, jaunes, sémites n'ont pas de lactase persistante, une mutation anormale serait apparue au Nord-Ouest de l'Himalaya et aurait par vagues successives envahis l'Europe et le nord de l'Amérique.

- Pression sociologique et biologique

- Le premier exemple : concerne les populations de Viking qui vivaient dans une zone à faible ensoleillement, lorsqu'ils ne buvaient pas le lait, ils étaient soumis au rachitisme de l'adulte, c'est à dire l'ostéomalacie qui a eu pour conséquence de pratiquer une sélection génétique, dans les cimetières Viking on a trouver de nombreuses femmes au bassins ostéomalaciques morts en couches avec un enfant bloqués dans le petit bassin, il y aurait donc une sélection de population lactase persistante.

- Le deuxième exemple : concerne les tribus nomades bédouines, les arabes ainsi que les sémites, c'est des populations ou la lactase a disparus après le sevrage, mais certains auteurs ont étudiés des tribus nomade bédouines autour de Riyad et se sont aperçu que dans ces tribus, pratiquement 100 % des sujets étudiés absorbaient le lactose donc sont lactase persistantes, cette anomalie est expliquée par la pression génétique due au fait que les tribus bédouines, pendant

de nombreuses semaines, voir même des mois, n'ont que le lait de chamelle pour survivre par conséquent lactase persiste.

### 2 / Définition

L'intolérance au lactose est l'incapacité de digestion et d'absorption de lactose, le sucre majeur du lait (Emond, 2004, Lomer et al., 2008). Elle est provoquée par activité réduite

ou absente de la lactase qui empêche le dédoublement du lactose (Vesa et *al.*, 2000., Jay, 2003).

La déficience en lactase peut être soit primaire (liée à une prédisposition génétique) soit secondaire (liée à une autre pathologie) (Bhatnagar et Aggarwal, 2007).

L'intolérance au lactose se définit aussi comme l'apparition de symptômes digestifs désagréables (Ballonnement, gaz en excès, borborygmes voir diarrhées) survenant après ingestion de lactose chez les sujets incapable de digérer en totalité ce sucre en fonction de la tolérance individuelle (Absolonne, 1989., Ekleinman et Pennez, 2003).

Près de 75 % de la population mondiale tolère mal le lait d'origine animale et de ses dérivés (Emond, 2004). En Suisse, environ une personne sur six souffre de l'intolérance au lactose (Ekleinman et Pennez, 2003). Les personnes qui en souffrent accusent une déficience en lactase, une enzyme du système digestif qui permet de digérer le sucre du lait et de le convertir en glucose et en galactose afin qu'il soit absorbé par l'intestin.

L'intolérance au lactose touche entre 70 et 90 % des grecs, des arabes, des africains, des afro-américains, des japonais, des thaïlandais, des philippins, des juifs, des amérindiens, mais seulement 15 % des occidentaux souffrent d'intolérance au lactose (Emond, 2004).

### 3/ Origine de la malabsorption

---

La localisation de la lactase en bordure de l'intestin la rend très sensible. Tout ce qui perturbe l'intégrité de la muqueuse intestinale peut entraîner un déficit en lactase : intolérance au gluten, maladie de Crohn, allergies, infections, gastroentérites, malnutrition etc... Ce déficit (secondaire à une pathologie) est la cause la plus fréquente d'intolérance au lactose chez le nourrisson. Il est généralement réversible (Bhatnagar et Aggarwal, 2007). Le déficit congénital en lactase est quant à lui extrêmement rare (il est héréditaire et transmis sur un mode récessif). Le déficit partiel en lactase encore appelé hypolactasie de type adulte, est de loin la cause la plus fréquente de déficience en lactase (Marteau et Marteau, 2005., Cherbut, 2006).

*In Utero*, l'activité lactasique de l'intestin de l'embryon augmente au cours de la gestation, elle est maximale dans le dernier trimestre de la grossesse et à la naissance, ainsi cette activité lactasique permet au nourrisson d'hydrolyser le lactose que lui apporte le lait de sa mère ou le lait infantile quand elle n'allait pas ( Emond, 2004., Savaiano et *al.*, 2006).

Au moment du sevrage, l'activité de la lactase va diminuer progressivement pour beaucoup de population, elle va se stabiliser à un niveau de l'ordre de 10 à 20 % de celui de la naissance, cette situation est appelée hypolactasie (Raul, 2001). La raison du déclin naturel de la lactase n'est pas élucidée. Il semblerait génétiquement programmé (gène récessif) et plus ou moins dépendant des facteurs environnementaux. Ce déficit primaire en lactase doit donc être considéré comme normal physiologiquement (Bhatnagar et Aggarwal, 2007., Lomer et *al.*, 2008). L'âge au quel cette hypolactasie est établie et variable selon les groupes ethniques, par exemple, elle est déjà installée à 2 ans en Afrique et en Asie, alors qu'elle n'intervient qu'à l'âge de 6 – 8 ans au Japon et 10 – 15 ans en Finlande.

L'hypolactasie toucherait environ 70 % de la population adulte mondiale. Sa fréquence varie considérablement selon les groupes ethniques: de 3 % en Suède à 99 % en Chine. Certains conservent toute leur vie une activité lactasique identique à celle du premier âge: peuples de l'Ouest et du Nord de l'Europe Suède, Danemark (Raul, 2001), certaines tribus nomades d'Afrique et du moyen orient, de leurs descendants d'Amérique du Nord et

---

certaines tribus bédouines et africaines de tradition pastorale. Cette persistance serait due à une mutation génétique (Emond, 2004).

En Europe, la prévalence du déficit primaire en lactase croît du Nord au Sud, elle passe de 3 % en Scandinavie à 70 % en Sicile. On retrouve ce gradient en France où les études estiment cette fréquence à 10-15 % dans le Nord et à plus de 50 % dans le Sud (Cherbut, 2006., Lomer et al., 2008).

## 4/ Causes

---

Il y a 3 types d'intolérance au lactose d'après Ekleinman et Pennez (2003) et Perrin (2008) :

- L'intolérance de source congénitale, une condition assez rare causée par une absence de lactase à la naissance.
- L'intolérance temporaire ou permanente causée par un virus, une bactérie ou une maladie ayant détériorés les capacités digestives.
- L'intolérance causée par une diminution normale de l'activité de la lactase, ce qui se produit généralement dès la fin de la petite enfance.

### 4.1/ Déficit congénital en lactase

Selon Raul, (2001) ce déficit extrêmement rare est héréditaire et transmis sur un mode récessif il est lié à un dysfonctionnement du gène de la lactase conduisant à l'absence complète de lactase au niveau des bordures en brosse entérocytaire (individu lactasique).

Ce déficit apparaissant dès la naissance, le nouveau né présente une diarrhée de fermentation dès l'ingestion de lait pouvant conduire à une sévère déshydratation, mais il ne présente pas de dangers lorsqu'il est diagnostiqué rapidement, les symptômes disparaissent complètement lorsque l'enfant reçoit un lait délactosé, ces individu doivent consommer une alimentation dépourvue de lactose durant le reste de leur vie (Wang et al., 1998).

### 4.2/ Déficit secondaire en lactase

La molécule de lactase occupe une position particulièrement vulnérable ce qui lui confère une très grande fragilité, de nombreux facteurs perturbent l'intégrité de la muqueuse intestinale : une intolérance au gluten ou une allergie aux protéines du lait, une diarrhée d'origine virale ou bactérienne, une infection parasitaire, une malnutrition en protéine énergétique, une pathologie inflammatoire, une hypoxie, une hyperthyroïdie, la chimiothérapie, certains antibiotiques comme la néomycine (Villako et Maaros, 1994). Le déficit secondaire en lactase qui est un phénomène entièrement réversible est la cause la plus fréquente de l'intolérance au lactose chez les nourrissons (Raul, 2001).

### 4.3/ Déficit primaire en lactase ou hypolactasie de type adulte

Ce type de déficit est le plus fréquent car il concerne presque tous les mammifères après

le sevrage ainsi que 75 % de la population humaine, adolescents et adultes, dans le monde (Sahi, 1994).

La déficience primaire est un état irréversible, qui survient plus ou moins longtemps après le sevrage ou la fin de l'adolescence, d'une façon progressive, et qui abolit 90 à 95 % de l'activité lactasique initiale ; elle est sans doute d'origine génétique (Dacosta, 2001).

L'hypolactasie de type adulte doit ainsi être considéré comme un phénomène normal, en fait, c'est la persistance d'une forte activité lactasique à l'âge adulte qui doit être considéré comme l'exception dans un grand nombre de population ou il à été observé que l'ingestion de lait occasionnait des troubles digestifs à l'âge adulte, le lait a été considéré comme impropre à la consommation après la période du sevrage (Flatz, 1987., Raul, 2001).

L'hypolactasie intestinale peut apparaître dès l'âge de 3 ans dans les populations thaïlandaise et chinoise et après 5 ans dans la population africaine et chez les aborigènes d'australie.

Il est généralement admis que l'hypolactasie de type adulte contrairement au déficit congénital ou a certain déficit secondaire, le niveau d'activité de l'enzyme (lactase) est fortement diminué à l'âge adulte l'amenant environ à 10 % de son niveau initial mesuré chez les nourrissons. Dans ce type d'intolérance au lactose, l'enzyme digestive diminue progressivement avec l'âge(Raul, 2001). Le tableau III montre la répartition de l'hypolactasie de type adulte dans les populations humaines adultes appartenant à différent groupe ethnique et le tableau VI selon les régions et les pays.

**Tableau III : Répartition de l'hypolactasie de type adulte dans les populations humaines adultes appartenant à différents groupes ethniques.**

Groupe ethnique	Intolérance au lactose %
Africains	95 – 100
Indiens	90 – 100
Asiatiques	90 – 95
Américain (population native)	70 – 90
Américain (d'origine Africaine)	70 – 80
Population du bassin méditerranéen	60 – 75
Juifs Ashkenazes	60 – 70
Américain (d'origine Européenne)	10 – 15
Européens du nord	5 - 10

**Source :** (Sahi, 1997).

**Tableau IV : Evaluation du pourcentage des adultes atteints de déficience primaire en lactase dans différents pays ou régions.**

Pays	Intolérance au lactose (%)
Nord de la France	23
Sud de la France	44
Grande Bretagne	6
Irlande	4
Suède	1
Pologne	37
Danemark	3
Nord de l'Allemagne	8 à 22
Sud de l'Allemagne	14 à 23
Autriche	20
Suisse	16
Hongrie	37
Croatie	35
Serbie	52
Grèce	53
Italie du nord	50
Italie du sud	71
Espagne	15
Turquie	71
Autres pays d'Asie	75 à 100
Afrique du nord	45
Est de l'Afrique	50 à 100, sauf exceptions
Amérique du nord	12 pour les blancs, 75 pour les noirs, 100 pour les indiens
Amérique du sud	90
Juifs Ashkénazes (Europe)	60 à 70

Source : (dacosta, 2001)

## 5/ Aspect clinique et nutritionnel de l'intolérance au lactose

### 5.1/ conséquences physiologiques de l'intolérance au lactose

Lors d'un déficit important en lactase, l'ingestion de lactose en trop grande quantité dépasse la capacité de digestion de la lactase, le lactose ne peut donc plus être entièrement hydrolysé et donc digéré. De faibles quantités de lactose sont absorbées intactes par l'intestin et sont éliminées dans les urines, mais la majorité est métabolisée dans le côlon par la flore, d'où la production de lactate, d'acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate), de gaz (hydrogène, gaz carbonique et méthane) et une acidification du milieu.

En augmentant la charge osmotique, le lactose provoque aussi un transfert d'eau de la muqueuse vers la lumière intestinale qui conduit à une dilatation de l'intestin ainsi qu'à une accélération du transit avec perte d'eau et d'électrolytes (Raul, 2001., Cherbut, 2006., Bhatnagar et Aggarwal, 2007). La figure 8 élucide la différence entre un état normal et en cas d'intolérance au lactose lors de la digestion de ce dernier.

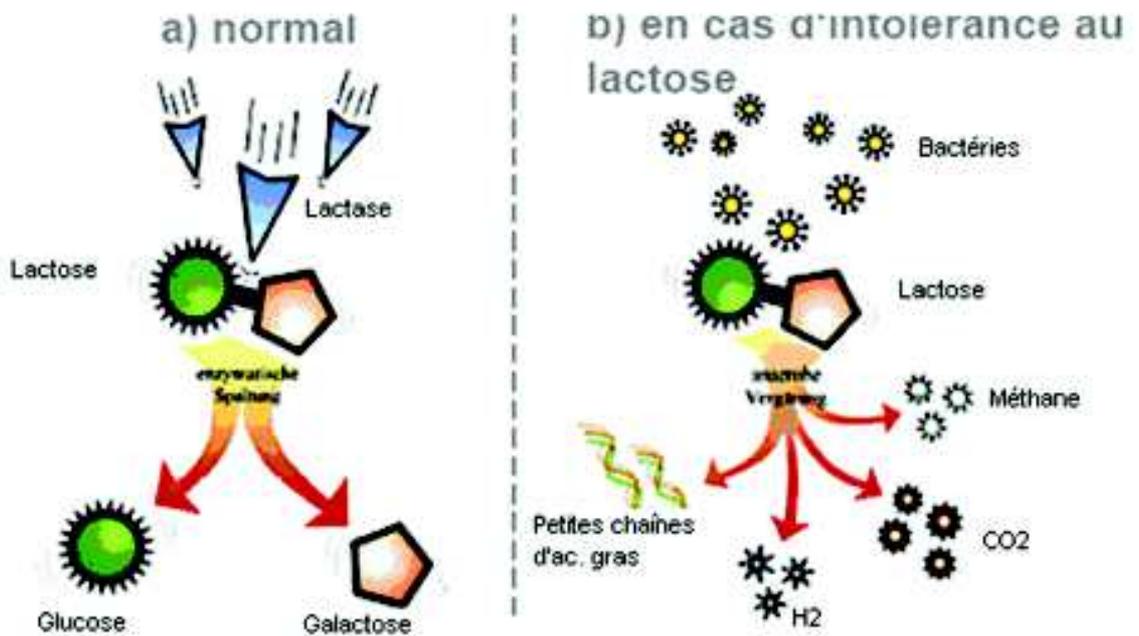
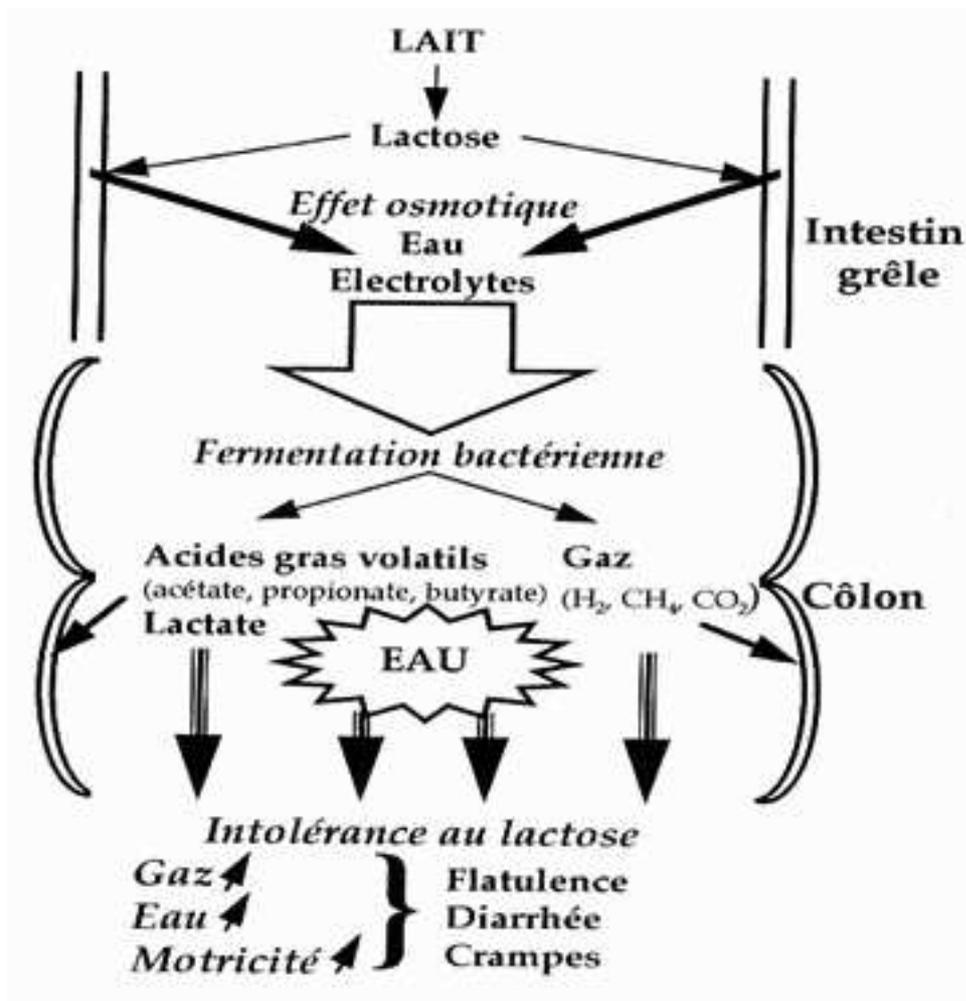


Figure 8 : Digestion de lactose (Perrin, 2008)

L'augmentation du volume de liquide au niveau du côlon provoque des diarrhées et des gaz libérés ainsi que d'autres symptômes comme des ballonnements, flatulences, douleurs abdominales...des crampes et des nausées (Raul, 2001). Ces symptômes se manifestent généralement dans les deux heures qui suivent l'ingestion du lactose (Emond, 2004., Savaiano

et *al.*, 2006). L'hydrogène formé au cours de l'utilisation du lactose par la flore du côlon est éliminé par les voies respiratoires, cette particularité est à la base du « test de l'hydrogène expiré » qui sert à diagnostiquer l'intolérance au lactose (Lomer et *al.*, 2008). La figure 9 montre le mécanisme du développement de l'intolérance au lactose chez des sujets déficients en lactase intestinale.



**Figure 9:** mécanisme du développement de l'intolérance au lactose chez des sujets déficients en lactase intestinale (Raul, 2001).

## 5.2/ Traitement et prévention

Bien que l'on puisse prévenir l'intolérance au lactose, on ne peut la guérir ; afin d'atténuer ou d'éliminer ses symptômes, il est recommandé d'éviter les produits laitiers contenant une forte proportion de lactose.

Les intolérants au lactose ont aussi à leur disposition des laits de marque lactaid et lacteeze qui peuvent être consommés sans risque. Par ailleurs, il existe des compléments de lactase sous forme de comprimés qui doivent être pris au moment du repas (Avaler et al., 2001). D'après Reasonner et al. (1981) et Raul, (2001) Chez un sujet intolérant au lactose, plusieurs moyens peuvent être utilisés pour faire disparaître les symptômes, ils sont résumés comme suit:

- L'utilisation de laits dé lactosés.
- Rajouter de la lactase exogène sous forme de comprimés ou des bactéries vivantes qui en contiennent comme celles présentées dans le yaourt.
- Privilégier la consommation de yaourt, de laitage ou de fromage avec les repas.
- Ne pas consommer du lait à jeun.

- Sur une échelle de tolérance allant du moins bien toléré au mieux toléré on trouverait : Lait écrémé < lait demi écrémé < lait entier < lait entier chocolaté < lait en préparation ( Ekleinman et Pennez, 2003 ).
- Les graisses et/ou l'association d'autres aliments au lait ralentissent la vidange gastrique et peuvent ainsi améliorer l'absorption du lactose (Raul, 2001).
- Le lactose agit dans 21 % des médicaments sur ordonnance et dans 6 % des médicaments en vente libre à titre d'ingrédient inactif, il est important de vérifier auprès du pharmacien avant de prendre un nouveau médicament (Emond, 2004).

### 5.2.1/ Aliment à privilégier

Certains produits laitiers comme le lait au chocolat, le yaourt et les fromages affinés (Camembert, cheddar, suisse, bleu, mozzarella, parmesan, monterey...) contiennent une quantité moins importante de lactose, le lait au chocolat est généralement mieux toléré que le lait non aromatisé car le cacao stimule l'activité enzymatique de la lactase (Emond, 2004).

Selon Ekleinman et Pennez (2003), les bactéries nécessaires au vieillissement des fromages et à la fermentation du yaourt se substituent à la lactase dans le processus d'assimilation du sucre du lait, elles comblent la déficience en lactase ce qui se traduit par une digestion normale du lactose. Le yaourt nature est reconnu pour être mieux toléré que le yaourt aromatisé. Le lait de soja peut remplacer les produits laitiers sans effet désagréable pour l'organisme (Emond, 2004).

### 5.2.2/ Aliments à éviter

Le lait entier, le lait écrémé, le babeurre, le fromage cottage, la ricotta, le beurre, la crème glacée, le yaourt glacé et le lait évaporé sont des aliments à proscrire lorsqu'on souffre d'intolérance au lactose (Ekleinman et Pennez, 2003).

Certains aliments préparés pourtant non laitiers présentent une quantité de lactose suffisante pour provoquer un inconfort tels : le pain, les légumes congelés, les soupes, les vinaigrettes, les céréales, les préparations pour gâteaux et les bonbons ( Emond, 2004 ).

## 6/ Les symptômes et signes de l'intolérance au lactose

---

Le lactose qui n'est pas assimilé par l'intestin fermente et cause des douleurs abdominales, des crampes, des ballonnements, de la diarrhée, des flatulences et de la nausée. Ces symptômes se manifestent généralement entre 30 minutes et 2 heures après l'absorption de grandes quantités d'aliments contenant du lactose. La sévérité des symptômes change considérablement d'une personne à l'autre (Jarvis et Miller, 2002).

## 7/ diagnostic de l'intolérance au lactose

---

Dans la pratique, chacun de nous peut se faire une idée approximative de sa propre tolérance au lactose en consommant à jeun un à deux verres de lait et en observant ensuite l'apparition des symptômes caractéristiques (Evrard, 2005). Selon France (2002), seul le médecin est en mesure de poser un diagnostic, à ces fins, plusieurs tests peuvent être utilisés.

L'un d'eux est le « test respiratoire à l'hydrogène » ou « breath hydrogen test » qui consiste à évaluer la présence d'hydrogène dans l'air expiré par le patient avant et après

---

l'ingestion de 50 grammes de lactose en solution. Le lactose non digéré dans l'intestin grêle se transforme en gaz sous l'action des bactéries coliques. Cet hydrogène passe ensuite dans la circulation sanguine pour rejoindre les poumons d'où il est exhalé en même temps que l'air, plus le niveau d'hydrogène dans le souffle est élevé, moins performante est la digestion du lactose dans l'intestin grêle et donc moins efficace est la capacité de production de lactase par l'organisme.

On peut également utiliser « le test tolérance au lactose » qui consiste à mesurer le taux de glucose dans le sang après ingestion d'une quantité déterminée de lactose (50 g) est une des autres méthodes utilisées. Si la digestion du lactose a lieu, la glycémie du patient va augmenter car le lactose est dégradé en glucose et galactose. Par contre, s'il y a un déficit en lactase, le taux de glucose sanguin s'élève modérément voir pas du tout. Mais ces deux tests sont déconseillés aux enfants en bas âge et aux nourrissons (Evrard, 2005 ., Perrin, 2008).

Un test génétique est disponible depuis peu. C'est un moyen sûr de détecter l'intolérance

au lactose primaire. Le test ne nécessite plus de prise de sang, il se fait sur la base d'un prélèvement de cellules par simple écouvillonnage de l'intérieur de la joue. La lactase est codée par le gène LCT, situé sur le chromosome 2 (Lynn, 2004., Perrin, 2008).

## 8/ Différence entre allergie et intolérance

---

Bien que les deux phénomènes soient totalement différents, la confusion règne entre l'intolérance et allergie au lait. Le terme d'intolérance atteste de l'absence totale ou partielle de l'enzyme (dans ce cas, la lactase) assurant la digestion d'un nutriment ou sa métabolisation (assimilation du lactose). L'intolérance ne suscite pas de réaction du système immunitaire.

L'allergie est caractérisée par une réaction immunitaire face à un allergène alimentaire, le plus souvent une protéine (protéines du lait : caséine, alpha-lactalbumine, bêta-lactoglobuline) par production d'IgE. « L'allergie au lactose oblige à éviter les protéines du lait, alors que l'intolérance au lactose oblige à éviter le sucre du lait »

L'allergie au lactose est plus grave et provoque des symptômes qui peuvent impliquer le système digestif (douleurs abdominales, vomissements, diarrhée), les voies respiratoires (congestion nasale, toux, éternuements), la peau (urticaire, eczéma, plaques enflées) et peut causer des coliques, des otites, des migraines et des problèmes de comportement. Elle touche 1% de la population adulte et 3 % des enfants (Evrard, 2005).

# VII/ LES BACTERIES LACTIQUES

## 1/Généralités

---

Depuis des milliers d'années, les bactéries lactiques sont utilisées pour fabriquer divers produits alimentaires fermentés y compris des produits laitiers les fromages et les yaourts.

Les produits fermentés renferment plusieurs souches de genres et d'espèces différents ayant pour point commun la production d'acide lactique. De par leur métabolisme, les

bactéries lactiques permettent d'allonger la durée de conservation des denrées d'origine en leur conférant une saveur et une texture différentes (Danone, 1997). Elles peuvent aussi apporter des bienfaits au niveau de la santé et de la nutrition humaine (Luquet et Corrieu, 2005., Marteau, 2007).

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (Luquet, 1990). Elles sont Gram (+), généralement immobiles et asporulées (Dellaglio, 1988), anaérobies mais parfois aérotolérantes, ne possèdent ni catalase, ni cytochrome réductase mais certains possèdent une pseudocatalase (Novel, 1993. , Luquet et Corrieu, 2008), et ne possèdent ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase et elles produisent des quantités abondantes d'acide lactique sous différentes formes D(-), L(+) ou DL (+-) (De Roissart, 1986). Ces bactéries sont des Cocci ou des bâtonnets, elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides (Larpent, 1989., Luquet et Corrieu, 2008).

## 2/ Origine et Habitat des bactéries lactiques

---

Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, elles sont présentes dans plusieurs milieux riches en principaux nutriments à savoir : produits laitiers, carnés, de pêche et végétaux (Desmazeaud, 1992., Luquet et Corrieu, 2008).

En général, les bactéries lactiques peuvent être isolées du lait, des végétaux et des aliments. Ces bactéries s'avèrent généralement sans danger et même bénéfiques à la santé lorsqu'elles sont ingérées vivantes et en nombre élevé leur habitat diffère selon les genres (Luquet, 1993).

## 3/ Propriétés générales

---

### 3.1/ Caractères morphologiques

- **Des coques (cocci)** en forme sphérique plus ou moins ovoïdes, de 0,5 à 1,5 µm de diamètre dont la division peut engendrer des paires, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles (Devoyod et Poulain, 1988., Medina, 2000).
- **Des bacilles** en forme de bâtonnets de 0,5 à 2 µm diamètre, ils peuvent avoir différents aspects : droits, de coccobacilles ou de longue chaîne de bacilles. Le bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filament (De Roissart et Luquet, 1994).

### 3.2/ Ecologie des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavité buccale et vaginale, les fèces, le lait) (Danone, 1999., Luquet et Corrieu (2008).

## 4/ Bactéries lactiques du yaourt

---

L'exemple le plus connu de la fermentation lactique et le plus utilisé est celui du yaourt. Les bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du yaourt sont thermophiles (elles peuvent vivre même à haute température) ce sont: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus*

---

*bulgaricus*. Le yaourt est le résultat d'une symbiose, chacune des deux bactéries stimule la croissance de l'autre, ce lien symbiotique donne un produit différent des produits obtenus avec les bactéries prises séparément. La transformation du lactose du lait en acide lactique, entraîne sa prise en masse et la formation d'un coagulum ferme. Le goût acidulé du produit est dû à cette fermentation lactique, et sa saveur caractéristique est liée à la production de composés aromatiques par les deux bactéries lactiques.

La législation impose que les ferments lactiques du yaourt restent vivants dans le produit final, à raison de 10 millions par gramme (Luquet et Corrieu, 2005., Luquet et Corrieu, 2008).

#### **4.1/ Streptococcus salivarius ssp. thermophilus**

##### **4.1.1/ Morphologie**

*Streptococcus thermophilus* se présente sous forme de cellules sphériques ou ovoïde de 0.7 à 0.9 microns de diamètre en paires ou en longue chaîne (Accolas et al., 1982).

##### **4.1.2/ Caractères physiologiques**

*Streptococcus thermophilus* est un streptocoque thermophile; ce qui le différencie des streptocoques mésophiles du groupe N (*Streptococcus lactis* et *streptococcus cremoris*) son optimum de croissance est à 41 °C (Warwick 2000); il est thermorésistant et survit au chauffage à 65 °C pendant 30 min (F.A.O, 2002), mais présente une forte sensibilité au NaCl (Hardie, 1986).

Son activité protéolytique est encore plus réduite que celle du *Lactobacillus delbruckii* ssp. *bulgaricus* (Zourari et al., 1991).

##### **4.1.3/ Caractères nutritionnels**

*Streptococcus thermophilus* a une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres autres que le lactose et le glucose (Accolas, 1982). Les exigences nutritionnelles de cette bactérie sont essentiellement des composés azotés de faible poids moléculaire (Accolas et al., 1982).

##### **4.1.4/Caractères biochimiques**

*Streptococcus thermophilus* est homofermentaire qui produit exclusivement de l'acide lactique L<sup>+</sup> de façon rapide mais limitée. Son activité acidifiante se situe entre 25 et 50 °C avec un optimum vers 40 °C. Outre l'acide lactique il produit à partir du lactose de l'acide formique utilisé par *Lactobacillus bulgaricus* (F.A.O, 2002).

A partir du glucose, d'autres composés aromatiques peuvent être métabolisés par *Streptococcus thermophilus* tel que l'acétoïne et le diacétyl (Cerning et al., 1988); Il fournit généralement un caillé très lisse (F.A.O, 2002).

#### **4.2/ Lactobacillus delbruckii ssp. bulgaricus**

##### **4.2.1/ Morphologie**

*Lactobacillus delbruckii* ssp. *bulgaricus* est un lactobacille très polymorphe, sa forme diffère en fonction de l'âge de la culture du milieu utilisé (Accolas et al., 1982).

### 4.2.2/ Caractères physiologiques

C'est un *thermobacterium* qui ne se développe pas à 15 °C mais croît à 45°C. Sa température optimale de croissance est de 41°C (Warwick, 2000). Cette bactérie n'est pas thermorésistante mais peut résister à la température de pasteurisation, et ne se développe pas sur un milieu contenant 2 % de NaCl (Terre, 1986).

### 4.2.3/ Caractères nutritionnels

*Lactobacillus bulgaricus* peut dégrader le lactose, le glucose et le galactose mais n'attaque ni les pentoses, ni le saccharose, il est dépendant du lait (F.A.O, 2002).

### 4.2.4/ Caractères biochimiques

*Lactobacillus bulgaricus* est une bactérie homofermentaire, elle produit exclusivement de l'isomère D de l'acide lactique, ne produit pas de gaz à partir du glucose (Accolas, 1986). L'activité acidifiante se situe entre 30 et 55°C avec un optimum vers 45 °C, l'acidification est importante jusqu'à 300 ° Dornic mais d'une manière lente. La production de l'acide est plus tardive que celle de streptocoque mais à un maximum plus élevé (Accolas et al., 1982), généralement il fournit un caillé très cassant (F.A.O, 2002).

## 4.3/ Métabolisme du lactose au cours de la fermentation

### 4.3.1/ Métabolisme du lactose chez *Lactobacillus delbruckii ssp. bulgaricus*

Selon Hickey et al. (1986), *Lactobacillus delbruckii ssp. bulgaricus*, ne contient que de la  $\beta$ -galactosidase. Son activité décrite par Premi et al. (1972) pouvant résulter de l'action d'une phosphatase alcaline sur le substrat de cette enzyme.

Le lactose chez cette espèce doit pénétrer par une perméase, *Lactobacillus delbruckii ssp. bulgaricus* ne possède pas de système PTS ni pour le lactose ni pour le galactose, les espèces galactose<sup>-</sup> n'utilisent que la moitié de glucose de la molécule de lactose (Itoh et al., 1980).

### 4.3.2/ Métabolisme du lactose chez *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

Pour ce qui concerne *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, la plupart des souches ne possèdent pas de  $\beta$ -galactosidase mais sont équipées d'une  $\beta$  galactosidase constitutive qui ne risque pas d'être réprimée quand la bactérie est cultivée en présence de glucose comme seul source carbonique. Cette espèce préfère cependant les disaccharides aux monosaccharides, mais lorsqu'elle est cultivée en présence de lactose, le galactose résultant du clivage du disaccharide n'est généralement pas métabolisé et s'accumule dans le milieu (De Roissart et Luquet, 1989).

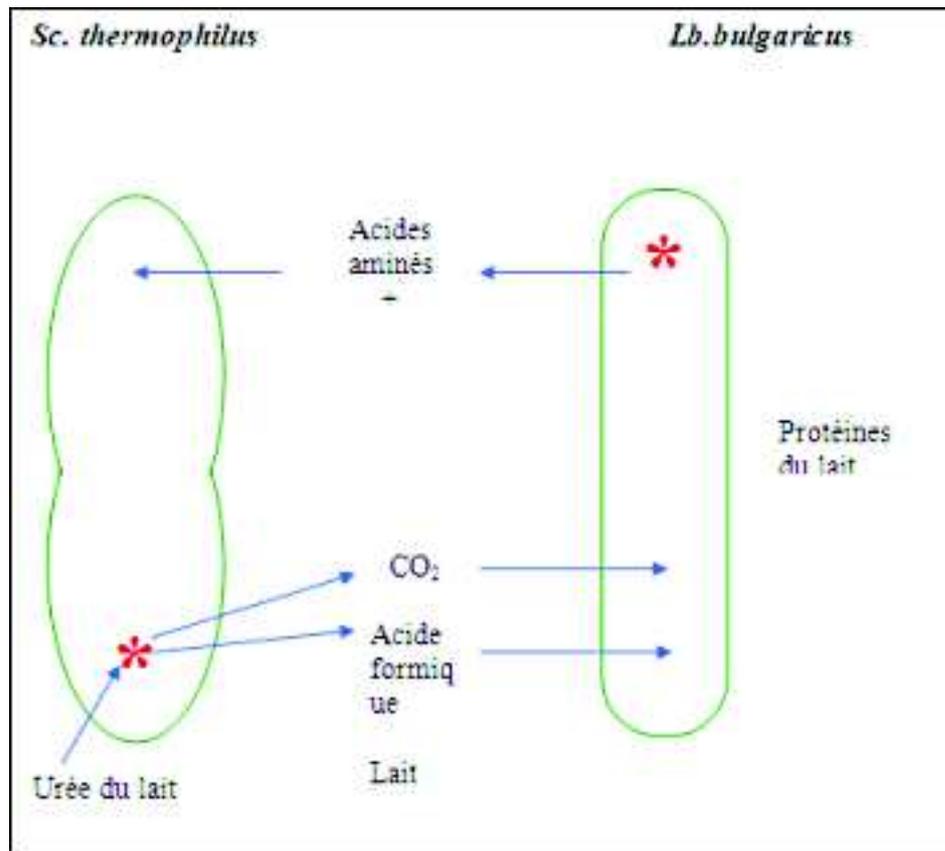
### 4.3.3/ La synergie des ferments du yaourt

Le couple de bactéries lactiques thermophiles spécifiques du yaourt exerce dans le lait une interaction favorable l'une à l'autre. Cette interaction dénommée autrefois symbiose est appelée maintenant protococpération (Guyot, 1992).

Au début de l'homofémentation du lactose, le pH avoisine 6.6, il est favorable au streptocoque, l'acidité en se développant, devient défavorable au streptocoque qui est alors relayée par le lactobacille qui poursuit son activité fermentaire jusqu'à pH d'environ 4.3 - 4.2.

Le CO<sub>2</sub> produit par *Streptococcus solivarius ssp. thermophilus* à partir de l'urée présent dans le lait serait nécessaire pour stimuler la croissance de *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus* (Driessen et al., 1982).

*Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus* possède une aminopéptidase, en revanche de peptides protéinase liée à sa membrane cellulaire qui va permettre la libération de peptides et d'acides aminés utilisables par *Streptococcus solivarius ssp. thermophilus*, qui de son côté est doté de la peptidase hydrolase intercellulaire (Marchall, 1986., Zourari et al., 1992), la synergie entre les deux souches peut être résumé selon la figure 10.



**Figure 10:** Schéma des facteurs stimulants la coopération inter espèces (Loones, 1994).

#### 4.4/ Survie des ferments du yogourt dans le tube digestif

*Streptococcus solivarius ssp. thermophilus* et *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus* connus sous le nom de ferments du yaourt constituent un apport majeur de probiotiques dans les pays industrialisés (Holzapfel et al., 1998., Yorikatsu et al., 1999). Pour que les bactéries lactiques puissent avoir un rôle bénéfique sur la santé humaine, il faut qu'elles gardent une certaine activité, voire une viabilité lors du transit intestinal (Desmazeaud, 1983., Schaafsma, 1996), il est nécessaire qu'ils atteignent vivants leur site d'action à un niveau de population suffisant, de l'ordre de  $10^7$  bactéries / mL (Bouhnik, 1993).

En toute logique, l'existence des enzymes intestinales, des sels biliaires, notamment de l'acide désoxycholique et de l'acide gastrique en général, devrait entraîner la destruction de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ces deux ferments ont une faible capacité de résistance à l'acide et aux sels biliaires (Bouhnik et al., 1993., Desmazaud, 1996),

cependant plusieurs auteurs (Marteau et al., 1990., Dilmi Bouras, 2002a., Corthier, 2003., Piaia, 2003) confirment qu'ils résistent bien aux conditions du tube digestif et demeurent viables .

Cependant, lorsqu'elles sont ingérées dans un yaourt, le transporteur exerce un effet tampon qui améliore leur survie. Après ingestion du yaourt, *Lb. bulgaricus* atteint des concentrations duodénales supérieures à  $10^5$  bactéries/ mL, ce qui correspond à une survie de l'ordre de 1% (Pochart et al., 1989).

Les études faites *in vitro* dans les conditions extrêmes du tube digestif pour les ferments importés (Dilmi Bouras, 2002) et locales (Dilmi Bouras, 2006) montrent qu'ils peuvent résister à des pH bas et moyennement bas ainsi qu'aux sels biliaires. Bouhnik (1993) et Bouhnik et al. (1993) ont montrés que les bactéries du yaourt ne sont pas détectées, dans les selles, après leur ingestion, et les travaux de Dilmi Bouras (2002) ; Dilmi Bouras et Sadoun (2002a) et Dilmi Bouras et al. (2007) confirment qu'ils peuvent séjourner 3 jours dans le tube digestif du lapin.

En fait, certains travaux apportent des arguments majeurs sur les possibilités de passage de la flore lactique du yaourt dans le tractus digestif de l'homme et de l'animal. Une étude effectuée par Goodenough et Kleyn (1976), chez le rat, permet de détecter, après ingestion du yaourt une élévation transitoire (2 à 3 heures) du nombre de bactéries vivantes dans l'estomac, le jéjunum et le duodénum. Des résultats comparables sont retrouvés, chez l'homme, par Hargrove et Alford (1978)., Bianchi-Salvadori et al. (1984).

Ces travaux sont corroborés par l'étude de Piaia (1991), qui a trouvé  $10^9$  bactéries vivantes dans l'estomac après ingestion de 100 g de yaourt. De même chez la souris, Pacini et al. (1979) montrent que *Lb. bulgaricus* survit au passage intestinal, et chez le lapin pour les deux ferments du yaourt à des taux supérieurs à  $10^7$  bactéries/mL (Dilmi Bouras, 2002., Dilmi Bouras et Sadoun, 2002a). De plus, Besnier et al. (1983) observent une implantation de *Sc. thermophilus* à des taux élevés et constants dans les fèces mais avec une élimination fécale rapide de *Lb. bulgaricus*.

Si ces travaux montrent un passage dans le tractus digestif de germes vivants du yaourt, aucun n'a pu montrer d'implantation de cette flore dans l'intestin de l'homme ou d'animaux holoxéniques. En fait, le seul moment privilégié pour implanter dans la flore intestinale de l'homme un microorganisme exogène semble être à la naissance, alors que l'intestin est

relativement stérile et les mécanismes de défense encore immatures (Bouhnik et al., 1993). La possibilité d'implantation des ferments du yaourt a été observée chez un nouveau-né humain, lorsque le tube digestif n'est encore colonisé par aucun microbe (Duval-Iftah et al., 1982).

### 4.5/ Rôles des bactéries lactiques du yaourt

#### 4.5.1/ Rôles technologiques

- La production d'acide lactique est la principale fonction des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide permet de concentrer et de conserver la matière sèche de lait, en intervenant comme coagulant ou antimicrobien (Piard et Desmazeaud, 1991., F.A.O, 1998);
- L'abaissement du pH, ce rôle est déterminé dans le cas de yaourt, le pH se situe à une valeur inférieure ou égale à 4, car il évite le développement des genres indésirables (producteur de gaz putréfiant) et des germes éventuellement présents (Accolas, 1979., Terre, 1986);
- La texture, la fermeté, la croissance et la capacité de rétention d'eau sont des caractéristiques importantes dans beaucoup des produits laitiers, elles sont fortement influencées par le ferment utilisé (Novel, 1993);
- Le pouvoir épaississant ou filant des produits fermentés est exercé par les bactéries lactiques, indépendamment à l'acidité de ces souches, cette production d'agents épaississants leur confère des propriétés rhéologiques particulières portant notamment sur la viscosité (Bouillane et Desmazeaud, 1981);
- Le (ou les) mécanisme (s) par le (s) quel (s) ces bactéries modifient les caractères du gel reste (ent) cependant controversé (s) en général l'augmentation de la viscosité est attribuée à la production d'un polysaccharide (Schellhasses, 1993) qui selon une étude portant sur plusieurs souches, sera essentiellement composé de galactose et de glucose ainsi que de petites quantités de xyloses, arabinose et mannose (Cerning et *al.*, 1988);
- La production de substances aromatiques: la fermentation lactique conduit aussi à la production plus ou moins importante des produits secondaires tels que l'acétaldéhydes, l'acétoïne, l'acétone et le diacétyl (De Roissart, 1986., Novel, 1993); Toutefois, c'est l'acétaldéhyde qu'on retrouve en prédominance et qui est responsable des goûts caractéristiques du yaourt (Vignola, 2002).
- La préservation: la production d'acides organique durant la croissance bactérienne cause une acidification du produit et protège aussi contre la prolifération des bactéries pathogènes (Bergmier, 2002).

#### **4.5.2/ Rôles nutritionnels et diététiques**

##### **4.5.2.1/ Effets sur la longévité**

Les effets bénéfiques des bactéries lactiques pour la santé du consommateur sont reconnus depuis longtemps, déjà le zoologiste microbiologiste ELIA METCHNIKOFF a mis en rapport la longévité de certains peuples dont les Bulgares par la consommation des laits fermentés (Masson et Pharrms, 2001., Puphan, 2003).

##### **4.5.2.2/ Effets sur le transit et sur la flore intestinale**

D'après desmazeaud (1996) et Hamma et *al.* (2008), l'ingestion de ferments lactiques peut contrer les effets d'une prolifération de certaines souches pathogènes d'*Escherichia coli* par divers mécanismes :

- Production des substances (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Acides lactique et acétique) directement inhibitrices d' *E. coli* ;
- Abaissement du pH par les acides produits ;
- Détoxification par dégradation des entérotoxines ;
- Prévention de la synthèse d'amines toxiques ;

- Fixation sur le tube digestif empêchant la colonisation de bactéries pathogènes, ou effet barrière.

### 4.5.2.3/ Production de bactériocines

Les bactéries lactiques sont de très bons producteurs de ces substances antibactériennes de nature peptidique ou protéique. Le genre *Lactobacillus* est caractérisé par la production de substances antibactériennes (Vignolo et al., 1993). De même les Streptocoques, essentiellement, *Streptococcus thermophilus* qui produit des bactériocines (Ivanova et al., 1998., Turgeon et Moineau, 2001., Purwandari et al., 2007) , parmi eux thermophilin T (Aktypis et al., 2007), qui sont capable d'inhiber plusieurs germes pathogènes, telle que *Sc.t2* qui est une bactérie locale extraite du lait Algérien de la région de Chlef qui a pu inhiber la croissance de plusieurs bactéries des genres *Bacillus*, *Enterococcus*, *Listeria* et *Staphylococcus* (Mezaini et al., 2009)

Chez les Lactocoques, c'est la nisine qui est la bactériocine la mieux décrite. Elle présente la caractéristique d'inhiber, en plus des bactéries lactiques différentes bactéries à Gram positif, notamment des *Clostridium* et des *Bacillus*. Un renouveau d'intérêt pour cette bactériocine est apparu ces dernières années, car il a été démontré qu'elle pouvait également inhiber différentes souches de *Listeria monocytogenes* (Desmazeaud, 1996., Mataragas et al., 2003., Tomé et al., 2006). De même les *Pediococcus* sont caractérisées par une production de bactériocines (Jumuna et Jeevaratnam, 2004).

### 4.5.2.4/ Guérison des diarrhées

Le yaourt diminue la durée de certains types de diarrhées, en particulier chez l'enfant (Boudraa et al., 1990), ces ferments régularisent l'activité intestinale et tendent à rétablir un équilibre bactérien favorable à la normalisation du tube digestif .

L'administration de *Lactobacillus GG* permet de réduire la durée des diarrhées provoquées par les *Rotavirus* chez les nourrissons (Desmazeaud, 1996). Les deux ferments inhibent l'action des germes pathogènes en produisant des substances antibiotiques (Zourari et al., 1992., aktypis et al., 1998., Heyman, 2000). La présence d'acide lactique explique en partie l'action inhibitrice sur le développement de certaines souches bactériennes, notamment les pathogènes (F.A.O., 2002).

Seher et al. (2007) ont démontré que *Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus* B3 a un effet protecteur des enzymes digestives après un traitement de radiation abdominal chez les rats. Hamma et al. (2008) a démontré qu'il est possible de réduire les diarrhées infantiles causées par *E. coli* par ingestion de lait fermenté par *Bifidobacterium infantis*.

L'organisation mondiale de la santé recommande de remplacer le lait par le yaourt, dans la mesure du possible, au cours du traitement des diarrhées car il est mieux toléré que le lait et peut contribuer à la prévention de la malnutrition ou à rétablir une nutrition suffisante.

### 4.5.2.5/ Effet sur la réponse immunitaire

Différents travaux suggèrent que l'administration de la flore lactique vivante est susceptible de modifier la réponse immunitaire chez les animaux conventionnels et chez l'homme (portieret al., 1993., puriet al., 1996., Boclé, 2005).

Cette action interviendrait en stimulant à plusieurs niveaux la défense antimicrobienne de l'organisme. Dans les mécanismes généraux intervient l'immunité non spécifique par phagocytose par les monocytes macrophages (Amrouche, 2005), par ailleurs, l'immunité

spécifique est due aux lymphocytes T4 et à l'interleukine 1 avec activation des lymphocytes T8 cytotoxiques et des lymphocytes B producteurs d'anticorps (Desmazeaud, 1996).

Des concentrations très élevées en bactéries du yaourt ont conduit à l'augmentation des taux des cellules NK (naturel Killer), lymphocytes B et cellules K naturelles ainsi que la concentration d'IgG et d'interféron (De Simone et al., 1993).

#### 4.5.2.6/ Rôle anti-tumeurs

Différents travaux attestent maintenant de propriétés anti-tumeurs spécifiques des *Lactobacilles* ou des aliments fermentés par ceux-ci, et des relations existant entre les problèmes de nutrition et les cancers (Desmazeaud, 1996).

Selon pedrosa et al. (1995)., Saloff-Coste (1997), plusieurs facteurs ont été suggérés qui peuvent contribuer à expliquer les propriétés anti-tumeurs des produits fermentés :

- Inactivation ou inhibition de la formation des composés carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal.
- Suppression de l'apparition de cancer grâce à la stimulation ou à l'augmentation de la réponse immunitaire des bactéries fécales ( $\beta$  glucoronidase, azoréductase, nitroréductase, nitrate réductase) qui peut activer les composés carcinogènes en convertissant les pro- carcinogènes en carcinogènes.

#### 4.5.2.7/ Effet sur la constipation bénigne

Un transit intestinal lent peut être partiellement corrigé par la consommation régulière d'un lait fermenté avec des ferments de yaourt et des *Bifidobactérium* (Seki et al., 1978).

#### 4.5.2.8/ l'influence sur l'absorption du calcium et des minéraux

Les minéraux contenus dans un lait fermenté par des bactéries lactiques sont pratiquement aussi disponibles que ceux contenus dans le lait. Les effets étudiés chez l'homme sont beaucoup plus contradictoires. On peut noter une amélioration de l'absorption des minéraux lors d'un régime complété par le yaourt ou, au contraire, aucune variation d'absorption du calcium (De Villiers, 1995).

Les problèmes d'interprétation chez l'homme viennent du fait que l'alimentation couvre, en général, tous les besoins calciques et qu'il devient alors difficile d'évaluer l'absorption d'un calcium excédentaire. Certains paramètres osseux et surtout la résistance à la rupture des tibias, indiquent un effet favorable du yaourt sur la minéralisation osseuse (Desmazeaud, 1996., Schaafsma, 1996).

#### 4.5.2.9/ Influence sur la cholestérolémie

L'hypercholestérolémie est un des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires qui constituent une cause majeure de mortalité chez l'homme et la femme dans les pays développés. L'examen de la littérature montre des aspects contradictoires en ce qui concerne le rôle des bactéries lactiques ou du yaourt sur le taux de cholestérol sanguin (Desmazeaud, 1996). Il est néanmoins clair que la consommation régulière de yaourt n'augmente pas la concentration plasmatique en cholestérol (pearce, 1996), au contraire elle permet d'avoir une basse cholestérolémie et présente une faible prévalence aux maladies cardiovasculaires comme cela a été démontré *in vitro* par Dilmi Bouras (1991) ; Dilmi Bouras (2002) et *in vivo* par Dilmi Bouras et Sadoun (2002a) et Dilmi Bouras et Sadoun (2002b) par des ferments importés et par Dilmi Bouras (2006) par des ferments locales du

yaourt, et le même résultat a été obtenu en utilisant *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus paracasei* dans le régime alimentaire du lapin (Dilmi Bouras et al., 2007).

Les conclusions de l'étude réalisée par la mission Scientifique de Syndifrais (1997) montrent que chez l'homme, il y'a diminution de la cholestérolémie lors de l'ingestion de grandes quantités de yaourt. Avec des quantités plus faibles, les résultats sont difficiles à interpréter. Dans une autre étude, Anderson et Gilliland (1999) trouvent que le yaourt contenant *Lactobacillus acidophilus* L1 diminue le taux de cholestérol sanguin chez l'homme.

### 4.5.2.10/ La digestibilité du lait

Compte tenu de toutes les recherches conduites à ce jour sur les laits fermentés, l'effet bénéfique du yaourt le mieux reconnu est une meilleure digestion du lactose pour les individus déficients en lactase (Sahi, 1994., Rychen et Simoes , 1995., suarezet savaiano, 1995).

L'ingestion de yaourt, plutôt que de lait, diminue la production d'hydrogène dans le test respiratoire d'hydrogène et atténue les symptômes de l'intolérance au lactose du lait (Shermak et al., 1995 ; Naim, 2001) . Marteau et al. (1990) ont déjà montré que plus de 90 % du lactose du yaourt est digéré chez des sujets déficients en lactase. Cet effet est associé aux bactéries vivantes, à la teneur en enzyme «  $\beta$ -galactosidase » et à la texture du yaourt (Kolarset al., 1984., Luquet, 1990). Les spécialistes sont unanimes à reconnaître que les deux bactéries vivantes du yaourt, grâce essentiellement à la lactase qu'elles produisent, permettent aux sujets déficients en lactase intestinale d'absorber convenablement le lactose apporté par ce produit (Marteau et al., 1990).

De nombreuses études ont montré que le yaourt classique, fermenté par *Streptococcus salivarius ssp . thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, améliorait grandement l'absorption du lactose chez des sujets déficients en lactase. La raison principale en est que ces deux bactéries produisent, quand elles sont vivantes, une lactase capable de métaboliser le lactose avant l'entrée de ce dernier dans le gros intestin (Kilara et al., 1976., Goodenoughet Kleyn., 1976., Garvieet al., 1984). Selon Hove et al. (1999) l'activité lactasique mesurée par la quantité de glucose due à l'hydrolyse du lactose en deux heures est de 37-24 mg/dL pour le yaourt contre 26 mg/dL pour un lait normal.

Alm (1982) observa que l'ingestion de yaourt supprimait chez des sujets intolérants au lactose les symptômes de mauvaise digestion provoqués par du lait pour l'humain. Savaiano et al. (1984) fait le même constat, avec une ration de 20 g de lactose.

Kolars et al. (1984) indiquèrent que la consommation de 18 g de lactose apportés par un yaourt se traduisait par trois fois moins d'hydrogène expiré que la même quantité apportée par du lait et donc était trois fois mieux digérée. Les résultats de ces trois essais sont résumés dans le tableau V, ces derniers confirment l'action bénéfique du yaourt.

**Tableau V : Les résultats des expériences comparatives entre le yaourt et lait sur l'intolérance au lactose.**

Références	Symptômes	Yoghourt		Lait	
		+	-	+	-
Alm (1982)	Diarrhées, flatulence, douleurs abdominales	0	9	5	4
Savaiano et al. (1984)	Diarrhées, flatulence	2	8	8	2
Kolars et al. (1984)	Diarrhées, crampes abdominales	0	9	8	1

(+) nombre des sujets présentant des symptômes digestifs.

(-) nombre des sujets ne présentant pas des symptômes digestifs.

Sanders(1994) déclara que la concentration des bactéries lactiques vivantes du yaourt doit être d'au moins  $10^8$ /mL pour obtenir un résultat efficace. Les auteurs comparèrent de la même façon chez cinq (05) sujets adultes déficients en lactose, les effets de 18 g de lactose digérés sous la forme d'un yaourt normal (bactéries vivantes) ou d'un yaourt thermisé (bactéries mortes) et prouvèrent que seul le yaourt normal exerça un effet bénéfique (Dewit et al., 1988., Piaia et al., 2003).

Marteau et al. (1990) refirent les mêmes expériences que Dewit et al. (1988), avec 8 sujets adultes déficients en lactase qui ingérèrent 18 g de lactose sous forme de lait, de yaourt thermisé ou de yaourt normal, et aboutirent à des résultats analogues, Piaia et al. (2003) sont arrivés aux mêmes résultats.

# PARTIE EXPERIMENTALE : MATERIEL ET METHODES

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire de bioressources naturelles locales de la faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques de l'université Hassiba ben Bouali de Chlef.

## PARTIE 1: Prévalence de l'intolérance au lactose dans la région de Chlef

Une première enquête a été effectuée couvrant les services de pédiatries des 04 hôpitaux (Chorfa, Ouled Mohamed, Chettia et Sobha) ainsi que de 04 cabinets privés de pédiatrie de la willaya de chlef, afin d'évaluer la prévalence de l'intolérance au lactose chez les enfants de moins de 3 ans dans la région, et cela pour les années allant de 2004 jusqu'à 2007.

Une autre enquête a été effectuée au niveau de la faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques qui avait pour but de révéler la présence ou l'absence de l'intolérance au lactose dans le milieu des étudiants. L'enquête a été faite par le biais d'un questionnaire distribué pour 280 étudiants, leurs âges variant de  $22 \pm 3$  ans (figure 11).

Les étudiants devaient répondre aux questions en plus qu'ils devaient prendre un régime alimentaire enrichi en lait pendant 7 jours (02 prises de lait matin et soir à raison de 150 mL par prise).

Le but était le dépistage d'un certain nombre d'étudiants intolérants au lactose pour pouvoir tester l'effet de notre yaourt, sur l'humain, fabriqué à base de bactéries lactiques locales à haut pouvoir de dégradation de lactose.

Les intolérants au lactose seulement seront soumis à un autre régime alimentaire de 7 jours enrichie en plus de la même quantité du lait, d'un yaourt fabriqué avec des bactéries lactiques thermophiles locales ayant le meilleur taux de dégradation de lactose et de survie dans les conditions extrêmes du tube digestif *in vitro* et *in vivo*.

NOM: ..... PRENOM: .....

SEXE: ..... Age: .....

Région: ..... Poids: .....

Taille: .....

1. Mode d'allaitement: (cocher la case juste)

Maternel  ml  art

2. Durée d'allaitement:

Moins de 1 an  moins de 2 an  plus de 2 ans

3. Votre consommation actuelle est:

Lait  café

4. Nombre de consommation par jour:

1 fois  2 fois

5. Quantité consommée par prise:

<100 mL  100 - 200 mL  >200 mL

6. Consommez vous: (cocher la case juste)

Les fromages

Les yaourts

Les crèmes desserts

Leben  } Lait fermenté

Raid  }

7. Combien de fois par semaines:

1 fois  2 fois  3 fois

8. Vous avez des malaises lorsque vous consommez le lait:

Oui

9. Type de symptômes? (lorsqu'ils sont présents):  
(Plusieurs réponses possibles)

J'ai des diarrhées

J'ai des douleurs - crampes abdominales

J'ai des ballonnements

J'ai des flatulences

J'ai des nausées

Rien

10. Les symptômes apparaissent dès la première prise du lait:

Oui  non après plusieurs pr

11. Depuis quand les symptômes sont ils présents:

Nombre d'années

Pour les volontaires remplissez le tableau suivant:  
Consommation 1 verre (150 mL) de lait le matin et un verre après midi.

Jours	Signes	Observations
1 Jour		
2 Jour		
3 Jour		
4 Jour		
5 Jour		
6 Jour		
7 Jour		

Figure 11: FICHE DE RENSEIGNEMENTS (Questionnaire)

## PARTIE 2 : ETUDE *IN VITRO*

### 1/ MATERIEL

#### 1.1/ Lait cru

Les échantillons de lait de vache sont collectés dans 8 régions différentes des willayas de Chlef ( Boukadir, Oued sli, chlef centre, Chettia, Medjaja et Bsakra ) et de Ain Defla ( Ain Defla centre et Khemis meliana) correspondant au moyen et haut chellif et différentes en altitude et en microclimat (figure 12).

Les prélèvements sont faits à partir de deux races de vaches (pi rouge et locale), à raison de 3 échantillons par race et par région ; étalés sur les quatre saisons des années 2002 et 2003.

Nous avons effectué la collecte du lait à partir de vaches saines ayant un dossier du service vétérinaire, et ne recevant aucun traitement antibiotique. Le lait est collecté d'une manière aseptique après désinfection des mamelons avec de l'eau chlorée, les premiers jets ont été éliminés afin d'éviter toutes contaminations et il est transporté dans des flacons stériles, dans des glacières, au laboratoire où il est maintenu à 4°C.



Figure 12 : Lieux de prélèvement des échantillons de lait de vache.

### 1.2/ Lait en poudre

Le lait en poudre utilisé est de nomination commerciale CELIA (France), (Annexe01), contenant 38.5 g/L de lactose, selon l'emballage, cette teneur servira comme référence pour calculer les quantités de lactose dégradées par les bactéries en cultures pures et mixtes.

### 1.3/ Flore intestinale

Une flore intestinale est utilisée, en plus de l'acide chlorhydrique et des sels biliaires, pour suivre l'évolution des ferments locaux de nos yaourts *in vitro* dans les conditions simulées extrêmes du tube digestif. Le prélèvement des bactéries de la flore intestinale a été fait à partir des selles d'un jeune enfant de 3 ans en bonne santé, ne présentant aucune maladie et recevant une alimentation variée et équilibrée. 1g de fèces est dilué dans 9 mL d'eau physiologique. Après broyage et filtration sur papier filtre stérile, 1 mL de la solution est pris pour l'analyse microbiologique.

### 1.4/ Milieux d'isolement

Le milieu M17 agar et bouillon (référence: AEB 140592), (Annexes 02 et 03), est utilisé pour la recherche des Streptocoques essentiellement *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

et le milieu MRS agar et bouillon (référence: AEB140652), (Annexes 04 et 05), est utilisé pour la recherche des Lactobacilles thermophiles essentiellement *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus*. Les souches sont conservées à -20°C en présence de 3 % de glycérol.

### 1.5/ réactifs chimiques

- Acide chlorhydrique pur (HCl)
- Sels biliaires en poudre (référence 4054, Merck)
- Solution de NaOH à N/9
- solution physiologique de NaCl (9g/L)

## 2/ METHODES

---

### 2.1/ Analyses microbiologiques

#### 2.1.1/ Isolement

Les isolements sélectifs des 2 espèces (*Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* et *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus*) sont faites suivant les méthodes décrites par la fédération internationale du lait (FIL, 1996). Les principales étapes d'isolement sont résumées dans les figures 13 et 14.

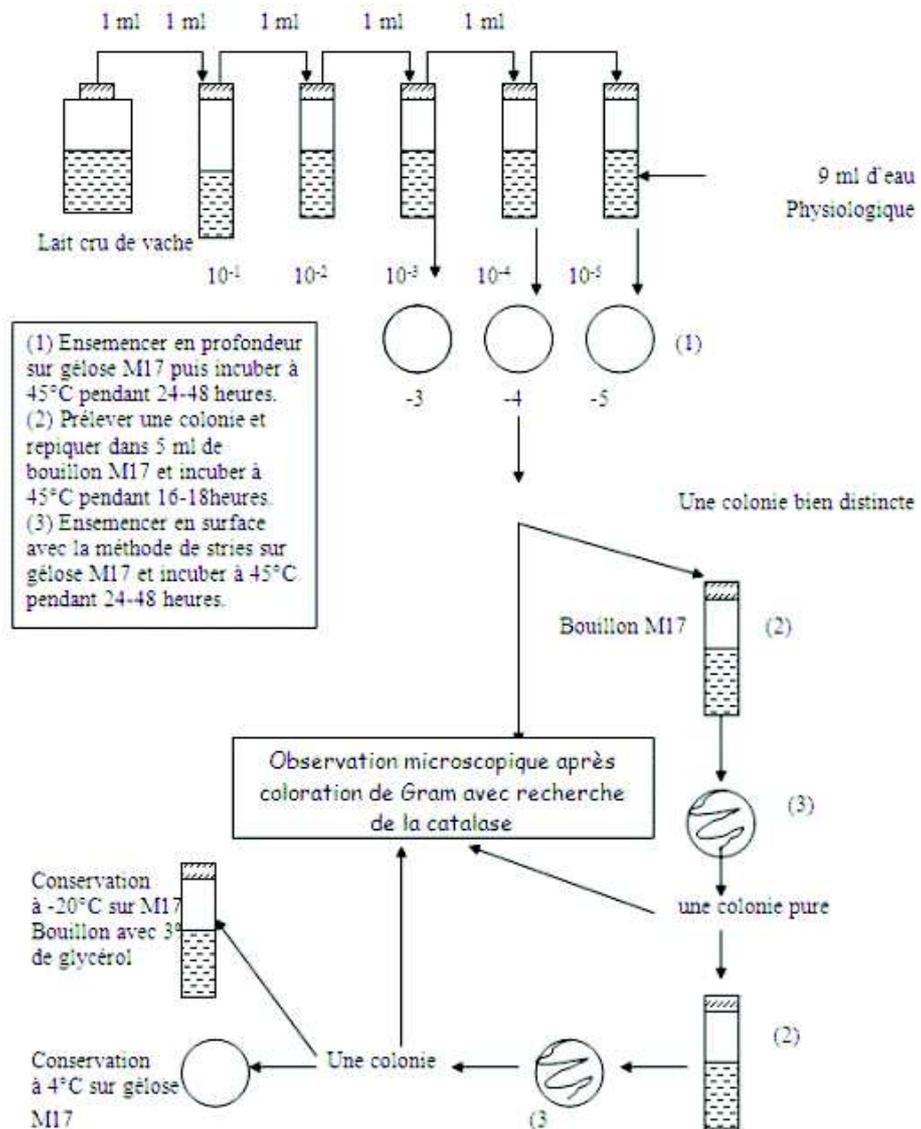


Figure 13 : Isolement et purification de *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus*

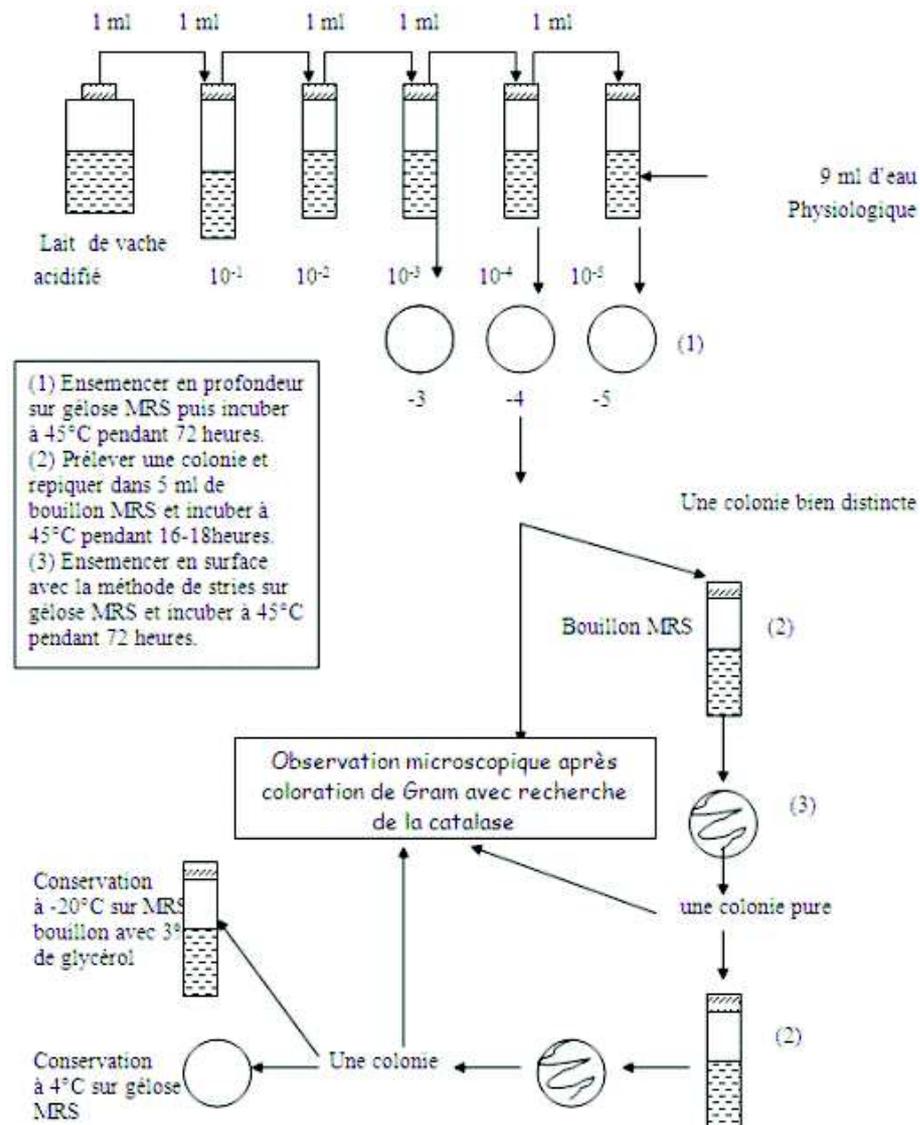


Figure 14 : Isolement et purification de *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus*.

### 2.1.2/ Identification et purification

L'identification des deux espèces est réalisée grâce à des galeries API20A et aux méthodes classiques reconnues par le comité de taxonomie. Elles sont basées sur la recherche, pour chaque espèce, des caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques), physiologiques et biochimiques. Seules les bactéries Gram<sup>+</sup>, catalase<sup>-</sup> non sporulés et pouvant croître à 45 °C, et à pH 9.6 sont gardés pour l'identification (Samelis et al., 1994., Joffin et Layral, 1996). Seules les cultures bactériennes ayant donné des taux supérieurs ou égaux à 10<sup>7</sup> cellules / ml seront utilisés pour la dégradation du lactose.

### 2.2/ Dosage du lactose

La dégradation du lactose est un processus biochimique au cours duquel les bactéries lactiques utilisent le lactose qui se transforme par la suite en acide lactique.

Le lactose est mesuré après hydrolyse par la méthode de polarimétrie décrite par Le Coq (1965) à différents intervalles de temps.

- Principe

Le lait ayant été déféqué par le réactif de Patain (Annexe 06), la quantité du lactose est évaluée en déterminant le pouvoir rotatoire du lactosérum afin de tenir compte du volume de précipité suivant le procédé dit: "double dilution" deux prélèvements identiques du lait sont amenés après défécation à des volumes différents, ayant entre eux le rapport 1/2 en fonction de la durée d'incubation et de réfrigération.

- Mode opératoire

Dans une fiole Jaugée de 50 mL, on introduit successivement:

- 25 mL de lait par pipette Jaugée;
- 2.5 mL de réactif de Patain par une pipette graduée.

Agiter, puis compléter au trait de jauge avec l'eau distillée, mélanger, filtrer après une dizaine de minutes.

Le filtrat (a) doit être limpide, on opère de la même manière en utilisant une fiole jaugée de 100 mL (b).

Les filtrats (a) et (b) sont examinés en tubes respectivement de 20cm et 40cm. La lecture est répétée plusieurs fois:

Si  $X_1$  est le pouvoir rotatoire du liquide déféqué complété à 50mL (a) et  $X_2$  celui du liquide déféqué complété à 100 mL (b).

Si l'on désigne par X le pouvoir rotatoire qu'aurait le lactosérum diluée issu de la défécation (a) ou qu'aurait le lactosérum issu de (b), en supposant le volume de précipité nulle, X correspond en pouvoir rotatoire du lactose dont:

$$X = \frac{X_1 \cdot X_2}{2X_1 - X_2}$$

Le pouvoir rotatoire spécifique du lactose étant 52.42.

La quantité "P" de lactose hydrolysé en g/L de lait est :

$$P = \frac{100 \cdot X}{52.42} \cdot 10$$

Le dosage du lactose est effectué à  $t = 0$  (lactose initial du lait) et après ensemencement en cultures pures et mixtes, la lecture s'effectue à des intervalles de temps différents.

### 2.3/ Pouvoir acidifiant

L'acidité Dornic des yaourts est déterminée de la façon suivante:

Prélever 10 mL des yaourts à l'aide d'une pipette stérile, les induire dans un erlenmeyer;  
Ajouter 4 gouttes de phénol phtaléine (indicateur du virage);

Verser la solution de NaOH (N/9) jusqu'au virage de l'indicateur, puis noter le volume de la solution de NaOH versée.

**L'acidité Dornic =  $1000V / 100 = 10 V$  degrés Dornic.**

- l'acidité Dornic est calculée à  $t = 0$  (acidité initiale du lait) et après ensemencement selon des intervalles de temps différents pour les cultures pures et les cultures mixtes.

#### **2.4/ Viabilité des bactéries**

En parallèle, on effectue un dénombrement sur boîte de Petri pour les cultures pures et pour les cultures mixtes après incubation à 37 °C et conservation à 4 °C.

- Préparation des dilutions
  - Répartir dans des tubes (selon la dilution finale souhaitée) 9 mL d'eau physiologique stérile;
  - Dans le 1<sup>er</sup> tube ajouter 1 mL de la suspension mère;
  - Agiter puis transférer 1 mL de ce dernier tube dans le deuxième tube, puis du dernier vers le troisième et ainsi de suite, en ayant soin de changer la pipette entre chaque dilution afin d'éviter de fausser les résultats.
- Dénombrement
  - Verser 1 mL de la dilution appropriée dans une boîte de Petri;
  - Couler dans chaque boîte le milieu de culture à raison de 14 mL par boîte;
  - Mélanger et laisser refroidir sur une surface froide jusqu'à solidification;
  - Placer les boîtes ensemencées dans une étuve à  $37 \pm 1$  °C pendant 48h ou  $44 \pm 1$  °C dans le cas de la préparation des yaourts ;
  - Dans ces conditions les lactobacilles forment des colonies lenticulaires de 1 à 3 mm de diamètre, qui se développent sur toute la surface de la gélose et les streptocoques forment des colonies lenticulaires qui sont plus petites que celles de lactobacilles.
  - Après cela on procède au comptage des colonies.

#### **2.5/ Survie des bactéries dans les conditions extrêmes du tube digestif - conditions de croissances**

Pour suivre la croissance des souches en cultures pures et mixtes en fonction du temps, nous avons adopté la méthode décrite par Dilmi- Bouras (2002). Nous avons préparé, 3 fois, 3 fractions de bouillons de croissance en absence et en présence de 0.3 % de sels biliaires).

3 pH différents ont été utilisés pour chaque fraction et qui sont :

- pH 2,5 : représente le pH de l'estomac à jeun ou depuis quelques heures,
- pH 4,5 : représente le pH de l'estomac au moment ou juste après le repas,
- pH 6,5 : représente le pH au niveau des intestins

Les bouillons de croissance (MRS et M17) sont fraîchement préparés. Ils sont divisés en deux fractions, dont l'une est additionnée de 0,3 % de sels biliaires (référence : 4054, MERCK). Après ajustement du pH par addition de l'acide chlorhydrique pur (2.5 ; 4.5 et 6.5), les solutions sont stérilisées à 121 °C pendant 15 min. Cette concentration en sels biliaires est largement supérieure

Les bactéries de la flore intestinale en plus de l'acide chlorhydrique (pH 6.5) et des sels biliaires sont utilisées pour suivre l'évolution, *in vitro*, des bactéries dans les conditions simulées des intestins et du colon.

A ces différents échantillons sont additionnés 3 % d'inoculum (0.3 mL dans 9.7 mL de bouillon) des différentes souches pures et mixtes puis incubées à 37 °C à différents intervalles de temps. La croissance des souches est contrôlée par dénombrement sur boîte de pétri.

Les meilleurs yaourts résultants du criblage *in vitro* (dégradation de lactose et survie dans les conditions simulés du tube digestif) seront utilisés pour poursuivre le travail *in vivo*.

## PARTIE 3 : ETUDE *IN VIVO*

### 1/ MATERIEL

---

#### 1.1/ Lapins

L'expérimentation est réalisée sur des lapins mâles de même espèce *Oryctolagus cuniculus* et de même âge (6 mois), Poids : 1300 – 1850 g au début de l'expérimentation et provenant de la même firme de Chlef. Des lapereaux âgés de 1 à 4 semaines, pesant de 320 à 620 g sont également utilisés.

Les animaux mis un par un dans des cages métalliques, de 50 cm de côté, sont maintenus dans une animalerie bien aérée, à température constante de 21 ±1°C avec un éclairage de 12 h assuré de 8 heures à 20 heures. La nourriture et l'eau sont distribuées *ad-libitum* et le nettoyage des cages est assuré tous les matins.

Le lapin a été choisi comme modèle expérimental du fait qu'il est un monogastrique, a un transit intestinal très lent et une grande sensibilité vis-à-vis des différents traitements (Mayers, 1995), en plus c'est le mammifère dont le lait le plus pauvre en lactose (1.5 -2 %) et qui exclu toute source de lactose de son alimentation après son sevrage vers la 4<sup>ème</sup> semaine de son âge (Lebas, 2004), ce qui fait de lui un intolérant au lactose avec l'âge.

Ces caractéristiques pourront permettre l'extrapolation des résultats à l'homme. Par ailleurs, l'intérêt de travailler sur l'animal permet de mieux contrôler le type d'alimentation et de supplémentation, ainsi que l'apport quantitatif.

#### 1.2/ Lait

Le lait utilisé pour la supplémentation du régime alimentaire du lapin, est reconstitué à 12 % d'EST à partir du lait de poudre CELIA, avec une teneur prescrite sur l'emballage de 38.5 g /L de lactose.

### 1.3/ Yaourt

Les yaourts sont préparés de la manière suivante :

140g de poudre de lait entier (Celia) est dissoute dans un litre d'eau distillée. Après pasteurisation du lait à 95°C / 3 min ; 3% d'inoculum avec un rapport 1/1 sont additionnés sous forme de (*Sc.t x* + *Lb.b y*). L'incubation est effectuée à 44 °C pendant 6h. Les pots sont immédiatement sortis de l'étuve, refroidis le plus rapidement possible au réfrigérateur à la température de 4 °C. Ce refroidissement à pour objectif d'arrêter ou de diminuer l'acidification.

### 1.4/ Réactifs et appareillage

- Disques d'ONPG (Ortho nitro phenyl galactosidase).
- Spectrophotomètre (Shimadru) à 420 nm.
- Etuves (Bender)

## 2/ METHODES

---

### 2.1/ Survie des bactéries dans le tube digestif du lapin

30 lapins sont d'abord nourris avec un régime standard (300g par jour de laitue, carottes, pain et eau) durant une période d'adaptation de 07 jours. Les lapins sont divisés en 3 lots (10 lapins/lot) pendant les 4 jours suivants, le régime des lapins est supplémenté de 2 x 20 mL par jour des trois meilleurs yaourts résultants du criblage, cette supplémentation est arrêtée à la fin du 4<sup>ème</sup> jour. Le dénombrement des bactéries se fait après prélèvement journalier (8 jours) du suc gastrique, duodéal et au niveau du gros intestin (évalué dans les fèces). L'expérience est refaite à raison de 03 répétitions. La méthode est celle décrite par Dilmi Bouras et Sadoun (2002a).

Le déroulement de l'expérience est réalisé en 2 étapes :

- La 1<sup>ère</sup> étape : les 30 lapins sont utilisés pour suivre l'évolution des bactéries en fonction du temps, jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour (pendant et après arrêt de l'ingestion des yaourts) dans l'estomac et dans les fèces.
- La 2<sup>ème</sup> étape : une fois la 1<sup>ère</sup> étape terminée, les 30 lapins sont utilisés pour suivre l'évolution de la meilleure combinaison en fonction du temps jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour (pendant et après arrêt de l'ingestion des yaourts) dans le duodénum. Cette analyse nécessite le sacrifice d'un lapin à 0heure « témoin », 1 lapin après 2 heures et ensuite 1 lapin toutes les 24 heures jusqu'à 216 heures

#### 2.1.1/ prélèvement du liquide gastrique

A l'aide d'une sonde introduite dans l'estomac à travers l'œsophage du lapin, le liquide gastrique est prélevé à 0 heure (témoin) et 1 heure après l'ingestion des yaourts préparés avec les meilleures combinaisons résultantes du criblage *in vitro*. Cette opération est répétée toute les 24 heures jusqu'à la fin de l'expérimentation (192heures).

Après filtration du liquide gastrique sur papier filtre stérile, 1mL est prélevé pour l'analyse microbiologique. Cette analyse permet de déterminer le nombre de cellules des yaourts utilisés au niveau de l'estomac du lapin.

### 2.1.2 / prélèvement du liquide duodéal

Les prélèvements du liquide duodéal ont été réalisés avant l'ingestion des yaourts (témoin), 2 heures après l'ingestion et ensuite toutes les 24 heures pendant la période d'administration des yaourts par les lapins (96heures) et après l'arrêt de l'ingestion (192 heures). Le liquide duodéal est prélevé rapidement après sacrifice des lapins.

Après filtration du liquide duodéal sur papier filtre stérile, 1mL est prélevé pour l'analyse microbiologique. Cette analyse permet de déterminer le nombre de bactéries au niveau du duodénum en présence de sels biliaires.

### 2.1.3/ prélèvement des fèces

Les fèces sont récupérées avant la prise des yaourts (témoin), 3 heures après chaque prise et ensuite tous les 24 heures pendant la période de l'ingestion du yaourt (96 heures) par les lapins et après l'arrêt (192 heures).

1g de fèces est dilué dans 9mL d'eau physiologique. Après broyage et filtration sur papier filtre stérile, 1mL de la solution est pris pour l'analyse microbiologique. Cette analyse permet de déterminer le nombre de cellules bactériennes au niveau du gros intestin en présence de la flore intestinale.

### 2.1.4/ Analyse microbiologique

Des numérations de la meilleure combinaison sur boites de Pétri ont été réalisées :

- Sur les yaourts utilisés dans les suppléments, afin de déterminer leurs charges bactériennes initiales ;

- Sur le liquide gastrique, le liquide duodéal et sur les fèces des lapins, pendant la période d'administration des yaourts (96 heures) et après l'arrêt de l'ingestion (jusqu'à 192 heures). Cette analyse permet de suivre l'évolution des souches dans le tube digestif des lapins.

Après la réalisation des dilutions décimales successives, 1mL est ensemencé en profondeur dans le milieu MRS agar ou M17 agar fondus et refroidi à 42 °C, pour les meilleures cultures mixtes résultantes, ensuite les boites sont incubées 48 h à 37 °C.

## 2.2/Evaluation de l'état d'intolérance au lactose chez le lapin selon l'âge

Cette étude a comme but de choisir le lot de lapins idéal qui présente le meilleur état d'intolérance au lactose qui peut être utilisé dans les étapes expérimentales qui suivent.

### 2.2.1/Constitution des lots expérimentaux

Nous disposons de 07 lapereaux qui constitue le groupe 1, qui est tout d'abord alimenté pendant 21 jours exclusivement par le lait de lapine, et à partir de la 4<sup>ème</sup> semaine, il commence à s'alimenter par le régime standard, jusqu'au sevrage au bout de la 6<sup>ème</sup> semaine.

Pour les lapins adultes nous disposons au départ de 28 lapins divisés en 04 groupes (07 lapins chacun). Ces lapins sont d'abord nourris avec un régime standard 300g (laitue, carottes, pain et eau) durant une période d'adaptation de 07 jours (Tableau VI). Ensuite et pendant les 06 semaines suivantes, le groupe témoin est nourri avec le régime standard, alors que pour les autres groupes, le régime standard est supplémenté soit avec 3 x 20 mL de lait / jour (L1), soit avec 3 x 10 mL de lait / jour (L2), soit avec 3 x 5 mL de lait / jour (L3).

L'évaluation de l'activité lactasique est faite, chaque semaine après sacrifice d'un lapin de chaque groupe. L'expérience est refaite 03 fois.

**Tableau VI: Régimes des différents groupes de lapins en fonction du temps.**

Temps	Groupe	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
G1		Lm	Lm	Lm	Lm+ Rs	Lm +Rs	Rs	Rs
G2		Rs	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs
G3		Rs	Rs + L1					
G4		Rs	Rs + L2					
G5		Rs	Rs + L3					

**Lm** : Lait de lapine;

**Rs** : Régime standard 300g (laitue, carottes, pain) et eau ;

**L1** : Lait : 3 x 20 mL / jour (12% EST et 38.34g/L lactose);

**L2** : Lait : 3 x 10 mL / jour (12% EST et 38.34g/L lactose) ;

**L3** : Lait : 3 x 5 mL / jour (12% EST et 38.34g/L lactose);

### 2.2.2/Dissection des lapins

Au terme de chaque étape, les lapins des différents lots sont disséqués, et installés dans une zone stérile (sous hotte UV à flux laminaire), une incision est réalisée au niveau du ventre (de la cage thoracique à la poche urinaire) par une lame de dissection stérile. La peau est soigneusement écartée à l'aide d'une pince stérile. L'intestin grêle et le colon sont libérés pour recueillir le suc duodéal.

### 2.3/ Amélioration de l'activité lactasique du lapin

25 lapins sont divisés en quatre lots (7 lapins/ pour les lots N° 1,2 et 3, et 4 lapins pour le lot N° 4) :

**Lot N°1** : Régime standard

**Lot N°2** : 3 x 5 mL lait à 12 % EST/ jour ; lactose =36.5 g/L (16jours)

**Lot N°3** :3 x 5 mL lait à 12 % EST + 3 x 5 mL yaourt / jour (16jours).

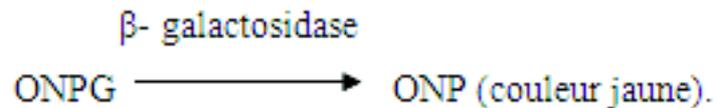
Arrêt de la supplémentation au 16<sup>ème</sup> jours, et suivi de l'évaluation de l'activité lactasique pendant 24 jours, pour les lots N° 2 et 3.

**Lot N°4** : sans arrêt de la supplémentation de lait (3 x 5 mL lait à 12 % EST / jour (24jours),

ou de yaourt (3 x 5 mL lait à 12 % EST + 3 x 5mL yaourt / jour (24jours), pour cela 2 lapins sont additionnés au lots 2 et 3 pour l'évaluation de l'activité lactasique au 20<sup>ème</sup> et 24<sup>ème</sup> jours de l'expérimentation.

L'évaluation de l'activité lactasique se fait tous les 4 jours pendant 24 jours d'expérimentation après prélèvement et filtration du suc intestinal, incorporation du disque ONPG et incubation à 37 °C/ 6h.

La présence de la  $\beta$ -galactosidase est mise en évidence par la méthode d'ONPG (Lin et al., 1989), qui repose sur le principe suivant :



La lecture de la DO se fait à 420 nm.

### 2.4/ Amélioration de l'activité lactasique chez l'humain

Les cas dépistés comme intolérants aux lactose à la suite de la consommation du lait pendant 7 jours (partie 1), et dont un ou plusieurs des symptômes (diarrhées, vomissements, nausées, ballonnements et flatulences) persistent durant toute la période d'essai, seront soumis à la consommation du meilleur yaourt résultant du criblage des bactéries lactiques locales, *in vitro* et *in vivo*, en accompagnement du lait pendant 7 autres jours.

Les symptômes seront comparés à ceux résultant de la consommation du lait seul.

### 2.5/ Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats est réalisée à l'aide du programme « Anova ». Nous avons effectué d'une part, une analyse de la variance, pour montrer la signification de nos résultats et d'autre part, une comparaison des moyennes par les tests de Newman-Keuls et de la probabilité (P).

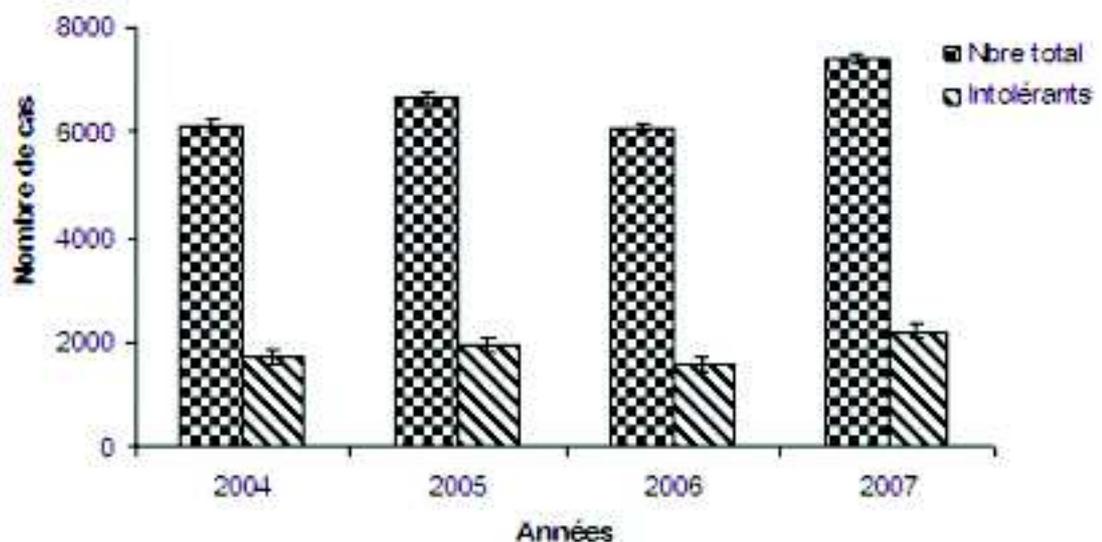
# RESULTATS ET DISCUSSION

## PARTIE 1 : Etude de la prévalence de l'intolérance au lactose dans la région de Chlef

La première partie de l'enquête visait essentiellement l'étude de la prévalence de l'intolérance au lactose chez les enfants de moins de 3 ans dans la région de Chlef.

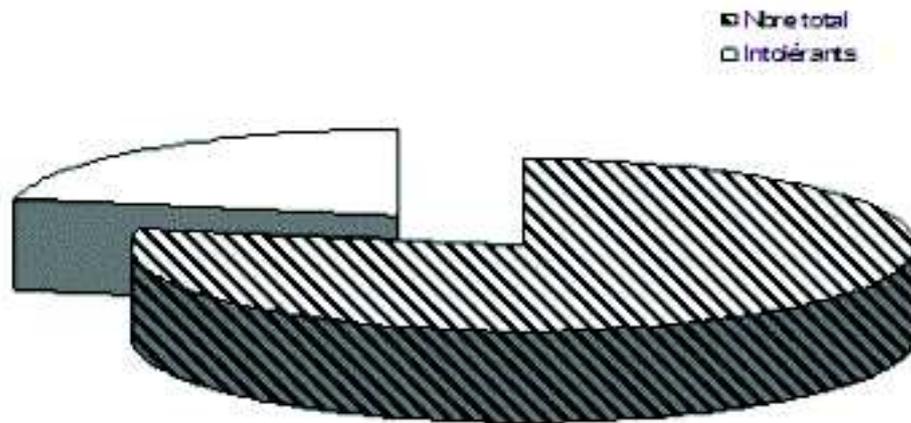
Les résultats de la figure 15 montrent qu'un nombre important d'enfants présente une intolérance au lactose. Ces enfants se présentent dans la majorité des cas avec des diarrhées aiguës, des vomissements et des douleurs abdominales, surtout pour les bébés de moins de 3 mois.

Le diagnostic de la maladie se fait d'une manière fortuite, puisque dans la majorité des cas les parents pensent essentiellement à des intoxications alimentaires.



**Figure 15:** Evolution du nombre des enfants intolérants au lactose visitant les hôpitaux et les cabinets des pédiatries de la wilaya de Chlef de 2004 à 2007.

Entre les années 2004 et 2007 ; 26312 cas d'enfants de moins de 3 ans ont visités les 4 hôpitaux de la région et les 4 cabinets de pédiatrie avec les symptômes sus cités. Les cas qui présentaient une intolérance au lactose sont arrivés à 7426, ce qui représente 28.22% du nombre total des cas (figure 16).



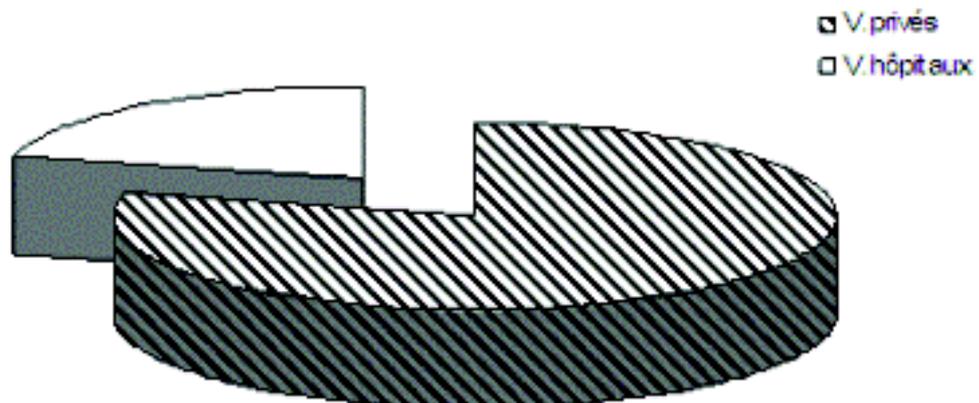
**Figure 16 :** Répartition graphique du nombre des intolérants au lactose par rapport au nombre total de 2004 à 2007.

Ce pourcentage semble dans l'intervalle cité par Dacosta (2001) et qui varie de 23 à 44 % pour les français. Cette similitude dans les résultats est due aux traditions nutritionnelles voisines des pays méditerranéens.

Par contre, les résultats de notre enquête sont loin de ceux cités par Cerf-Bensussan (2002), soit 70 %, et Emond (2004), et qui concernent des populations différentes.

Cette différence dans les résultats trouvés est dû, d'une part aux habitudes et régimes alimentaires des différentes régions, ethnies...., et d'autre part au manque de données statistiques fiables sur cette maladie dans les différents services de santé publiques et privés

Par ailleurs nous tenons à confirmer que la tendance est beaucoup plus orientée vers les cabinets des médecins spécialistes privés (78.85 %) que les services publics (21.14%). (Figure 17).



**Figure 17 :** Répartition graphique du nombre des intolérants au lactose visitant les hôpitaux et les cabinets privés de pédiatrie de 2004 à 2007.

La deuxième partie de l'enquête a couvert 280 cas, tous des étudiants (es) volontaires de la faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques, de l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef, (tableau VII).

**Tableau VII :** Caractéristiques des volontaires

Caractéristiques	
Nombre de jeunes filles	190 soit 68 % des cas
Nombre de jeunes hommes	90 soit 32 % des cas
Age moyen	22 ±2 ans
Taille moyenne	1.62 ± 0.12 m
Poids moyen	56 ± 6 Kg

Pour les 280 cas qui ont été soumis à un régime alimentaire incluant (150 mL) de lait à jeun et 150 mL en fin de journée, nous avons remarqué que les résultats et les symptômes sont différents et qui sont résumés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Symptômes apparaissant chez les volontaires après la prise du lait.

Symptômes Temps (j)	Diarrhées	Douleurs	Ballonnements	Flatulences	Nausées	Plusieurs symptômes	Rien
1	06	22	39	45	62	08	98
2	18	10	53	04	29	68	98
3	15	17	64	06	19	61	98
4	09	27	58	02	15	49	120
5	07	19	55	/	6	70	123
6	07	18	57	/	3	72	123
7	05	18	57	/	1	76	123

A travers les résultats trouvés, nous pouvons écarter 98 cas (soit 35 %). Ces volontaires n'ont présenté aucun symptôme d'intolérance au lactose, mais au contraire l'ingestion du lait et de ses composants a été normale.

Après 4 jours de l'ingestion du lait nous avons constaté que les symptômes de l'intolérance au lactose commencent à disparaître chez d'autres cas qui présentaient des nausées, des flatulences et des douleurs abdominales, cela signifie que ces derniers sont des intolérants secondaires au lactose. En effet, comme le mentionne Raul (2001) et Leclaire (2008) la lactase intestinale responsable de la dégradation du lactose au niveau de l'intestin a tendance à diminuer dans le cas où on diminue la consommation du lait dans notre régime alimentaire, mais une fois qu'on le reprend il pourra y avoir une induction de l'enzyme, c'est pour cela que les symptômes dus à la fermentation du lactose par la flore intestinale s'éliminent.

A la fin du 7<sup>ème</sup> jour de l'essai nous avons constaté que 123 cas, soit 43,92 % de l'ensemble ingèrent le lactose sans aucun symptôme, alors que 157 cas, soit 56,07 % du nombre total des volontaires, présentent toujours plusieurs symptômes d'intolérances au lactose, 57 cas parmi eux ont des ballonnements permanents, alors que 76 cas à la fin de l'expérimentation, ont plusieurs symptômes.

Ces résultats nous permettent de conclure que 8,92 % des cas ayant présenté des symptômes d'intolérance au lactose ont repris leur activité enzymatique après avoir réintégré le lait dans leur régime alimentaire, ce qui prouve qu'ils représentent une intolérance secondaire, en effet, selon Marteau et Marteau (2005) et Cherbut (2006) le déficit partiel en lactase encore appelé hypolactasie de type adulte, est de loin la cause la plus fréquente de déficience en lactase ; alors que les 56,07 % restants peuvent présenter une intolérance primaire ou congénitale au lactose.

Les facteurs sexe et type d'allaitement pendant l'enfance sont non significatifs ( $P < 0.2$ ), alors qu'elle est très hautement significatif pour la consommation ou non du lait ( $P < 0.01$ ).

Ces derniers seront appelé à continuer la consommation dans la partie *in vivo* le yaourt résultant du criblage *in vitro* et sur l'animal, pour essayer de réduire ou d'améliorer leur activité lactasique par le biais le la lactase des bactéries lactiques locales à haut pouvoir de dégradation de lactose.

## **PARTIE 2 : ETUDE *IN VITRO***

### **1/ Isolement, identification et caractérisation de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus***

---

Les isolements sélectifs nous ont permis de purifier 6 souches de *Streptococcus thermophilus* ( Sc.t<sub>1</sub> , Sc.t<sub>2</sub> , Sc.t<sub>3</sub> , Sc.t<sub>4</sub>, Sc.t<sub>5</sub> et Sc.t<sub>6</sub>) et 6 souches de *Lactobacillus bulgaricus* ( Lb.b<sub>1</sub> , Lb.b<sub>2</sub> , Lb.b<sub>3</sub> , Lb.b<sub>4</sub> , Lb.b<sub>5</sub> et Lb.b<sub>6</sub> ) provenant de laits de vaches de plusieurs régions. Les deux espèces répondent aux critères d'identification résumés dans le tableau suivant.

**Tableau IX: Caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches isolées de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*.**

Caractères	<i>Sc. thermophilus</i>	<i>Lb. bulgaricus</i>
Aspect morphologique - colonies - Mode de regroupement	- Blanches, rondes ou lenticulaires. - Cocci, diplocoques ou en chaînettes.	- Blanches, ovales à centres marrons et bombées. - Bâtonnets longs enroulés ou filamenteux, isolés ou en chaînettes.
Gram	+	+
Catalase	-	-
Oxydase	-	-
Mobilité	-	-
Production de spore Croissance à 10°C Croissance à 15°C Croissance à 45°C	- - - +	- - - +
Croissance en milieu hostiles Bouillon hypersalé 2 % 4% 6.5 %	- - -	- - -
Thermo résistance à 65°C/30 min TSI Hydrolyse de l'esculine Production d'NH <sub>3</sub> à partir de l'arginine Citratase Hydrolyse de l'amidon Fermentation des sucres Arabinose Glucose Mannitol Sorbitol Saccharose	+ + - - + - + - - +	+ - - - . - + - - +/-

## 2/ Criblage des souches pour préparation du yaourt

### 2.1/ Dégradation du lactose

#### 2.1.1/ Lactose initiale du lait

Nous avons effectué un dosage du lactose initial à  $t = 0$ , c'est-à-dire avant ensemencement afin d'optimiser par la suite le taux de dégradation de lactose par les bactéries (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*). Après plusieurs essais nous avons constaté que la quantité de lactose était de 38.34 g/L tandis que la teneur prescrite sur la boîte était 38.5 g/L, cette différence est probablement liée aux conditions de stockage.

#### 2.1.2/ Dégradation du lactose par les cultures pures

Nous avons effectué un dosage après ensemencement des bactéries, séparément, à un taux de 3 % et à des intervalles de temps de: 0, 3, 6, 24 et 48 h à 37 °C.

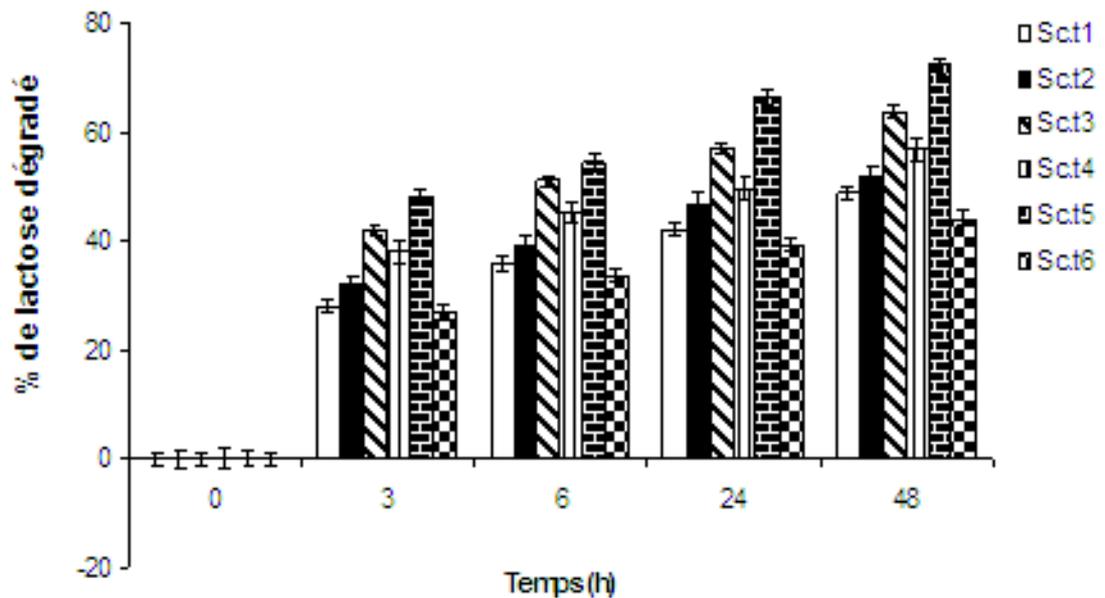
Les résultats des cultures pures montrent une grande variation dans les pourcentages de dégradation du lactose, il existe une variation considérable et hautement significative ( $P < 0.05$ ) entre les souches de la même espèce.

##### · Les streptocoques

Les streptocoques en cultures pures dégradent des quantités considérables de lactose dès les trois premières heures notamment pour *Sc.t* 5 et *Sc.t* 3 respectivement avec 48 % et 42 % du lactose initial. D'après la figure 18, la dégradation du lactose par *Streptococcus* est

remarquable, les teneurs de lactose dégradé au bout de 6 heures d'incubation à 37 °C sont de 54.48 % pour *Sc.t* 5 et de 51.04 % pour et *Sc.t* 3 .

Cette variation dans les résultats de dégradation du lactose est due essentiellement aux souches utilisées, car il existe une variation considérable non seulement entre les différentes souches mais également entre les espèces de même genre comme l'a confirmé Accolas et al. (1977).



**Figure 18:** Evolution de la dégradation du lactose à 37 °C par les souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* en fonction du temps.

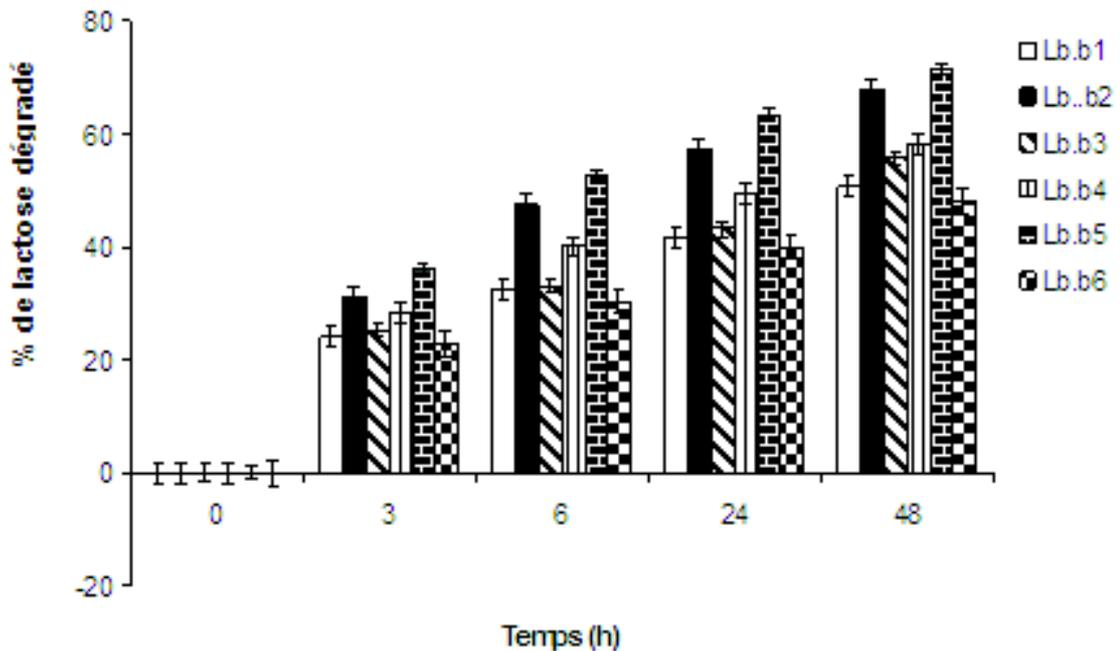
Ces résultats confirment les travaux de Stefen (1979), qui indique que le lactose est consommé très vite par les streptocoques en excréant dans le milieu le galactose ainsi que Hutkins et Morris (1987) qui ont démontré que le galactose produit par l'hydrolyse du lactose n'est pas fermenté par la plupart des souches de cette espèce et serait excrété et accumulé dans le milieu extracellulaire tandis que le glucose est transporté et consommé rapidement à l'intérieur de la cellule.

De même, selon Drouault et al. (2002), *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* est capable de produire une  $\beta$ -galactosidase, responsable de la dégradation du lactose.

#### Les lactobacilles

Contrairement aux streptocoques, les lactobacilles dégradent moins le lactose au cours des premières heures : 36 % pour *Lb.b* 5 et 31 % pour et *Lb.b* 2 . Cette faible activité n'est que transitoire ; car les lactobacilles sont plus active quant le milieu est déjà acidifié, ce qui se confirme dans les résultats de la figure 19, qui montrent que la dégradation du lactose est notable après 6 heures d'incubation à 37 °C, et atteint une valeur de 20.16 g/L (soit 47.41 % de lactose dégradé) pour

*Lb.b* 2 , et 18.18 g/L (soit 52.58 % de lactose dégradé) pour *Lb.b* 5 .



**Figure 19:** Evolution de la dégradation du lactose à 37 °C par les souches de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* en fonction du temps.

Ce résultat est en parfaite concordance avec celui trouvé par Zourari *et al.* (1992) et qui montrent que les lactobacilles achèvent la fermentation. De même, Desmazeaud (1983), Terre (1986) et Amoroso *et al.* (1989) montrent la nécessité d'un milieu déjà acidifié parce que les lactobacilles produisent d'avantage d'acidité.

### 2.1.3/ Dégradation du lactose par les cultures mixtes

Les cultures mixtes (yaourts) ayant données les meilleurs taux de dégradation de lactose avec des concentrations bactériennes supérieures à  $10^7$  cellules /mL sont: **YSLB 1** (*Sc.t 3* + *Lb.b 2*) ( $3.54 \times 10^7$ ), **YSLB 2** (*Sc.t 5* + *Lb.b 5*) ( $3.46 \times 10^7$ ), **YSLB 3** (*Sc.t 4* + *Lb.b 4*), ( $3.23 \times 10^7$ ), **YSLB 4** (*Sc.t 3* + *Lb.b 5*) ( $2.63 \times 10^7$ ) et **YSLB 5** (*Sc.t 5* + *Lb.b 2*) ( $2.29 \times 10^7$ ) cellules / mL. Nous avons pris en compte que ces cultures, d'autres ont été éliminées vu leurs charges bactériennes faibles, du fait qu'une culture bactérienne ne peut être utilisée comme probiotique qu'à partir de  $10^7$  cellules/mL selon Bouhnik (2000) et Corthier (2004).

La dégradation du lactose par les cultures mixtes est plus importante et hautement significative ( $P < 0.05$ ) que celles des cultures pures. Après 3h d'incubation à 37 °C YSLB<sub>2</sub>, YSLB<sub>4</sub> et YSLB<sub>1</sub> dégradent respectivement 81.91 %, 80.33 % et 76.29 % de lactose; ces taux augmentent pour atteindre respectivement 90.44 %, 87.22 % et 84.28 % après 6h d'incubation (figure 20). Ces bactéries à haut pouvoir de dégradation du lactose peuvent contribuer à atténuer les malaises que cause son intolérance.

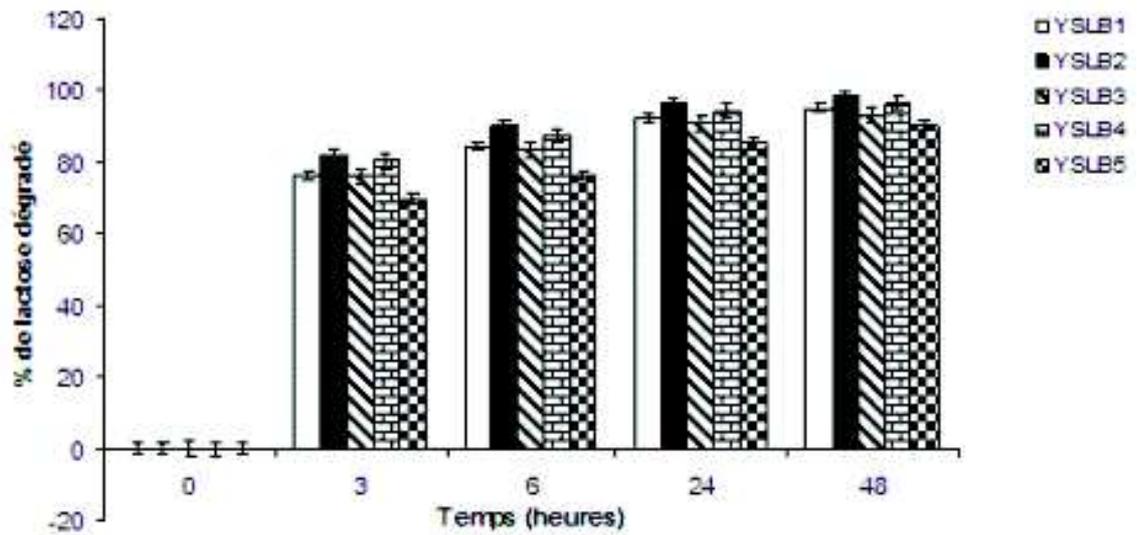


Figure 20 : Evolution de la dégradation du lactose par les cultures mixtes à 37°C.

## 2.2/ Pouvoir acidifiant

### 2.2.1/ Acidité initiale du lait

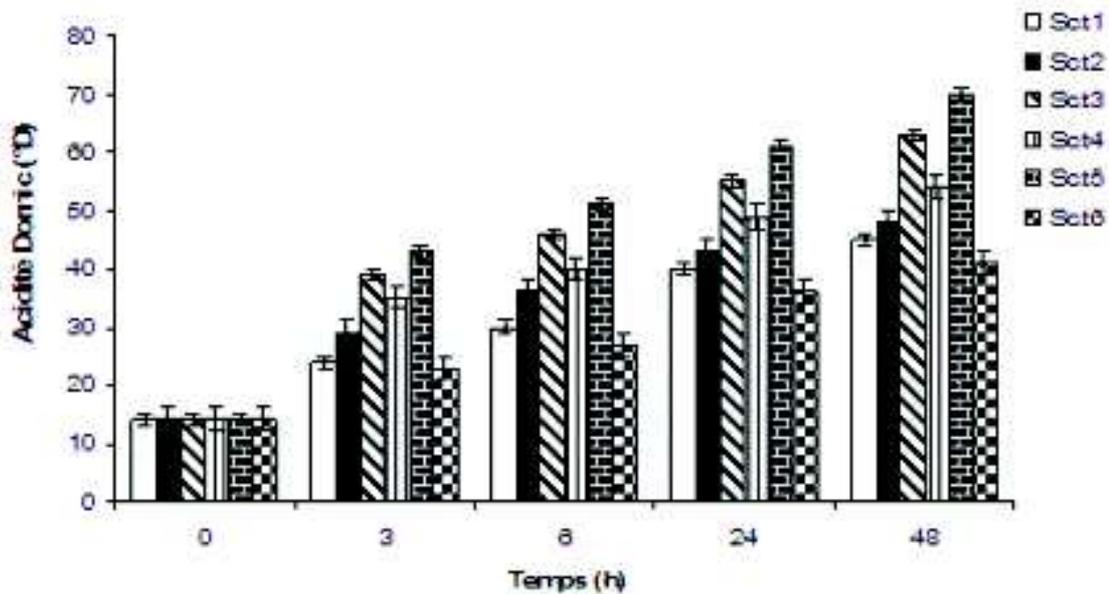
L'acidité du lait après plusieurs essais était de  $14 \pm 1^\circ\text{D}$  avant ensemencement.

### 2.2.2/ Pouvoir acidifiant en cultures pures

Le pouvoir acidifiant et le pouvoir de dégradation du lactose sont interdépendants, en fonction du temps l'acidité croît et le lactose décroît.

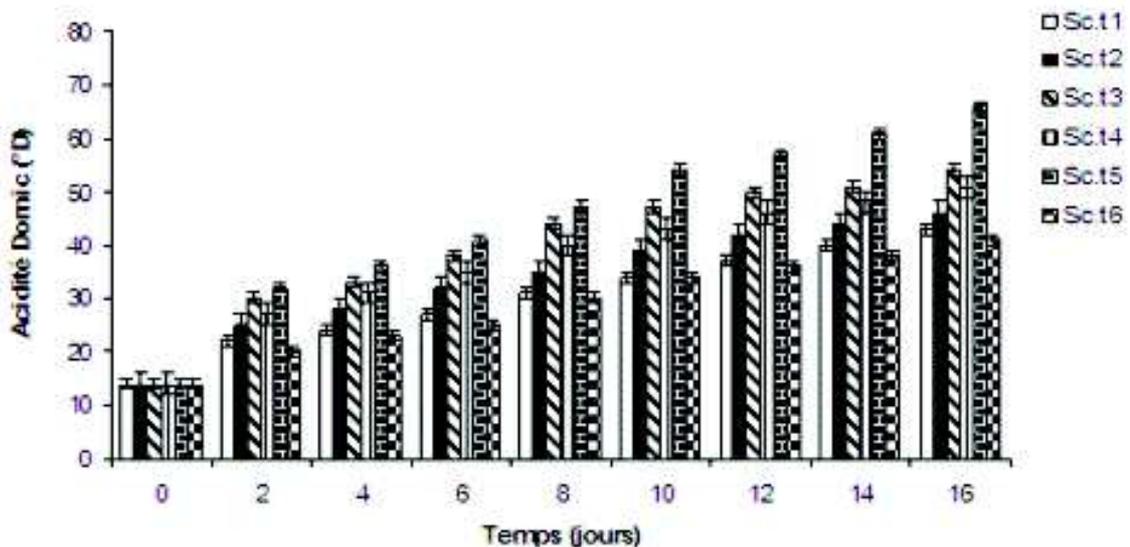
- Les streptocoques

Après 3h d'incubation à 37°C l'acidité a évolué pour atteindre les valeurs respectives de  $43 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Sc.t 5* et  $39 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Sc.t 3* (figure 21). Au-delà de 24 h l'acidité augmente progressivement pour arriver à  $61 \pm 2^\circ\text{D}$  pour *Sc.t 5* et  $55 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Sc.t 3* ; cependant elle reste relativement faible pour d'autres souches (*Sc.t 1*, *Sc.t 6*) dans les mêmes conditions.



**Figure 21:** Evolution de l'acidité Dornic à 37 °C des laitsensemencés avecles souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* en fonction du temps.

Après 48 h de stockage à 4 °C (figure 22), l'acidité reste relativement faible :  $30 \pm 1^\circ\text{D}$  pour Sc.t 3 et  $32 \pm 1^\circ\text{D}$  pour Sc.t 5 . L'acidité titrable augmente après 16 jours de stockage à 4 °C pour atteindre  $54 \pm 2^\circ\text{D}$  pour Sc.t 3 et  $66 \pm 1^\circ\text{D}$  pour Sc.t 5 .



**Figure 22:** Evolution de l'acidité Dornic à 4 °C des laitsensemencés avecles souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* en fonction du temps.

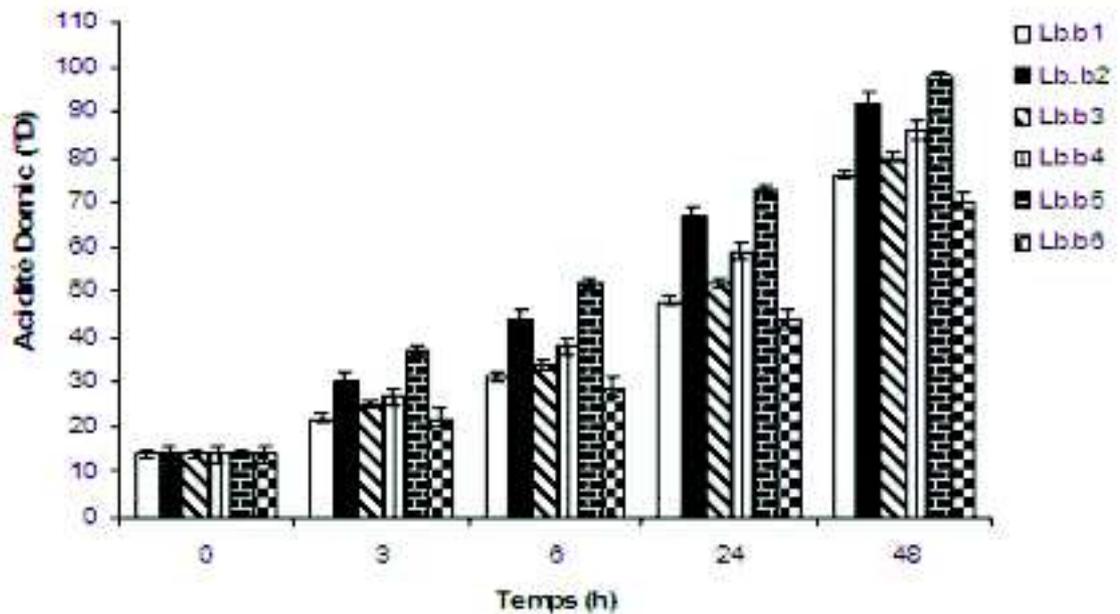
L'évolution lente de l'acidité en début de culture correspond à la période d'adaptation des bactéries aux nouvelles conditions de culture et d'utilisation de nutriments comme le confirme plusieurs auteurs ; notamment Alais (1975), Deroissart (1986) et Beal et al. (1994).

Il s'avère alors que selon le temps, la production d'acidité par les différentes souches est effectivement différente d'après Zourari et al. (1991). Par ailleurs et d'après l'étude réalisée en 2002 par la FAO, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* produit exclusivement de

l'acide lactique L (+) de façon rapide mais limitée. Son activité acidifiante se situe entre 25 et 50° D à 4 °C (Accolas, 1982). Elle produit généralement 0.5 - 0.6 % d'acide lactique avec un pH voisin de 5.2.

Les lactobacilles

Les données de la figure 23 montrent qu'après 3h d'incubation à 37 °C les souches *Lb.b* 1 et *Lb.b* 6 ne produisent que 22 °D ; par contre la souche *Lb.b* 5 produit 37 °D. La production d'acide lactique augmente très significativement ( $P < 0.01$ ) en fonction du temps pour atteindre après 24h d'incubation  $73 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Lb.b* 5 et  $44 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Lb.b* 6 .



**Figure 23 :** Evolution de l'acidité Dornic à 37 °C des laits ensemencés par les souches de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* .

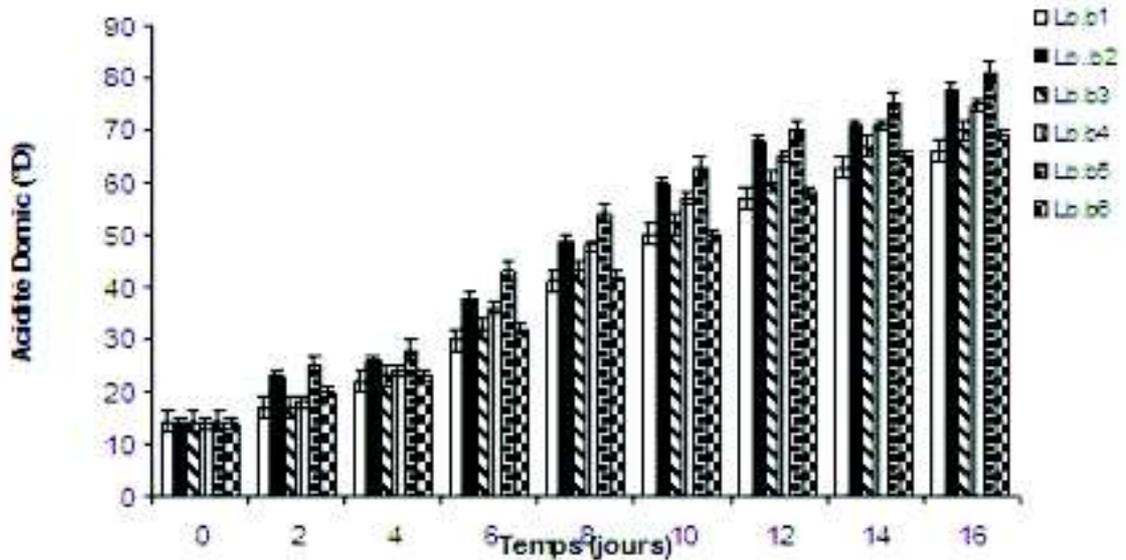
Les valeurs produites par les lactobacilles dans les premières heures d'incubation sont proches avec ceux des streptocoques sachant que les *Lactobacillus* sont doués d'un pouvoir acidifiant plus puissant que celui de *Streptococcus*, mais l'absence de ces derniers dans le milieu était un handicap pour le démarrage de l'activité des *Lactobacillus* parce qu'ils préparent le milieu en leurs rendant les éléments nutritionnels accessibles (Kandler et Weiss, 1986).

La température d'incubation choisie au cours de l'expérience (37 °C), peut être à l'origine de ce taux faible d'acidité. Cette valeur de température était utilisée dans plusieurs expérimentations (Boudier, 1985 ., Robinson, 1988 ., Amoroso et al., 1989 et Schmidt et al., 1994).

Par ailleurs dans les conditions de conservation (réfrigération à 4°C) la production d'acide lactique reste lente (figure 24). Après 48h elle atteint  $25 \pm 1^\circ\text{D}$  de pour *Lb.b* 5 et après 16 jours, dans les mêmes conditions, *Lb.b* 5 ne produit que  $81 \pm 1^\circ\text{D}$  et *Lb.b* 1  $66 \pm 1^\circ\text{D}$ . Ces faibles valeurs d'acidité produites par les deux souches suscitées sont profondément due à l'effet du froid qui ralentie la croissance et la production d'acide lactique. En effet, selon desmazeaud (1983) et leveau et al. (1991), l'évolution lente de l'acidité Dornic

au début correspond au temps nécessaire aux bactéries pour s'adapter aux nouvelles conditions.

Les cellules doivent synthétiser les enzymes indispensables à l'assimilation des constituants du nouveau milieu. La même confirmation est donnée par de roissart, (1986) et Guiraud, (1998).

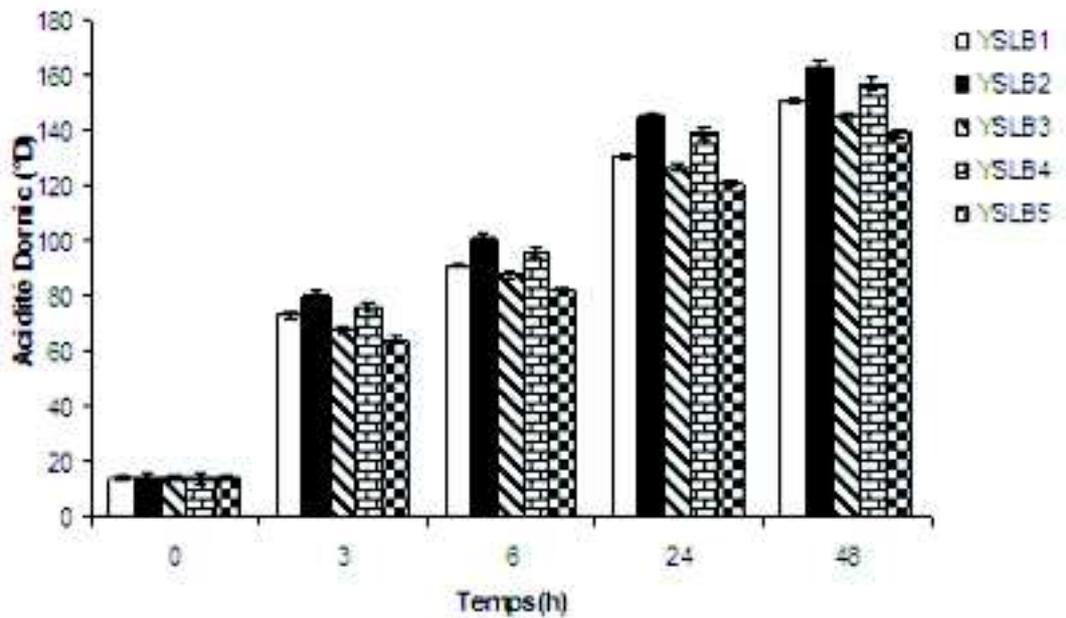


**Figure 24 :** Evolution de l'acidité Dornic à 4 °C des laits ensemencés par les souches de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*.

### 2.2.3/ Pouvoir acidifiant en Cultures mixtes

La production d'acide pour les cultures mixtes est très différente de celle des cultures pures. Les résultats de la figure 25 montrent que l'acidité Dornic produite, au bout de 6h d'incubation à 37 °C, est de 101 ±2 °D pour YSLB2 et de 96 ±1 °D pour YSLB4.

L'augmentation de l'acidité par les cultures mixtes est due à la mise en valeur de la croissance de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* qui bénéficie des facteurs de croissance (acides aminés libres peptides) produit par l'action protéolytique des lactobacilles (Amoroso et al., 1989., Picque et al., 1992 et Loones, 1994).



**Figure 25:** Evolution de l'acidité Dornic à 37 °C des yaourts locaux en fonction du temps.

Ainsi, un rapport initial favorable de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* permet de maximiser une acidité Dornic ainsi que la production d'acide de chacune des souches peut avoir une influence considérable sur l'allure de la courbe d'acidification (Beal et al., 1994).

D'une manière générale, l'acide lactique est le facteur de la régulation du ratio *Streptococcus / Lactobacillus*. L'acidité du milieu inhibe rapidement la croissance de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* alors que *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* est encore en phase exponentielle jusqu'à pH = 4.4 (Bottazi, 1978).

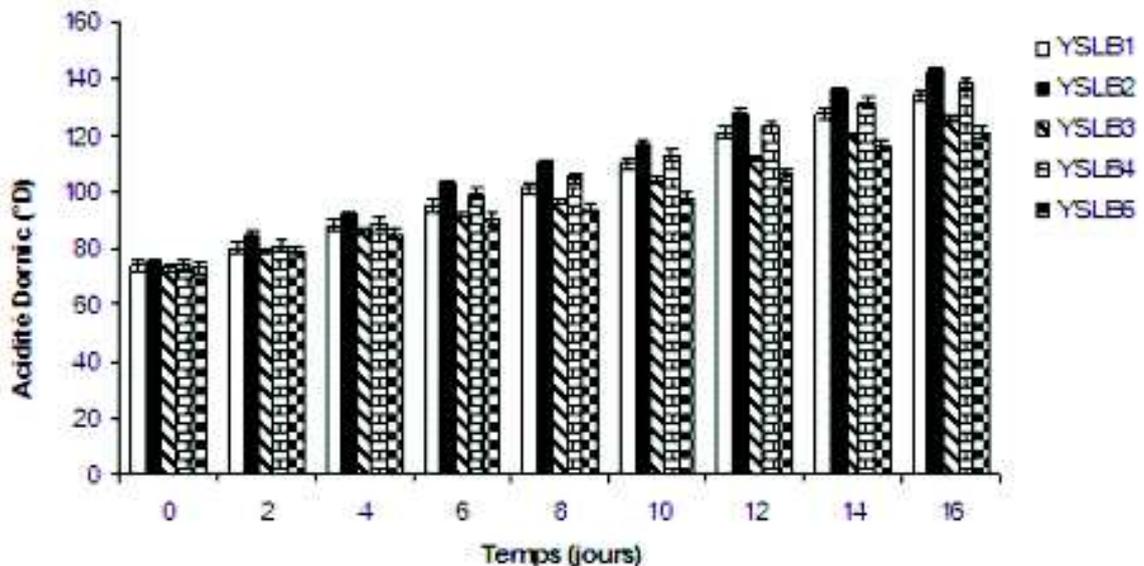
Pour toutes les cultures mixtes, le pouvoir acidifiant et le pouvoir de dégradation du lactose sont inversement proportionnelles, quand l'acidité augmente le taux du lactose diminue en fonction du temps. La même constatation est faite pour les cultures pures mais l'acidité reste plus faible que celles des cultures mixtes, pour toutes les souches aux mêmes intervalles de temps.

Le meilleur taux d'acidité Dornic est de  $80 \pm 1^\circ\text{D}$  et qui était produit par YSLB<sub>2</sub> au bout de 3h d'incubation à 37 °C ; alors qu'il était de  $43 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Sc.t*<sub>5</sub> et  $37 \pm 2^\circ\text{D}$  pour *Lb.b*<sub>5</sub> (souches pures qui composent YSLB<sub>2</sub>). Après 24h d'incubation à 37 °C la culture mixte produit une quantité d'acide lactique plus élevée soit  $145 \pm 1^\circ\text{D}$  pour le même yaourt, alors qu'elle est seulement de  $61^\circ \pm 2^\circ\text{D}$  pour *Sc.t*<sub>5</sub> et  $73 \pm 1^\circ\text{D}$  pour *Lb.b*<sub>5</sub>.

L'augmentation de l'acidité des cultures mixtes est due à la mise en valeur de la croissance de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* qui bénéficient des facteurs de croissance (acides aminés libres peptides) produit par l'action protéolytique des lactobacilles (Loones, 1994).

Lorsque les yaourts ont été conservé à 4 °C (figure 26), nous avons constaté une évolution très faible le l'acidité Dornic proportionnelle à la dégradation du lactose, comme cela a été déjà signalé et cela est due à l'effet du froid qui retarde l'activité des bactéries.

En effet, l'acidité produite par YSLB2, après 4 jours à 4°C, n'est que de  $92 \pm 1^\circ\text{D}$ . Cette acidité a évolué lentement pour atteindre  $117 \pm 1^\circ\text{D}$  après 10 jours et  $143 \pm 1^\circ\text{D}$  après 16 jours de conservation à 4 °C pour le même yaourt.



**Figure 26:** Evolution de l'acidité Dornic à 4 °C des yaourts locaux en fonction du temps.

## 2.3/ Viabilité des bactéries du yaourt local

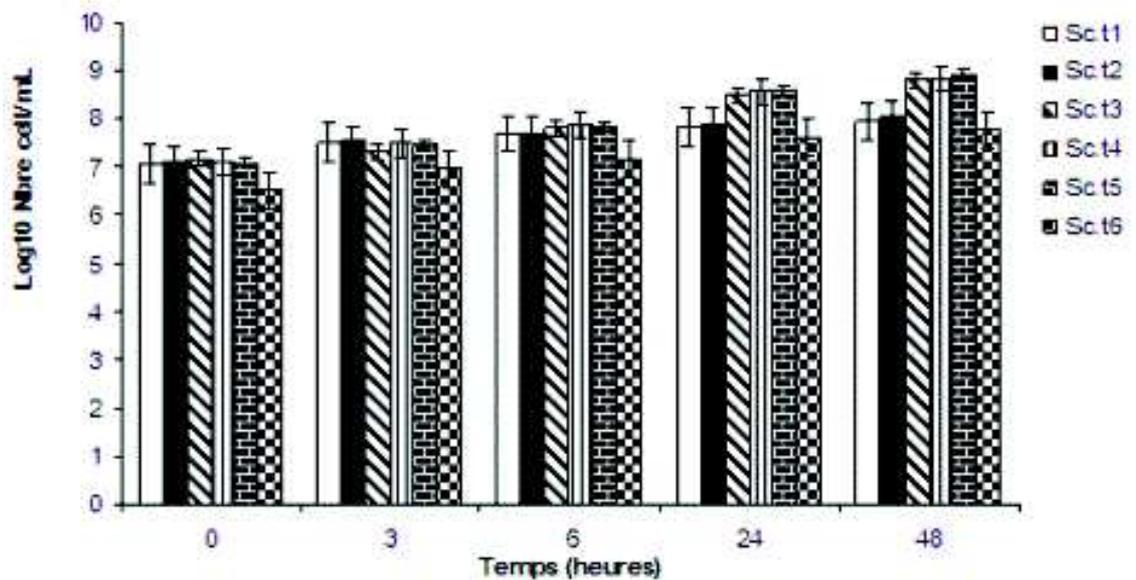
### 2.3.1/ Viabilité des bactéries en cultures pures

La viabilité des ferments lactiques est le facteur majeur pour évaluer la qualité nutritionnelle du yaourt. Il est donc important de savoir à quel moment de la vie du produit on se situe, pour pouvoir l'utiliser de façon judicieuse. Les aspects recherchés, et qui sont généralement l'aspect nutritionnel ou diététique, sont liés directement à la viabilité des ferments lactiques.

#### Les streptocoques

Parallèlement à l'acidité, nous avons réalisé un dénombrement des bactéries des laits fermentés préparés pour étudier la relation entre le nombre de bactéries viables et la quantité produite d'acide lactique. Cette dernière est proportionnelle à l'épuisement du lactose dans le milieu.

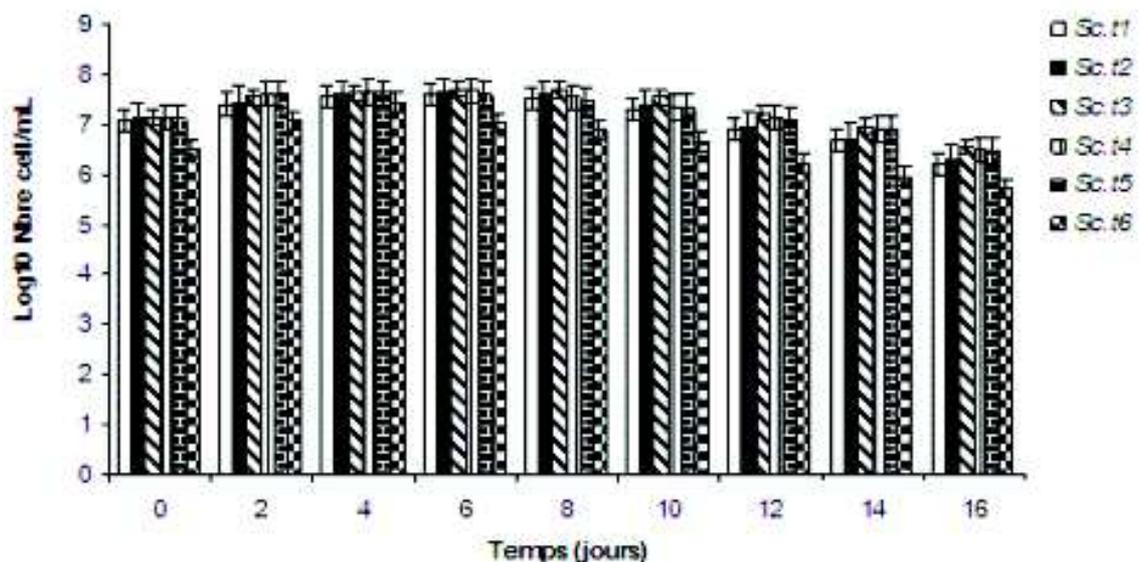
Les données de la figure 27, montrent que la croissance des streptocoques en cultures pures est notable, au bout de 6h d'incubation à 37 °C, elle atteint  $1.42 \times 10^7$  cellules /mL pour *Sc.t 6* ;  $7.11 \times 10^7$  cellules /mL pour *Sc.t 5* et  $7.80 \times 10^7$  cellules /mL pour *Sc.t 4* . Cette croissance continue à évoluer jusqu'à atteindre  $8.54 \times 10^8$  cellules /mL pour *Sc.t 5* et  $7.12 \times 10^8$  cellules /mL pour *Sc.t 4* , après 48 h d'incubation à 37 °C.



**Figure 27 :** Evolution de la croissance à 37 °C des souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* dans les laits fermentés en cultures pures en fonction du temps.

Par ailleurs, dans les conditions de conservation à température de réfrigération (4°C) et pendant 48 h, le nombre est de  $4.03 \times 10^7$  cellules/ mL pour *Sc.t 4* et  $3.93 \times 10^7$  cellules / mL pour *Sc.t 5*. Le nombre de bactéries vivantes reste presque stable jusqu'au 6<sup>ème</sup> jour et sous les mêmes conditions (figure 28).

Sous l'effet combiné du froid et de l'acidité, la concentration bactérienne subit une nette diminution après le 10<sup>ème</sup> jour, pour atteindre  $5.22 \times 10^5$  cellules /mL pour *Sc.t 6* et  $1.63 \times 10^6$  cellules /mL pour *Sc.t 1* aux 16<sup>ème</sup> jours de conservation à 4 °C.



**Figure 28 :** Evolution de la croissance à 4 °C des souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* dans les laits fermentés en cultures pures en fonction du temps.

L'abaissement du nombre de bactéries vivantes à 4 °C peut être dû au taux d'acide lactique produit car les *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* sont très sensibles au bas pH. La température et la durée d'incubation peuvent également exercer un effet inhibiteur sur la croissance des souches ce qui confirme les résultats d'Accolas (1979).

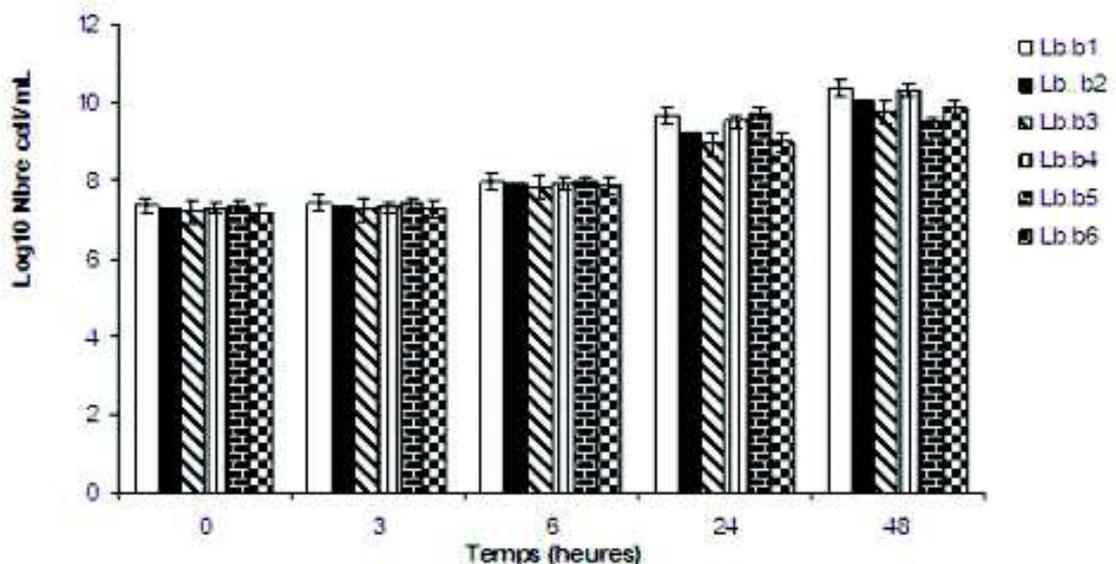
L'épuisement du milieu en certains substrats tel que le lactose diminue le nombre de bactéries vivantes après 15 jours de stockage à 4 °C (Deroissart et Luquet, 1994). D'après Brink et Koning (1982), le froid et les bas pH inhibent partiellement la croissance de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*.

Les lactobacilles

Les résultats portés sur la figure 29 montrent que le nombre de souches de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* est faible par rapport à celui des souches de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* au cours des 3 premières heures d'incubation à 37 °C. Il est de  $2.63 \times 10^7$  cellules /mL pour *Lb.b 1* et  $2.03 \times 10^7$  cellules /mL pour *Lb.b 2*.

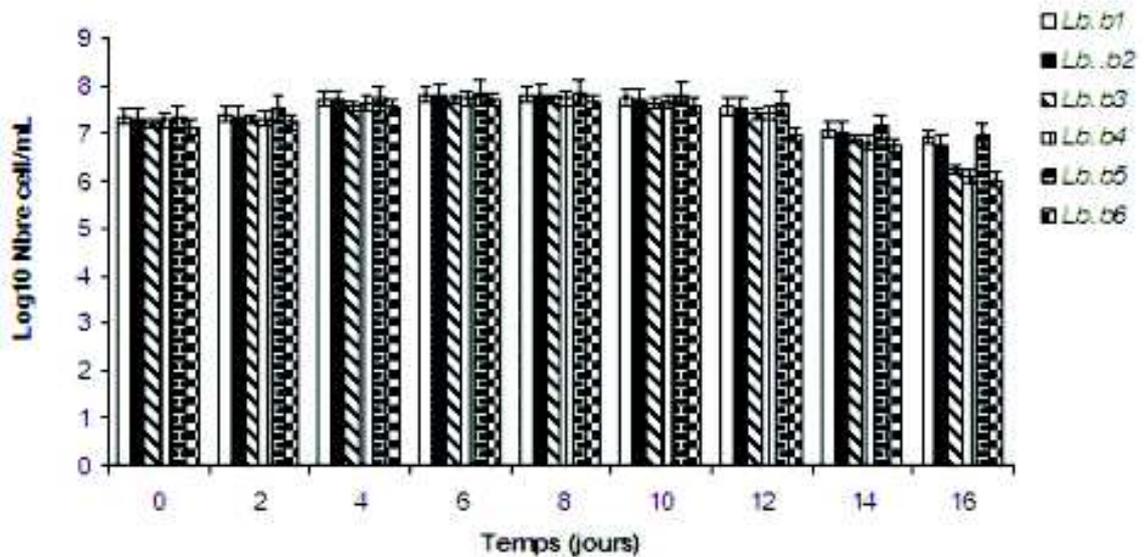
La croissance des bactéries utilisées évolue positivement au cours du temps pour atteindre  $2.33 \times 10^{10}$  cellules de *Lb.b 1* par mL et  $1.1 \times 10^{10}$  cellules de *Lb.b 2* par mL après 48 h d'incubation à 37 °C.

Ce résultat envisage que ces bactéries peuvent se multiplier dans le corps humain, à une température de 37 °C et confirment ainsi les résultats trouvés par Drouault et al. (2002).



**Figure 29 :** Evolution de la croissance des souches de la *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* à 37°C dans les laits fermentés en cultures pures en fonction du temps.

Comme pour les streptocoques, la croissance de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* reste relativement faible au cours de la conservation à 4 °C et pendant les 4 premiers jours (figure 30).



**Figure 30 :** Evolution de la croissance des souches de la *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* à 4 °C dans les laits fermentés en cultures pures en fonction du temps.

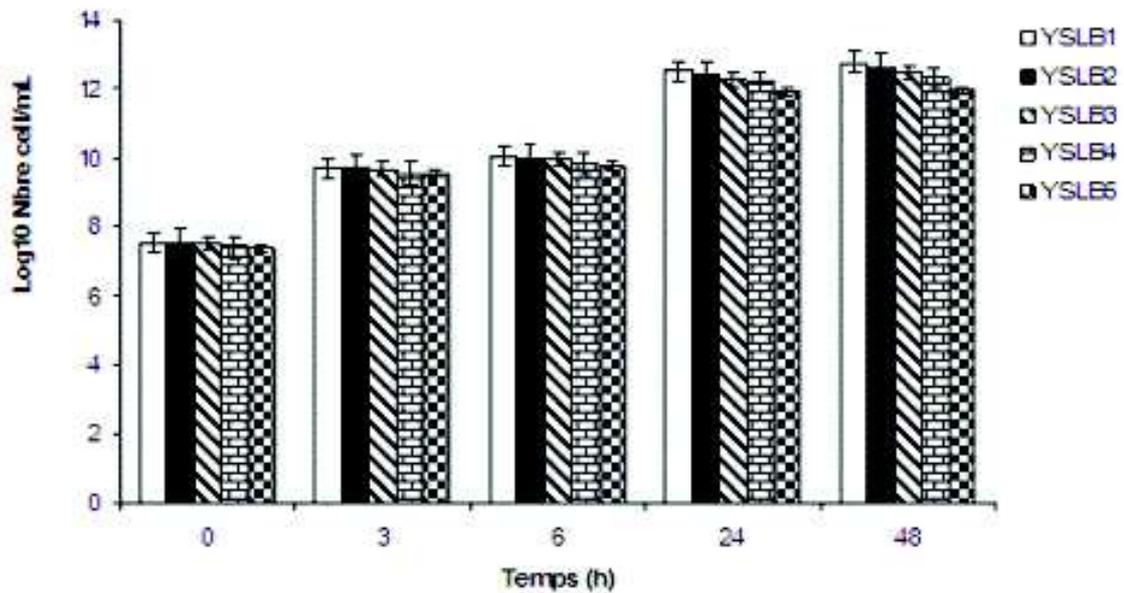
Au-delà et partir du 8<sup>ème</sup> jour, et à 4°C, nous assistons à une diminution très importante du nombre des bactéries qui atteint moins de  $10^7$  cellules par mL pour toutes les souches utilisées. La diminution du nombre de bactéries est sûrement due à l'appauvrissement du milieu en nutriments essentiels ainsi qu'à l'accumulation de l'acide lactique qui devient toxique. Cette conclusion partage celle de Doleyres (2003).

Les résultats trouvés sont en concordance avec les travaux antérieurs qui montrent que ces faibles quantités, au début de croissance, correspondent à une phase de latence nécessaire au lactobacilles pour s'adapter aux nouvelles conditions de culture, puis il y a la phase transitoire qui correspond à l'établissement du métabolisme actif des cellules de *Lactobacillus* (Deroissart et Luquet, 1994), et enfin, la diminution de la croissance correspond essentiellement au manque de lactose dans le milieu (Brink et al., 1985).

### 2.3.2/ Viabilité des bactéries en cultures mixtes

La Viabilité des ferments en cultures mixtes, des différents yaourts semble très importante en fonction du temps et à 37 °C (figure 31).

Le nombre de cellules vivantes atteint  $5.24 \times 10^9$  par mL après 3h d'incubation et passe à  $1.20 \times 10^{10}$  cellules/mL après 6h à la même température pour YSLB1. Ce nombre continu à augmenter, pour toutes les souches pour atteindre des concentrations supérieures à  $10^{11}$  cellules/mL après 24 h à 37°C.



**Figure 31** : Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à 37°C en cultures mixtes (*Sc.t*  $\times$  + *Lb.b*  $\gamma$ ) en fonction du temps (yaourts).

La croissance des ferments, en cultures mixtes, des différents yaourts s'est montrée très importante, et nettement améliorée sous l'effet de la symbiose. Ce résultat est conforme aux travaux antérieurs qui confirment que la coculture a un effet positif pour l'amélioration de la croissance.

Pendant la première phase, la croissance de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* est plus importante que celle des autres bactéries, *Streptococcus* bénéficie des facteurs de croissance provenant du traitement thermique du lait et ceux produit par l'action protéolytique de *Lactobacillus*. Pendant la deuxième phase, en situation inverse, *Lactobacillus* se développe plus en utilisant les composés stimulants produits par *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*.

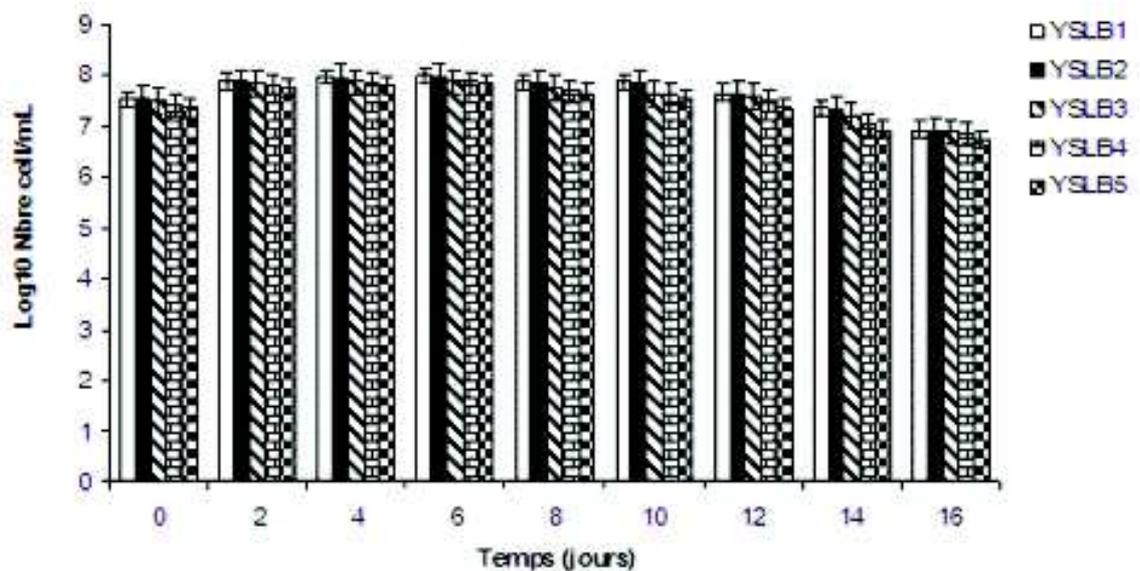
Les cinétiques de croissance des cultures mixtes des bactéries lactiques thermophiles présentent des caractères spécifiques essentiellement liés à la production d'un métabolite inhibiteur qui est l'acide lactique. Un certain nombre de ces caractères peut être expliqué par les connaissances acquises sur la physiologie et le métabolisme des bactéries (Deroissart et Luquet, 1994).

L'étude de phénomène de protocoopération était mise en évidence par les travaux de Beal (1994) qui devise la croissance des *Streptococcus* et *Lactobacillus* en 4 phases.

- phase de latence;
- phase de croissance privilégiée de *Sc.t* qui atteint 95 % de la population totale;
- phase de croissance privilégiée de *Lb.b* qui ramène le pourcentage de *Streptococcus* à 85%;
- phase stationnaire

Pendant la conservation à 4 °C, le nombre de cellules vivantes, des différents ferments en cultures mixtes diminue pour atteindre des taux bactérien inférieurs à  $10^8$  cellules/mL (figure 32), mais le nombre de cellules/mL reste supérieurs, pour toutes les cultures mixtes, à  $10^7$ ,

donc ces différents yaourts peuvent être utilisés comme probiotiques jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour après leur fabrication ce qui est en accord avec les travaux de Dacosta (2001).



**Figure 32:** Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à 4°C en cultures mixtes (*Sc.t* <sub>x</sub> + *Lb.b* <sub>y</sub>) en fonction du temps (yaourts).

Ces résultats sont en concordance avec ceux de Loones (1989) et de Lacroix et Lachance (1990) qui affirment que la multiplication bactérienne est très rapide et que la durée de vie d'un yaourt est aux alentours de 3 semaines à 6 °C car au-delà de cette durée, il y a prolifération des levures et moisissures.

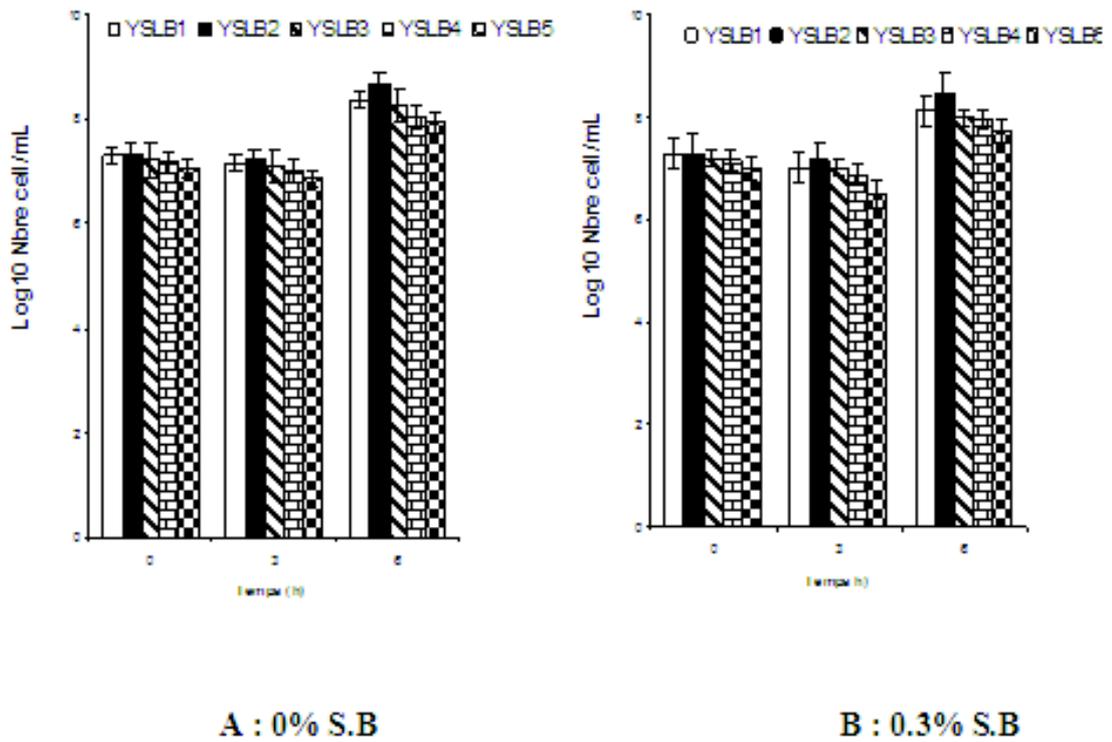
### 3/ Survie des bactéries du yaourt dans des conditions extrêmes simulées du tube digestif

Les ferments locaux du yaourt en cultures isolées ou en associations montrent une variation importante à pousser dans des milieux synthétiques acidifiés en présence et en absence de sels biliaires. Le même résultat était trouvé avec les ferments importés (Dilmi Bouras, 2002).

Les cinq cultures mixtes YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub>, YSLB<sub>3</sub>, YSLB<sub>4</sub> et YSLB<sub>5</sub> ayant données les meilleurs taux de dégradation de lactose ont été exposés à des conditions extrêmes du tube digestif (pH bas et concentration en sels biliaires élevée).

La croissance enregistrée par les différentes cultures est satisfaisante et après 3 h d'incubation, en absence de sels biliaires à pH 2.5, YSLB<sub>2</sub> atteint  $1.65 \times 10^7$  cellules / mL et YSLB<sub>1</sub>  $1.41 \times 10^7$  cellules / mL. Cette croissance s'améliore pour toutes les cultures mixtes et atteint à titre d'exemple  $4.57 \times 10^8$  cellules / mL pour YSLB<sub>2</sub>, après 6 h d'incubation, (figure 33A).

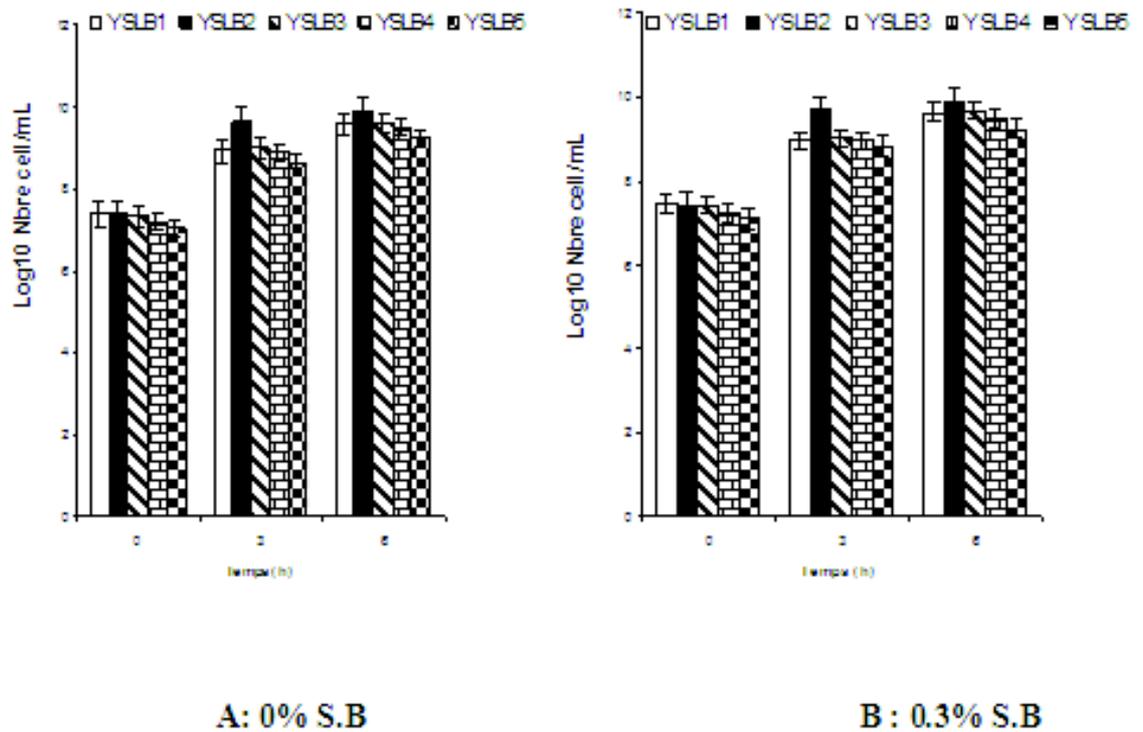
Les résultats sont presque identiques lorsque 0.3 % de sels biliaires est ajoutée au milieu de pH 2.5 (figure 33B).



**Figure 33:** Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à pH 2.5.

Une meilleure croissance est enregistrée lorsque le pH est moyennement acide (4.5) et les concentrations bactériennes augmentent en fonction du temps pour atteindre  $8.03 \times 10^9$  cellules/mL pour YSLB<sub>2</sub> et  $4.47 \times 10^9$  cellules/mL pour YSLB<sub>3</sub> après 6h d'incubation en absence de sels biliaires (figure 34A).

Les concentrations bactériennes restent très élevées et presque identiques lorsque 0.3 % de sels biliaires est ajoutée au milieu de pH 4.5(figure 34B).

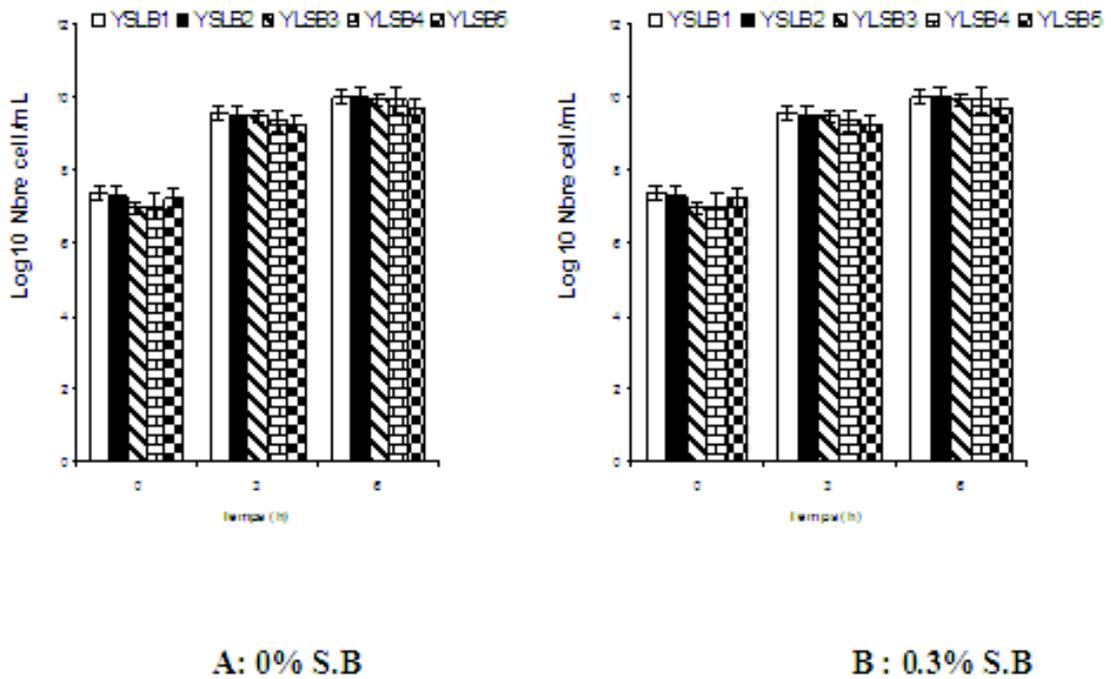


**Figure 34:** Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à pH 4.5

A pH 6.5, et en absence de sels biliaries, les ferments des 5 yaourts ont montré les meilleurs taux de croissance, vu que c'est le pH des milieux de cultures des bactéries.

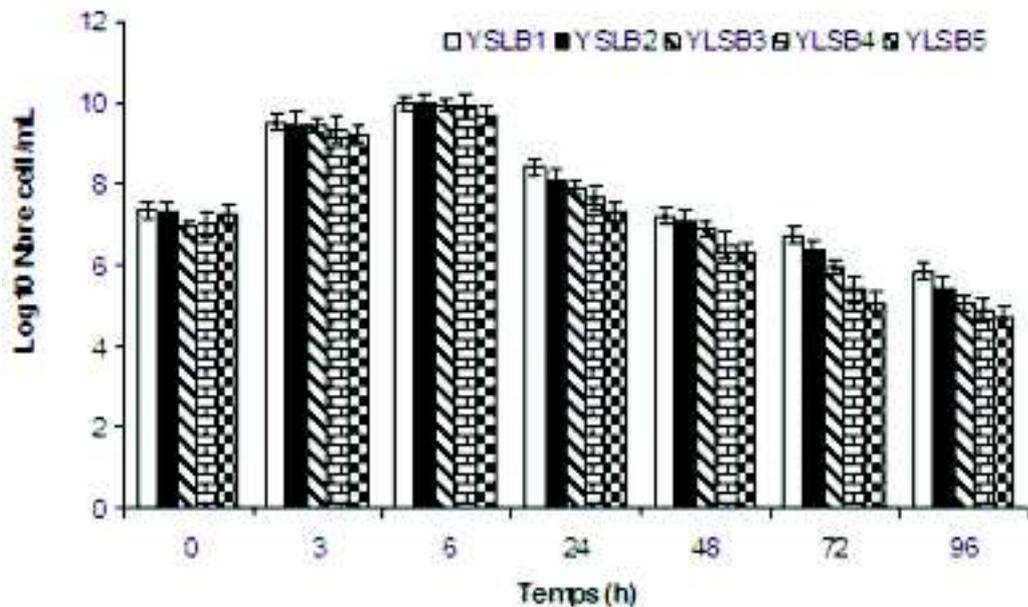
Après 6h d'incubation le YSLB<sub>1</sub> contient  $1.23 \times 10^{10}$ , le YSLB<sub>2</sub>  $9.83 \times 10^9$  et le YSLB<sub>3</sub>  $9.69 \times 10^9$  cellules / mL (figure 35 A).

Lorsque 0.3 % de sels biliaries sont ajoutées, la croissance bactérienne des 5 yaourts demeure importante surtout pour YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub> et YSLB<sub>3</sub> ou elle atteint des valeurs respectives de  $9.81 \times 10^9$  ;  $9.52 \times 10^9$  et  $8.92 \times 10^9$  cellules / mL après 6h d'incubation (figure 35 B) .



**Figure 35:** Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à pH 6.5.

De même, lorsqu'un inoculum de la flore intestinale est ajouté au milieu de culture de pH 6.5 et contenant 0,3 % de sels biliaires, (conditions qui règne dans le gros intestin), le nombre de bactéries dans les 5 yaourts locaux demeure important, supérieur à  $10^7$  cellules / mL, jusqu'à 24 h d'incubation (figure 36).



**Figure 36 :** Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à pH 6.5 en présence de 0.3 % de sels biliaires et de flore intestinale.

Les résultats trouvés semblent intéressants et hautement significatifs ( $P < 0.05$ ) et permettent ainsi de dire que les souches de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* des 5 yaourts utilisés et surtout YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub> et YSLB<sub>3</sub> (*Sc.t* 3 + *Lb.b* 2; *Sc.t* 5 + *Lb.b* 5 et *Sc.t* 4 + *Lb.b* 4) sont peu sensibles à pH très bas (2.5). Leur croissance est importante à 4.5 et 6.5 et résistent bien à la concentration élevée de sels biliaires durant les 6 heures d'incubation correspondante à la durée du transit intestinale, ainsi qu'elles demeurent vivantes en présence de la flore intestinale.

Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Dilmi Bouras (2002), qui montre que des souches de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*, importées en association, survivent à l'action inhibitrice des sels biliaires et résistent bien à l'acidité gastrique notamment à des pH bas ainsi qu'elle coexistent avec les bactéries de la flore intestinale. Cette résistance est due d'après Jin *et al.* (1998) à l'effet tampon du yaourt qui aide les deux ferments à résister au pH bas.

## PARTIE 3: ETUDE *IN VIVO*

### 1/ Survie des ferments lactiques dans le tube digestif du lapin

---

Les ferments du yaourt sont des micro-organismes étrangers aux sujets qui les ingèrent, ils ont une importance stratégique en nutrition humaine parce qu'ils jouent des rôles très importants sur la physiologie de l'hôte qui l'abrite. Pour que les ferments du yaourt puissent avoir des rôles bénéfiques sur la santé humaine, il faut qu'ils gardent une certaine viabilité, voire une activité lors du transit intestinal (Desmazeaud, 1996). Les recherches réalisées jusqu'à présent suggèrent que ces ferments vivants, que l'on peut qualifier de probiotiques puissent, durant leur temps de transit et étant donné leur nombre, exercer des actions dans l'intestin grêle (Ducluzeau, 1993., Moreau *et al.*, 1994).

Dans cette étude, compte tenu des résultats de l'analyse *in vitro*, l'utilisation des lapins recevant en continu dans leur alimentation habituelle les trois meilleurs yaourts YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub> et YSLB<sub>3</sub> résultant du criblage, à raison d'un yaourt différent pour chaque lot, va permettre de suivre, *in vivo*, l'effet de barrières physiologiques (acide gastrique, sels biliaires et flore intestinale) sur le développement de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*. Lorsque ces deux ferments sont ingérés dans le yaourt, ce dernier exerce un effet tampon qui améliore leur survie. Des numérations des ferments des trois yaourts, ont été réalisées quotidiennement à partir du jus gastrique, du liquide duodénal et du colon (évalué dans les fèces), pendant la période d'ingestion des yaourts et après arrêt de la supplémentation de ce dernier dans le régime alimentaire du lapin.

#### 1.1/ Evolution des bactéries dans l'estomac

Avant l'administration des yaourts aux lapins (lot témoin), le dénombrement sur boîte de pétri n'a révélé la présence ni de *Sc. thermophilus* ni de *Lb. bulgaricus*, vu que ces derniers ne font pas partie du régime alimentaire du lapin.

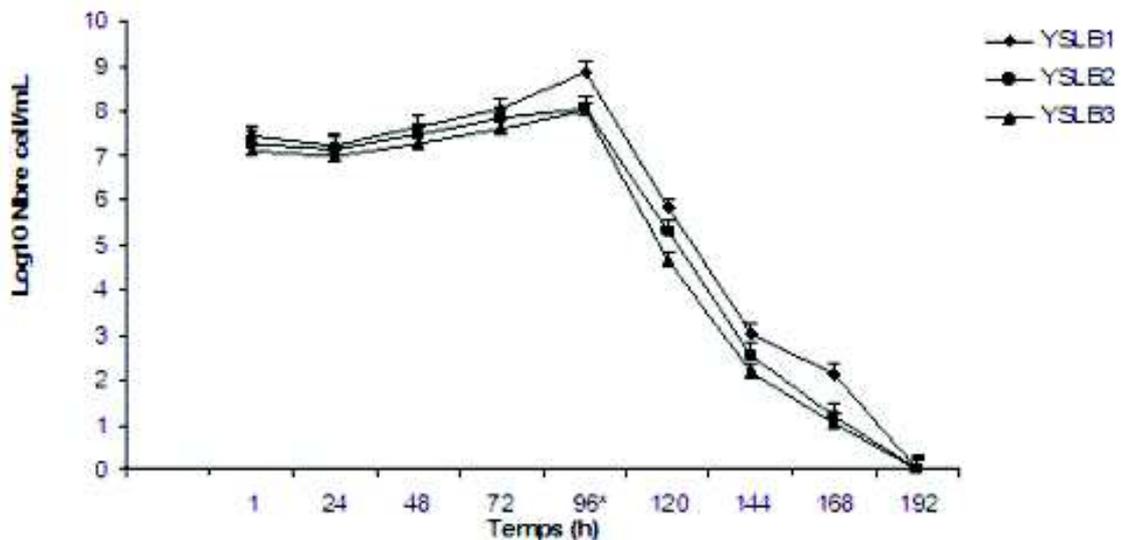
D'après la figure 37, une heure après l'administration des yaourts aux lapins, le nombre de cellules par millilitre de bactéries est très élevé et presque identique au nombre initialement présent dans les yaourts, il arrive à  $2.75 \times 10^7$  cellules/ mL pour

YSLB1,  $1.90 \times 10^7$  cellules/ mL pour YSLB2 et  $1.31 \times 10^7$  cellules/ mL pour YSLB3. Ces concentrations restent importantes, supérieures à  $10^7$  cellules/mL, pendant toute la période de supplémentation en yaourts (96 heures). Après arrêt de l'administration des yaourts, le nombre de bactéries diminue rapidement pour atteindre,  $1.04 \times 10^3$ ,  $3.32 \times 10^2$  et  $1.47 \times 10^2$  cellules/ mL respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 après 144 heures et puis tend à s'annuler 72 heures après arrêt de la supplémentation en yaourts locaux (192 heures du début de l'expérimentation).

La régression du nombre de bactéries très hautement significative ( $P < 0.01$ ), après arrêt de l'ingestion des différentes bactéries des trois yaourts, est due au passage de ces bactéries dans l'intestin.

Par ailleurs l'acidité très élevée du milieu gastrique ( $\text{pH} \leq 2$ ), en absence de l'effet tampon du yaourt est préjudiciable au séjour des deux ferments dans l'estomac. Mais en présence du yaourt, le degré d'acidité modéré ( $\text{pH} > 3$ ) et la présence d'oxygène devraient favoriser les anaérobies facultatifs acidotolérants tels que les Lactobacilles et

LesStreptocoques.



**Figure 37:** Numération des ferments locaux dans l'estomac du lapin pendant et après arrêt de la supplémentation (96 heures) de la consommation des yaourts YSLB1, YSLB2 et YSLB3 (\*arrêt de la supplémentation).

En effet, certains travaux (Bouhnik et al., 1993) Dilmi Bouras et Sadoun, 2002a., Dilmi Bouras et al., 2007), allant dans le même sens, apportent des arguments majeurs sur les possibilités de passage de certaines souches de ferments du yaourt à travers l'estomac de l'homme et de l'animal. Les études de Bianchi-Salvadori et al.(1978) et d' Hargrove et Alford (1978) ont permis de détecter, 2 à 3 heures après ingestion du yaourt, une élévation transitoire du nombre de bactéries vivantes dans l'estomac de l'homme. Ces travaux sont corroborés par l'étude de Piaia (1991) qui a trouvé  $10^9$  bactéries vivantes dans l'estomac après l'ingestion de 100 grammes de yaourt. De même, Ouwehand (1998) montre que la survie de *Sc. thermophilus* est possible et la durée de l'excrétion de cellules vivantes dans les fèces est de 5 à 10 jours, alors que *Lb. bulgaricus*, malgré sa tolérance au pH bas de l'estomac, présente de fortes variations selon les souches.

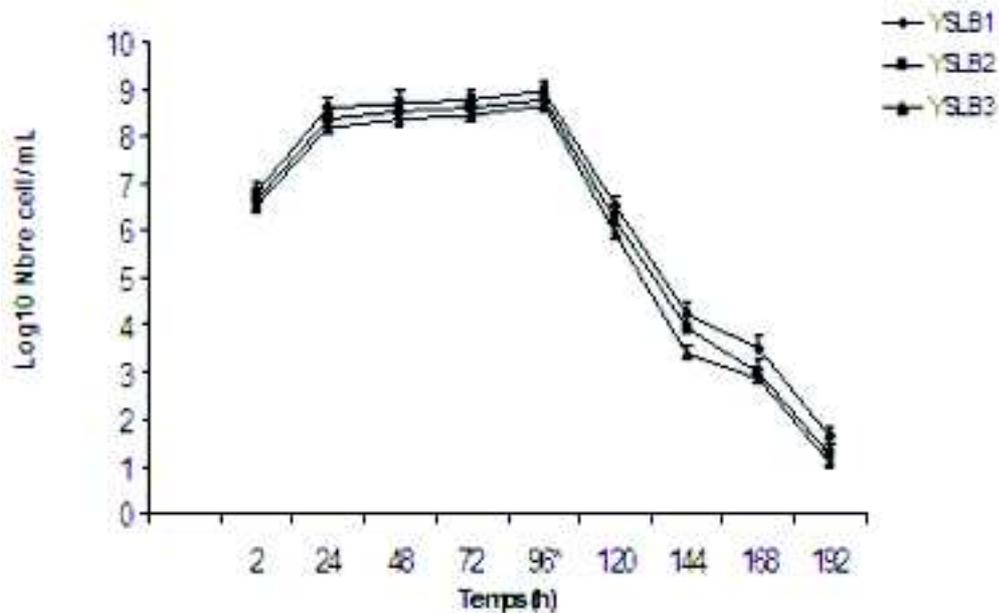
Néanmoins, d'autres auteurs ont montré la faible capacité de résistance à l'acidité gastrique et les besoins très sélectifs en sucres de certaines souches de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* (Vermier et al., 1993., Aktypis et al., 1998). De plus Jin et al. (1998) montrent que généralement les souches de Lactobacilles ont une faible résistance à pH 1.0 et pH 2.0 et une résistance modéré à pH 3.1.

Toutefois, il est maintenant établi que dans certaines conditions (effet tampon du yaourt ou de l'alimentation en général) *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* en association peuvent passer la barrière de l'estomac avec des concentrations importantes (supérieures à  $10^8$  cellules/mL) pour atteindre le tractus gastro-intestinal (Dilmi Bouras, 2002., Dilmi Bouras et Sadoun, 2002a). Ces résultats confirment l'hypothèse de Saloff-Coste (1995) qui suppose, que *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* pouvaient survivre au transit stomacal, surtout lorsqu'ils étaient ingérés avec la nourriture ou des produits laitiers, qui font remonter le pH à 3.0 et plus.

### 1.2/ Evolution des bactéries dans le duodénum

Le duodénum constitue, par la présence d'enzymes et surtout d'acides biliaires, la deuxième barrière physiologique du tube digestif. Avant l'administration des trois yaourts aux lapins (essai témoin), le dénombrement sur boîte de pétri n'a révélé la présence ni de *Sc. thermophilus* ni de *Lb. bulgaricus*. 2 heures après l'administration des yaourts aux lapins, les ferments arrivent au niveau du duodénum, mais à des concentrations inférieures à celles qui étaient présentes au niveau de l'estomac.

Toutefois, ces ferments se retrouvent vivants dans le duodénum à des concentrations non négligeables, de l'ordre de  $6.45 \times 10^6$  ;  $4.16 \times 10^6$  et  $3.16 \times 10^6$  cellules/mL respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 après 2 heures de l'ingestion des yaourts locaux (figure 38). Par la suite, ces concentrations augmentent rapidement pour atteindre  $3.98 \times 10^8$  ;  $2.13 \times 10^8$  et  $1.41 \times 10^8$  ; respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 après 24 heures de l'ingestion des yaourts locaux. Ces concentrations restent importantes (supérieures à  $10^7$  cellules/mL) pendant toute la période de supplémentation en yaourts.



**Figure 38 :** Numération des ferments locaux dans le **duodénum** du lapin pendant et après arrêt de la supplémentation (96 heures) de la consommation des yaourts YSLB1, YSLB2 et YSLB3 (\*arrêt de la supplémentation).

Après l'arrêt de l'ingestion des bactéries des différents yaourts, leur nombre diminuent rapidement pour atteindre  $3.23 \times 10^3$  ;  $9.54 \times 10^2$  et  $6.76 \times 10^2$  cellules/mL respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 après 168 heures de l'ingestion des yaourts locaux. Ce nombre tend à disparaître 96 heures après l'arrêt de l'ingestion des bactéries. Les résultats semblent très intéressants et hautement significatifs ( $P < 0.05$ ), car les ferments ont pu survivre, avec des taux acceptables (supérieures à  $10^7$  cellules/mL), au niveau du duodénum pendant toute la période de l'ingestion des bactéries des différents yaourts et même pendant quelques heures après l'arrêt de l'ingestion de ces derniers, malgré la présence d'une concentration relativement élevée de sels biliaires et l'action du péristaltisme intestinal qui fait avancer les bactéries et les empêche de proliférer dans cette région.

Ces résultats confirment les conclusions du travail *in vitro* où nous avons prouvé que souches de *Sc. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* en association résistent et se multiplient presque normalement à une concentration de 0.3 % de sels biliaires.

Chez la souris, Pacini et al. (1979) montrent que *Lb. bulgaricus* survit au passage intestinal. De même, Pochart et al. (1989) ; Bouhnik et al. (1993) trouvent qu'après ingestion du yaourt, les ferments vivants atteignent des concentrations duodénales supérieures à  $10^5$  cellules/mL. Alors que, Rasic et Kurmann (1978) ont montré que *Lb. bulgaricus* ne survit pas au transit dans l'intestin grêle. De même, Marteau et Rambault (1998) trouvent que les membranes des bactéries lactiques sont facilement lysées par les sels biliaires au niveau du duodénum. Ces bactéries exogènes sont maintenues en bactériostase et sont ensuite passivement éliminées par péristaltisme intestinal (Ducluzeau, 1997). Ainsi, cet effet mécanique de l'intestin contribue à maintenir les microorganismes exogènes à des concentrations faibles dans la partie proximale de l'intestin (Thomson et al., 2000).

Cette différence dans les résultats est peut être due aux différents souches de bactéries utilisées, au modèle expérimental utilisé, ou à la variation des concentrations de cellules vivantes prises dans les trois yaourts locaux.

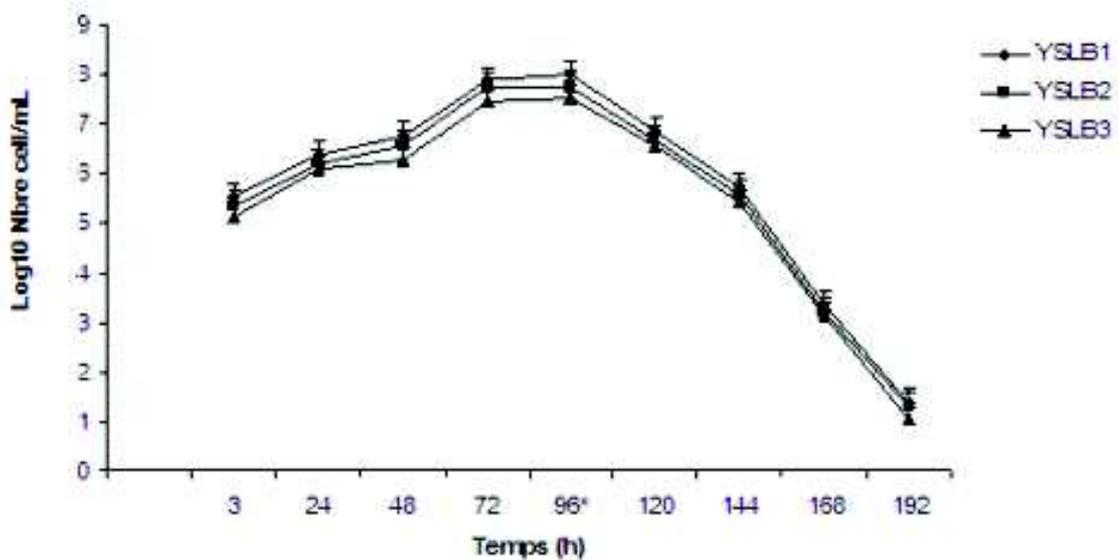
### 1.3/ Evolution des bactéries dans le gros intestin estimée dans les fèces

Avant l'administration des trois yaourts aux lapins (essai témoin), le dénombrement sur boîte de pétri n'a révélé la présence ni de *Sc. thermophilus* ni de *Lb. bulgaricus*, mais présentait quelques colonies d'espèces bactériennes différentes ne dépassant pas  $10^2$  cellules/g de fèces.

Par contre, après ingestion des yaourts, les dénombrements montrent une diminution de ce nombre et une augmentation de celui des bactéries lactiques locales. Ces résultats expliquent clairement la sensibilité des bactéries de la flore intestinale à l'oxygène et à d'autres facteurs produits par *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*, mais ne reflète pas le nombre réel de ces bactéries dans le tube digestif qui est un milieu anaérobie strict (Fooks et al., 1999).

Cette flore autochtone, présente en permanence dans le tube digestif, s'oppose normalement à l'établissement de tout inoculum bactérien ingéré par l'hôte. Par ailleurs, 3 heures après ingestion des yaourts par les lapins le nombre des bactéries atteint  $3.16 \times 10^5$ ,  $2.29 \times 10^5$  et  $1.31 \times 10^5$  cellules/g de fèces respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 (figure 39). Ce nombre augmente progressivement pour atteindre  $7.76 \times 10^7$ ,  $5.37 \times 10^7$  et  $2.88 \times 10^7$  cellules/g de fèces respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3 au bout de 72 heures.

Les concentrations des deux ferments dans chaque yaourt restent importantes (près de  $10^7$  cellules/g de fèces) et relativement stables tant que les lapins consomment les yaourts. 24 heures après l'arrêt de la consommation des trois yaourts par les lapins, les concentrations de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* restent à des niveaux acceptables au niveau du gros intestin. Néanmoins, leur nombre diminue de manière significative ( $P < 0.05$ ) pour atteindre près de  $5.24 \times 10^5$ ,  $3.71 \times 10^5$  et  $2.63 \times 10^5$  cellules/g de fèces respectivement pour YSLB1, YSLB2 et YSLB3, 48 heures après arrêt de la supplémentation et tend à disparaître après 96 heures.



**Figure 39 :** Numération des ferments locaux dans le **gros intestin** du lapin pendant et après arrêt de la supplémentation (96 heures) de la consommation des yaourts YSLB1, YSLB2 et YSLB3 (\*arrêt de la supplémentation).

L'ensemble des résultats trouvés montrent que 24 heures après arrêt de l'ingestion des yaourts, *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* restent à des concentrations plus importantes au niveau du gros intestin ( $10^6$  cellules/g de fèces) et du duodénum ( $10^6$  cellules/mL) qu'au niveau de l'estomac ( $10^5$  cellules/mL). Ceci explique la sensibilité des deux bactéries aux bas pH et à l'action du péristaltisme intestinal.

En fait, certaines études confirment l'implantation des deux ferments dans l'intestin, mais avec une élimination fécale plus rapide de *Lb. bulgaricus* (Besnier et al., 1983., Moreau, 2001). Alors que d'autres ne détectent aucune présence de ces bactéries dans les selles après ingestion du yaourt (Bouhnik, 1993., Bouhnik et al., 1993). Toujours d'après le même auteur (Bouhnik, 2000), les bactéries lactiques restent vivantes pendant leur passage à travers le tractus gastro-intestinal. Elles sont cependant rapidement éliminées de l'organisme après arrêt de leur administration et ne sont donc susceptibles d'exercer un effet physiologique que pendant leur transit intestinal. Les bactéries de la flore intestinale seraient en partie responsables de cette élimination en produisant des bactériocines, pour inhiber la croissance de ces germes étrangers au milieu (Thomson et al., 2000).

Si certains travaux montrent un passage dans le tractus digestif de germes vivants du yaourt, aucun n'a pu montrer d'implantation durable de cette flore dans l'intestin de l'homme ou d'animaux holoxéniques.

## 2/ Evaluation de l'activité lactasique du lapin

### 2.1/ Détermination de l'état d'intolérance au lactose chez le lapin

Les résultats de la figure 40 montrent que l'activité lactasique des lapereaux, au cours de la lactation, est présente à des taux variant de  $0.548 \pm 0.015$  à  $0.592 \pm 0.018$ , ce taux diminue pour atteindre  $0.449 \pm 0.017$  à la fin de la 4<sup>ème</sup> semaine. Cette diminution survient juste après que les lapereaux commencent à consommer des végétaux. Ce résultat est en accord

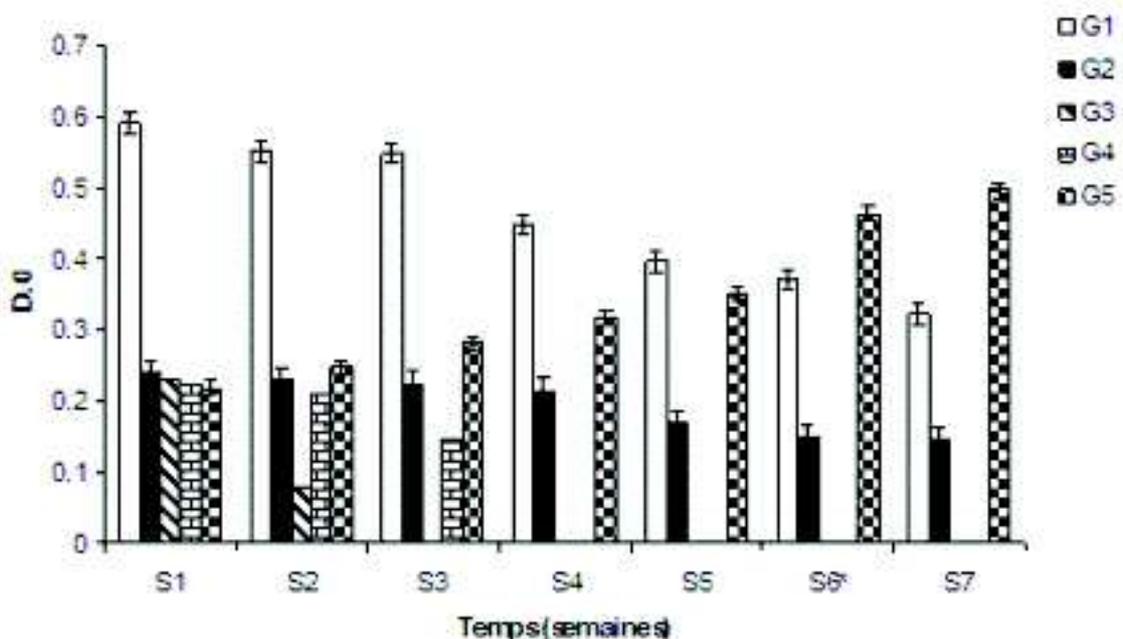
avec les travaux antérieurs de Fortum-Lamothe et Gidenne (2003) montrant que l'activité lactasique est présente chez les lapereaux dès leurs naissances.

Après sevrage total, (5<sup>ème</sup> semaine), l'activité lactasique continue à diminuer pour arriver à  $0.322 \pm 0.02$ . Ce résultat est en parfaite accord avec celui de Pougheon et Goursaud (2001) qui trouvent que l'activité de la lactase est maximale à la naissance chez tous les mammifères terrestres et elle diminue ensuite régulièrement chez la plupart des mammifères pour atteindre des valeurs très basses après le sevrage lorsque le lactose disparaît du régime alimentaire.

L'activité lactasique du G2, lot de lapins âgés de 6 mois alimentés avec un régime standard composé de 300 g d'aliments /j (laitue, carottes, pain) et eau, est faible comparée avec celle du G1, et diminue avec le temps pour arriver en fin d'expérimentation (7<sup>ème</sup> semaine) à  $0.146 \pm 0.02$ . En effet, selon Adrian et Lepen (1987), l'activité intestinale lactasique de la majorité des individus diminue avec le temps, cette évolution est sous contrôle génétique. Certains sujets (les moins nombreux) conservent cette capacité enzymatique toute leur vie mais pour d'autres populations, cette activité disaccharidique diminue inexorablement, mais sans disparaître complètement.

De même, Absolonne (1989), affirme que l'activité lactasique diminue progressivement en fonction de l'âge parallèlement à son substrat (le lait), qui a disparu de l'alimentation depuis au moins 5 mois néanmoins elle n'est pas nulle, mais elle régresse avec l'âge.

\* sevrage



**Figure 40 : Détermination de l'état d'intolérance au lactose chez le lapin en fonction de l'âge et du régime alimentaire.**

Pour les lots de lapins G3, G4 et G5, l'introduction du lait dans le régime alimentaire avait pour but de déterminer l'état d'intolérance au lactose des animaux, ainsi que la détermination de la dose de lait que le lapin peut ingérer sans avoir les symptômes d'intolérance au lactose ce qui nous permettra de continuer nos expériences sans risques pathologiques gênants.

Pour G3, l'introduction de 3 x 20 mL/j de lait a négativement affecté l'activité lactasique, qui a nettement chuté pour arriver à  $0.079 \pm 0.013$  après quelques jours de consommation. Cet état s'est accompagné par des symptômes graves caractérisés par des diarrhées aiguës, ballonnements et difficultés de respiration, qui ont abouti à la mort de la totalité des lapins. Les mêmes symptômes sont décrits par plusieurs auteurs comme étant des symptômes d'intolérance aigue au lactose (Bhatnagar et Aggarwal, 2007).

En effet, la différence dans la composition en lactose entre le lait de lapine (15 à 20 g/L) et le lait de vache (38.34g/L), a conduit à la fermentation du lactose, en absence d'une quantité suffisante de la lactase intestinale. Le lactose est métabolisé dans le côlon par la flore d'où la production de lactate, d'acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate), de gaz (hydrogène, gaz carbonique et méthane) et une acidification du milieu. En augmentant la charge osmotique, le lactose provoque aussi un transfert d'eau de la muqueuse vers la lumière intestinale qui conduit à une dilatation de l'intestin ainsi qu'à une accélération du transit avec perte d'eau et d'électrolytes (Raul, 2001., Cherbut, 2006 et Bhatnagar et Aggarwal, 2007), ce qui s'est traduit par des ballonnements et des diarrhées qui ont conduit à la mort des animaux.

De même pour le G4, l'introduction de 3 x 10 mL de lait /j a entraîné la diminution l'activité lactasique en fonction du temps. Les mêmes symptômes ont été aperçus, pour les lapins de ce groupe, mais avec une moindre intensité. Cela semble dû à la quantité de lait ingérée qui était de moitié par rapport au groupe G3. Toutefois, la mort de tous les animaux du groupe est survenue à la fin de la 5<sup>ème</sup> semaine.

Moll et Spiller (1994), confirment que la consommation du lait de vache par les lapins cause des maladies auto immunes qui attaquent les cellules de la paroi intestinale, qui contiennent la lactase, conduisant à la diminution de l'activité lactasique.

Par ailleurs, nous avons assisté à une augmentation progressive de l'activité lactasique en fonction du temps, pour les lapins du groupe G5. Ces derniers recevaient moins de lait que les groupes précédents, soit 3 x 5 mL/j. Ces lapins ne présentaient aucun symptôme d'intolérance au lactose et l'activité lactasique passe de  $0.218 \pm 0.012$  au cours de la première semaine à  $0.497 \pm 0.019$  à la fin de la 7<sup>ème</sup> semaine, ce phénomène est appelé induction de la lactase intestinale.

Ces résultats confirment ceux trouvés par Raisonnier (2001) et Lecleire (2008), et qui montrent qu'en absence de lactose, les deux enzymes (la  $\beta$ -galactosidase et la galactoside-perméase) ne sont produites qu'à l'état de traces. Leur synthèse est inhibée par la présence d'un répresseur qui bloque l'activité de l'opérateur.

En présence de lactose, le répresseur modifie dans sa structure, à cause des liaisons qu'il établit avec l'inducteur, qui est évidemment le lactose, et il n'est plus susceptible d'assurer le blocage de l'opérateur, l'inhibition est levée et les deux enzymes sont synthétisés.

Cette dose de lactose (3 x 5 mL/j) sera choisie pour continuer le reste de notre expérimentation pour l'amélioration de l'activité lactasique chez le lapin par les bactéries lactiques locales.

## 2.2/ Amélioration de l'activité lactasique chez le lapin

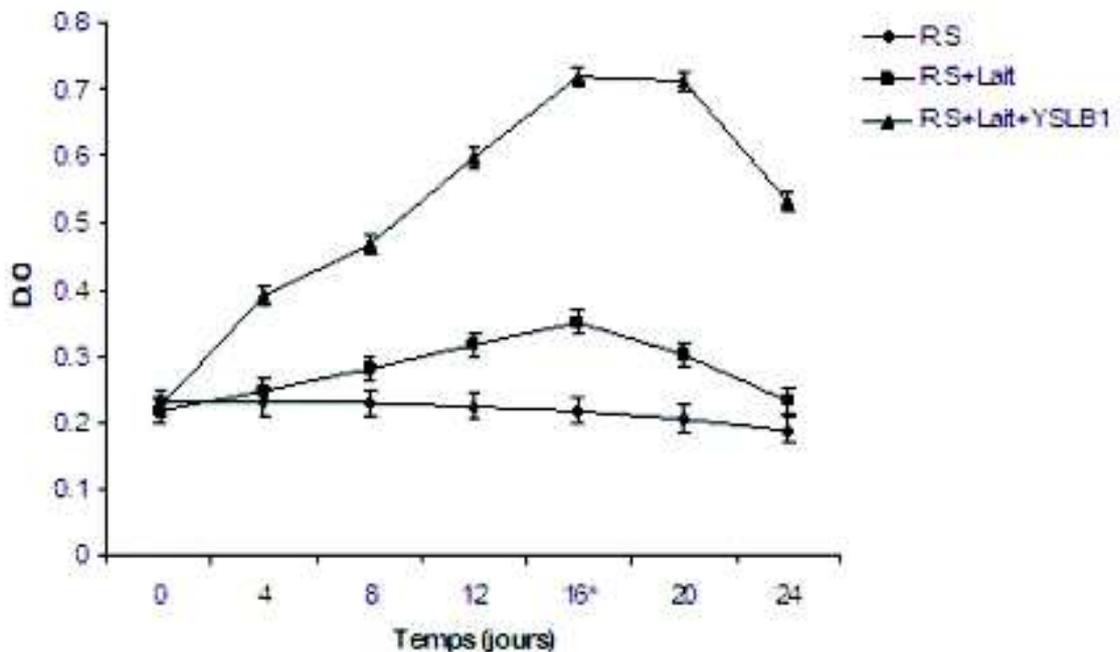
Les résultats de la figure 41 montrent que le lapin de 6 mois, est un intolérant au lactose. Son régime standard exclu toute source de lactose, ce qui mène la lactase à régresser proportionnellement avec la régression de son substrat avec l'âge. Cette régression n'est

pas complète, mais elle passe de  $0.229 \pm 0.012$  à  $0.215 \pm 0.018$  après 24 jours. Résultats qui confirment ceux d'Adrian et Lepen (1987) ; Absolonne (1989) et Pougheon et Goursaud (2001).

Le lot N° 2 recevant en plus de son régime standard, 3 x 5 mL de lait par jour, voit son activité lactasique augmenter proportionnellement avec le temps, contrairement à celle des lapins du groupe témoin (régime standard). Cette activité lactasique passe à  $0.351 \pm 0.02$  après 16 jours de supplémentation.

La différence entre l'activité lactasique du groupe témoin et celle du lot N° 2 est due à la consommation de 15 mL de lait par jour par les lapins du dernier groupe. En effet, Johnson et al. (1993) trouvaient qu'il serait possible d'adapter l'organisme au lactose en augmentant progressivement la quantité du lait ingéré.

Selon Raul, (2002) un régime alimentaire supplémenté en lactose est capable d'augmenter l'activité lactasique, de même il confirme que le déficit secondaire en lactase, est un phénomène entièrement réversible. Après arrêt de la supplémentation du régime alimentaire en lait nous avons assisté de nouveau à la diminution de l'activité de l'enzyme, vu l'absence de l'inducteur qui est le lactose.



**Figure 41:** Mesure de l'activité lactasique du lapin en fonction de la supplémentation de son régime alimentaire en lait et en yaourt local (\*arrêt de la supplémentation).

Par ailleurs, l'activité lactasique du lot N°3, recevant en plus du lait le yaourt YSLB1, augmente considérablement pour atteindre  $0.718 \pm 0.023$  au bout de 16 jours. L'augmentation de l'activité est due, en plus de l'induction de la lactase intestinale du lapin, à l'activité de la lactase bactérienne qui vient renforcer la première en dégradant plus de lactose.

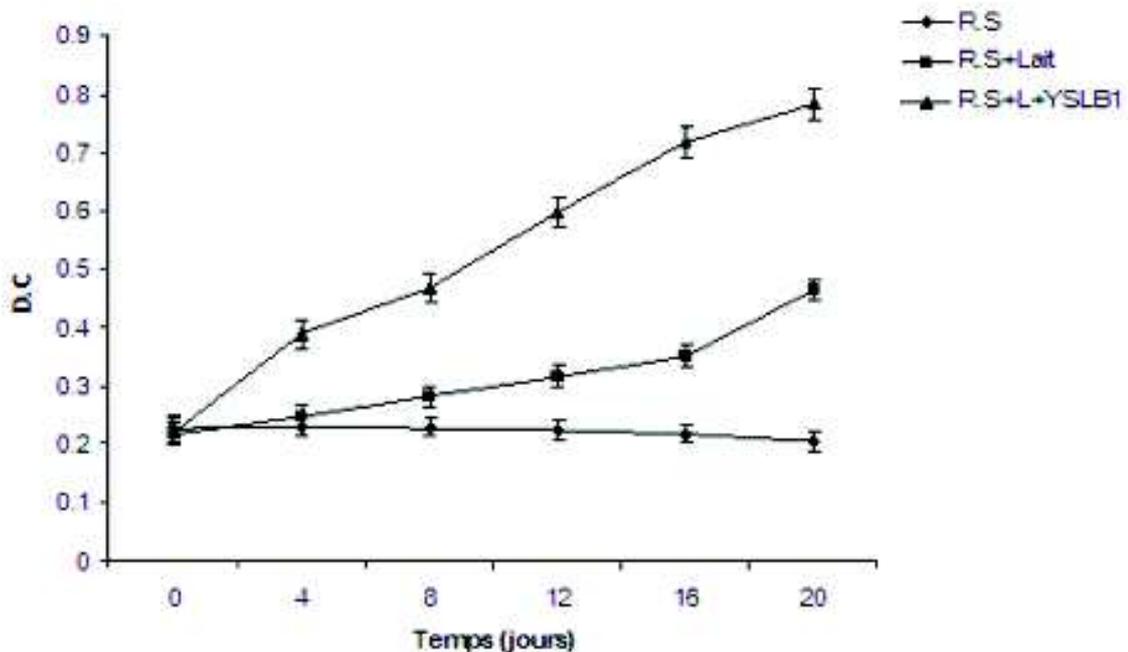
Plusieurs travaux antérieurs (Pochart et al., 1989., Drouault et al., 2002 et Brigidi et al., 2003) ont démontré qu'après ingestion du yaourt, les bactéries de ce dernier produisent une  $\beta$ -galactosidase active au niveau du duodénum. De plus, Corthier (2003) et Piaia et al. (2003) ont trouvé que même après lyse bactérienne, la  $\beta$ -galactosidase de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* demeure active dans le tube digestif et dégrade le lactose.

D'après Laloux (2002), l'effet bénéfique du yaourt par rapport au lait est indépendant de la quantité de lactose dans le produit et n'est donc pas dû à une plus faible teneur en lactose du yaourt. Trois hypothèses ont été proposées sur cet effet bénéfique :

- La digestion du lactose dans la lumière intestinale par la lactase des bactéries lactiques du yaourt. Plusieurs auteurs postulent que la bile contenue dans l'intestin grêle augmenterait la perméabilité des cellules bactériennes, permettant au lactose d'entrer et d'être dégradé ;
- un ralentissement de la vidange gastrique et du transit gastro-intestinal dus à la texture plus épaisse et visqueuse du yaourt par rapport au lait. Ceci laisserait plus de temps à la lactase intestinale résiduelle et aux bactéries lactiques du yaourt pour agir ;
- la stimulation de l'activité lactasique de la muqueuse intestinale par les bactéries lactiques du yaourt.

Après arrêt de la supplémentation en yaourt, nous avons constaté que l'activité lactasique demeure importante, elle est de  $0.712 \pm 0.017$ , après 20 jours. Cette durée correspond à la durée de survie des bactéries dans le tube digestif (4 jours), ou elles demeurent viables et actives, après cela nous avons assisté à une diminution de nouveau de l'activité de l'enzyme.

Les résultats de la figure 42, montrent que si la supplémentation, en lait ou en yaourt, n'est pas arrêtée l'activité de la lactase intestinale demeure stable et importante, ce qui nous mène à dire que la lactase bactérienne, issu des bactéries du yaourt local YSLB1, a renforcé l'activité de lactase intestinale du lapin, ce qui fait de lui un intolérant secondaire au lactose.



**Figure 42 :** Mesure de l'activité lactasique du lapin en fonction de la supplémentation de son régime alimentaire en lait et en yaourt local (sans arrêt de la supplémentation).

### 3/ Utilisation du yaourt local par les intolérants au lactose (essai sur l'humain)

Les intolérants au lactose (157 / 280 volontaires, soit 56.07 %) vont être soumis à un régime comportant en plus du lait du yaourt YSLB1, fabriqué avec *Sc.t 3 +Lb.b 2*.

Pour le groupe témoin, ayant consommé le lait en plus du régime alimentaire, les symptômes de l'intolérance au lactose ont persisté pendant les 7 jours de consommation du lait. Ces personnes intolérantes ont été soumises à un régime alimentaire enrichi en yaourt local YSLB1 et en lait.

Le tableau X résume l'évolution des symptômes de l'intolérance au lactose au cours des 7 jours de consommation du yaourt local YSLB1.

Symptômes Temps (j)	Diarrhées	Douleurs	Ballonnements	Flatulences	Nausées	Plusieurs symptômes	Rien
1	17	3	57	2	2	76	/
2	15	/	57	/	/	76	9
3	9	/	50	/	/	71	27
4	4	/	39	/	/	62	52
5	/	/	15	/	/	53	89
6	/	/	/	/	/	45	112
7	/	/	/	/	/	45	112

**Tableau X:** Nombre de sujets, présentant ou pas, des symptômes digestifs après l'ingestion du yaourt local YSLB1 en plus du lait.

Les résultats du tableau ci dessus montrent que les symptômes de l'intolérance au lactose ont disparu complètement, chez 112 cas parmi les 157 cas d'intolérants au lactose (soit 71.33 %), après 6 jours de consommation de lait additionné de yaourt YSLB1. Les symptômes d'intolérance persistent chez 45 cas jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les résultats montrent que la lactase ( $\beta$ -galactosidase) des bactéries du yaourt utilisé a pu dégrader le lactose du lait. Ces bactéries peuvent être utilisées pour diminuer les effets gênant chez ces sujets, intolérants primaires ou secondaires au lactose. Puisque c'est la lactase bactérienne qui a contribué à dégrader le lactose ingéré avec le lait, cela n'exclut pas l'hypothèse qu'ils peuvent être

des intolérants congénitaux.

Les 45 cas, (soit 28.66 %), présentent toujours des symptômes d'intolérance au lactose. Ces individus sont probablement des intolérants congénitaux qui n'ont pas pu retrouver une bonne activité lactasique en 7 jours de consommation des bactéries du yaourt ; malgré la présence de la lactase bactérienne qui remplace la lactase intestinale absente chez eux. Par contre, chez les intolérants primaires et secondaires, la lactase des bactéries a renforcé l'activité de la lactase intestinale présente en faible quantité, en plus de son induction par le lait, durant les 7 jours de l'expérimentation.

Cette théorie a été confirmée par de nombreux chercheurs, Alm (1982), Saviano et al. (1984), Kolars et al. (1984), Martini et al. (1987) et Leclaire (2008), qui observèrent que l'ingestion de certains yaourts supprimait chez des sujets intolérants au lactose les symptômes de mauvaise digestion provoqués par le lait. En effet, Alm (1982) rapporte que 45 % des symptômes d'intolérance au lactose (diarrhées, flatulences et douleurs

---

abdominales) présentes chez certains patients lors de la consommation du lait ont disparu suite à la consommation du yaourt. Le même résultat a été trouvé par Saviano et *al.* (1984) mais avec 75 %, alors que Kolars et *al.* (1984) ont réussi à supprimer 89 % des symptômes d'intolérance au lactose (diarrhées, crampes abdominales) par l'utilisation du yaourt en compagnie avec le lait ; et cela dans une étude publiée par Syndifrais (1997).

De nombreuses études ont montré que le yaourt classique, fermenté par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, améliorerait grandement l'absorption du lactose chez des sujets déficients en lactase (Bhatnagar et Aggarwal, 2007., Leclaire, 2008),. La raison principale en est que les deux bactéries produisent, quand elles sont vivantes, une lactase capable de métaboliser le lactose avant l'entrée de ce dernier dans le gros intestin (Hove, 1999, Piaia et *al.*, 2003, Perrin, 2008)).

Sanders (1994), déclara que la concentration des bactéries lactiques vivantes du yaourt doit être d'au moins  $10^8$ /mL pour obtenir un résultat efficace chez des sujets adultes déficients en lactase. Une autre étude conclue que seul le yaourt vivant exerce un effet bénéfique (Dewit et *al.*, 1988).

Les ferments du yaourt prédigèrent une partie du lactose en sa forme absorbable, et grâce à la consistance épaisse du yaourt, ils voyagent plus lentement dans le tube digestif, ils se déversent alors petit à petit dans l'intestin ce qui aide à absorber le lactose résiduel (Iga, 2002).

Les recherches récentes faites par Marteau et Marteau (2005) et Saviano et *al.*, (2008) montrent que généralement la plupart des hypolactasiques peuvent consommer jusqu'à 12 g de lactose (250 mL de lait) sans troubles particuliers si l'on donne du yaourt avec le lait, ces auteurs confirment que l'intolérance sévère au lactose est relativement rare. Le seuil de tolérance est fonction de l'activité lactasique résiduelle qui varie considérablement d'un individu à l'autre. Selon Bhatnagar et Aggarwal (2007), divers facteurs peuvent l'influencer: âge, sexe féminin, syndrome de l'intestin irritable, facteurs psychologiques.... De même, tout ce qui ralentit la vidange gastrique (graisses et/ou l'association d'aliments) améliore aussi l'absorption du lactose. Enfin, bien que l'activité lactasique ne soit pas à proprement parler adaptable, les symptômes peuvent s'améliorer au cours des prises répétées de lactose (Leclaire, 2008).

## CONCLUSION

Un déficit en lactase peut être congénital ou acquis. L'activité lactasique, entretenue par la consommation de laitages, diminue à l'âge adulte. Ainsi, chez l'adulte, cela peut être congénital ou résulter d'apports alimentaires faibles en produits laitiers. Le déficit en lactase provoque des troubles digestifs sévères après l'absorption du lait, ce qui conduit les sujets à supprimer tout ou une partie des produits laitiers de leur alimentation. En pratique, beaucoup de ces sujets se disent « intolérants au lactose ».

La perception des propriétés prophylactiques, diététiques et thérapeutiques des probiotiques est à l'origine de la consommation accrue des produits laitiers fermentés tels que les yaourts qui ont été choisis comme véhicules privilégiés des cultures probiotiques. Ces ferments ont une importance stratégique en industrie alimentaire et en nutrition humaine parce qu'ils jouent des rôles majeurs sur la physiologie de l'hôte qui l'abrite. Cependant, l'effet probiotique de ces bactéries, dont la digestion du lactose, dépend de leurs taux de survie non seulement dans les aliments, mais également dans le tractus gastro-intestinal, pour cette raison il faut que ces ferments puissent passer sans dommage irréversible la barrière acide de l'estomac, puis l'effet inhibiteur éventuel des sels biliaires et la concurrence de la flore intestinale.

L'objectif principal de ce travail était donc d'isoler des souches de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* locales à haut pouvoir de dégradation de lactose, qui résistent et se développent dans des conditions extrêmes du tube digestif (*in vitro* et *in vivo*). Les souches ainsi isolées sont utilisées pour réduire ou éliminer les symptômes de l'intolérance au lactose, grâce à leur lactase qui peut contribuer à aider la lactase endogène, qui a disparu ou diminuer chez ces personnes.

Les résultats de ce travail se résument comme suit :

- L'étude de la prévalence de l'intolérance au lactose chez des enfants de moins de 3 ans a révélé la présence de 28.22% de cas d'intolérants au lactose et celle des adultes (280 étudiants volontaires), soumis un régime alimentaire incluant 2x150 mL de lait / j, a montré que 35 % ingèrent le lactose sans aucun symptôme dès le début de l'expérimentation, alors que 43,92 % ingèrent le lactose sans aucun symptôme après 7 jours de consommation ; ce qui explique que 8.92 % des cas ayant présenté des symptômes d'intolérance au lactose ont repris leurs activités enzymatiques après avoir réintégré le lait dans leur régime alimentaire. Ces derniers représentent donc une intolérance secondaire ; alors que 56.07 % présentent toujours plusieurs symptômes d'intolérance qui peuvent être primaires ou congénitales.
- 6 souches de *Streptococcus thermophilus* (*Sc.t 1*, *Sc.t 2*, *Sc.t 3*, *Sc.t 4*, *Sc.t 5* et *Sc.t 6*) et 6 souches de *Lactobacillus bulgaricus* (*Lb.b 1*, *Lb.b 2*, *Lb.b 3*, *Lb.b 4*, *Lb.b 5* et *Lb.b 6*) provenant de laits de vaches de plusieurs régions ont été purifiées.
- Les combinaisons YSLB1, YSLB2, YSLB3, YSLB4 et YSLB5 ont donné les meilleurs taux de dégradation de lactose (> 80 %) et avec des concentrations bactériennes supérieures à  $10^7$  cellules /mL. La meilleure dégradation de lactose, en cultures

---

mixtes, a été obtenu par YSLB<sub>2</sub>, avec un taux de 90.44 % après 6h d'incubation à 37°C.

- Les souches des yaourts YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub> et YSLB<sub>3</sub> résistent et se développent bien même à pH relativement bas en présence d'une forte concentration de sels biliaries. A pH 4.5 et en présence de 0.3% de sels biliaries, le nombre de cellules bactériennes de YSLB<sub>2</sub> atteint  $4.07 \times 10^9$  cellules / mL après 6h d'incubation et  $9.83 \times 10^9$  cellules / mL à pH 6.5 dans les mêmes conditions.
- La viabilité des ferments en cultures mixtes, des différents yaourts, semble très importante en fonction du temps et à 37 °C. Le nombre de cellules vivantes atteint  $1.20 \times 10^{10}$  cellules / mL après 6h pour YSLB<sub>1</sub>. Ce nombre continu à augmenter, pour toutes les souches, pour atteindre des concentrations supérieures à  $10^{11}$  cellules / mL après 24 h d'incubation à 37°C.
- l'acidité produite par les bactéries des différents yaourts locaux au cours de la conservation à 4 °C est dans les normes, elle arrive à  $143 \pm 1^\circ\text{D}$ , après 16 jours de conservation, pour le yaourt YSLB<sub>2</sub>. De plus, le nombre de cellules vivantes des différents ferments pour toutes les cultures mixtes reste supérieur à  $10^7$ , après 14 jours de conservation à 4 °C.
- D'après l'acidité Dornic et les bactéries vivantes, les différents yaourts peuvent être utilisés comme produits de santé (probiotiques) dans les 14 qui suivent leur fabrication.
- Les résultats de l'expérimentation sur les lapins confirment ceux trouvés *in vitro*, car l'ingestion des yaourts YSLB<sub>1</sub>, YSLB<sub>2</sub> et YSLB<sub>3</sub> conduit à une présence des bactéries de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* au niveau des différentes parties du tube digestif, pendant une durée et avec un nombre appréciable de bactéries qui reste important tant que les lapins consomment les yaourts. Après arrêt de la consommation, les bactéries restent présentes dans l'estomac, le duodénum et dans le gros intestin à des taux supérieurs à  $10^7$  cellules / mL pendant 4 jours. Au-delà le nombre de bactéries présent dans le tube digestif diminue significativement pour s'annuler 6 jours après l'arrêt de la consommation des yaourts. Les résultats montrent que les bactéries des yaourts locaux ne s'implantent pas à l'épithélium intestinal.
- L'étude de l'évaluation de l'état de l'intolérance au lactose chez le lapin a montré que ce dernier est un modèle parfait d'intolérant au lactose.
- L'ingestion du yaourt local a nettement amélioré l'activité lactasique chez les lapins. Le lot des lapins recevant 3x5 mL de lait à 12 % d'EST et 3 x 5 mL du YSLB<sub>1</sub> par jour présente le meilleur résultat avec une activité lactasique 6 fois plus importante que celle du lot témoin ayant un régime standard (ne recevant aucune source de lactose), respectivement  $0.718 \pm 0.023$  et  $0.215 \pm 0.018$ , après deux semaines de consommation du yaourt.
- Les intolérants au lactose (56.07 %) ont été soumis à un régime alimentaire enrichi en lait et en yaourt local YSLB<sub>1</sub> (RS + LAIT + YSLB<sub>1</sub>) et au bout de 7 jours de consommation, 71.33 % ont retrouvé leurs activité lactasique, renforcée par la lactase des bactéries de YSLB<sub>1</sub>, alors que 28.66 % n'ont pas pu retrouver une bonne activité et qui sont probablement des intolérants congénitaux ou primaires sévères qui n'ont pas pu retrouver une bonne activité lactasique en 7 jours de consommation des bactéries du yaourt local.

- La consommation, une fois tous les quatre jours, des produits (yaourts) issus de ces bactéries extrémophiles et à haut pouvoir de dégradation du lactose peuvent contribuer à la réduction ou l'élimination des symptômes d'intolérances au lactose.

---

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABSOLONNE J. (1989). Le yaourt : adaptation aux objectifs nutritionnels In "Lait fermentés : Actualité de la recherche ". John Libbey eurotext itd, 153-159.
- ACCOLAS J.P., BLOQUEOL R., DIDIENNE R. et REAGINIER J. (1977). Propriétés acidifiantes des bactéries lactiques thermophiles en relation avec la fabrication du yoghourt, *Le lait*, 1(23) : 561-562.
- ACCOLAS J.P. (1979). Les levains thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Congrès International : Microbiologie alimentaire*, 11 octobre.
- ACCOLAS J.P., HEMME D., MAZEAUD M.J., VASSAL A., BOUILLANE C., et VEAU M. (1982). Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Le lait*, 49 : 346-352.
- ADRIAN J. et LEPEN C.M. (1987). Lait : matière première de l'industrie laitière. Ed. Tec. Et Doc., Lavoisier, Paris, 256P.
- AKTYPIS A., KALANTZOPOULOS G., HUIS IN'T VELD J.H.J and TEN BRIND B. (1998). Purification and characterization of thermo-philin T, a novel bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0040 . *Journal of Applied Microbiology*, 84: 568-576.
- AKTYPIS A., TYCHOWSKI G., KALANTZOPOULOS G. and AGGELIS G. (2007). Studies on bacteriocin (thermophilin T) production by *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0040 in batch and fed- batch fermentation modes. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol 92(2): 207-220.
- ALAIS C. (1975). Sciences du lait : principes et techniques laitières. 3<sup>ème</sup> édition, Ed. S.E.P.A.I.C., Paris, 324P.
- ALAIS C. et LINDEN G. (1997). Abrégé de biochimie alimentaire. Ed. Masson , Paris : 167-182.
- ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L. (2003). Abrégé de Biochimie alimentaire. Vol.5, Ed :Dunod, Paris, 213-234.
- ALM L. (1982). Effect of fermentation on lactose, glucose and galactose content in milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individuals. *J.Dairy Sci.*, 65:346-532.
- ALSTON MILLS B.P. (1995). Comparative analysis of milks for human consumption. In : Hand book of milk composition. Acad. Press, New York: 828-834.
- AMOROSO M.J., MANCADENARA M.C., DIVER G. (1989). The growth and sugar utilization by *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* isolated from market yoghourt, *Le lait*, 69: 519-528.
- AMIOT J., FOURNIER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R. (2002). Composition, propriétés physicochimique et techniques d'analyse du lait. In : Science et

- technologie du lait, transformation du lait. Ed .Presse internationale polytechnique fondation de technologie laitière du Quebec, INC Montréal, Canada, 324P. .
- AMROUCHE T. (2005). Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse *in vitro* et étude *ex in vivo* des mécanismes moléculaires impliqués. Th. Doctorat (Ph D), Université de Laval, Québec, 155P.
- ANDERSON J.W. et GILLILAND S.E.(1999). Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lb. Acidophilus L1* on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18(1): 43-50.
- ANDRIEUX C. et SAQUET E. (1983). Effects of microflora and lactose on the absorption of calcium, phosphore and magnesium the hindgutof the rat. *Report. Nutr.Develop.* 23 : 259-271.
- ANTOINE, J.M ., FRIPPIAT, A.F ., (1986) : Le yoghourt : Nutrition et santé , Ed. Druco, Halle- Belgique, 21-23.
- ATKINSON R.L., KRATZER F.M. et STEWART G.F. (1957). Lactose in animal and humain feeding . *Rev. Int. J . Dairy Sci .* 40 : 1114-1119.
- AVALER D.M., POULTER M. et HOLLOX E.J. (2001). Intolérance au lactose et autres sucres diététiques. *Borguez Metabdispos.* 29 :6-531. [http://www. Medaspothi.org/ journal](http://www.Medaspothi.org/journal).
- BEAL C., DESCHAMP N., JOUILLARD V., DE ROISSART H., RICHARD J et SARAUX B. (1994). Cinétique de croissance et d'acidification des bactéries lactiques in bactéries lactiques, Tome1, Ed. Loriga, Paris, 1-264.
- BERGMIER D. (2002). Production des exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées d'un milieu de base de perméat de lactosérum. Th. Doctorat, Univ.Laval, Quebec . [http:// www.thèse\\_aval.ca/auteurs.com](http://www.thèse_aval.ca/auteurs.com).
- BESNIER M.O., BOURLIOUX P., FOURNIAT J., DUCLUZEAU R. et AUMAITRE A. (1983). Influence de l'ingestion du yaourt sur l'activité lactasique intestinale chez les souris axéniques ou holoxéniques. *Ann.Microbiology (Inst. Pasteur)*, 134 A: 219-230.
- BERTAZZONI M.E., BENINI A., MARZOTTO M., SBARBATI A., RUZZENENTE O., FERRARIO R., HENDRIKS H., DELLAGLIO F. (2004). Assessment of novel probiotic *Lb. casei* strains for the production of functional dairy foods. *International Dairy Journal*, 14, 723 -736.
- BHATNAGAR S. and AGGARWAL R. (2007). Lactose intolerance . *BMJ .*, 334 , 1331-1332
- BIANCHI-SALVADORI B., GOTTI M., BURGHERA F.and PALINELLI U. (1978). Variations in lactic and bifidus flora in the intestine after administration of yogurt lactic cultures. *Le lait*, 58: 17 - 42.
- BIANCHI-SALVADORI B., CAMESSCHELLA P. and BAZZIGALUPPI E. (1984). Distribution and adherence of *Lb. bulgaricus* in the gastrocentric tract of germ free animals. *Milchwissenschaft*, 39: (7): 387-391.
- BOCLE J.C. (. 2005). Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults. *Afssa*, 59-128.
- BOÏNG N. (1981). Enzyme production. in "Industriel microbiology", ed. Tec. Et Doc. Lavoisier, Paris, 98-123 .

- BOLIN T.D. (1979). Lactose intolerance in Scingapore. *Gastroenterologie*, 59 : 76-84.
- BOUDIER J.F. (1985). Produits frais in « lait et produits laitiers, vache, brebis, chèvre », Vol 2, Ed. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris, 35-66.
- BOUDRAA G., TOUHAMI M., POCHART P., SOLTANA R., MARY J.Y. et DESIEUX J.F. (1990). Effect of yogurt versus milk in children with persistent diarrhée. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 11 : 509-512.
- BOUHNİK B.Y. (1993). Survie et effets chez l'homme des bactéries ingérées dans les laits fermentés. *Le lait*, 73, 241-247.
- BOUHNİK B.Y., MARTEAU Ph. Et RAMBAUD J.C. (1993). Utilisation des probiotiques chez l'homme. *Ann. Gastroenterol. Hepatologique*, 5 : 241-249.
- BOUHNİK B.Y. (2000). Flore intestinale, probiotiques et MICI. *Lettre de l'afa*, 16, 4p.
- BOUILLANNE C. et DESMAZEAUD M.J. (1981). Classement de souches de *Lb. bulgaricus* selon quelques caractères utilisés en fabrication du yogourt. *Sciences des aliments*, 1 : 7-17.
- BOTTAZI M. (1978). Yoghurt: the symbiosis between the 2 Yoghurt microorganisms. *XX° international dairy congress, conferences*, 42: 7P.
- BRINK B.T., KONING W.N. (1982). Electrochemical proton gradient and lactate concentration in *Streptococcus cremoris* cells grows in batch culture. In "bactéries lactiques", Vol 1, ed., Loriga, Lavoisier, Paris, 397P.
- BRINK B.T., KONING W.N., OTTO T., VIJI E. et BLONT B. (1985). Lactate concentration gradient in *Streptococcus cremoris*, *Microbiology*, 141: 348-352.
- BRIGIDI P., SWENNEN E., VITALI B., ROSSI M., MATEUZZI D. (2003). PCR detection of *Bifidobacterium* strains and *Streptococcus thermophilus* in feces of humain subjects after oral bacterioteriotherapy and yogurt consumption. *Int. J. Food Microbiol.*, 81: 203-209.
- BRITTEN M. (2002). Ingrédients laitiers. In : Sciences et technologie du lait, transformation du lait. Presse polythec. Fondation de thecnologie laitière du Quebec INC. Montréal, Canada, 145P.
- CHERBUT C. (2006). Le lactose : entre intolérance et effets santé. *Sci. Aliments*, 26(6) : 493-9.
- CERF-BENSUSSAN N. (2002). Un nouvel éclairage sur le rôle direct des bactéries lactiques vivantes dans la digestion du lactose. Yaourts et laits fermentés. *Syndifrais*, lettre n°8, 12P.
- CERNING C., BOUILLANE C., DESMAZEAUD M.J. (1988). Exocellular polysaccharide production by *Streptococcus thermophilus*. *Biotechnology letters*, 10: 255-260.
- CLINQUART, A. (2005). Les techniques de conservation des Aliments, revue: sciences et technologie, 44, Faculté de médecine vétérinaire, Département des sciences des denrées alimentaires, Université de liège, 3-25
- COCHET B., TUNG A., GRIESSEN M. (1983). Aerobic metabolism on intestinal calcium absorption in normal and lactose deficient sujets. *Gastroenterology*, 84 : 935-940.
- CORTHIER G. (2003). Probiotiques : adaptation à l'environnement digestif. Cahiers de nutrition et de diététique, 34, 45- 56.

- CORTHIER G. (2004). Les bénéfices santé des probiotiques. *Danone nutritopics* , 29, 1-13.
- dacosta m. (2001). prebiotiques et probiotiques en alimentation humaine. Ed. Yves Dacosta. Paris, 167P.
- DANONE (1997). Les bienfaits santé des laits fermentés et des probiotiques. <http://www.Danonevitapole.com/nutr-views/newsletter/Fr/news-15/into.html>.
- DANONE (1999). Yoghourt : egyty years of active research for health : Ed. John Libbey Eurotext, Paris: 7-45.
- DEBATISSE M. (1981).Techniques d'analyse et du contrôle dans les industries agroalimentaire. Vol. 2, ed. Tec et Doc., Lavoisier et APRIA, Paris, 279P.
- DEBRY G. (2001). Lait nutrition et santé. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 331P.
- DELLAGLIO F. (1988). Starters for fermented milks. Section 3: Thermophiles starters. In : Fermented milks, science and technology. *Bulletin FIL.*, 227 : 27-33.
- De Roissart H.B., (1986) : Bactéries lactiques. In : Lait et produits laitiers (vache – chèvre -brebis). Ed. APRIA, Paris, 343-386.
- De Roissart H.B., LUQUET F.M., (1994). Bactéries lactiques. In : Lait et produits laitiers (vache – chèvre -brebis). Vol. 3. , 2ème Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris, 191-203.
- De Roissart H.B., LUQUET F.M., (1994) : Bactéries lactique, Tome I et II. Edition Lorica , Lac Oser, Paris, 605P.
- DE SIMONE C., VESELY R., BIANCHI SALVADORI B. et JIRILLO E. (1993). The role of probiotics in the modulation of immune system in man and in animals. *Int. J. Immunother.*, 9: 23-28.
- DESMAZEAUD, M. (1983).L'état de connaissances en matière nutrition des bactéries lactiques. *Le lait.* 63 :267-316.
- DESMAZEAUD M. (1992). Activité protéolytique de *Streptococcus* lactique mésophile au cours de l'affinage des fromages. *Le lait*, 72 : 267-289..
- DESMAZEAUD, M. (1996) : Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaines, utilisation et inocuité : *cahier agriculture*, 5 : 331-343.
- DE VILLIERS V. (1995). The affect of lactose mal digestion on the stools of young Tswana children. *Journal of tropical pediatrics*, 41 :54-56.
- DEVOYD J.J. et POULAIN F. (1988). Les Leuconostocs, propriétés : leurs rôles en technologie laitière. *Le lait*,68 : 249-280.
- DEWIT O., POCHART P., DESJEUX J.F. (1988). Breath hydrogen concentration and pharmacglucose in salin salin and free fatty acid levels after lactose, milk fresh or heated yoghurt ingestion lactose malabsorption. *Nutrition* , 4(2): 131-135.
- DILMI BOURAS A. (1991). Assimilation du cholesterol par les bacteries lactiques. These de magister. Agro., INA. Alger, 144P.
- DILMI BOURAS A. (2002). Survie de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* et leur action sur le métabolisme du cholesterol. Thèse de doctorat d'état. INA El Harrach, Alger, 1-99.

- DILMI BOURAS A., SADOUD D. (2002a). Survie des ferments du yaourt dans le tube digestif du lapin. *Le Lait*, 82 : 247-253.
- DILMI BOURAS A., SADOUD D. (2002 b). Effet du yaourt à *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* sur le cholestérol sanguine chez le lapin. *Medecine et nutrition*, 38(1) : 97-103.
- DILMI BOURAS A. (2006). Assimilation (*in vitro*) of cholesterol by yogurt bacteria, *Ann.Agric. Environ. Med.*, 13 :49-53.
- DILMI BOURAS A., KOÏCHE M., TABTI M. (2007). The affect of *Lactobacillus paracasei* on the rabbit's cholestrolemia, *African journal of biotechnology*, Vol.6 (24): 2840-2845.
- DOLEYRES Y. (2003). La production en continue des ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de Doctorat, Univ., Laval, Quebec, Canada, 178P.
- DROUAULT S., ANBA J., CORTHER G. (2002). *Streptococcus thermophilus* is able to produce a #-galactosidase active during its transit in the digestive of germ free mice. *Appl. Environ.Microbiol.*, 68(2): 936-941.
- DRIESSEN F., KINGMA F., STADHAUDERS J. (1982). Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* is stimulated by dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, 36 : 135-144.
- DUCLUZEAU R. (1993). Ecologie microbienne du tube digestif et flores de barrières. *LET.SC.IFN*, 20 (4) : 1 - 8.
- DUCLUZEAU R. (1997). Composition et rôle de la flore du tube digestif de l'homme et des animaux domestiques. *Publications de l'académie d'agriculture de France*, 83(1) : 1-204.
- DUPUY, C. P. (2004). Accidents alimentaires d'origines bactériennes liées à la consommation du lait et des produits laitiers, Th de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard (Lyon), 164P.
- DURAND G. et MONSSON P. (1982). Enzymes : production et utilisation industrielle. Ed. Gowthier-Villars, France, 268P.
- DUVAL-IFTAH Y., OURIET M.F., MOREAU C., DANIEL N., GALIBAN J.C. et RAIBAUD P. (1982). Implantation précoce d'une souche d'*E.coli* dans l'intestin de nouveau-nés humains : effet de barrière vis-à-vis de souche d'*E.coli* antibiorésistantes. *Ann. Microbiology* (Institut Pasteur), 133A : 393-408.
- EKLEINMAN R. et PENNEZ F. (2003). L'alimentation et l'intolérance au lactose, causes, conseils. <http://www.swissmilk.ch/F/alimentation/soin/allergie/intolerance/pc.dijon.fr/pedugo/99reu.B.htm>
- EMOND L. (2004). Conseils nutritionnels, intolérance au lactose. <http://www.servicevie.com/02santé/intoleranceaulactose/l/63%/alimentsprivilegiéetaeviter/C.lactoseetsanté-20/santé.html>.
- F.A.O. (2002). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Chapitre 5 : Lait fermentés. *Collection FAO/ Alimentation et Nutrition*, 28, 7P.
- FLATZ G. (1987). Genetics of lactose digestion in human. *Adv. Hum.Genet*, 16: 1-77.

- FIL (Fédération internationale du lait (1996). Lait et produits laitiers, préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique, document 122 C.
- FOLLIGUET M. et DEDRY G. (2001). Lait et santé bucco dentaire. In/ Nutrition et santé. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 188P.
- FOOTS L.J., FULLER R. et GIBSON. G.R. (1999). Prebiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9: 53-61.
- FORTUM-LAMOTHE L., GIDENNE T. (2003). Productions animales. INRA, 16(1): 40-42.
- FRANCE E. (2002). Le lactose., 13p, <http://www.sanslactose.com> .
- GARVIE E.I., COLE C.B., FULLER R et HEWITT D. (1984). The effect of yogurt on some components of the gut microflora and on the metabolism of lactose in the rat. *J. Appl. Bacteriol.* 56: 237-245.
- GIVRY, L. (2006). Optimisation de la fermentation lactique sur sirop de son de blé et purification d'une arabinose isomérase de *Lactobacillus bif fermentans*, Th de doctorat, Université de Champagne Ardenne Reims, 184P.
- GOODNOUGH E.L. et KLEYN D.H. (1976). Influence of viable yogurt microflora on digestion of lactose by the rat. *Journal of Dairy Science*, 59(4): 601-606.
- GUIRAUD J.P. (1998). Microbiologie alimentaire dunod, paris, 435-440.
- GUYOT P. (1992). Les yaourts D.L.G. , *Food Tec.* 4: 8-11.
- HAMMA S., NICOLETTI C. and SADOUD D. (2008). The effect of fermented milk with *Bifidobacterium infantis* on intestinal disorder in the case of antibiotherapy with amoxicillin and contamination with enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Afr. J. of Biothec.*, Vol.7(22): 4181-4191.
- HARDIE J.M. (1986). Other Streptococci. In " Bergy's manuel systematic bacteriology". Vol. 2: 1068-1071.
- HARGROVE R.E. et ALFORT J.A. (1978). Growth rate and feed efficiency rats fed yogurt and other fermented milks. *Journal of Dairy Science*, 61: 11-19.
- HEYMAN M. (2000). Effect of lactic bacteria on diarrheal diseases. *J. Am. College Nutr.*, 19: 137-146.
- HOLZAPFEL W.H., HABERER P., SNEL J., SCHILLINGER U., HUIS IN'T., VELD J.H.J., (1998): Overview of gut flora and probiotics. *International journal of food microbiology*, 41, 85 – 101.
- HOVE H., NORGDARD H., BROBLEC H., MOTESSEN P. (1999). Lactic acid bacteria and the gastrointestinal tract. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 53: 339-350.
- HUSSEIN L., ELSAYED S. et FODA S. (1989). Reduction of lactose milk by purified lactose produced by *Kluyveromyces lactis*. *J. Food Protection*, 52: 30-35.
- HUTKINS R.W et MORRIS H.A. (1987). Carbohydrate metabolism by *streptococcus thermophilus*. *Int. Food protection*, 50: 876-884.
- HICKY M.W., HILLIER A.J. et JACO J.R. (1986). Transport and metabolism of lactose, glucose and galactose. In « Homofermentation Lactobacillii ». *Appl. Emerson Microbial.*, 51: 825-831.

- IFN (Institut Français pour la Nutrition) (2008). Allergies et intolérances alimentaires – Mise au point n°2.
- IGA (2002). Le yaourt : bénéfiques pour la santé d'une consommation régulière de yaourt ou de fromage frais. *Le cyber conseiller*, 1-4.
- ITOH T., MOHNASHI T., TOBA T., ADACHI S. (1980). Purification and properties of beta-galactosidase from *Lactobacillus bulgaricus*. *Michwissence half*, 35: 593-597.
- JACOB R., ZIMMER K.P., NAIM H., NAIM H.Y. (1997). The apical sorting of lactose-phlorizin hydrolase implicates sorting sequences found in the mature domain. *Eur.J.Cell.Biol.*, 72: 54-60.
- JAMUNA M. and JEEVARATNAM K. (2004). Isolation and characterisation of bacteriocins from *Pediococcus* species. *Appl. Microbiol. And Biotechnol.*, vol 65(4): 433-439.
- JAY M. (2003). Clinical importance of lactase deficiency. *Neth. Engl.J. Med.* <http://www.pmj.bmjournals.com/content/full/81/953/167>.
- JENESS R., HOLT C. (1987). Casein and lactose concentrations. *Experientia*, 43: 1009-1015.
- JIN L.Z., HO Y.W., ABDULLAH N., JALLALUDIN S. (1998). Acid and bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. *Letters in applied Microbiology*, 27: 183-185.
- JOFFIN J.N., LEYRAL G. (1996). Microbiologie technique. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, Bordeaux, France, 219 - 223.
- JOHNSON A O., SEMENYA J.G., BUCHOWSKI M.S., ENWONWU C.O., SCRIMSHAW N.S. (1993). Adaptation of lactose maldigesters to Continued milk intakes *Am.J.Clin.Nutr.* 58 : 879-881.
- KANDLER O. et WEISS N. (1986). Genre *Lactobacillus* Beijesink 601-212. in « Bergy's manuel of systematic bacteriology, Vol.2, 1209-1234.
- KLEBLING G., SCHNEIDER J. , JAHRELS G (2002). Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 56 : 843-849.
- KOLARS J.C., LEVITT M.D., AOUJ J. et SAVAIANO P.A. (1984). Yogurt – an autodigesting source of lactose. *N. Engl. J. Med.*, 310 : 1-3.
- LACROIX C. et LACHANCE O. (1990). Effect of various humefactants and schell like during cold storage of yoghourt. *Food.Sci. and Tec.*, 2(3): 101-108.
- LALOUX J. (2002). Lait de vache et santé. P 11, [http// :www.lactel.fr](http://www.lactel.fr)
- LEBAS F. (2004). Composition chimique du lait de lapine : évolution en fonction du stade de lactation. *Cuniculture magazine*, 31 : 84 – 91.
- LECLERC H. (1983). Microbiologie générale. Ed. Doin, Paris, 156P.
- LECLEIRE S. (2008) : Digestion et absorption des nutriments. Vol.1, Ed: Masson, Paris, 45 – 50.
- LE COQ R. (1965). Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelle., Ed. Doin – Bern et Cie, Paris, 1-487

- LIN W.J. S., SAVAIANO D.A., HARLANDER S.K. (1989). A method for determining #-galactosidase activity of yogurt cultures in skim milk. *J. Dairy sci.*, 72(9): 339-351.
- LIN H.C., SU B.H., CHEN A.C., LIN T.W., TSAI C.H., YE H T.F., OH W. (2005). Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 115, 1-4.
- LOMER M. C., PARKES G. C et SANDERSON J. D. (2008). Lactose intolerance in clinical practice - myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther.*, 27(2) : 93-103
- LOONES A. (1989). Modification de la composition du lait durant la fermentation du yoghourt. *Les laits fermentés : actualité de la recherche*, 129-137.
- LOONES A. (1994). Les laits fermentés par les bactéries lactiques. Bactéries lactiques. coord. Lorica edition, Paris, 2: 135-154.
- LUPIEN L. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, 272P.
- Luquet f.m., (1986) : Bactéries lactiques. In : Lait et produits laitiers (vache- chèvre- brebis). Vol. 2. Ed. Tech et Doc. Lavoisier et Apria, Paris, 77-115.
- LUQUET, F.M., (1990). Les produits laitiers transformation et technologie: Vache, brebis, chèvre. Vol.2, 2<sup>ème</sup> Ed . Tec et doc Lavoisier, Paris, 382-384.
- LUQUET, F.M., (1993). Lait et produits laitiers (vache- chèvre- brebis). Qualité, énergie et table de composition. Tome 3, Ed. Tec et doc Lavoisier, Paris, 198P.
- LUQUET F.M., CORRIEU G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Lavoisier, Paris, 267P.
- LUQUET F.M., CORRIEU G. (2008). Bactéries lactiques De la génétique aux ferments – Lavoisier , Paris, 378P.
- LYNN B J. (2004). Génétique médicale. Ed : Elsevier Masson, Paris, 163 P.
- MAHAUT, M., JEANKET, R., SCHUCK, P., BRULE, G. (2000). Les produits industriels laitiers . Ed Tec et Doc. , Lavoisier, Paris, 234P.
- MAHONEY R.R. et ADAMCHUK G. (1998). Effect of milk on the hydrolysis of lactose by lactase from *Kluyveromyces fragilis*. *J. Food. Sci.*, 54: 962-968.
- MARCELLI G., PAPALEO E., FERRARI A. (2004). *Lactobacilli* for prevention of urogenital infections. *European Review of medicine and Pharmacology Sciences*, 8: 87 -95.
- MARTEAU P; FLOURIE B; POCHART P., CHASTANG C., DESJEUXES J.F and RAMBAUD J.C. (1990). Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghourt on the intestinal absorption of lactose, an in vivo study in lactase deficient humans. *The British journal of nutrition*, 64, 71-79.
- MARTEAU P.and RAMBAUD J.C. (1998). Probiotiques en gastroenterologie: bases nutritionnelles, effets démontrés et perspectives. *Hépto-Gastro*, 5(4) : 15P.
- MARTEAU A. et MARTEAU P. (2005). Entre intolérance au lactose et maldigestion. *Cah. Nutr. Diet.*, 40 (Suppl. 1) : S20-S23.
- MARTEAU P. (2007). Probiotiques et santé. *Réalités Nutrition*, (3) :35-38.

- MARTINI M.C., SMITH D.E., SAVIANO D.A. (1987). Lactose digestion from flavoured and frozen yogurts, ice milk, and ice cream by lactase deficient person. *Am. J. Clin. Nutr.*, **46**: 636-640.
- MASSON P. et PHAARMS M.R. (2001). Probiotics and prebiotics. *Pharmaceutical Journal*. Vol 266 (7132) : 118-121.
- MASSON P. (2002). Biochimie : base biochimique de la diététique. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 193P.
- MATARAGAS M., DROSINOS E.H. and METAXOPOULOS J. (2003). Antagonistic activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* in sliced cooked cured pork shoulder stored under vacuum or modified atmosphere at  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . *Food Microbiology*, vol **20**(2): 259-265.
- MATHIEN, J. (1998). Guide technologique des IAA : Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec et doc. Lavoisier, Paris, 13-18.
- MATTHEWS B.M., JACOBSON R. H., ZHANG, R. F. (1994). *Nature.*, 761#766. <http://www.uoxray.uoregon.edu/matthews.html> .
- MEDINA M. (2000). Diversity of bacteriocins produced by lactic bacteria isolated from grows milk. *J. Dairy Pr.*, **10**: 7-15.
- MEZAINI A., CHEHIB N., DILMI BOURAS A., NEDJAR-ARROUME N. and HORNEZ J.P. (2009). Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *J. of Envir. and public health*, vol 2009: 1-6.
- MOLL R. et SPILLER W. (1994). Schachmatt den allegien. Ed. Schnitzer, 84P.
- MOREAU M.C. NUYTS V., RAIBAUD P. (1994). Effet de l'ingestion d'un lait fermenté sur la stimulation de l'immunité chez la souris axénique. *Cah. Nut. Diet.*, **XXIX** (6): 341-347.
- MOYNIHAN P.J., GOULD M., HUNTLEY N., THORMAS S. (1996). Effect of glucose polymers in water, milk and milk substitutes on plaque pH *in vitro*. *Inter. J. Pead. Dent.*, **6**: 10-24.
- MOYNIHAN P.J. (1998). Update on the nomenclature of carbohydrates and their dental effects. *Inter. J. Pead .Dent.*, **3**: 209-212.
- NAIM H.Y. (200). Molecular and cellular aspects and regulation of intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *Histology and Histopathology*, **16**: 553-561.
- NOVEL G. (1993). les bactéries lactiques In: microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Ed: lavoisier, Paris, 172-329.
- OUWEHAND A.C. (1998). Antimicrobial components from lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 2<sup>nd</sup> Edition, Marcel Dekker: 139-160.
- OYETAYO V.O., ADETUYI F.C., AKINYOSOYE FA. (2003). Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent *in vivo*. *African Journal of Biotechnology*, **24** (11), 446 - 452.
- PACINI N., FERRARI A., CANZI E. et BIANCHI-SALVADORI B.(1979). Microflore intestinale et son action sur les transformations biliaires chez les souris alimentées avec du yoghourt. *Le lait*, **589-590** : 615-624.

- PEARCE J. (1996). Effects of milk and fermented dairy products on the blood cholesterol - content and profile of mammals in relation to coronary heart disease. *Int. Dairy J.*, 6: 661-672.
- PEDROSA M.C., GOLNER B.B., GOLDIN B.R., BARAT S., DALLAL G. et RUSSEL R.M. (1995). Survival of yogurt containing organisms and *Lactobacillus gasseri* (ADH) and their effect on bacterial enzyme activity in the gastrointestinal tract of healthy and hypochlorhydric elderly subjects. *Am. J. Lin. Nutr.*, 61 : 353-359.
- PIAIA Martine (1991). Survie de la flore lactique dans l'estomac. *Journal of Dairy Science*, 74: 409-413.
- PIAIA Martine, ANTOINE J.M., MATEOS-GUARDIA J.A., LEPLINGARD A. and WIJNKOOP I.L. (2003). Assessment of the benefits of live yogurt: Methods and markers for *in vivo* studies of physiological effects of yogurt cultures. *Microbial ecology in health and disease*, 15: 79 -87.
- PIARD J.C. et DESMAZEAUD M. (1991). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. *Le lait*, 77: 125-145.
- PICQUE D., PERET B., LARILLE E. et CORIEV G. (1992). Caractérisation et classification des bactéries lactiques à partir de la mesure de leur cinétique d'acidification. Ed. Pebinsein-weiss, *U. Technol*, 25 : 121-186.
- POCHART P., DEWIT O. et DESJEUX P. (1989). Viable started culture #-galactosidase activity and lactose in duodenum after yoghurt ingestion in lactose deficient humans. *Ana. J. Clin. Nutr.* 49 : 828-831.
- PORTIER A., BOYAKA N.P., BOUGOUDOGO F., DUBARRY M., HUNEAU J.F., TOME D., DODIN A. et COSTE M. (1993). Fermented milks and increased antibody responses against cholera in mice. *Int. J. Immunother.*, 9: 217-224.
- POUGHEON S., GOURSAUD J. (2001). Le lait : Caractéristiques physicochimiques. Ed : Tec et Doc.,Lavoisier, Paris, 9-91.
- PREMI L., SANDINO W.E., ELLIKER P.R. (1972). Lactose hydrolysing enzymes of *Lactobacillus* species. *App. Microbiol.*, 24: 51-57.
- PRESCOTTE, L.M., HARLEY, J.P., KLEIN, D.A. (2003). Microbiologie. Vol.2, Ed: De Boeck, Bruxelles ,275-277.
- PUPHAN Z. (2003). Le rôle des produits laitiers probiotiques dans l'alimentation saine.,14P <http://www.Nestlé.ch/fr/press/dossier> .
- PURI P., RATTAN A., BIJLANI R.L., MAHAPATRA S.C. et NATH I. (1996). Splenic and intestinal lymphocyte proliferation response in mice fed milk or yogurt and challenged with *Salmonella typhimurium*. *Int. J. Food Sci.*, 47 : 391-398.
- PURWANDARI N., SHAH P. and VASILJEVIC T. (2007). Effect of exopolysaccharide – producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set- type yoghurt. *Int. Dairy J.*, Vol 17(11) : 1344-1352.
- IVANOVA I., MITEVA V. and STEFANOVA T.(1998). Characterisation of a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* 81. *Int. J. of food microbiology*, vol 87(3): 147-158.
- QUINTARD M. et GOUILLOTON B. (1996). Biochimie. Ed. Masson, Paris, 55-64.

- 
- RAISONNIER A. (2001). Cours de biologie génique. Université Pierre et Marie Curie, Faculté de médecine, Pitie sal Pêtriere, 71-73.
- RAUL F. (2001). Lait : Nutrition et santé – Lactose et intolérance au lactose. Ed : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 341-351.
- RAUL F. (2002). Bulletin d'information AIGX.3/2, 16P.  
<http://www.nidk.nih.gov/health/digest/pubs/lactose/lactose.htm>.
- RASIC J.L., KURMANN J.A. (1978). Yogurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparation. *Technical Dairy Publ. Ho use Distribution*, Copenhagen, Denmark, Vol1: 11-19.
- REASONNER J., MACULAN T.P., RAND A.G., THAYER W.R. (1981). Clinical studies with low lactose milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 54-60.
- ROBINSON R.K. (1988). Cultures for yoghurt their selection and use, *Dairy industry*, 53: 15-19.
- ROMAIN J., ROIGNANT M et GERAD B. (2000). Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière. Ed. Tec. Et Doc., Paris, 139-150.
- RYCHEN G. et SIMOES Nunes (1995). Effets des flores lactiques des produits laitiers fermentés: une base scientifique pour l'étude des probiotiques microbiens dans l'espèce porcine. *INRA Prod. Anim.*, 8(2): 97-104.
- SAHI T. (1994). Hydrolactasia and lactase persistence . *Scand. J. Gastroenterol.*, 29 : 1-6.
- SAHI T. (1997). Genetics and epidemiology of adulte type hypolactasia. *Scand. J. Gastroenterol.*, 202 (Suppl): 7-20.
- SALOFF-COSTE C.J. (1995). Les laits fermentés: effets sur le système immunitaire. *Danone world Newsletter*, 9 : 1-10.
- SALOFF-COSTE C.J. (1997). Microflore gastro-intestinale et laits fermentés. *Danone World Newsletter*, 9 : 1-10.
- SAMELIS J., MAUROGENAKIS F., METAXOPOULOS J. (1994). Characterisation of Lactic acid bacteria isolated from naturally fermented greek dry salami. *Int .J. Food. Microbiol.*, 23: 179-196.
- SANDERS M.E. (1994). Lactic acid bacteria as promoters of human health-functional food. Ed. Goldberg. London, Champan and hall, 332P.
- SAVAIANO D.A., ABDOU EL ANOUAR A., SMITH D.E. and LEWITT M.D. (1984). Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk and cultured milk in lactase deficient individuals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 1219-1223.
- SAVAIANO D.A., BOUSHEY C.J. et Mc ABE G.P. (2006). Lactose intolerance symptoms assessed by meta-analysis: a grain of truth that leads to exaggeration. *J. Nutr.*, 136(4): 1107-13
- SCHAAFSMA G. (1996). State of the art concerning probiotic strains in milk products. *Int. Dairy Fed. Nutr .Newsl*, 5: 23 -24.
- SCHAAFSMA G. (2008). Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human. *nutrition. Int Dairy J .*, 18 : 458 - 65
-

- SCHELLAAS S.M.(1993). Characterization of shine produced by bacterial starter cultures used in the manufacture of fermented dairy products. Th. PHD, University of Minnesota, USA, 143P.
- SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994). Fonctions et choix des bactéries lactiques en technologie laitière , in « bactéries lactiques », vol 1, Ed., Coord. Loric : 231-240.
- SCRIBAN R. (1999) .Biotechnologie.Vol.5, Ed : Tec. et Doc.,Lavoisier, Paris, (1042): 329-338.
- STEFEN A. (1979). Fabrication du fromage et la recherché fromagère, in « microbiologie alimentaire », Vol.2, aliments fermentés et fermentation alimentaire, 176P.
- SEHER D., NURAY N.U., BELMA S.A., ILKNUR K., CERNAL U., MELTEM N.A., BULENT E., SEMIH A. (2007). Protective effect of *Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus* B3 on intestinal enzyme activities after abdominal irradiation in rats .*Nutrition research* , 27, 300- 305.
- SEKI M., IGARASHI M., FUKUDA Y., SIMAMURA S., KAWASHIMA T. and OGASSA K. (1978). The effect of *Bifidobacterium* cultured milk on the regularity among aged. *Group. Nutr. Food* , 4: 379-387.
- SHERMAK M.A., SAAVDRA J.M., JACKSON T.L., HUANG S.S., BAYLESS T.M and PERMAN J.A.(1995). effect of yogurt on symptoms and kenetics of hydrogen production in lactose mal-absorbing children . *The American journal of clinical nutrition* , 62, 1003-1006.
- STEWART G.F. et AMERINE M.A. (1973). Introduction to food science and technology. Ed. Academie press, Paris, 256P.
- SUAREZ F. et SAVALIANO D.A. (1995). Lactose intolerance. *Food thecnol.*, 51 : 74-76.
- SYNDIFRAIS (1997). Yaourt, le lait fermenté. *Lait*, 77 : 321-358.
- Terre sylvie. (1986). Propriétés technologiques, nutritionnelles et physiologiques de *S. thermophilus* et *L. bulgaricus*. *Technique laitiere et marketing* ,1006, 26- 39.
- THOMSON A.B.R., PARE P., FEDORALE R.W.(2000°. Les principes fondamentaux de gastro-entérologie: flore normale de l'intestin grêle : 208-295.
- TOME E., TEIXEIRA P. and GIBBS P.A. (2006). Anti listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. *Food Microbiology*, vol 23(4): 399-405.
- TURGEON N. and MOINEAU S. (2001). Isolation and characterisation of a *Streptococcus thermophilus* plasmid closely related to the pMV158 family. *Plasmid*, vol 45(3): 171-183.
- VANGANSEN P. (1994). Biologie générale. Ed. Masson, Paris, 290P.
- VERMIER R.O., BATHELEMY F. et RAHE I. (1993). La fabrication du yaourt. *Service de presse Syndifrais*, 13P.
- VESA T., POCHART P., MARTEAU P.(2000). Pharmacokinetics of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826, *Lactobacillus fermentum* KLD and *Lactococcus lactis* MG 1363 in the humain gastrointestinal tract. *Aliment pharmacol. Thes.*, 14 : 823-828.

- 
- VIDAILHET M. (2001). Glucides in « Lait nutrition et santé ». Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 274P.
- VIGNOLA C.L. (2002). Science et technologie du lait. Ed. ISBN, Canada, 345P.
- VIGNOLO G.M., SURIANI F., DE RUIZ HOLGADO A.P. and OLIVER G. (1993). Antibacterial activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry fermented sausages. *J. of Appl. Microbiol.*, vol 75(4): 344-349.
- VILLAKO K. et MAAROOS H. (1994). Clinical picture of hypolactasia and lactose intolerance scand. *J. Gastroenterol.*, 202: 36-54.
- WAKER H., KELLER P., FALCHETTO R. (1992). Localisation of the two catalytic sites in intestinal lactase, phlorizin hydrolase. *J.Biol.Chemin.*, 267 : 18744-18752.
- WARWICK S. (2000). Elevages, cultures et biotechnologies. Le péril écologique des cultures transgéniques. *Pour la science*, 26 (hors série) : 128-132.
- WANG Y., HARVEY C.B., HOLLOX E.J. (1998). The genetically programmed down regulation of lactose in children. *Gastroenterology*, 114: 1226-1230.
- WELL J. (1983). Biochimie. Ed. Masson, Paris, 265P.
- YORIKATSU Y., KOICHI W., AKITO M., YOKO T., RYUICHI T., MAKOTO O., MASAMI M., (1999) : Survival of probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: selective isolation from faeces and identification using monoclonal antibodies. *International journal of food microbiology*, 48, 51 – 57.
- ZOURARI A., ROGER S. et DESMAZEAUD M.J. (1991). Caractérisation des bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs : Souches de *Sc.thermophilus*. *Le lait*, 71(2): 445-461.
- ZOURARI A., ACCOLAS J.P., DESMAZEAUD M.J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria . *Le Lait*, 72, 1-34.

# ANNEXES

## Annexe 01

la composition moyenne pour 100g de poudre de lait « Celia »

Composition moyenne		100g de poudre de lait
Lactose	g	38.5
Lipides (minimum) Lécithine	g g	26.0 0.2
Protéine lactique	g	26.0
Mminéraux (maximum) Calcium Posphore Sodium Potassium	g mg mg mg mg	8.0 950.0 750.0 310.0 1200.0
Humidité (maximum)	g	3.0
Vitamines : A D B2 B12	UI UI mg mcg	1800.00 320.00 1.1 1.1

## Annexe 02

Tryptone	02,50 g
Peptone pepsique de viande	02,50 g
Peptone papainique de soja	05.00 g
B-Glécérophosphate de Na	19.00 g
Lactose	05.00 g
Extrait de levure	02,50 g
Extrait de viande	05.00 g
Sulfate de magnésium	00,25 g
Acide ascorbique	00,50 g
Agar	14.00 g

Le pH final prêt à l'emploi est de 7,1 à 25 °C

*Composition du milieu M17 Agar (g/L) TERZAGUI et SANDINE*

---

## Annexe 03

Tryptone	02,50 g
Peptone pepsique de viande	02,50 g
Peptone papainique de soja	05,00 g
B-Glécérophosphate de Na	19,00 g
Lactose	05,00 g
Extrait de levure	02,50 g
Extrait de viande	05,00 g
Sulfate de magnésium	00,25 g
Acide ascorbique	00,50 g

Le pH final prêt à l'emploi est de 7,1 à 25 °C

*Composition du milieu M17 Bouillon (g/L) TERZAGUI et SANDINE*

## Annexe 04

Peptone de caséine	10.00 g
Extrait de viande	08.00 g
Extrait de levure	04.00 g
D (-) Glucose	20.00 g
Di potassium hydrogénophosphate	02.00 g
Tween 80	01.00 g
Di-Ammonium hydrogénocitrate	02.00 g
Sodium acétate	05.00 g
Magnésium sulfate	00.20 g
Manganèse sulfate	00.40 g
Agar	14.00 g

Le pH final prêt à l'emploi est de  $5,7 \pm 0,1$  à  $25^{\circ}\text{C}$

*Composition du milieu MRS agar (g/L) (Man Rogosa Sharp)*

## Annexe 05

Peptone de caséine	10.00 g
Extrait de viande	08.00 g
Extrait de levure	04.00 g
D (-) Glucose	20.00 g
Di potassium hydrogénophosphate	02.00 g
Tween 80	01.00 g
Di-Ammonium hydrogénocitrate	02.00 g
Sodium acétate	05.00 g
Magnésium sulfate	00.20 g
Manganèse sulfate	04.00 g

Le pH final prêt à l'emploi est de  $5,7 \pm 0,1$  à  $25^{\circ}\text{C}$ .

*Composition du milieu MRS (g/L) bouillon*

## Annexe 06

la composition de réactif de Patain

Acide azotique (ou encore acide nitrique)	160 mL
Oxyde rouge de mercure	220 g
Lessive de soude	10 mL
Eau distillée	1000 mL

## Annexe 07

Dégradation du lactose en cultures pures des souches de *Streptococcus thermophilus* à  $37^{\circ}\text{C}$  (%).

## Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
<i>Sc.t 1 Sc.t 2</i>	00 ± 0.3 00	28.03 ±	35.83 ±	42.06 ±	48.72 ±
<i>Sc.t 3 Sc.t 4</i>	+ 0.1 00	1.3 32.01 ±	1.0 39.11 ±	1.1 46.88 ±	1.0 52.00 ±
<i>Sc.t 5 Sc.t 6</i>	+ 0.1 00	1.8 42.00 ±	1.5 54.04 ±	1.5 57.16 ±	1.6 63.72 ±
	+ 0.2 00 ±	1.0 38.00 ±	1.2 45.15 ±	0.9 49.67 ±	1.0 56.68 ±
	0.2 00 ± 0.3	2.1 48.04 ±	1.8 54.48 ±	2.0 66.32 ±	1.8 72.28 ±
		1.5 27.01 ± 1.3	1.1 33.63 ± 0.8	1.2 39.23 ± 1.0	1.0 44.14 ± 1.0

## Annexe 08

Dégradation du lactose en cultures pures des souches de *Lactobacillus bulgaricus* à 37°C (%).

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
<i>Lb.b 1 Lb.b 2</i>	00 ± 0.1 00	24.23 ±	32.63 ±	41.81 ±	50.77 ±
<i>Lb.b 3 Lb.b 4</i>	+ 0.1 00	1.8 31.01 ±	1.6 47.41 ±	1.6 57.38 ±	1.8 67.71 ±
<i>Lb.b 5 Lb.b 6</i>	+ 0.3 00	2.0 25.32 ±	1.8 33.05 ±	1.5 43.16 ±	1.6 55.83 ±
	+ 0.1 00 ±	1.3 28.50 ±	1.2 40.22 ±	1.3 49.55 ±	1.1 58.22 ±
	0.3 00 ± 0.2	1.8 36.00 ±	1.5 52.58 ±	2.0 63.18 ±	1.8 71.64 ±
		1.1 23.00 ± 2.2	1.3 30.34 ± 1.8	1.2 39.93 ± 1.7	1.0 48.11 ± 2.0

## Annexe 09

Dégradation du lactose en cultures mixtes (Yaourts) à 37°C (%).

Temps (h) Yaourts	0	3	6	24	48
YSLB1 YSLB2 YSLB3 YSLB4 YSLB5	00 ± 0.1 00	75.65 ±	84.28 ±	92.16 ±	95.03 ±
	+ 0.1 00	1.5 81.91 ±	1.9 90.44 ±	1.6 96.22 ±	1.4 98.25 ±
	+ 0.3 00 ±	2.1 76.08 ±	2.1 83.17 ±	1.5 90.69 ±	1.6 93.19 ±
	0.1 00 ± 0.2	1.7 80.33 ±	1.5 87.22 ±	1.8 94.11 ±	1.3 96.37 ±
		1.8 69.50 ±	1.5 76.34 ±	2.1 85.25 ±	1.5 90.17 ±
		1.9	1.4	1.6	1.5

## Annexe 10

Evolution de l'acidité Dornic des souches de *Streptococcus thermophilus* à 37°C (Moyenne ± 1°D).

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
Sc.t 1 Sc.t 2	14 14 14 14	12 12 29 39 35 43	20 36 46 40 51	27 43 55 49 61	35 48 63 54 70 41
Sc.t 3 Sc.t 4					
Sc.t 5 Sc.t 6					

## Annexe 11

Evolution de l'acidité Dornic des souches de *Lactobacillus bulgaricus* à 37 °C (moyenne  $\pm$  1°D).

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
Lb.b 1 Lb.b 2	14 14 14 14	12 21 20 25 27 37	22 44 34 38 52	29 67 52 59 73	76 92 80 86 98 70
Lb.b 3 Lb.b 4					
Lb.b 5 Lb.b 6					

## Annexe 12

Evolution de l'acidité Dornic des yaourts locaux à 37 °C (moyenne  $\pm$  1°D).

Temps (h) Yaourts	0	3	6	24	48
YSLB1 YSLB2 YSLB3 YSLB4	7 18 25 73	73 85 78 85	78 78 76 91 101 88 96 82	131 145 127 139	151 163 145 157 139

## Annexe 13

Evolution de l'acidité Dornic des souches de *Streptococcus thermophilus* à 4°C (Moyenne  $\pm$  1°D).

Temps (j) souches	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Sc.t 1 Sc.t 2	14 14 14	24 25 30 27 28	27 28 32 37 33 36	33 35 35 42 34 39	47 47 45 50 46 47	54 46 45 50 46 45	57 56 48 46 53	58 51 66 41	
Sc.t 3 Sc.t 4									
Sc.t 5 Sc.t 6									

## Annexe 14

## Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose

Evolution de l'acidité Dornic des souches de *Lactobacillus bulgaricus* à 4°C (Moyenne ± 1°D).

Temps (j) souches	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Lb.b 1 Lb.b 2	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14
Lb.b 3 Lb.b 4	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14
Lb.b 5 Lb.b 6	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14	14 14

## Annexe 15

Evolution de l'acidité Dornic des yaourts locaux à 4 °C (moyenne ± 1°D).

Temps (j) Yaourts	0	2	4	6	8	10	12	14	16
YSLB1 YSLB2	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB3 YSLB4	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB5 YSLB6	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB7 YSLB8	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB9 YSLB10	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB11 YSLB12	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB13 YSLB14	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB15 YSLB16	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB17 YSLB18	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB19 YSLB20	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB21 YSLB22	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB23 YSLB24	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB25 YSLB26	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB27 YSLB28	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB29 YSLB30	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB31 YSLB32	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB33 YSLB34	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB35 YSLB36	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB37 YSLB38	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB39 YSLB40	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB41 YSLB42	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB43 YSLB44	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB45 YSLB46	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB47 YSLB48	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB49 YSLB50	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB51 YSLB52	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB53 YSLB54	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB55 YSLB56	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB57 YSLB58	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB59 YSLB60	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB61 YSLB62	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB63 YSLB64	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB65 YSLB66	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB67 YSLB68	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB69 YSLB70	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB71 YSLB72	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB73 YSLB74	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB75 YSLB76	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB77 YSLB78	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB79 YSLB80	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB81 YSLB82	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB83 YSLB84	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB85 YSLB86	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB87 YSLB88	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB89 YSLB90	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB91 YSLB92	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB93 YSLB94	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB95 YSLB96	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB97 YSLB98	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75
YSLB99 YSLB100	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75	75 75

## Annexe 16

Evolution de la croissance des souches de *Streptococcus thermophilus* à 37°C (Moyenne de Cellules / mL)

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
Sc.t 1 Sc.t 2	1.21 x	3.32 x	5.00 x	7.23 x	9.13 x
Sc.t 3 Sc.t 4	10 <sup>7</sup> 1.30 x	10 <sup>7</sup> 3.48 x	10 <sup>7</sup> 5.18 x	10 <sup>7</sup> 8.16 x	10 <sup>7</sup> 1.16 x
Sc.t 5 Sc.t 6	10 <sup>7</sup> 1.43 x	10 <sup>7</sup> 2.16 x	10 <sup>7</sup> 6.80 x	10 <sup>7</sup> 3.16 x	10 <sup>8</sup> 6.38 x
	10 <sup>7</sup> 1.35 x	10 <sup>7</sup> 3.20 x	10 <sup>7</sup> 7.80 x	10 <sup>8</sup> 3.73 x	10 <sup>8</sup> 7.12 x
	10 <sup>7</sup> 1.26 x	10 <sup>7</sup> 2.90 x	10 <sup>7</sup> 7.11 x	10 <sup>8</sup> 4.12 x	10 <sup>8</sup> 8.54 x
	10 <sup>7</sup> 0.32 x	10 <sup>7</sup> 0.97 x 10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup> 1.42 x 10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup> 4.32 x 10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup> 6.15 x 10 <sup>7</sup>
	10 <sup>7</sup>				

## Annexe 17

Evolution de la croissance des souches de *Lactobacillus bulgaricus* à 37°C.(Moyenne de Cellules / mL).

Temps (h) Souches	0	3	6	24	48
<i>Lb.b</i> 1 <i>Lb.b</i> 2	2.33 x	2.63 x	9.58 x	4.68 x	2.33 x
<i>Lb.b</i> 3 <i>Lb.b</i> 4	$10^7$ 1.93 x	$10^7$ 2.03 x	$10^7$ 8.63 x	$10^9$ 1.66 x	$10^{10}$ 1.10 x
<i>Lb.b</i> 5 <i>Lb.b</i> 6	$10^7$ 1.62 x	$10^7$ 1.84 x	$10^7$ 7.12 x	$10^9$ 8.63 x	$10^{10}$ 5.88 x
	$10^7$ 1.88 x	$10^7$ 2.17 x	$10^7$ 8.88 x	$10^8$ 3.39 x	$10^9$ 2.08 x
	$10^7$ 2.20 x	$10^7$ 2.61 x	$10^7$ 9.37 x	$10^9$ 5.32 x	$10^{10}$ 3.16 x
	$10^7$ 1.35 x	$10^7$ 1.87 x $10^7$	$10^7$ 7.38 x $10^7$	$10^9$ 9.58 x $10^8$	$10^9$ 7.13 x $10^9$
	$10^7$				

## Annexe 18

Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à 37 °C (Moyenne de Cellules / mL).

Temps (h) Yaourts	0	3	6	24	48
YSLB1 YSLB2 YSLB3 YSLB4 YSLB5			1.20 x	3.60 x	6.20 x
	$10^7$ 3.46 x	$10^9$ 5.12 x	$10^{10}$ 1.00 x	$10^{12}$ 2.80 x	$10^{12}$ 4.30 x
	$10^7$ 3.23 x	$10^9$ 4.78 x	$10^{10}$ 9.54 x	$10^{12}$ 2.01 x	$10^{12}$ 3.10 x
	$10^7$ 2.63 x	$10^9$ 3.80 x	$10^9$ 7.07 x	$10^{12}$ 1.70 x	$10^{12}$ 2.10 x
	$10^7$ 2.29 x	$10^9$ 3.63 x	$10^9$ 6.30 x	$10^{12}$ 8.30 x	$10^{12}$ 9.61 x
	$10^7$	$10^9$	$10^9$	$10^{11}$	$10^{11}$

## Annexe 19

Evolution de la croissance des souches de *Streptococcus thermophilus* à 4°C. (Moyenne de Cellules / mL).

## Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose

Souches (j)	Temps	Sc.t 1	Sc.t 2	Sc.t 3	Sc.t 4	Sc.t 5	Sc.t 6
0 2 4 6 8 10	12.24	1.24 x 10 <sup>6</sup>	1.30 x 10 <sup>7</sup>	1.43 x 10 <sup>7</sup>	1.35 x 10 <sup>7</sup>	1.26 x 10 <sup>7</sup>	0.32 x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>7</sup> 2.53 x	10 <sup>7</sup> 2.83 x	10 <sup>7</sup> 3.66 x	10 <sup>7</sup> 4.03 x	10 <sup>7</sup> 3.93 x	10 <sup>7</sup> 1.22 x
		10 <sup>7</sup> 3.56 x	10 <sup>7</sup> 3.91 x	10 <sup>7</sup> 4.32 x	10 <sup>7</sup> 4.67 x	10 <sup>7</sup> 4.22 x	10 <sup>7</sup> 2.87 x
		10 <sup>7</sup> 3.86 x	10 <sup>7</sup> 4.22 x	10 <sup>7</sup> 5.12 x	10 <sup>7</sup> 4.92 x	10 <sup>7</sup> 3.83 x	10 <sup>7</sup> 1.07 x
		10 <sup>7</sup> 3.21 x	10 <sup>7</sup> 3.93 x	10 <sup>7</sup> 4.82 x	10 <sup>7</sup> 3.51 x	10 <sup>7</sup> 2.96 x	10 <sup>7</sup> 7.89 x
		10 <sup>7</sup> 1.92 x	10 <sup>7</sup> 2.51 x	10 <sup>7</sup> 3.60 x	10 <sup>7</sup> 2.11 x	10 <sup>7</sup> 2.05 x	10 <sup>6</sup> 4.60 x
		10 <sup>7</sup> 8.52 x	10 <sup>7</sup> 8.90 x	10 <sup>7</sup> 1.66 x	10 <sup>7</sup> 1.36 x	10 <sup>7</sup> 1.16 x	10 <sup>6</sup> 1.58 x
		10 <sup>6</sup> 4.80 x	10 <sup>6</sup> 5.12 x	10 <sup>7</sup> 8.83 x	10 <sup>7</sup> 8.46 x	10 <sup>7</sup> 8.11 x	10 <sup>6</sup> 8.73 x
		10 <sup>6</sup> 1.63 x	10 <sup>6</sup> 1.92 x	10 <sup>6</sup> 3.39 x	10 <sup>6</sup> 3.13 x	10 <sup>6</sup> 3.07 x	10 <sup>5</sup> 5.22 x
		10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>				

## Annexe 20

Evolution de la croissance des souches de *Lactobacillus bulgaricus* à 4°C. (Moyenne de Cellules / mL).

Souches (j)	Temps	Lb.b 1	Lb.b 2	Lb.b 3	Lb.b 4	Lb.b 5	Lb.b 6
0 2 4 6 8 10	12.24	1.24 x 10 <sup>6</sup>	1.93 x 10 <sup>7</sup>	1.62 x 10 <sup>7</sup>	1.88 x 10 <sup>7</sup>	2.20 x 10 <sup>7</sup>	1.35 x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>7</sup> 2.48 x	10 <sup>7</sup> 2.27 x	10 <sup>7</sup> 2.00 x	10 <sup>7</sup> 2.12 x	10 <sup>7</sup> 3.36 x	10 <sup>7</sup> 1.80 x
		10 <sup>7</sup> 5.33 x	10 <sup>7</sup> 4.92 x	10 <sup>7</sup> 3.82 x	10 <sup>7</sup> 4.22 x	10 <sup>7</sup> 5.56 x	10 <sup>7</sup> 3.55 x
		10 <sup>7</sup> 6.68 x	10 <sup>7</sup> 6.20 x	10 <sup>7</sup> 5.35 x	10 <sup>7</sup> 5.73 x	10 <sup>7</sup> 7.33 x	10 <sup>7</sup> 5.00 x
		10 <sup>7</sup> 6.60 x	10 <sup>7</sup> 6.20 x	10 <sup>7</sup> 5.30 x	10 <sup>7</sup> 5.66 x	10 <sup>7</sup> 7.28 x	10 <sup>7</sup> 4.88 x
		10 <sup>7</sup> 5.80 x	10 <sup>7</sup> 5.30 x	10 <sup>7</sup> 4.28 x	10 <sup>7</sup> 4.80 x	10 <sup>7</sup> 6.73 x	10 <sup>7</sup> 3.92 x
		10 <sup>7</sup> 3.66 x	10 <sup>7</sup> 3.28 x	10 <sup>7</sup> 2.67 x	10 <sup>7</sup> 2.83 x	10 <sup>7</sup> 4.37 x	10 <sup>7</sup> 9.60 x
		10 <sup>7</sup> 1.20 x	10 <sup>7</sup> 9.80 x	10 <sup>7</sup> 7.73 x	10 <sup>7</sup> 6.68 x	10 <sup>7</sup> 1.43 x	10 <sup>6</sup> 5.63 x
		10 <sup>7</sup> 8.63 x	10 <sup>6</sup> 5.38 x	10 <sup>6</sup> 1.78 x	10 <sup>6</sup> 1.28 x	10 <sup>7</sup> 8.99 x	10 <sup>6</sup> 1.08 x
		10 <sup>6</sup>					

## Annexe 21

Evolution de la croissance des ferments des yaourts locaux à 4 °C (Moyenne de Cellules / mL).

Yaourts Temps (j)	YSLB1	YSLB2	YSLB3	YSLB4	YSLB5
0 2 4 6 8 10 12	3.46 x	3.46 x	3.23 x	2.63 x	2.29 x
	10 <sup>7</sup> 7.84 x	10 <sup>7</sup> 7.28 x	10 <sup>7</sup> 6.93 x	10 <sup>7</sup> 6.48 x	10 <sup>7</sup> 5.73
	10 <sup>7</sup> 9.76 x	10 <sup>7</sup> 9.31 x	10 <sup>7</sup> 7.54 x	10 <sup>7</sup> 7.07 x	x10 <sup>7</sup> 6.28 x
	10 <sup>7</sup> 9.93 x	10 <sup>7</sup> 9.66 x	10 <sup>7</sup> 7.83 x	10 <sup>7</sup> 7.36 x	10 <sup>7</sup> 6.92 x
	10 <sup>7</sup> 7.56 x	10 <sup>7</sup> 7.17 x	10 <sup>7</sup> 5.72 x	10 <sup>7</sup> 5.18 x	10 <sup>7</sup> 4.78 x
	10 <sup>7</sup> 7.28 x	10 <sup>7</sup> 6.73 x	10 <sup>7</sup> 4.54 x	10 <sup>7</sup> 4.28 x	10 <sup>7</sup> 3.63 x
	10 <sup>7</sup> 4.71 x	10 <sup>7</sup> 4.18 x	10 <sup>7</sup> 3.78 x	10 <sup>7</sup> 3.19 x	10 <sup>7</sup> 2.30 x
	10 <sup>7</sup> 2.36 x	10 <sup>7</sup> 2.08 x	10 <sup>7</sup> 1.63 x	10 <sup>7</sup> 1.12 x	10 <sup>7</sup> 8.87 x
	10 <sup>7</sup> 8.86 x	10 <sup>7</sup> 8.30 x	10 <sup>7</sup> 7.63 x	10 <sup>7</sup> 7.18 x	10 <sup>6</sup> 5.57 x
	10 <sup>6</sup>				

## Annexe 22

Détermination de l'activité lactasique chez le lapin (D.O) en fonction de la dose de lactose ingéré (Moyenne).

Temps (Semaines) Groupes	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
G1 G2 G3 G4 G5	0.592	0.239	0.528	0.228	0.259	0.293	0.244

## Annexe 23

Amélioration de l'activité lactasique chez le lapin (D.O) avec arrêt de la supplémentation (16\* jours) en lait et en yaourt (Moyenne).

Régimes Temps (j)	RS	RS + Lait	RS + Lait + YSLB1
0 4 8 12 16* 20 24	0.229	0.231	0.228

## Annexe 24

Amélioration de l'activité lactasique chez le lapin (D.O) sans arrêt de la supplémentation en lait et en yaourt (Moyenne).

## Effet des bactéries lactiques locales du yaourt sur l'intolérance au lactose

Régimes Temps (j)	RS	RS + Lait	RS + Lait + YSLB1
0 4 8 12 16 20 24	0.229 0.231 0.228 0.224 0.224 0.224 0.228 0.221 0.310	0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225	0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225 0.225

## Annexe 25

Numération des bactéries dans l'estomac du lapin pendant et après arrêt (96\* heures) de la consommation des yaourts locaux (Moyenne de Cellules / mL).

Yaourts Temps (heures)	YSLB1	YSLB2	YSLB3
0 1 24 48 72 96* 120	0.00 1.69 ± 0.17 x	0.00 1.90 ± 0.13 x	0.00 1.31 ± 0.10 x
	10 <sup>7</sup> 1.69 ± 0.17 x	10 <sup>7</sup> 1.41 ± 0.15 x	10 <sup>7</sup> 1.00 ± 0.14 x
	10 <sup>7</sup> 4.26 ± 0.20 x	10 <sup>7</sup> 2.81 ± 0.22 x	10 <sup>7</sup> 1.86 ± 0.24 x
	10 <sup>7</sup> 1.07 ± 0.14 x	10 <sup>7</sup> 6.76 ± 0.16 x	10 <sup>7</sup> 3.80 ± 0.18 x
	10 <sup>8</sup> 7.41 ± 0.10 x	10 <sup>7</sup> 1.09 ± 0.14 x	10 <sup>7</sup> 9.54 ± 0.12 x
	10 <sup>8</sup> 6.60 ± 0.18 x	10 <sup>8</sup> 1.99 ± 0.15 x	10 <sup>7</sup> 4.67 ± 0.12 x
	10 <sup>5</sup> 1.04 ± 0.10 x	10 <sup>5</sup> 3.38 ± 0.12 x	10 <sup>4</sup> 1.47 ± 0.14 x
	10 <sup>3</sup> 1.31 ± 0.09 x	10 <sup>2</sup> 1.58 ± 0.10 x	10 <sup>2</sup> 1.04 ± 0.07 x
	10 <sup>2</sup> 0.00	10 <sup>1</sup> 0.00	10 <sup>1</sup> 0.00

## Annexe 26

Numération des bactéries dans le duodénum du lapin pendant et après arrêt (96\* heures) de la consommation des yaourts locaux (Moyenne de Cellules / mL).

Yaourts Temps (heures)	YSLB1	YSLB2	YSLB3
0 2 24 48 72 96* 120	0.00 1.68 ± 0.08 x	0.00 4.16 ± 0.06 x	0.00 3.16 ± 0.11 x
	10 <sup>6</sup> 3.98 ± 0.10 x	10 <sup>6</sup> 2.13 ± 0.13 x	10 <sup>6</sup> 1.41 ± 0.09 x
	10 <sup>8</sup> 5.01 ± 0.12 x	10 <sup>8</sup> 3.31 ± 0.10 x	10 <sup>8</sup> 2.18 ± 0.14 x
	10 <sup>8</sup> 6.02 ± 0.07 x	10 <sup>8</sup> 3.89 ± 0.09 x	10 <sup>8</sup> 2.75 ± 0.11 x
	10 <sup>8</sup> 8.50 ± 0.09 x	10 <sup>8</sup> 6.02 ± 0.11 x	10 <sup>8</sup> 4.26 ± 0.13 x
	10 <sup>8</sup> 3.16 ± 1.20 x	10 <sup>8</sup> 1.65 ± 1.18 x	10 <sup>8</sup> 8.31 ± 1.16 x
	10 <sup>6</sup> 1.69 ± 0.07 x	10 <sup>6</sup> 8.12 ± 0.11 x	10 <sup>5</sup> 2.29 ± 0.10 x
	10 <sup>4</sup> 3.23 ± 0.08 x	10 <sup>3</sup> 9.54 ± 0.06 x	10 <sup>3</sup> 6.76 ± 0.13 x
	10 <sup>3</sup> 4.16 ± 0.10 x	10 <sup>2</sup> 1.69 ± 0.13 x	10 <sup>2</sup> 1.20 ± 0.15 x
	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>

## Annexe 27

Numération des bactéries dans le gros intestin du lapin pendant et après arrêt (96\* heures) de la consommation des yaourts locaux (Moyenne de Cellules / mL).

Yaourts Temps (heures)	YSLB1	YSLB2	YSLB3
0 3 24 48 72 96* 120	0.00 1.68 ± 0.07 x	0.00 2.29 ± 0.09 x	0.00 1.31 ± 0.05 x
	10 <sup>5</sup> 2.39 ± 0.10 x	10 <sup>5</sup> 1.62 ± 0.12 x	10 <sup>5</sup> 1.20 ± 0.14 x
	10 <sup>6</sup> 5.62 ± 0.08 x	10 <sup>6</sup> 3.63 ± 0.06 x	10 <sup>6</sup> 1.86 ± 0.08 x
	10 <sup>6</sup> 7.76 ± 0.03 x	10 <sup>6</sup> 5.37 ± 0.06 x	10 <sup>6</sup> 2.88 ± 0.08 x
	10 <sup>7</sup> 9.77 ± 0.05 x	10 <sup>7</sup> 5.75 ± 0.08 x	10 <sup>7</sup> 3.38 ± 0.07 x
	10 <sup>7</sup> 7.41 ± 1.20 x	10 <sup>7</sup> 4.78 ± 1.00 x	10 <sup>7</sup> 3.63 ± 1.20 x
	10 <sup>6</sup> 5.24 ± 0.09 x	10 <sup>6</sup> 3.71 ± 0.05 x	10 <sup>6</sup> 2.63 ± 0.10 x
	10 <sup>5</sup> 2.18 ± 0.08 x	10 <sup>5</sup> 1.65 ± 0.09 x	10 <sup>5</sup> 1.41 ± 0.06 x
	10 <sup>3</sup> 2.39 ± 0.03 x	10 <sup>3</sup> 1.90 ± 0.07 x	10 <sup>3</sup> 1.12 ± 0.05 x
	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>