

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : **2 729 156**  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **95 00162**

⑤1 Int Cl<sup>6</sup> : C 12 N 1/20, B 09 B 3/00, C 05 F 3/00(C 12 N 1/20,  
C 12 R 1:225, 1:07)

①2

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 09.01.95.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 12.07.96 Bulletin 96/28.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : COBIOTEX SOCIETE A  
RESPONSABILITE LIMITEE — FR.

⑦2 Inventeur(s) : PENAUD JEAN.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : CABINET ORES.

⑤4 COMPLEXES BACTERIENS ET LEURS APPLICATIONS AU TRAITEMENT DES RESIDUS D'ORIGINE  
BIOLOGIQUE.

⑤7 Complexes bactériens, aptes à être utilisés dans la di-  
gestion, la décomposition et la transformation des résidus  
d'origine biologique sous forme de biomasse et de compo-  
sés organiques stables et non polluant et leurs applications  
au traitement des déchets d'origine biologique, tels que dé-  
jections (litières de porcs, de ruminants, d'équidés ou de  
volailles ou lisiers) ou purins, cadavres, eaux stagnantes et  
leur transformation en compost ou autres composés azotés  
stables, biodégradables et non polluants.

Ledit complexe bactérien comprend au moins un Bacillus  
et au moins un Lactobacillus, utilisant comme source  
d'azote, au moins de l'azote minéral, notamment l'ammo-  
niaque, les nitrates, les nitrites et éventuellement des molé-  
cules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les ami-  
noacides et les bases azotées et autres composés azotés.

FR 2 729 156 - A1



La présente invention est relative à des complexes bactériens, aptes à être utilisés dans la digestion, la décomposition et la transformation des résidus d'origine biologique sous forme de biomasse et de  
5 composés organiques stables et non polluants et à leurs applications au traitement des déchets d'origine biologique, tels que déjections (litières de porcs, de ruminants, d'équidés ou de volailles ou lisiers) ou purins, cadavres, eaux stagnantes et leur transformation en  
10 compost ou autres composés azotés stables, biodégradables et non polluants.

Les organismes hétérotrophes utilisent les composés azotés, dont les protéines végétales ou animales, comme sources nutritives et restituent l'azote à la  
15 terre par leurs excréta ou par les produits de décomposition post-mortem, principalement sous forme d'ammoniaque ou d'urée qui sont transformés en nitrites et en nitrates par des bactéries nitrifiantes présentes dans le sol, telles que *Nitrosomonas* ou *Nitrobacter*.

20 Or, une production importante de composés azotés sous forme gazeuse ou liquido-solide, tels que ammoniac, ammoniacque, nitrites et nitrates, constitue une cause importante de pollution atmosphérique, des sols, des cours d'eau et des nappes phréatiques. Tous ces processus de destruction entraînent la formation de composés  
25 d'odeurs particulièrement nauséabondes ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  notamment...).

On connaît des procédés de traitement des lisiers, des litières ou d'eaux résiduaires, qui font  
30 intervenir une culture bactérienne et des enzymes, ou une culture bactérienne, des enzymes et des levures, notamment pour diminuer les dégagements d'ammoniac et les odeurs, particulièrement au moment des manipulations et de l'épandage (lisier). De telles compositions contiennent en particulier comme bactérie : *Bacillus subtilis*,  
35 comme enzymes : batinase et amylase et comme levures :

*Saccharomyces cerevisiae* (Demande de Brevet français 2 658 077).

Toutefois, les compositions connues pour traiter les déjections ne permettent pas la transformation de l'azote minéral ( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  et  $\text{NO}_3$ ) en azote organique (aminoacides et protéines), mais ne font que diminuer les dégagements d'ammoniac, par adsorption ou solubilisation. De telles transformations n'entraînent pas une réorganisation de l'azote, par son utilisation au niveau du métabolisme azoté des microorganismes.

En conséquence, un traitement efficace des produits d'origine biologique est nécessaire et crucial pour permettre la transformation de l'azote minéral ( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  et  $\text{NO}_3$ ) en azote organique (aminoacides et protéines), pour éviter la pollution et remettre les déchets dans le circuit de l'anabolisme.

Pour résoudre ce problème, la Demanderesse a sélectionné des complexes bactériens, qui permettent essentiellement la transformation de l'azote minéral en azote organique, sous la forme de protéines bactériennes (stabilisation de l'azote et augmentation de la biomasse), c'est-à-dire qui permettent la transformation des déjections, en composés azotés (compost et/ou composés azotés stables) et, particulièrement pour les déchets ayant un rapport C/N suffisant (en relation avec le taux de matière sèche), en composés riches en acides fulviques et humiques, et non polluants, par digestion et transformation des déjections, tout en éliminant les germes pathogènes associés (*Clostridium*, *Bacteroides*, colibacilles, *Listeria*, salmonelles).

La présente invention a pour objet un complexe bactérien, caractérisé en ce qu'il comprend essentiellement au moins un *Bacillus* et au moins un *Lactobacillus*, utilisant comme source d'azote, essentiellement de l'azote minéral, notamment l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et des molécules d'azote organique telles

que l'urée, les urates, les aminoacides, les bases azotées ou tout autre composé azoté de faible poids moléculaire.

De manière inattendue, une telle combinaison  
5 *Bacillus/Lactobacillus* permet effectivement de remettre les déchets dans le circuit de l'anabolisme (organisation en chaîne trophique).

Selon un mode de réalisation avantageux dudit complexe bactérien, il comprend au moins un *Bacillus*  
10 sélectionné dans le groupe constitué par *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* et *B. circulans* et au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum* et *L. acidophilus*.

15 Conformément à l'invention, les proportions *Lactobacillus:Bacillus*, dans ledit complexe, sont comprises, selon les cas, soit entre 100:1 et 1:100, de préférence entre 10:1 et 1:10, soit de 1:1.

Conformément à l'invention, les concentrations  
20 en bactéries sont comprises entre  $10^2$  et  $10^8$  ufc/g.

Ledit complexe bactérien comprend avantageusement au moins un *Bacillus*, à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et au moins un *Lactobacillus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g. Un tel  
25 complexe bactérien trouve, de préférence application au traitement des litières de ruminants, d'équidés ou de porcs.

Selon une disposition avantageuse dudit mode de réalisation, ledit complexe bactérien comprend au  
30 moins *B. subtilis* à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, et *L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

35 Selon une autre disposition avantageuse dudit complexe, il comprend les 5 *Bacillus* suivants :

*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*,  
*B. licheniformis* et *B. circulans*, chacun à une concentra-  
tion comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et les 4 *Lactobacil-*  
*lus* suivants : *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*,  
5 *L. acidophilus*, chacun à une concentration comprise entre  
 $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

De manière avantageuse, lorsque ledit complexe  
bactérien comprend plusieurs *Bacillus* et/ou plusieurs  
*Lactobacillus*, les différentes souches d'un même genre  
10 (*Bacillus* ou *Lactobacillus*) sont dans un rapport compris  
entre 1:1 et 1:100.

Dans un autre mode de réalisation dudit com-  
plexe bactérien, il comprend, de préférence, au moins un  
*Bacillus* utilisant comme source d'azote, les urates,  
15 notamment *B. subtilis* à une concentration minimale de  
 $10^3$  ufc/g, éventuellement un autre *Bacillus*, sélectionné  
dans le groupe constitué par *B. amyloliquefaciens*,  
*B. megaterium*, *B. licheniformis* et *B. circulans* et au  
moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe consti-  
20 tué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*,  
*L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^2$  et  
 $10^8$  ufc/g. Un tel complexe bactérien est particulièrement  
bien adapté au traitement des litières de volailles ou  
d'autres monogastriques (à l'exception du porc).

25 Dans un autre mode de réalisation dudit com-  
plexe bactérien, il comprend, de préférence, au moins un  
*Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L.*  
*rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* et  
au moins un *Bacillus* sélectionné dans le groupe constitué  
30 par *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*,  
*B. licheniformis* et *B. circulans*, le rapport *Lactobacil-*  
*lus*:*Bacillus* étant compris entre 1:1 et 1:10. Un tel  
complexe bactérien est particulièrement bien adapté au  
traitement des lisiers, des lagunes ou des fosses septi-  
35 ques.

Dans un autre mode de réalisation dudit complexe bactérien, il comprend, de préférence, les 2 *Bacillus* suivants : *B. subtilis* et *B. megaterium*, chacun à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g. Un tel complexe bactérien est notamment particulièrement bien adapté au traitement des cadavres d'animaux.

De manière surprenante, l'association d'au moins un *Bacillus* et d'au moins un *Lactobacillus*, tels que définis ci-dessus, permet effectivement d'obtenir un complexe bactérien qui :

- 15 - transforme des résidus fécaux, urinaires ou autres déchets d'origine biologique, en protéines bactériennes, par voie de synthèse bactérienne, c'est-à-dire en utilisant l'azote minéral provenant des différents déchets, soit directement, soit par dégradation ;
- 20 - désodorise le fumier ;
- peut dénitrifier des milieux divers et/ou de l'eau ;
- accélère de manière significative le compostage, sans destruction de la matière et à basses températures (inférieures à  $45^{\circ}\text{C}$ ).

Une telle sélection de souches n'entraîne, en outre, pas de perte d'azote au cours du temps (stabilisation du taux d'azote).

En outre, le complexe bactérien conforme à l'invention est stable au cours du temps.

La présente invention a également pour objet des souches de *Bacillus* à Gram+, aptes à être utilisées dans un complexe bactérien tel que défini ci-dessus, caractérisées :

- 35 - en ce qu'elles utilisent comme source d'azote, essentiellement de l'azote minéral, notamment

l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et des molécules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les aminoacides, les bases azotées ou d'autres composés azotés de faible poids moléculaire,

5 - en ce qu'elles appartiennent aux *Bacillus* sélectionnés dans le groupe constitué par *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*,

10 - en ce qu'elles présentent au moins l'une des activités suivantes : activité amylolytique, activité cellulasique, activité lignocellulasique, activité pectinolytique, activité de type bactériocine ou bactériocine-like,

15 - en ce qu'elles présentent au moins les caractéristiques biochimiques suivantes : gélatinase +, catalase +, uréase -, oxydase -, indole -, et

- en ce qu'elles sont de préférence aérobies/anaérobies facultatives.

20 La présente invention a également pour objet des souches de *Lactobacillus* à Gram+, aptes à être utilisées dans un complexe bactérien tel que défini ci-dessus, caractérisées :

25 - en ce qu'elles utilisent comme source d'azote, essentiellement de l'azote minéral, notamment l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et des molécules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les aminoacides, les bases azotées ou d'autres composés azotés de faible poids moléculaire,

30 - en ce qu'elles appartiennent aux *Lactobacillus* sélectionnés dans le groupe constitué par *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus fermentum*,

- en ce qu'elles présentent au moins une activité de type bactériocine ou bactériocine-like,

- en ce qu'elles présentent avantageusement au moins les caractéristiques biochimiques suivantes : catalase -, oxydase - et

- en ce qu'elles sont de préférence aérobies/anaérobies facultatives.

De manière inattendue, ces bactéries, présentant de telles caractéristiques, agissent en synergie pour rendre les produits traités en leur présence, sous une forme utile et réduisent ainsi les inconvénients, gênes, voire pollution desdits produits, à des niveaux  
10 sanitaire­ment acceptables pour les sols, les cultures et l'ensemble de la chaîne alimentaire et participent donc favorablement au traitement des déchets.

Lesdites souches de *Bacillus* ont été déposées  
15 auprès de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM), en date du 8 juin 1994, pour ce qui concerne *Bacillus subtilis*, sous les numéros I-1433, I-1438 et I-1440, pour ce qui concerne *Bacillus amyloliquefaciens*, sous les numéros I-1434 et I-1435, pour ce qui  
20 concerne *Bacillus megaterium*, sous le numéro I-1436, pour ce qui concerne *Bacillus licheniformis* sous le numéro I-1437 et pour ce qui concerne *Bacillus circulans*, sous le numéro I-1439.

Lesdites souches de *Lactobacillus* ont été  
25 déposées auprès de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM), en date du 28 juillet 1994, pour ce qui concerne *Lactobacillus rhamnosus* sous les numéros I-1450, I-1452, I-1453, I-1454, I-1455, I-1456, I-1459, pour ce qui concerne *Lactobacillus paracasei*, sous les  
30 numéros I-1451, I-1457 et I-1458, pour ce qui concerne *Lactobacillus acidophilus*, sous le numéro I-1460, et pour ce qui concerne *Lactobacillus fermentum*, sous le numéro I-1461.

De manière avantageuse, le complexe bactérien  
35 selon l'invention est obtenu à partir desdites souches, comme suit :

- culture et production de chaque souche séparément,
- obtention de différentes cultures ayant chacune des concentrations en microorganisme de l'ordre de  
5  $10^{10}$ - $10^{11}$  ufc/g,
  - lyophilisation de chaque culture,
  - dilution, entre 1/100-1/1 000 000, de chacune desdites souches lyophilisées, en présence d'un diluant neutre (végétal ou minéral tel que l'argile,  
10 lithothamne-grit de maïs...), et
    - mélange des différentes souches ainsi diluées pour obtenir le complexe bactérien recherché.

Il peut, en outre, comprendre des additifs tels qu'un traceur chimique ou microbiologique.

15 La présente invention a également pour objet une composition de traitement de résidus biologiques (produit dilué prêt-à-l'emploi), caractérisée en ce qu'elle comprend en association un complexe bactérien conforme à l'invention, au moins un diluant neutre et au  
20 moins un fixateur de microparticules.

En effet, les complexes bactériens, tels que définis ci-dessus, constituent un concentré bactérien qui peut être, de préférence, fixé sur un support pour être utilisé pour le traitement des fumiers, lisiers,  
25 composts, cadavres....

De telles compositions comprennent donc avantageusement un diluant neutre, identique ou différent de celui utilisé pour préparer le complexe bactérien, et un fixateur de microparticules, tel que de la mélasse, qui  
30 joue à la fois le rôle d'élément énergétique et apporte un effet de collage des particules, des dérivés de l'amidon ou d'autres sucres (sucres complexes à dégradation lente), une huile ou une graisse d'enrobage.

De manière préférée, ladite composition comprend  
35 essentiellement 5-15 % de complexe bactérien, 80-89 % de diluant neutre et 3-5 % de fixateur de micro-

particules, de préférence 10 % de complexe bactérien, 87 % de diluant neutre et 3 % de fixateur de particules.

Ladite composition de traitement présente les mêmes applications que le complexe bactérien conforme à l'invention, à des concentrations inférieures mais efficaces.

Elle peut notamment être utilisée, par incorporation directe dans des litières, des lisiers ou tout autre produit organique à traiter [fumiers, déchets végétaux, déchets organiques (cadavres et déchets des abattoirs)], dans des proportions de 0,2 à 50 kg par tonne de produit organique.

Conformément à l'invention, les proportions de ladite incorporation varient selon l'application, en particulier :

- en ce qui concerne les litières : un complexe bactérien ou une composition de traitement conforme à l'invention, est incorporé(e) à la litière, à raison de 10 kg/t de paille ; un entretien hebdomadaire est préconisé à raison de 3 kg/t de paille ;

- en ce qui concerne les lisiers : un complexe bactérien ou une composition de traitement conforme à l'invention, est incorporé(e) aux lisiers, à raison de 100 g à 1 kg/t ; un entretien hebdomadaire est préconisé à raison de 100 g à 3 kg/t ;

- en ce qui concerne les fumiers à composter : un complexe bactérien ou une composition de traitement conforme à l'invention, est incorporé(e) aux fumiers à composter, à raison de 1 à 5 kg/t, en 1 fois ;

- en ce qui concerne les cadavres à composter : un complexe bactérien ou une composition de traitement conforme à l'invention, est incorporé(e) aux cadavres à composter, à raison de 1 à 10 kg/t, en 1 fois ;

- en ce qui concerne les lagunes : un complexe bactérien ou une composition de traitement conforme à

l'invention, est incorporé(e) aux lagunes, à raison de 500 g/m<sup>2</sup>, 1 fois tous les 3 mois ;

- en ce qui concerne les fosses septiques : un complexe bactérien ou une composition de traitement  
5 conforme à l'invention, est incorporé(e) aux fosses septiques, à raison de 100 g à 1 kg/t ; un entretien hebdomadaire est préconisé à raison de 100 g à 3 kg/t .

La présente invention a également pour objet un procédé de traitement de résidus biologiques, tels que  
10 les déjections, le fumier, les cadavres ou autres, caractérisé en ce qu'il comprend la mise en contact d'un complexe bactérien conforme à l'invention ou d'une composition telle que définie ci-dessus, avec un résidu biologique à traiter.

15 Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en oeuvre du procédé objet de la présente invention.

20 Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

**EXEMPLE 1 : Caractéristiques des *Bacillus* conformes à  
25 l'invention.**

Lesdites souches présentent les caractéristiques morphologiques et biochimiques illustrées aux Tableaux suivants :

| Caractéristiques            | <i>B. subtilis</i>                   |                  |   | <i>B. amyloliquefaciens</i>          |                  |
|-----------------------------|--------------------------------------|------------------|---|--------------------------------------|------------------|
|                             | ISB02                                | ISB09            | ISB12   | ISB04                                | ISB05            |
| Bacilles :                  | fins,<br>longs,<br>bouts<br>arrondis | petits<br>trapus | longs,<br>fins,<br>souvent<br>groupés<br>en pa-<br>lissades | taille<br>moyenne,<br>bouts<br>ronds | fins et<br>longs |
| Gram+ à spore sub-terminale |                                      | +                |   |                                      | +                |
| Milieu de culture préconisé | BNG                                  |                  |   | BNG                                  |                  |
| Mobilité                    |                                      | +                |   |                                      | +                |
| Temp. d'incubation          |                                      | 30°C             |   |                                      | 30°C             |
| Croissance : à 55°C         | +                                    | -                | -   | +                                    | -                |
| à 10°C                      |                                      | -                |   |                                      | -                |
| Croissance à 2% NaCl        | +++                                  |                  | +++   | +++                                  | +++              |
| 5% NaCl                     | +++                                  |                  | +++   | +++                                  | +++              |
| 7% NaCl                     | ++                                   |                  | +++   | ++                                   | +++              |
| 10% NaCl                    | -                                    |                  | +   | -                                    | +                |
| Citrate                     |                                      | +                |   |                                      | -                |
| Gélatinase                  |                                      | +                |   |                                      | +                |
| Nitrate                     |                                      | +                |   | +                                    | -                |
| N <sub>2</sub>              | +                                    | -                | -   |                                      | -                |
| Fermentation du glucose     |                                      | -                |   |                                      | -                |
| Catalase                    |                                      | +                |   |                                      | +                |
| Oxydase                     |                                      | -                |   |                                      | -                |
| Uréase                      |                                      | -                |   |                                      | -                |
| ONPG                        |                                      | +                |   |                                      | +                |
| Indole                      |                                      | -                |   |                                      | -                |
| Caséine                     | +                                    |                  | +   |                                      | +                |
| Acétoïne                    |                                      | +                |   |                                      | +                |
| ADH                         | +                                    | -                | +   |                                      | -                |

| Caractéristiques            | <i>B. megaterium</i><br>ISB 06 | <i>B. licheniformis</i><br>ISB 07 | <i>B. circulans</i><br>ISB 11     |
|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Bacilles :                  | moyens, à bouts ronds          | moyens                            | moyens, bouts ronds, assez trapus |
| Gram+ à spore sub-terminale | +                              | +                                 | +                                 |
| Milieu de culture préconisé | BNG                            | BNG                               | BNG                               |
| Mobilité                    | +                              | +                                 | +                                 |
| Temp. d'incubation          | 30°C                           | 30°C                              | 30°C                              |
| Croissance : à 55°C         | +                              | -                                 | -                                 |
| à 10°C                      | -                              | -                                 | +                                 |
| Croissance à 2% NaCl        | +++                            | +++                               | ++                                |
| 5% NaCl                     | +++                            | +++                               | +                                 |
| 7% NaCl                     | +++                            | ++                                | -                                 |
| 10% NaCl                    | +                              | -                                 | -                                 |
| Citrate                     | +                              | -                                 | -                                 |
| Gélatinase                  | +                              | +                                 | +                                 |
| Nitrate                     | +                              | +                                 | -                                 |
| N <sub>2</sub>              | -                              | -                                 | -                                 |
| Fermentation du glucose     | -                              | +                                 | -                                 |
| Catalase                    | +                              | +                                 | +                                 |
| Oxydase                     | -                              | -                                 | -                                 |
| Uréase                      | -                              | -                                 | -                                 |
| ONPG                        | +                              | +                                 | -                                 |
| Indole                      | -                              | -                                 | -                                 |
| Caséine                     | +                              | +                                 | -                                 |
| Acétoïne                    | -                              | +                                 | -                                 |
| ADH                         | -                              | +                                 | -                                 |

Les résultats des galeries API 50 CH donnant le profil de fermentation des sucres (caractères positifs après 48 h maximum d'incubation) (inoculation selon API) (point 2 dans l'échelle de MacFarland) sont illustrés aux figures 1 à 8.

**EXEMPLE 2 : Caractéristiques des *Lactobacillus* conformes à l'invention.**

10 Lesdites souches présentent les caractéristiques morphologiques et biochimiques illustrées aux Tableaux suivants :

| <b><i>Lactobacillus rhamnosus</i></b> |   |   |   |
|---------------------------------------|---|---|---|
| Caractéristiques                      | ISL01   | ISL05   | ISL10   |
| Bâtonnets                             | assez longs,<br>non sporulés,<br>parfois en<br>chaînettes | non sporulés,<br>taille<br>moyenne,<br>parfois en<br>chaînettes | non sporulés,<br>taille moyenne<br>à longue,<br>certains en<br>chaînettes |
| Gram+                                 | +   | +   | +   |
| Milieu de culture<br>préconisé        | MRS ou Rogosa   | MRS ou Rogosa   | MRS ou Rogosa   |
| Mobilité                              | -   | -   | -   |
| Temp. d'incubation                    | 30°C  | 37°C  | 37°C  |
| Croissance : à 15°C                   | +   | +   | +   |
| à 45°C                                | +   | +   | +   |
| Fermentation du glu-<br>cose          | homofermen-<br>taire                                      | homofermen-<br>taire  | homofermen-<br>taire  |
| Catalase                              | -   | -   | -   |
| Oxydase                               | -   | -   | -   |

| <b><i>Lactobacillus rhamnosus</i></b> |  |                                      |   |                                      |
|---------------------------------------|--|--------------------------------------|---|--------------------------------------|
| Caractéristiques                      | ISL20  | ISL21                                | ISL25                                       | ISL35                                |
| Bâtonnets                             | non sporu-<br>lés, taille<br>moyenne,<br>parfois en<br>chaînes | non sporu-<br>lés, taille<br>moyenne | non sporu-<br>lés,<br>parfois en<br>chaînes | non sporu-<br>lés, taille<br>moyenne |
| Gram+                                 | +  | +                                    | +   | +                                    |
| Milieu de culture<br>préconisé        | MRS ou<br>Rogosa   | MRS ou<br>Rogosa                     | MRS ou<br>Rogosa                            | MRS ou<br>Rogosa                     |
| Mobilité                              | -  | -                                    | -   | -                                    |
| Temp. d'incubation                    | 37°C   | 37°C                                 | 37°C  | 37°C                                 |
| Croissance : à 15°C                   | +  | +                                    | +   | +                                    |
| à 45°C                                | +  | +                                    | +   | +                                    |
| Fermentation du glu-<br>cose          | homofermen-<br>taire   | homofermen-<br>taire                 | homofermen-<br>taire                        | homofermen-<br>taire                 |
| Catalase                              | -  | -                                    | -   | -                                    |
| Oxydase                               | -  | -                                    | -   | -                                    |

| <b>Lactobacillus paracasei</b> |  |                     |                                 |
|--------------------------------|--|---------------------|---------------------------------|
| Caractéristiques               | ISL03                                      | ISL27               | ISL32                           |
| Bâtonnets                      | réguliers, non sporulés, de taille moyenne | longs, non sporulés | non sporulés, de taille moyenne |
| Gram+                          | +  | +                   | +                               |
| Milieu de culture préconisé    | MRS  | MRS ou Rogosa       | MRS ou Rogosa                   |
| Mobilité                       | -  | -                   | -                               |
| Temp. d'incubation             | 30°C                                       | 30°C                | 30°C                            |
| Croissance : à 15°C            | +  | +                   | +                               |
| à 45°C                         | +  | +                   | +                               |
| Fermentation du glucose        | homofermentaire                            | homofermentaire     | homofermentaire                 |
| Catalase                       | -  | -                   | -                               |
| Oxydase                        | -  | -                   | -                               |

| Caractéristiques            | <b>Lactobacillus acidophilus</b><br>ISL44        | <b>Lactobacillus fermentum</b><br>ISL102 |
|-----------------------------|--|--|
| Bâtonnets                   | non sporulés, assez longs, parfois en chaînettes | moyens, non sporulés, parfois par paires |
| Gram+                       | +  | +  |
| Milieu de culture préconisé | MRS ou Rogosa                                    | MRS ou Rogosa                            |
| Mobilité                    | -  | -  |
| Temp. d'incubation          | 30°C   | 37°C                                     |
| Croissance : à 15°C         | -  | -  |
| à 45°C                      | -  | +  |
| Fermentation du glucose     | homofermentaire                                  | hétérofermentaire                        |
| Catalase                    | -  | -  |
| Oxydase                     | -  | -  |

- 5 Les résultats des galeries API 50 CH donnant le profil de fermentation des sucres (caractères positifs après 48 h maximum d'incubation) (inoculation selon API) sont illustrés aux figures 9 à 20.

**EXEMPLE 3 : Activités des *Bacillus* et *Lactobacillus*.**

La sélection de souches présentant une activité enzymatique permet en particulier une digestion contrôlée des déjections.

5                   1) Activités enzymatiques :

## \* Activité protéolytique :

Pour la majorité des tests, les activités enzymatiques sont mises en évidence sur le milieu minimum de base (MMB), à base d'agar, pour les souches de  
10 *Bacillus* et sur le milieu Rogosa, pour les souches de *Lactobacillus*.

Les souches sont ensemencées en stries sur le milieu MMB ou le milieu Rogosa, tous deux additionnés de 1 % (poids/volume) de lait écrémé en poudre, riche en  
15 caséine susceptible d'être hydrolysée.

Après une incubation de 24 heures à l'étuve à 30°C pour les *Bacillus* et de 5 jours en étuve anaérobie, à 37°C pour la flore lactique, la présence d'une activité protéolytique se traduit par une clarification du  
20 milieu, due à l'hydrolyse de la caséine.

## \* Activité amylolytique :

Comme précédemment, les souches bactériennes sont ensemencées en stries sur les deux milieux additionnés de 1 % (poids/volume) d'amidon de blé insoluble.  
25 Après incubation dans les mêmes conditions que ci-dessus, l'activité amylolytique se traduit par une clarification du milieu autour des colonies disposées en stries, due à l'hydrolyse de l'amidon.

## \* Activité cellulolytique :

30 Le protocole est le même que pour la recherche de l'activité amylolytique. Le substrat carboné utilisé est la carboxyméthylcellulose.

## \* Hydrolyse de l'acide urique :

Le principe est le même que pour la dégrada-  
35 tion de l'amidon, l'acide urique est additionné à une concentration de 1 % (poids/volume), l'hydrolyse de

l'acide urique se traduit par une clarification du milieu.

Le Tableau ci-après illustre les résultats et les produits de réaction obtenus :

5

|                                      | Présence urée | uréase | présence ammoniacque |
|--------------------------------------|---------------|--------|----------------------|
| <i>B. subtilis</i> (ISB02)           | +/-           | +/-    | +/-                  |
| <i>B. amylolique-faciens</i> (ISB04) | -             | -      | ++                   |
| <i>B. amylolique-faciens</i> (ISB05) | +/-           | +/-    | ++                   |
| <i>B. megaterium</i> (ISB06)         | -             | -      | ++                   |
| <i>B. licheniformis</i> (ISB07)      | -             | +/-    | ++                   |
| <i>B. subtilis</i> (ISB09)           | -             | +      | +                    |
| <i>B. circulans</i> (ISB11)          | -             | -      | -                    |
| <i>B. subtilis</i> (ISB12)           | -             | -      | +/-                  |

Ces résultats montrent qu'à l'exception de la souche ISB11, l'ensemble des *Bacillus* sont capables de dégrader l'acide urique jusqu'à l'ammoniacque.

10

\* Hydrolyse de l'urée :

L'hydrolyse de l'urée se visualise en utilisant le milieu de Stuart. Ce milieu contient un indicateur coloré : le rouge de phénol qui vire du jaune au rose foncé dans tout le tube, lorsque l'urée est hydro-

15

lysée.

\* Activité lipolytique :

Les différentes souches sont ensemencées sur un milieu tributyrine agar. Avant utilisation les milieux, répartis en tubes, sont agités afin de mettre en

20 émulsion la tributyrine, puis coulés en boîte de Pétri. Après incubation dans les conditions précisées ci-dessus, l'hydrolyse de la tributyrine se visualise par un éclaircissement du milieu autour de la colonie.

Le Tableau ci-après illustre les différentes activités précisées ci-dessus.

**Bacillus**

| Code  | NO <sub>1</sub> | NO <sub>2</sub> | Urée | Act. Amylo-litique | Act. Protéo-lytique | Act. Lipoly-tique | 55°C | 60°C | Anaé-robie/aérobie facultative |
|-------|-----------------|-----------------|------|--------------------|---------------------|-------------------|------|------|--------------------------------|
| ISB02 | +               | -               | +    | +                  | +                   | +                 | +    | +    | +                              |
| ISB04 | +               | -               | -    | +                  | +                   | +                 | -    | -    | +                              |
| ISB05 | +               | -               | -    | +                  | +                   | +                 | -    | -    | +                              |
| ISB06 | +               | -               | -    | +                  | +                   | +                 | -    | -    | +                              |
| ISB07 | +               | -               | -    | +                  | +                   | +                 | -    | -    | +                              |
| ISB09 | +               | -               | -    | +                  | +                   | +                 | -    | -    | +                              |
| ISB11 |                 |                 | -    | +                  | +/-                 | +/-               |      |      | -                              |
| ISB12 |                 |                 | -    | +                  | +                   | +                 |      |      | -                              |

5 Les différents bacilles présentent en outre d'autres activités enzymatiques répertoriées dans le Tableau ci-après :

| Activités enzymatiques               | Xylanase | CMCase | Cellulase | Kératinase | Pectinase |
|--------------------------------------|----------|--------|-----------|------------|-----------|
| <i>B. subtilis</i> (ISB02)           | +        | +      | -         | ++         | +         |
| <i>B. amylolique-faciens</i> (ISB04) | +        | +      | +/-       | +          | +         |
| <i>B. amylolique-faciens</i> (ISB05) | +        | +      | -         | -          | ++        |
| <i>B. megaterium</i> (ISB06)         | +        | +      | +/-       | -          | +         |
| <i>B. licheniformis</i> (ISB07)      | +        | +      | -         | -          | +/-       |
| <i>B. subtilis</i> (ISB09)           | +        | +      | +/-       | -          | +         |
| <i>B. circulans</i> (ISB11)          | +        | +      | ++        | -          | -         |
| <i>B. subtilis</i> (ISB12)           | +        | +      | +/-       | -          | -         |

Les *Lactobacillus* sélectionnés ne présentent pas d'activité amylolytique, protéolytique ou lipolytique.

2) Activité du type bactériocine et bactériocine-like :

La recherche de substances inhibitrices est effectuée pour toutes les souches sélectionnées.

Les bactériocines sont des protéines d'origine plasmidique, dont la particularité est d'avoir une activité bactéricide, dirigée contre les bactéries de la même espèce ou d'espèces homologues. Les souches productrices de bactériocines possèdent un gène d'immunité contre leur propre bactériocine. On parle d'activité bactériocine-like pour les activités bactéricides dirigées contre les bactéries hétérologues.

La sélection de souches capables de produire des substances de type bactériocine, inhibitrices est réalisée par l'observation sur boîte de Pétri, d'un éclaircissement autour d'une colonie bactérienne. Cet éclaircissement correspond à l'inhibition des bactéries pathogènes présentes dans la gélose, par les souches sélectionnées.

Les bactéries pathogènes utilisées pour cette recherche sont :

- *Escherichia coli* (sérotypage O78K82)
- *Salmonella enteritidis*
- *Salmonella typhimurium*
- *Staphylococcus aureus*
- *Clostridium perfringens*
- *Clostridium septicum*
- *Listeria monocytogenes*.

Il s'agit des principaux pathogènes rencontrés dans les litières contaminées.

Les milieux utilisés pour la culture des bactéries pathogènes sont répertoriés dans le Tableau ci-après.

## Milieux de culture des bactéries pathogènes

| Souches                      | Milieu liquide | Milieu gélosé   |
|------------------------------|----------------|-----------------|
| <i>Escherichia coli</i>      | BNL            | BNG             |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | BNL            | BNG             |
| <i>Salmonella</i>            | BNL            | BNG             |
| <i>Clostridium</i>           | Bouillon RCM   | Gélose RCM      |
| <i>Listeria</i>              | Tryptose       | Tryptose gélosé |

Les *Lactobacillus* sont producteurs d'acide lactique, qui est la principale source d'inhibition *in vitro* des bactéries pathogènes.

Pour neutraliser ce facteur, du milieu Rogosa tamponné à pH 6,1, avec un tampon phosphate est utilisé pour la culture des *Lactobacillus*.

Après ensemencement des différentes souches de *Lactobacillus* et incubation, 8h à 37°C, en anaérobiose, chaque colonie est recouverte avec une goutte de milieu spécifique de la bactérie pathogène à tester.

20 ml de milieu gélosé des souches pathogènes spécifiques additionnés de 5 ml d'une culture bactérienne pathogène, sont coulés dans la boîte.

La lecture des boîtes de Pétri s'effectue après 24h d'incubation à 37°C.

La taille des zones d'inhibition produite est mesurée ; le diamètre d'inhibition calculé correspond à la différence entre le diamètre de la zone d'inhibition et le diamètre de la colonie de *Lactobacillus*. Les résultats sont illustrés au Tableau ci-après.

**Lactobacillus**

| Code   | <i>S. enteritidis</i> | <i>S. typhimurium</i> | <i>E. coli</i> K82 | <i>Listeria</i> ½ a | <i>Listeria</i> ½ b | <i>Listeria</i> ½ c |
|--------|-----------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| ISL01  | 9                     | 6                     | 8                  | 9                   | 11                  | 8                   |
| ISL03  | 15                    | 8                     | 9                  | -                   | -                   | -                   |
| ISL05  | 6                     | 4                     | 2                  | -                   | 15                  | 15                  |
| ISL10  | 7                     | 8                     | 8                  | -                   | 13                  | 11                  |
| ISL20  | -                     | -                     | 2                  | 8                   | 23                  | 15                  |
| ISL21  | -                     | -                     | 18                 | -                   | 9                   | -                   |
| ISL25  | 7                     | 8                     | -                  | -                   | 16                  | -                   |
| ISL27  | 10                    | 12                    | 12                 | -                   | -                   | -                   |
| ISL32  | 8                     | -                     | 8                  | -                   | 18                  | 15                  |
| ISL35  | 10                    | 5                     | 5                  | -                   | 12                  | 22                  |
| ISL44  | 12                    | 5                     | 6                  | 7                   | 6                   | 8                   |
| ISL102 | 8                     | 0                     | 0                  | 8                   | 0                   | 10                  |

Pour l'étude de l'action bactériocine des  
5 *Bacillus*, les conditions sont les suivantes :

10 10 ml de milieu PCA sont coulés dans des boîtes de Pétri ; des cultures de 24 heures des souches de *Bacillus* sélectionnées sont repiqués en spot ; après 24 h d'incubation à 30°C, la gélose est décollée avec une spatule stérile et retournée dans une boîte de Pétri de 9 cm de diamètre ; 20 ml de milieu gélosé spécifique des souches pathogènes additionnées de 5 ml d'une pré-culture de ces mêmes bactéries sont coulés dans la boîte de Pétri.

15 La lecture des boîtes de Pétri s'effectue après 24 h d'incubation, comme précisé ci-dessus pour les *Lactobacillus*.

Le Tableau ci-après illustre les résultats obtenus.

**Bacillus**

| Code  | <i>Clostridium perfringens</i><br>Ø mm | <i>Clostridium septicum</i><br>Ø mm | <i>E. coli</i> 078K82<br>Ø mm | <i>Salmonella enteritidis</i><br>Ø mm | <i>Salmonella typhimurium</i><br>Ø mm | <i>Listeria</i> |
|-------|--|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| ISB2  | 13                                     | 0                                   | 0                             | 0                                     | 0                                     | 0               |
| ISB4  | 19                                     | 9                                   | 2                             | 2                                     | 7                                     | 0               |
| ISB5  | 20                                     | 22                                  | 8                             | 5                                     | 4                                     | 0               |
| ISB6  | 12                                     | 8                                   | 5                             | 7                                     | 5                                     | 0               |
| ISB7  | 9                                      | 12                                  | 4                             | 8                                     | 6                                     | 0               |
| ISB9  | 18                                     | 11                                  | 0                             | 0                                     | 0                                     | 0               |
| ISB11 | 0                                      | 0                                   | 0                             | 0                                     | 0                                     | 0               |
| ISB12 | 10                                     | 0                                   | 0                             | 0                                     | 0                                     | 14              |

Aucune des souches sélectionnées, ne manifeste une activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Par contre ces différentes souches sélectionnées présentent des spectres d'inhibition particulièrement intéressants ainsi que toutes les activités enzymatiques recherchées.

10

3) CMI de différents facteurs de croissance :a) *Bacillus* :

| facteur de croissance<br>(µg/ml)             | flavo-<br>mycine | tylan  | stafac | sacox  | monen<br>-sin | avotan | spira-<br>mycine |
|--|------------------|--------|--------|--------|---------------|--------|------------------|
| code   |                  |        |        |        |               |        |                  |
| <i>B. subtilis</i><br>(ISB02)                | >10              | 2,5    | 5      | 2,5    | >10           | <0,625 | >10              |
| <i>B. amylolique-<br/>faciens</i><br>(ISB04) | >10              | 5      | >10    | 1,25   | >10           | <0,625 | 10               |
| <i>B. amylolique-<br/>faciens</i><br>(ISB05) | >10              | <0,625 | 5      | 2,5    | >10           | <0,625 | 10               |
| <i>B. megaterium</i><br>(ISB06)              | 10               | 2,5    | 10-5   | 2,5    | >10           | <0,625 | 10               |
| <i>B. licheni-<br/>formis</i><br>(ISB07)     | >10              | 2,5    | >10    | 2,5    | >10           | <0,625 | 2,5              |
| <i>B. subtilis</i><br>(ISB09)                | 10               | 2,5    | 5-2,5  | 2,5    | 10            | <0,625 | 10               |
| <i>B. circulans</i><br>(ISB11)               | <0,625           | 1,25   | 1,25   | <0,625 | >10           | <0,625 | 5                |
| <i>B. subtilis</i><br>(ISB12)                | >10              | 10-5   | 10     | 1,25   | >10           | <0,625 | 10               |

b) *Lactobacillus* :

| facteur de croissance<br>(µg/ml) | flavo-<br>mycine | tylan | stafac | sacox | monen<br>-sin | avotan | spira-<br>mycine |
|----------------------------------|------------------|-------|--------|-------|---------------|--------|------------------|
| code                             |                  |       |        |       |               |        |                  |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL01)   | 5-2,5            | <2,5  | <2,5   | 2-1   | <2,5          | 40-20  | <5               |
| <i>L. paracasei</i><br>(ISL03)   | 10-5             | <2,5  | <2,5   | 4-2   | 20-10         | R      | <5               |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL05)   | 40-20            | <2,5  | 5-2,5  | 2-1   | 5-2,5         | R      | <5               |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL10)   | 10-5             | <2,5  | 5-2,5  | 2-1   | 5-2,5         | R      | <5               |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL20)   | 20-10            | <2,5  | <2,5   | <1    | 20-10         | R      | R                |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL21)   | 10-5             | <2,5  | <2,5   | <1    | 20-10         | R      | <5               |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL25)   | 20-10            | <2,5  | <2,5   | 4-2   | 5-2,5         | R      | <5               |
| <i>L. paracasei</i><br>(ISL27)   | 10-5             | <2,5  | <2,5   | 4-2   | 5-2,5         | R      | <5               |
| <i>L. paracasei</i><br>(ISL32)   | R                | <2,5  | 20-10  | R     | R             | R      | <5               |
| <i>L. rhamnosus</i><br>(ISL35)   | R                | <2,5  | 10-5   | 16-8  | 40-20         | R      | <5               |
| <i>L. acidophilus</i><br>(ISL44) | 40-20            | 20-10 | 40-10  | R     | R             | R      | 20-10            |
| <i>L. fermentum</i><br>(ISL102)  | R                | <2,5  | 10-5   | 8-4   | 40-20         | R      | <5               |

Ces résultats montrent que les souches de *Lactobacillus* testées sont plus résistantes que les souches de *Bacillus* ; on note une forte inhibition des souches de *Bacillus* par l'avotan et le sacox, les CMI respectives étant <0,625 et de 1,25.

La souche de ISL44 est résistante à la majorité des facteurs de croissance.

10 **EXEMPLE 4 : Complexe bactérien pour litière de ruminants et de porcs.**

|                             | Complexe 1<br>(ufc/g)  | Complexe 2<br>(ufc/g)  | Complexe 3<br>(ufc/g)  | Complexe 4<br>(ufc/g)  |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <i>B. subtilis</i>          | ISB02 10 <sup>2</sup>  | ISB02 10 <sup>4</sup>  | ISB02 10 <sup>4</sup>  | ISB02 10 <sup>5</sup>  |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> | ISB05 10 <sup>2</sup>  | ISB05 10 <sup>4</sup>  | ISB05 10 <sup>4</sup>  | ISB05 10 <sup>5</sup>  |
| <i>B. megaterium</i>        | ISB06 10 <sup>2</sup>  | ISB06 10 <sup>4</sup>  | ISB06 10 <sup>4</sup>  | ISB06 10 <sup>5</sup>  |
| <i>B. licheniformis</i>     | ISB07 10 <sup>2</sup>  | ISB07 10 <sup>4</sup>  | ISB07 10 <sup>4</sup>  | ISB07 10 <sup>5</sup>  |
| <i>B. circulans</i>         | ISB11 10 <sup>2</sup>  | ISB11 10 <sup>4</sup>  | ISB11 10 <sup>4</sup>  | ISB11 10 <sup>5</sup>  |
| <i>L. rhamnosus</i>         | ISL20 10 <sup>3</sup>  | ISL20 10 <sup>4</sup>  | ISL20 10 <sup>5</sup>  | ISL20 10 <sup>6</sup>  |
| <i>L. paracasei</i>         | ISL32 10 <sup>3</sup>  | ISL32 10 <sup>4</sup>  | ISL32 10 <sup>5</sup>  | ISL32 10 <sup>6</sup>  |
| <i>L. fermentum</i>         | ISL102 10 <sup>3</sup> | ISL102 10 <sup>4</sup> | ISL102 10 <sup>5</sup> | ISL102 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. acidophilus</i>       | ISL44 10 <sup>3</sup>  | ISL44 10 <sup>4</sup>  | ISL44 10 <sup>5</sup>  | ISL44 10 <sup>6</sup>  |

**EXEMPLE 5 : Complexe bactérien pour litières de volailles.**

|                       | Complexe 5<br>(ufc/g) |                 | Complexe 6<br>(ufc/g) |                 | Complexe 7<br>(ufc/g) |                 |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| <i>B. subtilis</i>    | ISB02                 | 10 <sup>3</sup> | ISB02                 | 10 <sup>5</sup> | ISB02                 | 10 <sup>6</sup> |
| <i>B. circulans</i>   | ISB11                 | 10 <sup>3</sup> | ISB11                 | 10 <sup>5</sup> | ISB11                 | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. rhamnosus</i>   | ISL20                 | 10 <sup>2</sup> | ISL20                 | 10 <sup>4</sup> | ISL20                 | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. paracasei</i>   | ISL32                 | 10 <sup>2</sup> | ISL32                 | 10 <sup>4</sup> | ISL32                 | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. fermentum</i>   | ISL102                | 10 <sup>2</sup> | ISL102                | 10 <sup>4</sup> | ISL102                | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. acidophilus</i> | ISL44                 | 10 <sup>2</sup> | ISL44                 | 10 <sup>4</sup> | ISL44                 | 10 <sup>5</sup> |

5 **EXEMPLE 6 : Complexe bactérien pour lisiers et pour fosses septiques.**

|                             | Complexe 8<br>(ufc/g) |                 | Complexe 9<br>(ufc/g) |                 | Complexe 10<br>(ufc/g) |                 |
|-----------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| <i>B. subtilis</i>          | ISB02                 | 10 <sup>3</sup> | ISB02                 | 10 <sup>6</sup> | ISB02                  | 10 <sup>4</sup> |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> | ISB04                 | 10 <sup>3</sup> | ISB04                 | 10 <sup>6</sup> | -                      |                 |
| <i>B. megaterium</i>        | ISB06                 | 10 <sup>3</sup> | ISB06                 | 10 <sup>6</sup> | -                      |                 |
| <i>B. licheniformis</i>     | ISB07                 | 10 <sup>3</sup> | ISB07                 | 10 <sup>6</sup> | -                      |                 |
| <i>B. circulans</i>         | ISB11                 | 10 <sup>3</sup> | ISB11                 | 10 <sup>6</sup> | ISB11                  | 10 <sup>2</sup> |
| <i>L. rhamnosus</i>         | ISL20                 | 10 <sup>2</sup> | ISL20                 | 10 <sup>5</sup> | -                      |                 |
| <i>L. paracasei</i>         | ISL32                 | 10 <sup>2</sup> | ISL32                 | 10 <sup>5</sup> | -                      |                 |
| <i>L. fermentum</i>         | ISL102                | 10 <sup>2</sup> | ISL102                | 10 <sup>5</sup> | -                      |                 |
| <i>L. acidophilus</i>       | ISL44                 | 10 <sup>2</sup> | ISL44                 | 10 <sup>5</sup> | ISL44                  | 10 <sup>2</sup> |

10 **EXEMPLE 7 : Complexe bactérien pour fumier (←compost).**

|                             | Complexe 11<br>(ufc/g) |                 | Complexe 12<br>(ufc/g) |                 | Complexe 13<br>(ufc/g) |                 |
|-----------------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| <i>B. subtilis</i>          | ISB02                  | 10 <sup>3</sup> | ISB02                  | 10 <sup>2</sup> | ISB02                  | 10 <sup>4</sup> |
|                             | ISB12                  | 10 <sup>3</sup> | ISB04                  | 10 <sup>2</sup> | ISB04                  | 10 <sup>4</sup> |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> | ISB05                  | 10 <sup>3</sup> | ISB06                  | 10 <sup>2</sup> | ISB06                  | 10 <sup>4</sup> |
| <i>B. megaterium</i>        | ISB06                  | 10 <sup>3</sup> | ISB07                  | 10 <sup>2</sup> | ISB07                  | 10 <sup>4</sup> |
| <i>B. circulans</i>         | ISB11                  | 10 <sup>3</sup> | ISB11                  | 10 <sup>2</sup> | ISB11                  | 10 <sup>4</sup> |
| <i>L. rhamnosus</i>         | ISL35                  | 10 <sup>4</sup> | ISL20                  | 10 <sup>4</sup> | ISL20                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. paracasei</i>         | ISL32                  | 10 <sup>4</sup> | ISL20                  | 10 <sup>4</sup> | ISL20                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. fermentum</i>         | ISL102                 | 10 <sup>4</sup> | ISL102                 | 10 <sup>4</sup> | ISL102                 | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. acidophilus</i>       | ISL44                  | 10 <sup>4</sup> | ISL44                  | 10 <sup>4</sup> | ISL44                  | 10 <sup>6</sup> |

**EXEMPLE 8 : Complexe bactérien pour nettoyage de lagune.**

|                             | Complexe 14<br>(ufc/g) |                 | Complexe 15<br>(ufc/g) |                 |
|-----------------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| <i>B. subtilis</i>          | ISB02                  | 10 <sup>3</sup> | ISB02                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> | ISB04                  | 10 <sup>3</sup> | ISB04                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>B. licheniformis</i>     | ISB07                  | 10 <sup>3</sup> | ISB07                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>B. circulans</i>         | ISB11                  | 10 <sup>3</sup> | ISB11                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. rhamnosus</i>         | ISL01                  | 10 <sup>2</sup> | ISL01                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. paracasei</i>         | ISL03                  | 10 <sup>2</sup> | ISL03                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. fermentum</i>         | ISL102                 | 10 <sup>2</sup> | ISL102                 | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. acidophilus</i>       | ISL44                  | 10 <sup>2</sup> | ISL44                  | 10 <sup>5</sup> |

5 **EXEMPLE 9 : Complexe bactérien pour traitement de cadavres animaux.**

|                             | Complexe 16<br>(ufc/g) |                    | Complexe 17<br>(ufc/g) |                 | Complexe 18<br>(ufc/g) |                 |
|-----------------------------|------------------------|--------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| <i>B. subtilis</i>          | ISB02                  | 10 <sup>2</sup>    | ISB02                  | 10 <sup>5</sup> | ISB02                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> |                        |                    | ISB05                  | 10 <sup>5</sup> | ISB05                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>B. megaterium</i>        | ISB05                  | 10 <sup>2</sup>    | ISB06                  | 10 <sup>5</sup> | ISB06                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>B. licheniformis</i>     |                        |                    | ISB07                  | 10 <sup>5</sup> | ISB07                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>B. circulans</i>         |                        |                    | ISB11                  | 10 <sup>5</sup> | ISB11                  | 10 <sup>5</sup> |
| <i>L. rhamnosus</i>         | ISL35                  | 10 <sup>3</sup> ou | ISL35                  | 10 <sup>5</sup> | ISL35                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. paracasei</i>         | ISL32                  | 10 <sup>3</sup> ou | ISL32                  | 10 <sup>5</sup> | ISL32                  | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. fermentum</i>         | ISL102                 | 10 <sup>3</sup> ou | ISL102                 | 10 <sup>5</sup> | ISL102                 | 10 <sup>6</sup> |
| <i>L. acidophilus</i>       | ISL44                  | 10 <sup>3</sup>    | ISL44                  | 10 <sup>5</sup> | ISL44                  | 10 <sup>6</sup> |

**EXEMPLE 10 : Comparaison litières traitées/litières non traitées.**10 a) Ensemencement des litières :

Les litières sontensemencées de telle sorte que la concentration en *Bacillus* soit de 100 ufc/g de paille (2.10<sup>3</sup> ufc de *Bacillus* pour 20 g de produit pour traitement de litière (complexe ou composition de traitement conforme à l'invention)).

Deux méthodes différentes d'ensemencement expérimental des litières ont été utilisées.

Une première méthode consiste en l'ensemencement de 400 g de litière placés dans une boîte hermétiquement fermée, un complexe bactérien conforme à l'invention. L'incubation se fait à 30°C. Après 3 et 7

jours d'incubation, 20 g de litière sont prélevés. Les échantillons sont ensuite préparés comme suit :

20 g de produit à analyser sont mélangés avec 180 ml de diluant tryptone sel puis homogénéisés au Stomacher (Lab. Blender) pendant 2 min. A partir de cette suspension mère (→dilution au 1/10ème), une gamme de dilutions est réalisée pour faire l'analyse microbienne.

Dans la seconde méthode utilisée, pour améliorer l'homogénéité des ensemencements, 20 g de litière sont déposés dans un sac Stomacher avec filtre, qui évite de prélever des résidus de litière lors des dilutions. L'ensemencement est directement réalisé dans les sacs qui sont incubés suivant le temps désiré à 30°C, à chaque temps correspond un sac. 60 ml de diluant tryptone-sel sont ensuite mélangés à la litière, puis une gamme de dilutions décimales est réalisée.

Les numérations sont effectuées sur :

- la flore thermorésistante (*Bacillus*)
- les coliformes fécaux,
- les anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridium*),

- la flore lactique (*Lactobacillus*),

conformément aux protocoles usuels de culture.

La présence de *Salmonella* est également recherchée.

b) Evolution de l'azote (solubilité, azote ammoniacal, azote aminé) et de la matière sèche d'une litière traitée avec un complexe selon l'invention (litière bovine, selon l'exemple 4) :

Les figures 21 à 23 montrent l'évolution au cours du temps de la matière sèche (en pourcentage), du rapport C/N, du pH, de l'azote total (en pourcentage), de la solubilité de l'azote (en pourcentage), du pourcentage d'azote ammoniacal par rapport à l'azote total, du pourcentage d'azote aminé, des concentrations en nitrate et des taux en phosphore, phosphates et potassium.

Dans ces figures, les colonnes A représentent les litières non traitées, en place depuis 2 semaines, les colonnes B, C et D représentent les litières traitées avec un complexe bactérien selon l'exemple 4, en place 5 depuis 7 semaines (colonnes B), en place depuis 16 semaines (colonnes C) et en place depuis 12 semaines et stockées depuis 8 semaines (colonnes D).

Ces figures montrent qu'après traitement avec un complexe bactérien conforme à l'invention, il y a sta- 10 bilisation de l'azote, diminution significative de l'azote sous forme soluble et augmentation du pourcentage d'azote aminé (figure 22).

Par ailleurs, alors qu'une putréfaction normale entraîne une hydrolyse et une baisse de la matière 15 sèche, le traitement conforme à l'invention permet d'éviter une telle baisse (figure 21).

c) Comparaison des teneurs en nitrates de fumiers différemment traités :

La figure 24 illustre plus précisément 20 l'évolution de la teneur en nitrates de fumiers, selon le traitement auquel ils ont été soumis.

La colonne 1 correspond à du fumier traité par un produit du commerce (BIO-SUPER®), la colonne 2 correspond à une litière en place traitée avec un complexe bac- 25 térien selon l'exemple 7, avant compostage, et la colonne 3 illustre les taux de nitrates obtenus sur des litières traitées et compostées conformément à l'invention.

Cette figure montre la capacité des complexes bactériens conformes à l'invention à utiliser les nitra- 30 tes comme source de carbone.

La figure 25 illustre l'intérêt du compostage du fumier pour limiter la pollution des nappes phréatiques et montre, en particulier, la diminution significative d'azote soluble et d'ammoniaque dans un fumier 35 traité et composté conformément à l'invention.

Dans cette figure, les colonnes 1 à 3 illustrent l'évolution de l'azote soluble : la colonne 1 illustre la quantité d'azote soluble (en pourcentage) d'un fumier témoin (55 %), la colonne 2 illustre la quantité d'azote soluble (en pourcentage) d'une litière traitée en place mais non compostée avec un complexe bactérien selon l'exemple 7 (33,4 %) et la colonne 3 illustre la quantité d'azote soluble (en pourcentage) d'une litière traitée et compostée avec un complexe bactérien selon l'exemple 7 (16,72 %) ; les colonnes 4 à 6 illustrent l'évolution du rapport ammoniacal/azote total (en pourcentage) : la colonne 4 illustre ce rapport pour un fumier témoin (45,66 %), ce qui correspond à 83 % de l'azote soluble, la colonne 5 illustre ledit rapport pour une litière traitée en place avec un complexe bactérien selon l'exemple 7 mais non compostée (28,37 %), ce qui correspond à 84,9 % de l'azote soluble et la colonne 6 illustre le même rapport pour une litière traitée et compostée avec un complexe bactérien selon l'exemple 7 (4,24 %), ce qui correspond à 25,4 % de l'azote soluble.

d) Valeurs et répartition de l'azote dans les fumiers de bovin : étude comparée :

Les figures 26, 27 et 28 montrent l'évolution et la répartition comparées de l'azote : valeurs standards et valeurs obtenues avec un fumier traité conformément à l'invention.

Aux figures 26 et 27, la répartition de l'azote est la suivante :

- (1) azote ammoniacal volatilisé non quantifiable,
- (2) azote perdu :  $\text{NH}_3$  dans l'air,  $\text{NH}_3$  dans les sols,
- (3) azote ammoniacal dans le fumier,
- (4) azote protéique.

A la figure 26, les résultats sont exprimés en valeurs, alors qu'à la figure 27, ils sont exprimés en pourcentage.

Dans ces deux figures, la colonne A correspond à un fumier témoin frais non traité, la colonne B correspond à un fumier témoin non traité prêt à épandre, la colonne C correspond à un fumier traité conformément à l'invention, en sortie de stabulation, la colonne D correspond à un fumier traité et composté conformément à l'invention, les colonnes E (figures 26 et 27) et F (figure 26) sont les valeurs standards fournies par l'ITCF (colonne E) et l'INRA (colonne F).

Ces figures 26 et 27 montrent :

- l'absence d'azote perdu dans un fumier traité conformément à l'invention (colonnes C et D),
- une présence très faible d'azote ammoniacal dans un fumier traité et composté selon l'invention (colonne D) (4,24 % contre 31,5 % pour le fumier ITCF (colonne E)) et une quantité importante d'azote protéique (95,76 %) (colonne D).

La figure 28 donne les valeurs comparées d'azote/matière sèche : fumier témoin (colonne A), valeurs ITCF (colonnes B et C), valeurs INRA (colonne D) et valeurs selon l'invention (colonnes E et F) et illustre l'absence de perte d'azote dans un fumier traité conformément à l'invention.

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

## REVENDEICATIONS

1°) Complexe bactérien, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un *Bacillus* et au moins un *Lactobacillus*, utilisant comme source d'azote, au moins de  
5 l'azote minéral, notamment l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et éventuellement des molécules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les aminoacides et les bases azotées et autres composés azotés.

2°) Complexe bactérien selon la revendication  
10 1, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un *Bacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* et *B. circulans* et au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*,  
15 *L. fermentum* et *L. acidophilus*.

3°) Complexe bactérien selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que les proportions *Lactobacillus*:*Bacillus*, dans ledit complexe, sont comprises, selon les cas, soit entre 100:1 et  
20 1:100, de préférence entre 10:1 et 1:10, soit de 1:1.

4°) Complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que lorsque ledit complexe bactérien comprend plusieurs *Bacillus* et/ou plusieurs *Lactobacillus*, les différentes souches  
25 d'un même genre (*Bacillus* ou *Lactobacillus*) sont dans un rapport compris entre 1:1 et 1:100.

5°) Complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les concentrations en bactéries sont comprises entre  $10^2$  et  
30  $10^8$  ufc/g.

6°) Complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend avantageusement au moins un *Bacillus*, sélectionné dans le groupe constitué par *B. subtilis*,  
35 *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* et, *B. circulans*, à une concentration comprise entre  $10^2$  et

$10^7$  ufc/g et au moins un *Lactobacillus*, sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

5                   7°) Complexe bactérien selon la revendication 6, caractérisé en ce que ledit complexe bactérien comprend *B. subtilis* à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*,  
10 *L. fermentum*, *L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

                  8°) Complexe bactérien selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il comprend les 5 *Bacillus* suivants : *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*,  
15 *B. licheniformis* et *B. circulans*, chacun à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et les 4 *Lactobacillus* suivants : *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, chacun à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

20                   9°) Complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend, de préférence, au moins un *Bacillus* utilisant comme source d'azote, les urates, notamment *B. subtilis* à une concentration minimale de  $10^3$  ufc/g, éventuellement un  
25 autre *Bacillus*, sélectionné dans le groupe constitué par *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* et *B. circulans* et au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, à une concentration com-  
30 prise entre  $10^2$  et  $10^8$  ufc/g.

                  10°) Complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend, de préférence, au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L. rhamnosus*,  
35 *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* et au moins un *Bacillus* sélectionné dans le groupe constitué par

*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*,  
*B. licheniformis* et *B. circulans*, le rapport *Lactobacillus*:*Bacillus* étant compris entre 1:1 et 1:10.

11°) Complexe bactérien selon l'une quelconque  
 5 des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend, de préférence, les 2 *Bacillus* suivants :  
*B. subtilis* et *B. megaterium*, chacun à une concentration comprise entre  $10^2$  et  $10^7$  ufc/g et au moins un *Lactobacillus* sélectionné dans le groupe constitué par *L.*  
 10 *rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, à une concentration comprise entre  $10^3$  et  $10^8$  ufc/g.

12°) Complexe bactérien selon l'une quelconque  
 des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'il est associé à au moins un diluant neutre et éventuellement un  
 15 traceur chimique ou microbiologique.

13°) Souches de *Bacillus* à Gram+, aptes à être  
 utilisées dans un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisées :

- en ce qu'elles utilisent comme source  
 20 d'azote, essentiellement de l'azote minéral, notamment l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et des molécules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les aminoacides, les bases azotées ou d'autres composés azotés de faible poids moléculaire,

25 - en ce qu'elles appartiennent aux *Bacillus* sélectionnés dans le groupe constitué par *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*,

- en ce qu'elles présentent au moins l'une des  
 30 activités suivantes : activité amylolytique, activité cellulasique, activité lignocellulasique, activité pectinolytique, activité de type bactériocine ou bactériocine-like,

- en ce qu'elles présentent au moins les  
 35 caractéristiques biochimiques suivantes : gélatinase +, catalase +, uréase -, oxydase -, indole -, et

- en ce qu'elles sont de préférence aérobies/anaérobies facultatives.

14°) Bactéries selon la revendication 13, caractérisées en ce que lesdites souches de *Bacillus* sont  
5 sélectionnées parmi *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, et ont été déposées auprès de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM), en date du 8 juin 1994, pour ce qui concerne *Bacillus*  
10 *subtilis*, sous les numéros I-1433, I-1438 et I-1440, pour ce qui concerne *Bacillus amyloliquefaciens*, sous les numéros I-1434 et I-1435, pour ce qui concerne *Bacillus megaterium*, sous le numéro I-1436, pour ce qui concerne *Bacillus licheniformis* sous le numéro I-1437 et pour ce  
15 qui concerne *Bacillus circulans*, sous le numéro I-1439.

15°) Souches de *Lactobacillus* à Gram+, aptes à être utilisées dans un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisées :

- en ce qu'elles utilisent comme source  
20 d'azote, essentiellement de l'azote minéral, notamment l'ammoniaque, les nitrates, les nitrites et des molécules d'azote organique telles que l'urée, l'urate, les aminoacides, les bases azotées ou d'autres composés azotés de faible poids moléculaire,

25 - en ce qu'elles appartiennent aux *Lactobacillus* sélectionnés dans le groupe constitué par *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus fermentum*,

- en ce qu'elles présentent au moins une activité de type bactériocine ou bactériocine-like,  
30

- en ce qu'elles présentent au moins les caractéristiques biochimiques suivantes : catalase -, oxydase - et

- en ce qu'elles sont de préférence aérobies/anaérobies facultatives.  
35

16°) Bactéries selon la revendication 15, caractérisées en ce que lesdites souches de *Lactobacillus* sont sélectionnées parmi *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus fermentum* et ont été déposées auprès de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM), en date du 28 juillet 1994, pour ce qui concerne *Lactobacillus rhamnosus* sous les numéros I-1450, I-1452, I-1453, I-1454, I-1455, I-1456, I-1459, pour ce qui concerne *Lactobacillus paracasei*, sous les numéros I-1451, I-1457 et I-1458, pour ce qui concerne *Lactobacillus acidophilus*, sous le numéro I-1460, et pour ce qui concerne *Lactobacillus fermentum*, sous le numéro I-1461.

17°) Composition de traitement des résidus biologiques, caractérisée en ce qu'elle comprend en association un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, au moins un diluant neutre et au moins un fixateur de microparticules.

18°) Composition du produit dilué prêt à l'emploi selon la revendication 17, caractérisée en ce qu'elle comprend essentiellement 5-15 % de complexe bactérien, 80-89 % de diluant neutre et 3-5 % de fixateur de microparticules.

19°) Composition selon la revendication 17 ou la revendication 18, caractérisée en ce qu'elle comprend, en outre, des additifs tels qu'un traceur chimique ou microbiologique.

20°) Procédé de traitement de résidus biologiques, tels que les déjections, les litières, le fumier, les lisiers, les cadavres, les lagunes, les mélanges de déchets végétaux ou autres, caractérisé en ce qu'il comprend la mise en contact d'un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 20, avec un résidu biologique à traiter.

21°) Procédé de préparation d'un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend :

- la culture et la production d'un nombre pré-sélectionné de souches selon l'une quelconque des revendications 13 à 16,
- l'obtention de différentes cultures ayant chacune une concentration en microorganismes de l'ordre de  $10^{10}$ - $10^{11}$  ufc/g,
- la lyophilisation de chaque culture,
- la dilution entre 1/100 et 1/1 000 000 de chacune desdites cultures de souche lyophilisée, en présence d'un diluant neutre, et
- le mélange des différentes souches ainsi diluées pour l'obtention d'un complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12.

22°) Procédé de préparation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19, caractérisé en ce qu'il comprend le mélange d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 avec au moins un diluant neutre et au moins un fixateur de microparticules.

23°) Application du complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou de la composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 à la production de produits de transformation non polluants de résidus biologiques.

24°) Application du complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 6 à 8 ou la revendication 12 ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 contenant ledit complexe bactérien au traitement des litières de ruminants, d'équidés ou de porcs.

25°) Application du complexe bactérien selon la revendication 9 ou la revendication 12 ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17

à 19 contenant ledit complexe bactérien au traitement des litières de volailles ou d'autres monogastriques.

26°) Application du complexe bactérien selon la revendication 10 ou la revendication 12 ou d'une  
5 composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 contenant ledit complexe bactérien au traitement des lisiers, des lagunes ou des fosses septiques.

27°) Application du complexe bactérien selon la revendication 11 ou la revendication 12 ou d'une  
10 composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 contenant ledit complexe bactérien au traitement des cadavres d'animaux.

28°) Application du complexe bactérien selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 ou la  
15 revendication 12 ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 contenant ledit complexe bactérien au traitement des produits à composer.

## CODE SOUCHE : ISB 02

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | -    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | +    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | =    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | -    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | -    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | -    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | =    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | -    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | -    | 2CETO-GLUCONATE      | -    |
| ARBUTINE                     | -    | 5CETO-GLUCONATE      | -    |
| ESCULINE                     | -    |                      |      |

FIGURE 1

---

**CODE SOUCHE : ISB 09**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | -    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONTOL                      | -    | INULINE              | +    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2CETO-GLUCONATE      | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5CETO-GLUCONATE      | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 2

## CODE SOUCHE : ISB 12

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | +    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL-GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 3

---

**CODE SOUCHE : ISB 04**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | +    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

**FIGURE 4**

---

**CODE SOUCHE : ISB 05**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | +    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | +    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | +    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2CETO-GLUCONATE      | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5CETO-GLUCONATE      | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

**FIGURE 5**

CODE SOUCHE : ISB 06

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | -    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | -    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 6

CODE SOUCHE : ISB 07

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | +    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | -    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | +    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | +    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2CETO-GLUCONATE      | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5CETO-GLUCONATE      | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 7

## CODE SOUCHE : ISB 11

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | +    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | -    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | +    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | -    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | +    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | +    | MELEZITOSE           | +    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | -    | AMIDON               | +    |
| D-FRUCTOSE                   | -    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | -    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | -    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | -    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | -    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | -    |                      |      |

FIGURE 8

---

**CODE SOUCHE : ISL 01**


---

|                              | CODE |                      | CODE  |
|------------------------------|------|----------------------|-------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +     |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +     |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +     |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +     |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -     |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +     |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +     |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -     |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | +     |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | -     |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -     |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -     |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -     |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +     |
| RHAMNOSE                     | +    | D-TURANOSE           | $\pm$ |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -     |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | +     |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -     |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -     |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | +     |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ESCULINE                     | +    |                      |       |

FIGURE 9

10/28

CODE SOUCHE : **ISL 05**

|                      | CODE |                  | CODE |
|----------------------|------|------------------|------|
| GLYCEROL             | -    | SALICINE         | +    |
| ERYTHRITOL           | -    | CELLOBIOSE       | +    |
| D-ARABINOSE          | -    | MALTOSE          | +    |
| L-ARABINOSE          | -    | LACTOSE          | +    |
| RIBOSE               | +    | MELIBIOSE        | -    |
| D-XYLOSE             | -    | SACCHAROSE       | ±    |
| L-XYLOSE             | -    | TREHALOSE        | +    |
| ADONITOL             | -    | INULINE          | -    |
| β-METHYL-XYLOSIDE    | -    | MELEZITOSE       | +    |
| GALACTOSE            | +    | D-RAFFINOSE      | -    |
| D-GLUCOSE            | +    | AMIDON           | -    |
| D-FRUCTOSE           | +    | GLYCOGENE        | -    |
| D-MANNOSE            | +    | XYLITOL          | -    |
| L-SORBOSE            | +    | β-GENTIOBIOSE    | +    |
| RHAMNOSE             | +    | D-TURANOSE       | +    |
| DULCITOL             | -    | D-LYXOSE         | -    |
| INOSITOL             | ±    | D-TAGATOSE       | +    |
| MANNITOL             | +    | D-FUCOSE         | -    |
| SORBITOL             | +    | L-FUCOSE         | -    |
| α-METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL       | -    |
| α-METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL       | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE | +    | GLUCONATE        | +    |
| AMYGDALINE           | +    | 2 CETO-GLUCONATE | -    |
| ARBUTINE             | +    | 5 CETO-GLUCONATE | -    |
| ESCULINE             | +    |                  |      |

FIGURE 10

---

**CODE SOUCHE : ISL 10**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | +    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | -    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | +    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | +    |
| MANNITOL                     | -    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | +    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 11

12/28

CODE SOUCHE : ISL 20

|                      | CODE |                  | CODE |
|----------------------|------|------------------|------|
| GLYCEROL             | -    | SALICINE         | +    |
| ERYTHRITOL           | -    | CELLOBIOSE       | +    |
| D-ARABINOSE          | -    | MALTOSE          | +    |
| L-ARABINOSE          | -    | LACTOSE          | +    |
| RIBOSE               | +    | MELIBIOSE        | -    |
| D-XYLOSE             | -    | SACCHAROSE       | ±    |
| L-XYLOSE             | -    | TREHALOSE        | +    |
| ADONITOL             | -    | INULINE          | -    |
| β-METHYL-XYLOSIDE    | -    | MELEZITOSE       | +    |
| GALACTOSE            | +    | D-RAFFINOSE      | -    |
| D-GLUCOSE            | +    | AMIDON           | -    |
| D-FRUCTOSE           | +    | GLYCOGENE        | -    |
| D-MANNOSE            | +    | XYLITOL          | -    |
| L-SORBOSE            | +    | β-GENTIOBIOSE    | ±    |
| RHAMNOSE             | +    | D-TURANOSE       | ±    |
| DULCITOL             | -    | D-LYXOSE         | -    |
| INOSITOL             | -    | D-TAGATOSE       | +    |
| MANNITOL             | +    | D-FUCOSE         | -    |
| SORBITOL             | +    | L-FUCOSE         | -    |
| α-METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL       | -    |
| α-METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL       | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE | +    | GLUCONATE        | +    |
| AMYGDALINE           | +    | 2 CETO-GLUCONATE | -    |
| ARBUTINE             | +    | 5 CETO-GLUCONATE | -    |
| ESCULINE             | +    |                  |      |

FIGURE 12

---

**CODE SOUCHE : ISL 21**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | +    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | -    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | +    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | +    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | +    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | +    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 13

---

**CODE SOUCHE : ISL 25**


---

|                              | CODE  |                      | CODE  |
|------------------------------|-------|----------------------|-------|
| GLYCEROL                     | -     | SALICINE             | +     |
| ERYTHRITOL                   | -     | CELLOBIOSE           | +     |
| D-ARABINOSE                  | -     | MALTOSE              | +     |
| L-ARABINOSE                  | -     | LACTOSE              | +     |
| RIBOSE                       | +     | MELIBIOSE            | -     |
| D-XYLOSE                     | -     | SACCHAROSE           | +     |
| L-XYLOSE                     | -     | TREHALOSE            | +     |
| ADONITOL                     | -     | INULINE              | -     |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -     | MELEZITOSE           | +     |
| GALACTOSE                    | +     | D-RAFFINOSE          | -     |
| D-GLUCOSE                    | +     | AMIDON               | -     |
| D-FRUCTOSE                   | +     | GLYCOGENE            | -     |
| D-MANNOSE                    | +     | XYLITOL              | -     |
| L-SORBOSE                    | +     | $\beta$ -GENTIOBIOSE | $\pm$ |
| RHAMNOSE                     | +     | D-TURANOSE           | +     |
| DULCITOL                     | -     | D-LYXOSE             | -     |
| INOSITOL                     | $\pm$ | D-TAGATOSE           | +     |
| MANNITOL                     | +     | D-FUCOSE             | -     |
| SORBITOL                     | +     | L-FUCOSE             | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -     | D-ARABITOL           | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +     | L-ARABITOL           | -     |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +     | GLUCONATE            | +     |
| AMYGDALINE                   | -     | 2 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ARBUTINE                     | +     | 5 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ESCULINE                     | +     |                      |       |

FIGURE 14

---

**CODE SOUCHE : ISL 35**


---

|                              | CODE |                      | CODE  |
|------------------------------|------|----------------------|-------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +     |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +     |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +     |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +     |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -     |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +     |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +     |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -     |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | +     |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | $\pm$ |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -     |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -     |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -     |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | -     |
| RHAMNOSE                     | +    | D-TURANOSE           | -     |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -     |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | +     |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -     |
| SORBITOL                     | +    | L-FUCOSE             | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | +    | L-ARABITOL           | -     |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | +     |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ESCULINE                     | +    |                      |       |

FIGURE 15

CODE SOUCHE : ISL 03

|                              | CODE  |                      | CODE  |
|------------------------------|-------|----------------------|-------|
| GLYCEROL                     | -     | SALICINE             | +     |
| ERYTHRITOL                   | -     | CELLOBIOSE           | +     |
| D-ARABINOSE                  | -     | MALTOSE              | -     |
| L-ARABINOSE                  | -     | LACTOSE              | +     |
| RIBOSE                       | -     | MELIBIOSE            | -     |
| D-XYLOSE                     | -     | SACCHAROSE           | -     |
| L-XYLOSE                     | -     | TREHALOSE            | +     |
| ADONITOL                     | +     | INULINE              | -     |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -     | MELEZITOSE           | +     |
| GALACTOSE                    | +     | D-RAFFINOSE          | -     |
| D-GLUCOSE                    | +     | AMIDON               | -     |
| D-FRUCTOSE                   | +     | GLYCOGENE            | -     |
| D-MANNOSE                    | +     | XYLITOL              | -     |
| L-SORBOSE                    | -     | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +     |
| RHAMNOSE                     | -     | D-TURANOSE           | -     |
| DULCITOL                     | -     | D-LYXOSE             | -     |
| INOSITOL                     | -     | D-TAGATOSE           | +     |
| MANNITOL                     | $\pm$ | D-FUCOSE             | -     |
| SORBITOL                     | +     | L-FUCOSE             | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -     | D-ARABITOL           | -     |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -     | L-ARABITOL           | -     |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +     | GLUCONATE            | $\pm$ |
| AMYGDALINE                   | +     | 2 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ARBUTINE                     | +     | 5 CETO-GLUCONATE     | -     |
| ESCULINE                     | +     |                      |       |

FIGURE 16

---

**CODE SOUCHE : ISL 27**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | -    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | -    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     | +    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | +    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | -    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | =    | D-TAGATOSE           | +    |
| MANNITOL                     | +    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | +    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 17

---

**CODE SOUCHE : ISL 32**


---

|                      | CODE |                  | CODE |
|----------------------|------|------------------|------|
| GLYCEROL             | -    | SALICINE         | +    |
| ERYTHRITOL           | -    | CELLOBIOSE       | +    |
| D-ARABINOSE          | -    | MALTOSE          | ±    |
| L-ARABINOSE          | -    | LACTOSE          | +    |
| RIBOSE               | -    | MELIBIOSE        | -    |
| D-XYLOSE             | -    | SACCHAROSE       | -    |
| L-XYLOSE             | -    | TREHALOSE        | +    |
| ADONITOL             | +    | INULINE          | -    |
| β-METHYL-XYLOSIDE    | -    | MELEZITOSE       | +    |
| GALACTOSE            | +    | D-RAFFINOSE      | -    |
| D-GLUCOSE            | +    | AMIDON           | -    |
| D-FRUCTOSE           | +    | GLYCOGENE        | -    |
| D-MANNOSE            | +    | XYLITOL          | -    |
| L-SORBOSE            | -    | β-GENTIOBIOSE    | +    |
| RHAMNOSE             | -    | D-TURANOSE       | -    |
| DULCITOL             | -    | D-LYXOSE         | -    |
| INOSITOL             | -    | D-TAGATOSE       | +    |
| MANNITOL             | +    | D-FUCOSE         | -    |
| SORBITOL             | +    | L-FUCOSE         | -    |
| α-METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL       | -    |
| α-METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL       | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE | +    | GLUCONATE        | +    |
| AMYGDALINE           | +    | 2 CETO-GLUCONATE | -    |
| ARBUTINE             | +    | 5 CETO-GLUCONATE | -    |
| ESCULINE             | +    |                  |      |

FIGURE 18

---

**CODE SOUCHE : ISL 44**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | +    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | +    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | -    | LACTOSE              | +    |
| RIBOSE                       | -    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | +    |
| ADONITOL                     |      | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | -    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | +    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | +    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | +    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | +    |
| MANNITOL                     | -    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | +    | GLUCONATE            | -    |
| AMYGDALINE                   | +    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | +    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | +    |                      |      |

FIGURE 19

---

**CODE SOUCHE : ISL 102**


---

|                              | CODE |                      | CODE |
|------------------------------|------|----------------------|------|
| GLYCEROL                     | -    | SALICINE             | -    |
| ERYTHRITOL                   | -    | CELLOBIOSE           | -    |
| D-ARABINOSE                  | -    | MALTOSE              | +    |
| L-ARABINOSE                  | +    | LACTOSE              | -    |
| RIBOSE                       | +    | MELIBIOSE            | -    |
| D-XYLOSE                     | -    | SACCHAROSE           | +    |
| L-XYLOSE                     | -    | TREHALOSE            | -    |
| ADONITOL                     | -    | INULINE              | -    |
| $\beta$ -METHYL-XYLOSIDE     | -    | MELEZITOSE           | -    |
| GALACTOSE                    | +    | D-RAFFINOSE          | +    |
| D-GLUCOSE                    | +    | AMIDON               | -    |
| D-FRUCTOSE                   | +    | GLYCOGENE            | -    |
| D-MANNOSE                    | -    | XYLITOL              | -    |
| L-SORBOSE                    | -    | $\beta$ -GENTIOBIOSE | -    |
| RHAMNOSE                     | -    | D-TURANOSE           | -    |
| DULCITOL                     | -    | D-LYXOSE             | -    |
| INOSITOL                     | -    | D-TAGATOSE           | -    |
| MANNITOL                     | -    | D-FUCOSE             | -    |
| SORBITOL                     | -    | L-FUCOSE             | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-MANNOSIDE | -    | D-ARABITOL           | -    |
| $\alpha$ -METHYL-D-GLUCOSIDE | -    | L-ARABITOL           | -    |
| N-ACETYL GLUCOSAMINE         | -    | GLUCONATE            | +    |
| AMYGDALINE                   | -    | 2 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ARBUTINE                     | -    | 5 CETO-GLUCONATE     | -    |
| ESCULINE                     | -    |                      |      |

**FIGURE 20**

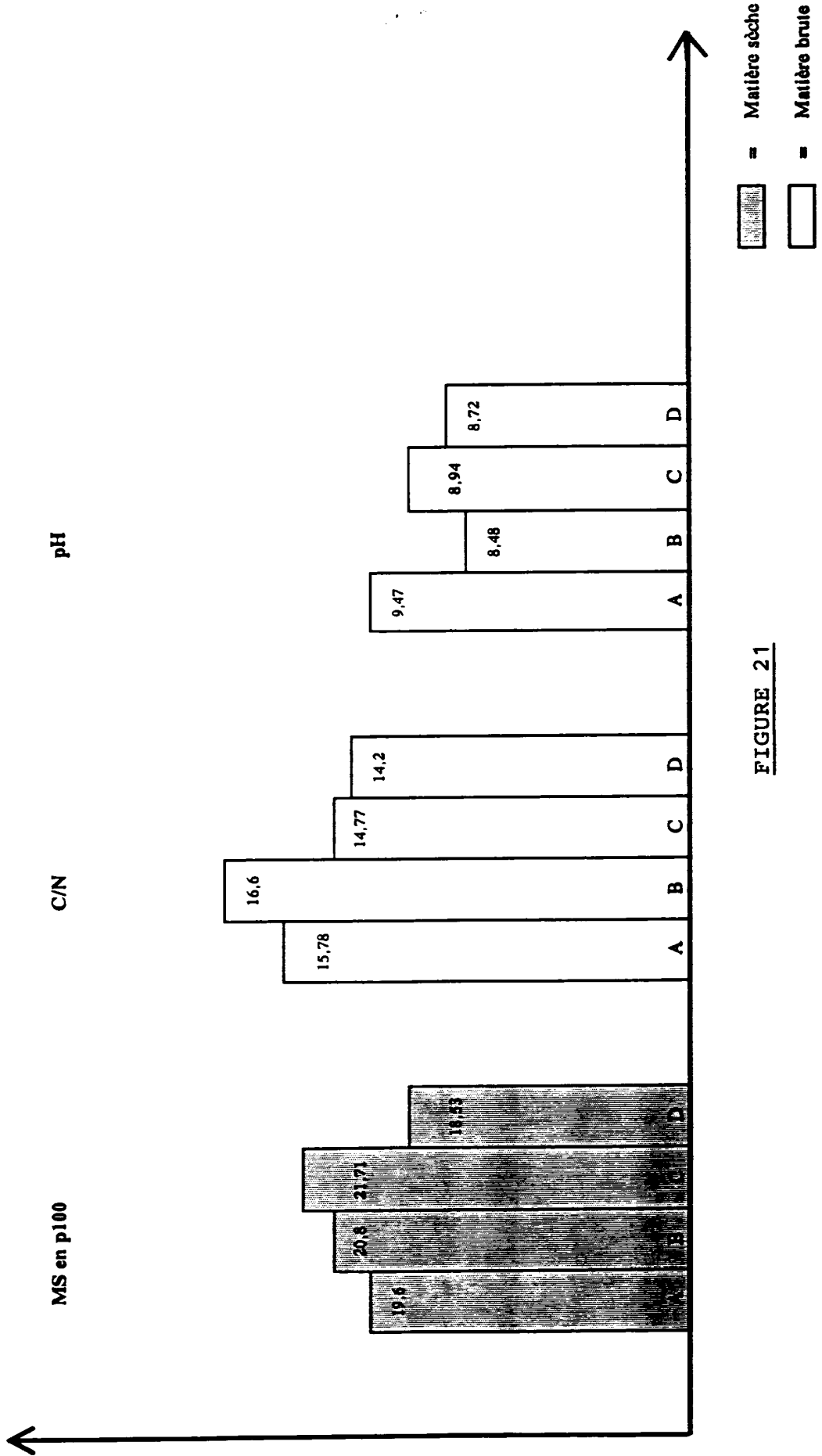
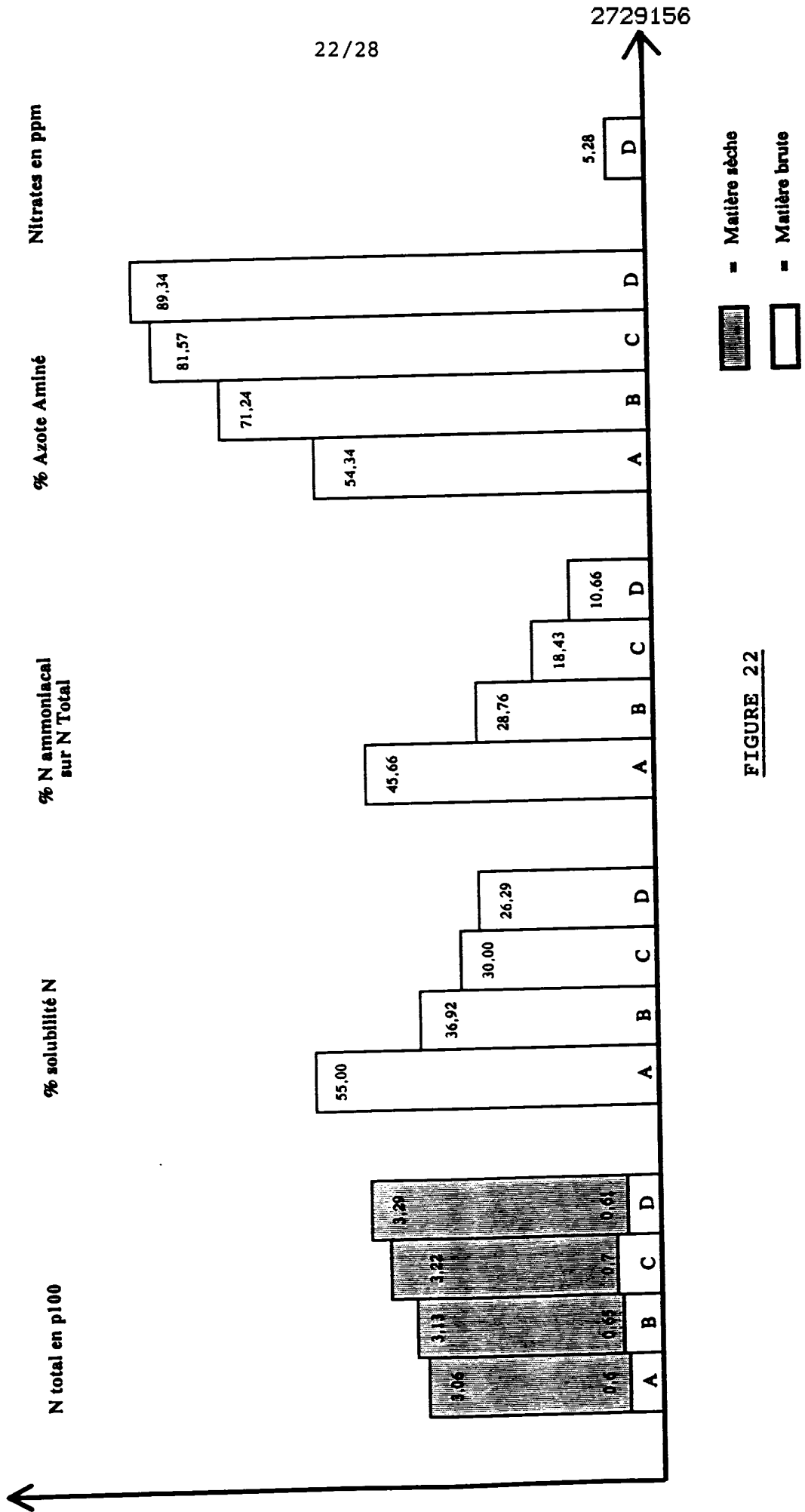


FIGURE 21



**FIGURE 22**

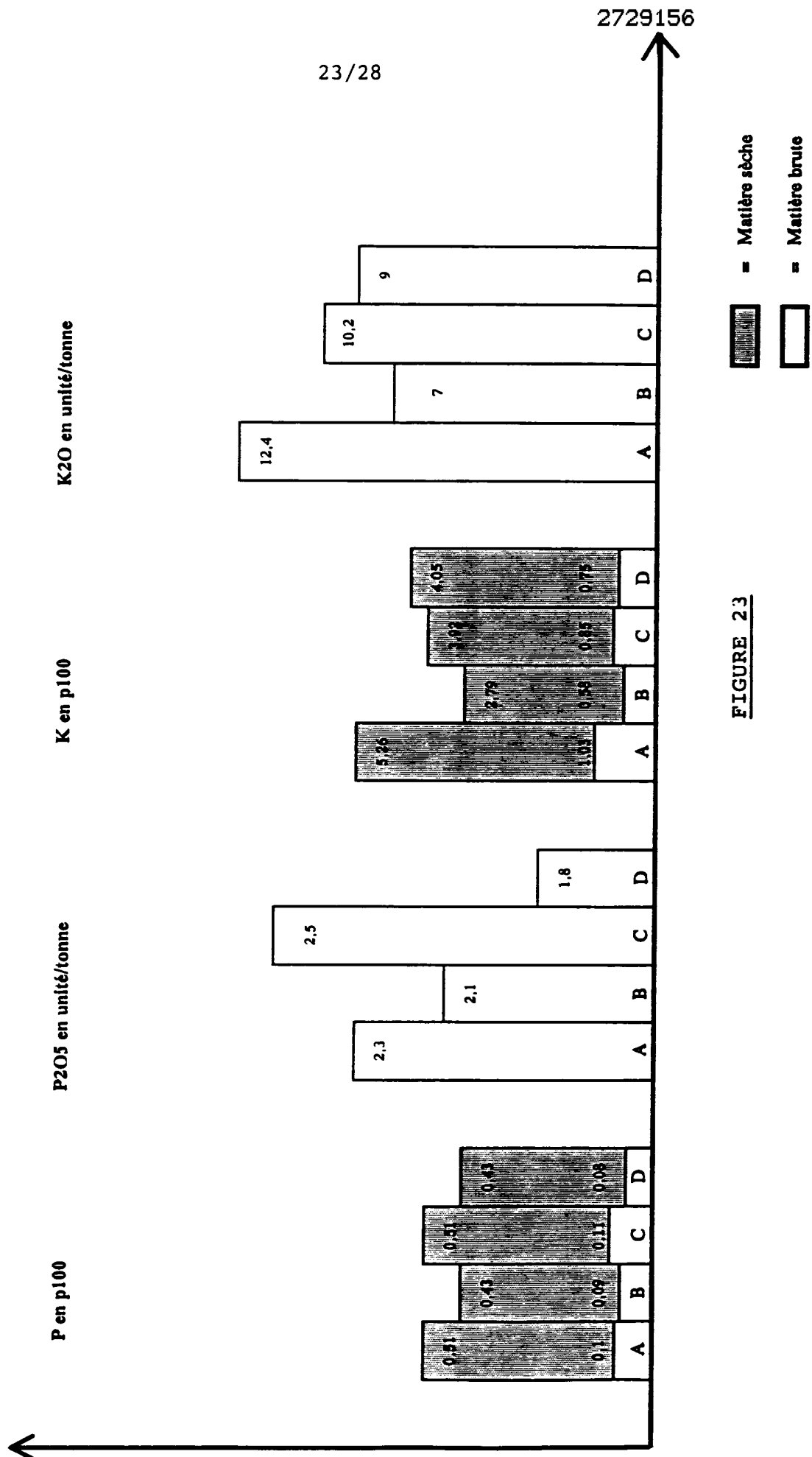


FIGURE 23

24/28

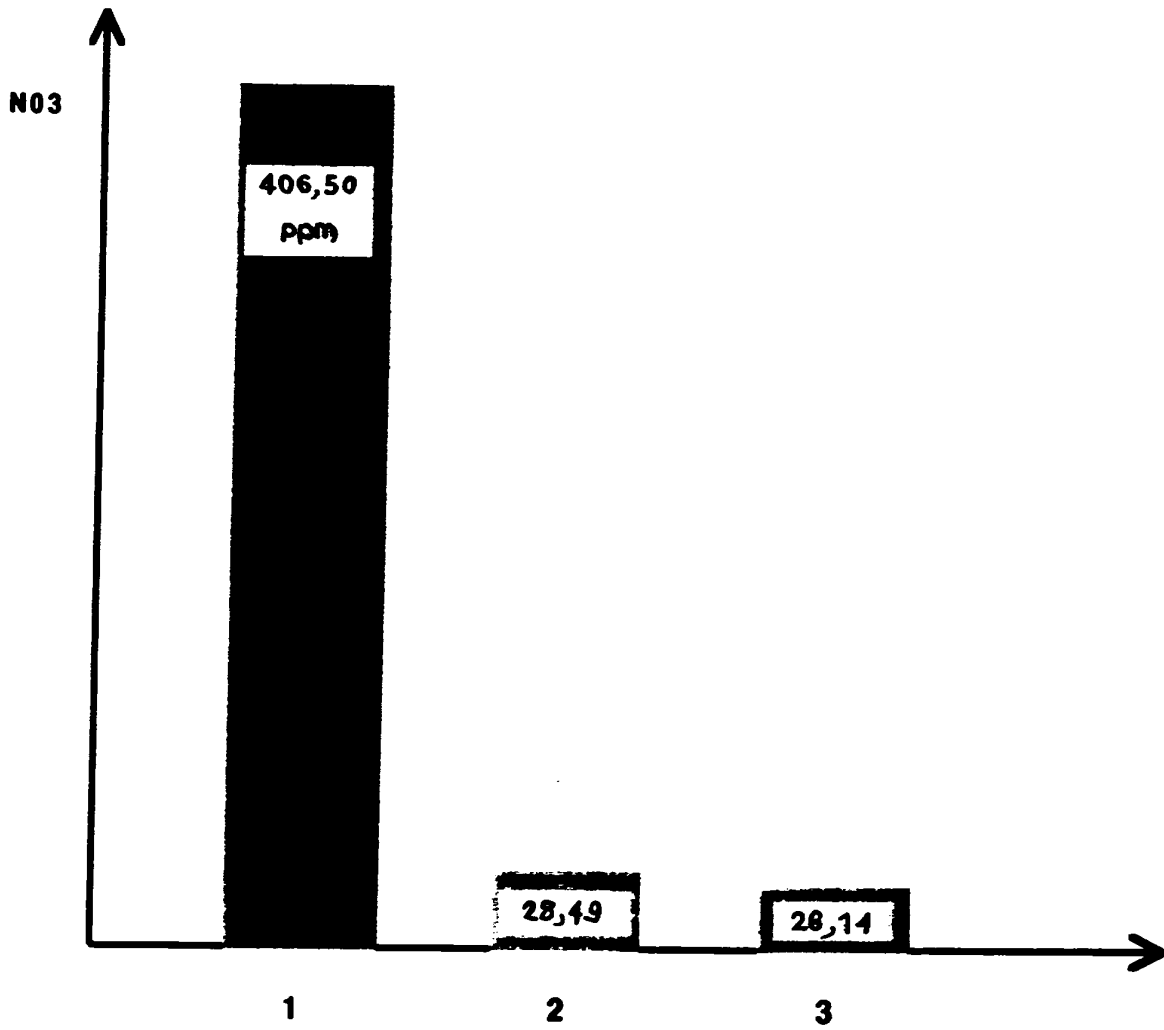


FIGURE 24

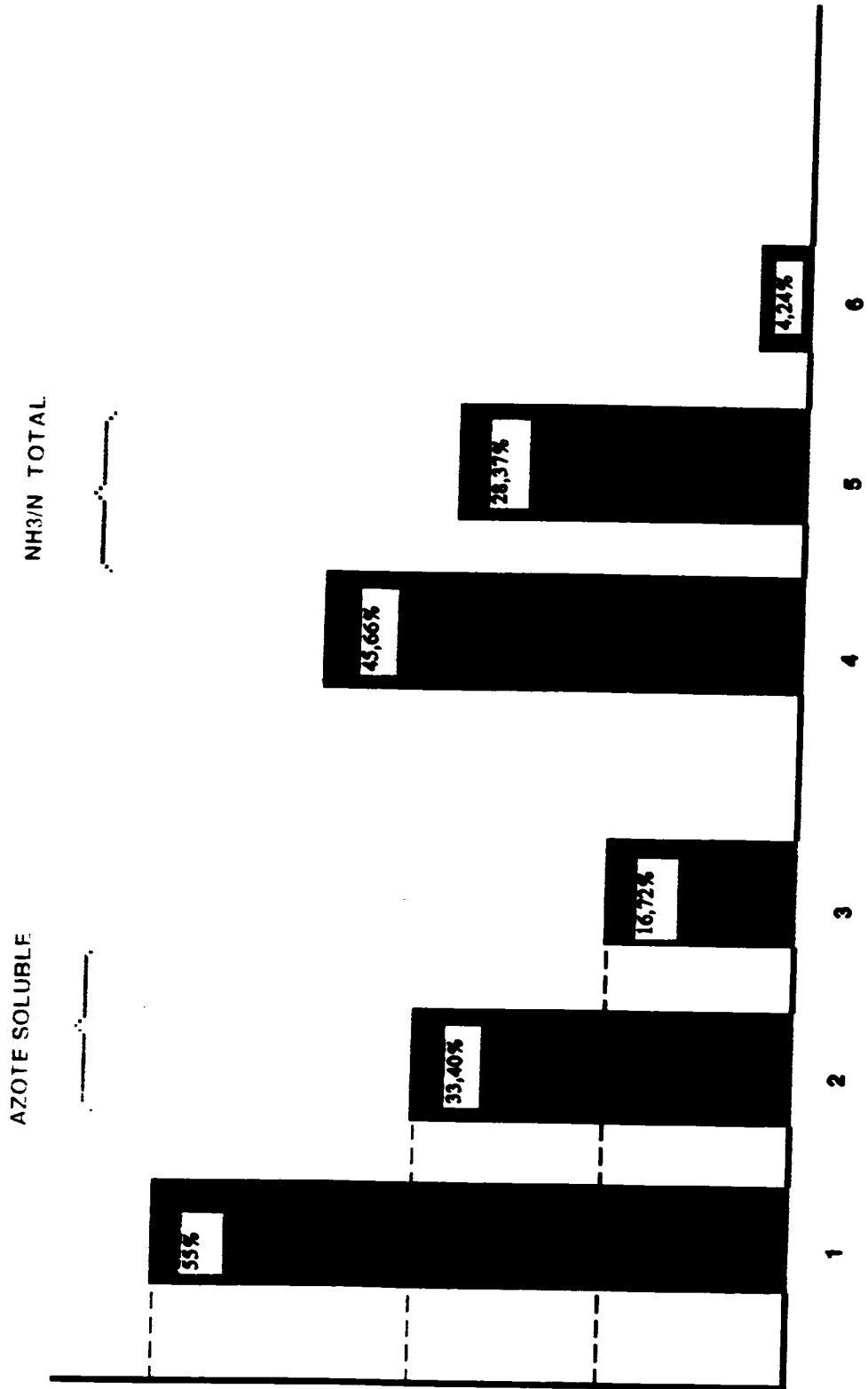
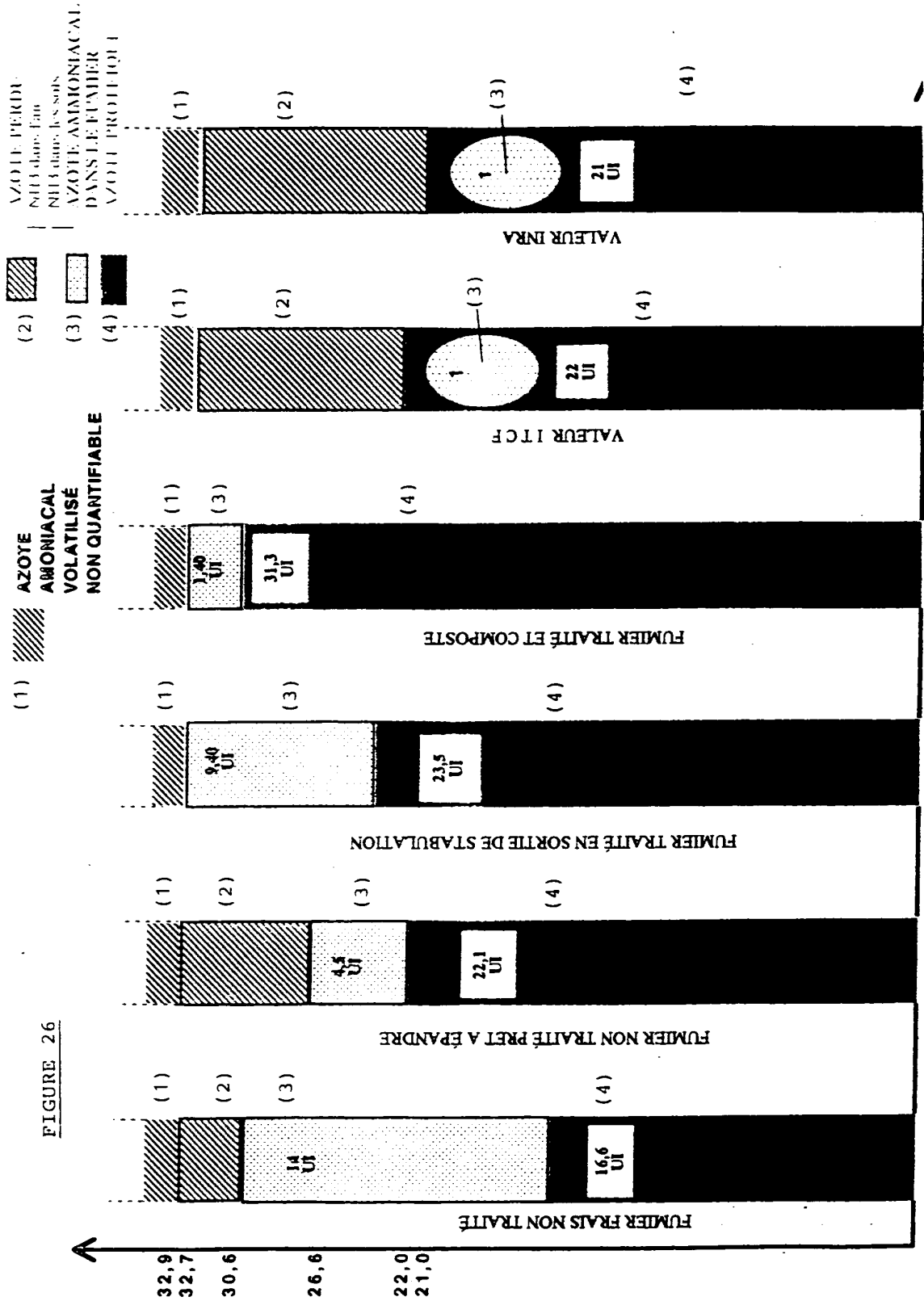


FIGURE 25



**AZOTE PERDU**  
 NH3 dans l'air  
 NH3 dans les sols



(2)



(3)



(4)



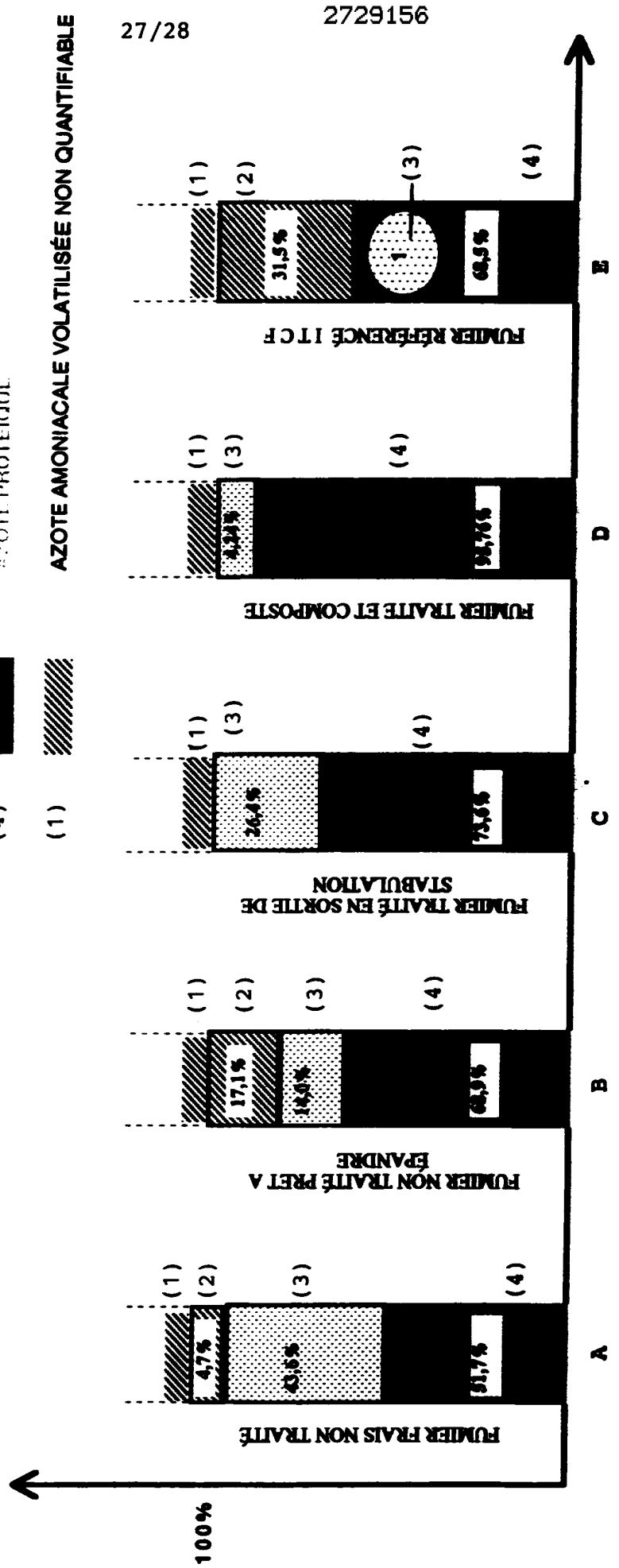
(1)

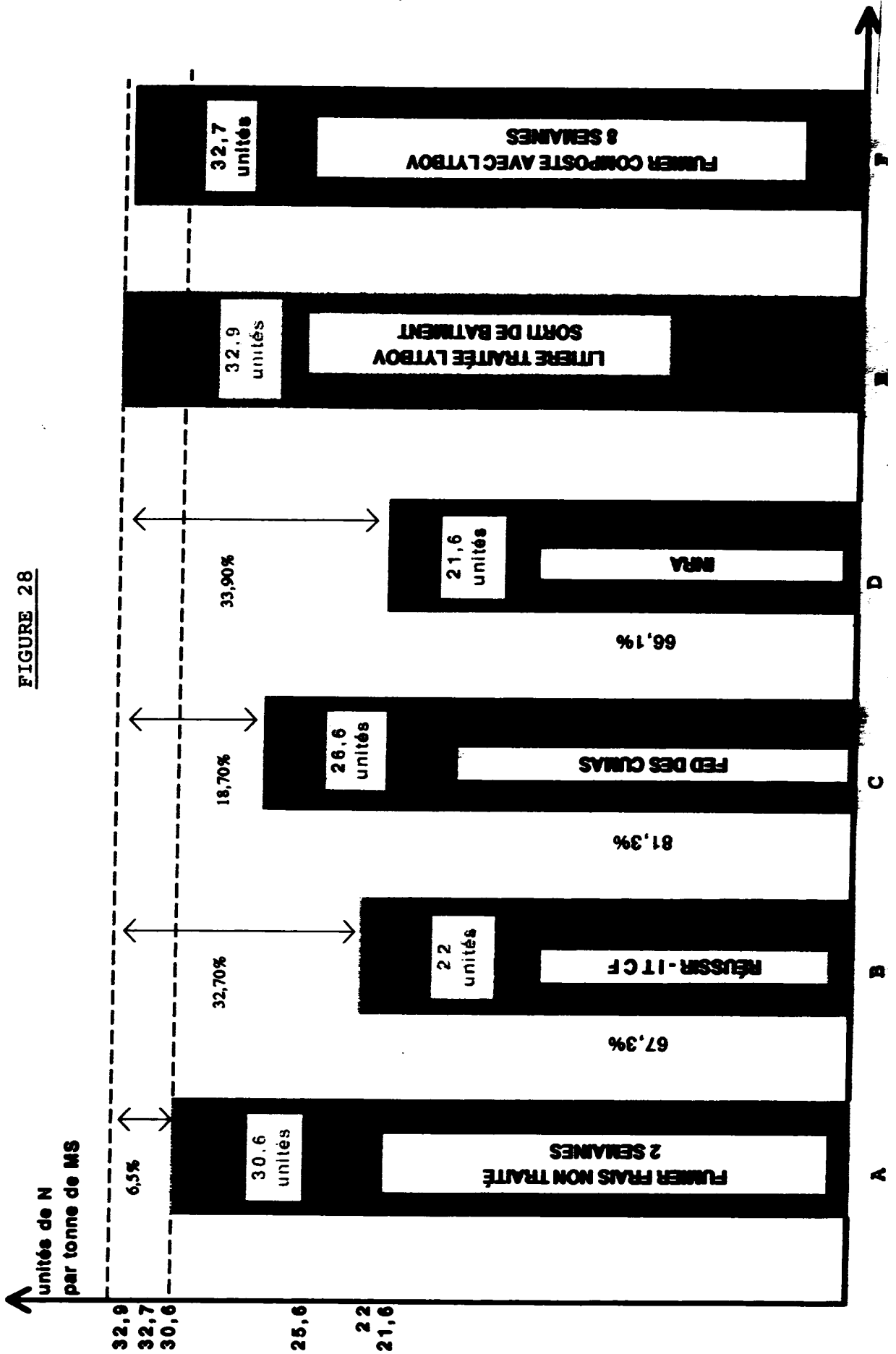
**AZOTE AMMONIACAL DANS LE FUMIER**

**AZOTE PROTEIQUE**

**AZOTE AMONIACALE VOLATILISÉE NON QUANTIFIABLE**

**FIGURE 27**





| DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS  |  | Revendications concernées de la demande examinée |
|--|--|--|
| Catégorie  | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes  |  |
| X  | <p>DATABASE WPI<br/>Section Ch, Week 8416<br/>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/>Class C03, AN 84-098739<br/>&amp; JP-B-59 013 175 ( FUKUMOTO T ) , 28 Mars 1984</p>         | 1,13,14,<br>20,23,28                             |
| A  | * abrégé *<br>---  | 2,9,21   |
| X  | <p>DATABASE WPI<br/>Section Ch, Week 9317<br/>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/>Class C04, AN 93-140524<br/>&amp; JP-A-05 078 663 ( KATAYAMA A ) , 30 Mars 1993</p>         | 1,15   |
| A  | * abrégé *<br>---  | 2,9,10,<br>16                                    |
| X  | <p>DATABASE WPI<br/>Section Ch, Week 8509<br/>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/>Class D15, AN 85-053996<br/>&amp; JP-A-60 012 198 ( UCHIMIZU M ) , 22 Janvier 1985</p>      | 1  |
| A  | * abrégé *<br>---  | 17,20,<br>23-26                                  |
| A  | <p>DATABASE WPI<br/>Section Ch, Week 8940<br/>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/>Class D13, AN 89-243082<br/>&amp; JP-A-01 211 487 ( CALPIS FOOD IND KK ) , 24 Août 1989</p> | 1,2,<br>9-11,<br>15-17                           |
|  | * abrégé *<br>-----  |  |
| Date d'achèvement de la recherche  |  | Examinateur                                      |
| 4 Septembre 1995   |  | RODRIGUEZ FONTAO, M                              |
| <p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul<br/>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie<br/>A : pertinent à l'encontre d'un moins une revendication ou arrière-plan technologique général<br/>O : divulgation non-écrite<br/>P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention<br/>E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.<br/>D : cité dans la demande<br/>L : cité pour d'autres raisons<br/>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p> |  |  |

1  
EPO FORM 1503 03.92 (P04C13)