

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
••••• ••••• ••••• •••••
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
••••• •• ••••• —
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - EL HARRACH - ALGER

Mémoire
Pour l'obtention du Diplôme de
Magistère en Sciences Vétérinaires
Option : **Elevage et Pathologie Avicole et Cunicole**

**Effet d'une supplémentation alimentaire
en *Pediococcus Acidilactici* (Probiotique)
sur les paramètres zootechniques, la flore digestive Lactobacillaire,
et l'histométrie intestinale chez le poulet de chair**

Présenté par : **Dr. Nabila HAMMAMI Epouse BOUKAIS**
Soutenue le : **27/04/2009**

Devant le Jury :

Dr. Badis BENDEDDOUCHE	Maître de Conférences	ENSV Alger	Président
Dr. Soraya TEMIM-KESSACI	Maître de Conférences	ENSV Alger	Promoteur
Dr. Djamel KHELEF	Maître de Conférences	ENSV Alger	Co-promoteur
Pr. Meriem AISSI	Professeur	ENSV Alger	Examineur
Pr. Nadir ALLOUI	Professeur	Université de Batna	Examineur
Dr. Hacina AINBAZIZ	Maître de Conférences	ENSV Alger	Examineur

Année Universitaire 2008/ 2009

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

A mon mari, pour son amour, son aide et son soutien moral
dans les moments les plus difficiles de notre vie,
et surtout pour ses encouragements...

À mes enfants :

Anis - lotfi,

Camélia - Chahinez,

et ma petite Maya-Naziha,

qu'ils puissent être un jour fiers de leur mère

À mes parents

et enfin à mes frères (Nabil et Amir)

REMERCIEMENTS

Ce travail expérimental a été réalisé au sein de la Station Monogastriques de l'Institut Technique des Elevages de Baba – Ali, dans le cadre de la préparation du magistère en Sciences Vétérinaires/Option Elevages & Pathologie Aviaire et Cunicole, de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'Alger.

Je remercie ma promotrice, Madame Soraya TEMIM-KESSACI, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, d'avoir accepté de m'encadrer, pour son soutien moral, ses remarques pertinentes et de m'avoir corrigé ce mémoire, je t'exprime par ces quelques mots ma profonde reconnaissance.

Je remercie également mon Copromoteur, Monsieur Djamel KHELEF, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour ses conseils et ses encouragements.

Mes vifs remerciements s'adressent à :

- Monsieur Badis BENDEDOUCHE, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.
- Mademoiselle Miriam AISSI, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Monsieur Nadir ALOUI, Professeur à l'Université de Batna et Mademoiselle Hacina AINBAZIZ, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de la partie expérimentale et tout particulièrement à : M^{me} Nadia BENALI, Melle Chabha BENMOHAND, Mr Larbi BEDRANI, Mr Fayçal KHOUNI, Mlle Amina BESSAS, Mlle Amina HACHEMI et Mlle Sara ZAIDI pour leur aide lors des pesées des animaux et des prélèvements des échantillons. M^{me} Baya DJELLOUT pour la réalisation des dosages biochimiques, M^{me} Linda SAHRAOUI, pour l'étude de la flore digestive, Mr Rachid KADOUR et M^{me} Amina ZOUAMBI pour l'étude histométrique du tube digestif.

Je remercie aussi, toute l'équipe de la salle d'informatique et sans oublier toute la promotion de magistère option HIDAOA année 2007 ainsi que toutes l'équipe de l'ITELV de Baba Ali.

RESUME

Le but de cette étude est d'évaluer l'impact de la supplémentation alimentaire en *Pediococcus acidilactici* sur les performances zootechniques, les paramètres sanguins, la flore de lactobacilles et l'histométrie intestinales du poulet de chair. Durant 49 jours, 960 poussins sont répartis en 2 lots (8 répétitions de 60 poussins par traitement), nourris avec le même aliment de base supplémenté ou non avec 10^9 UFC de *Pediococcus acidilactici*/kg d'aliment.

Dans nos conditions expérimentales, l'addition du probiotique a permis de réduire de moitié le taux de mortalité mais n'a pas modifié significativement les poids vifs moyens des poulets à 49 jours d'âge ($2491\text{g} \pm 37\text{g}$ contre $2455 \pm 24\text{g}$ pour les témoins ; $P=0,42$) ni le rendement de la carcasse. En revanche, ce traitement a réduit significativement la consommation d'aliment (-4%, $P<0,05$) et par conséquent l'indice de consommation (-3%, $P<0,05$). Ces résultats traduisent une meilleure assimilation des nutriments induite par la complémentation en probiotique qui pourrait s'expliquer par la plus grande surface d'absorption intestinale révélée par l'accroissement des longueurs totales de l'intestin (+15% en moyenne, $P<0,05$) et des hauteurs et volumes des villosités intestinales ($P<0,001$) chez les poulets supplémentés comparés aux témoins. De plus, dans ces mêmes conditions, l'ajout de probiotique dans l'aliment a nettement ($P<0,01$) diminué les teneurs plasmatiques en cholestérol, en triglycérides et en lipides totaux (respectivement de -23%, -43% et -25% en moyenne entre J28 et J49) tout en augmentant le nombre total de Lactobacilles au niveau de la flore duodénale et ce quelque soit l'âge ($P<0,05$).

Nos résultats révèlent un impact certain du probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'utilisation digestive et métabolique de l'aliment qui mérite des études ultérieures pour élucider les mécanismes d'action.

Mots clés: *Pediococcus acidilactici*, Supplémentation, Poulet de chair, Performances de croissance, Microflore digestive, Histométrie intestinale, Paramètres biochimiques sanguins.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the impact of the dietary *Pediococcus acidilactici* supplementation on growth performances, blood parameters, the lactobacillus digestive microflora and the intestinal histometry of broiler chickens. For 49 days, 960 chicks were allocated in 2 experimental groups (8 replicates of 60 chicks by treatment) fed with a same basal diet supplemented or not with 10^9 UFC of *Pediococcus acidilactici*/kg of feed.

In our experimental conditions, the addition of the probiotic allowed to reduce by half the mortality rate but did not significantly modify the average live weights of the chickens at 49 days of age ($2491\text{g} \pm 37\text{g}$ vs. $2455 \pm 24\text{g}$; $P=0.42$) nor the yield of the carcass. On the other hand, this treatment significantly reduced the feed intake (-4%, $P<0.05$) and consequently the feed conversion ratio (-3 %, $P<0.05$). These results indicate a better nutrient assimilation induced by the probiotic feed complementation which could be explained by the larger intestinal absorption surface as revealed by the higher total intestinal length (+15 % on average, $P<0.05$) and the larger heights and volumes of the intestinal villusities ($P<0.001$) in the supplemented chickens as compared with controls. Furthermore, in these conditions, the feed probiotic supplementation has clearly ($P<0.01$) decreased the cholesterol, triglycerides and total lipids plasmatic concentrations (respectively by about 23%, 43% and 25 % between 28- and 49-d-old) while increasing the total number of the duodenal *Lactobacillus spp* microflora ($P < 0.05$).

Our data show a significant impact of the probiotique *Pediococcus acidilactici* on the digestive and metabolic use of the aliment which needs later studies to clarify the mechanisms of action.

Keywords: Probiotic, *Pediococcus acidilactici*, Supplementation, Broiler Chicken, growth Performances, Intestinal microflora, intestinal Histometry, Biochemical blood parameters.

LISTE DES FIGURES

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

- Figure 1.** Schémas du tractus digestif des volailles et valeur de pH du contenu digestif.....3
- Figure 2.** *P. acidilactici* (microscopie électronique).....18

MATERIEL & METHODES

- Figure 3.** Schéma du protocole expérimental.....30
- Figure 4.** Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai.....32
- Figure 5.** Matériel d'alimentation utilisé (mangeoires 1^{er} et 2^{ème} âge).....33
- Figure 6.** Matériel d'alimentation utilisé (mangeoires 1^{er} et 2^{ème} âge).....34
- Figure 7.** Opérations effectuées pour déterminer le rendement de carcasses des poulets.....36
- Figure 8.** Mesure des dimensions des villosités intestinales.....43

RESULTATS

- Figure 9.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le poids vif (g) et le gain de poids moyens du poulet de chair.....45
- Figure 10.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'ingéré alimentaire du poulet de chair47
- Figure 11.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'indice de conversion du poulet de chair48
- Figure 12.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la mortalité (%) du poulet de chair50
- Figure 13.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en cholestérol mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours52
- Figure 14.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en triglycérides (TG) mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours53
- Figure 15.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en lipides totaux (LT) mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours54
- Figure 16.** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur

le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau duodéal chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	56
Figure 17. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau iléal chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	56
Figure 18. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau des caeca chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	57
Figure 19. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la longueur de l'intestin (cm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	58
Figure 20. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités du duodénum proximal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	60
Figure 21. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités du duodénum distal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	60
Figure 22. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités de l'iléon proximal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	61
Figure 23. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités de l'iléon distal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	61
Figure 24. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités du duodénum proximal (mm^3) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	64
Figure 25. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités du duodénum distal (mm^3) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	64
Figure 26. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités de l'iléon proximal (mm^3) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	65
Figure 27. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités de l'iléon distal (mm^3) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours	65

LISTE DES TABLEAUX

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1. Composition de la microflore du poulet déterminée par dénombrement bactérien.....	5
Tableau 2. Métabolites majeurs produits par la microflore.....	10
Tableau 3. Les micro-organismes considérés comme probiotiques	13
Tableau 4. Classification de <i>P. acidilactici</i>	14
Tableau 5. Les caractéristiques proposées comme critères pour aider à la sélection des microorganismes potentiellement probiotiques.....	18
Tableau 6. Effet de la supplémentation en <i>Pediococcus acidilactici</i> sur les performances zootechniques de poulets de chair.....	26

MATERIELS & METHODES

Tableau 7. Principales caractéristiques des lots expérimentaux à la répartition (J0).....	29
Tableau 8. Composition et caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai (%).....	31
Tableau 9. Températures ambiantes (Ta) d'élevage durant tout l'essai.....	33
Tableau 10. Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.....	34

RESULTATS

Tableau 11. Poids vif moyen (g) et gain de poids moyen (g), par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	44
Tableau 12. Ingéré alimentaire moyen, par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	46
Tableau 13. Indice de conversion, par phase d'élevage et cumulé, et indice de consommation cumulé des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »).....	48
Tableau 14. Taux de mortalité, par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	49
Tableau 15. Caractéristiques de la carcasse des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »).....	51

Tableau 16. Teneurs plasmatiques (g/l) en cholestérol mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	52
Tableau 17. Teneurs plasmatiques (g/l) en triglycérides mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »).....	53
Tableau 18. Teneurs plasmatiques (g/l) en lipides totaux mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	54
Tableau 19. Nombre de lactobacilles mesuré au niveau duodénal, iléal et caecal, à l'âge de 10, 28 et 49 jours chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique ») ...	55
Tableau 20. Longueur totale des intestins mesurée à l'âge de 10, 28 et 49 jours chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	58
Tableau 21. Hauteur moyenne des villosités intestinales, mesurée à l'âge de 10, 28 et 49 jours, au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, chez les poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »)	59
Tableau 22. Volumes (mm ³) des villosités intestinales, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, chez les poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en <i>Pediococcus acidilactici</i> (lot « Probiotique »).....	63

LISTE DES ABREVIATIONS

CMV : Complément Minéral et vitaminique

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique (France)

ITELV : Institut Technique des Elevages

g/l : gramme par litre

mg/dl : milligramme par décilitre

MRS : Man .Rogosa. Sharpe

n : effectif ou taille de l'échantillon

NK : Naturall Killer

PV : Poids Vif

SD : Déviation Standard

SE : Erreur Standard

TG : Triglycérides

TSE :Eau physiologique + tryptone

UFC/g : Unité Formant Colonies par gramme

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	----------

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<u>Chapitre 1. La Microflore Digestive Du Poulet.....</u>	3
--	----------

I. Caractérisation De La Flore Digestive Du Poulet	4
I.1. Description et localisation dans le tube digestif.....	4
I.2. Facteurs de variation de la composition de la flore digestive.....	5
II. Effets De La Microflore Sur La Physiologie Digestive.....	6
II.1. Variations anatomiques et physiologiques du tractus digestif.....	6
II.2. Production et hydrolyse de mucus	7
II.3. Impact sur le transit et la motricité du tractus digestif.....	7
III. Effets De La Microflore Sur La Valeur Nutritionnelle De L'aliment.....	7
III.1. Impact sur la digestion des glucides.....	8
III.2. Impact sur la digestion des lipides.....	8
III.3. Impact sur la digestion des protéines.....	8
III.4. Impact sur les vitamines et minéraux.....	9
IV. Rôles De La Microflore Sur La Santé De L'hôte.....	9
IV.1. Stimulation du système immunitaire.....	9
IV.2. Fourniture de métabolites utiles ou néfastes.....	10
IV.3. Protection contre les micro-organismes nuisibles	10

<u>Chapitre 2. Les bactéries lactiques et leurs actions probiotiques.....</u>	12
--	-----------

I. Les Probiotiques : Données Générales.....	12
I.1. Définition & historique.....	12
I.2. Les micro-organismes probiotiques.....	13
I.3. Critères de sélection des souches probiotiques	13
I.3.1. Choix des microorganismes.....	13
I.3.2. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif.....	14
I.3.3. Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales...	14
I.3.4. Activités antimicrobiennes.....	14
I.3.5. Viabilité et stabilité des microorganismes	15

I.3.6. Résistance aux additifs alimentaires et aux antibiotiques.....	15
I.4. Réglementation de l'usage des probiotiques.....	16
II. Propriétés Générales Des Bactéries Lactiques	16
II.1. Les bactéries lactiques.....	16
II.2. Caractéristiques du <i>Pediococcus acidilactici</i>	17
III. Modes D'action Des Bactéries Lactiques Probiotiques.....	18
III.1. Inhibition des bactéries indésirables.....	19
III.2. Neutralisation des produits toxiques.....	20
III.3. Amélioration de la digestibilité de l'aliment.....	20
III.4. Impact sur la muqueuse digestive.....	21
III.5. Stimulation de l'immunité.....	21
III.5.1. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes d'action de défense non spécifiques.....	22
III.5.2. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de réponse immunitaires spécifiques.....	22
III.5.3. Effet sur le système immunitaire sécrétoire.....	23
IV. Efficacité Des Probiotiques En Aviculture.....	24
IV.1. Efficacité zootechnique.....	24
IV.2. Efficacité sanitaire des probiotiques.....	26

MATERIELS & METHODES

I. Lieu, Durée Et Période De L'étude.....	29
II. Animaux.....	29
III. Traitement Expérimentaux.....	29
IV. Aliments.....	31
IV.1. Les aliments de base.....	31
IV.2. Modalités de la supplémentation en probiotique.....	32
V. Bâtiment Et Conditions D'ambiance.....	32
VI. Equipements D'élevage.....	33
V. Programme Sanitaire D'élevage.....	34
VI. Mesures Réalisées.....	35
VI.1. Mesure Des Performances Zootechniques.....	35
VI.1.1. L'ingéré alimentaire.....	35
VI.1.2. Le poids vif.....	35

VI.1.3. Indice de conversion et indice de consommation.....	35
VI.1.4. La mortalité.....	35
VI.2. Mesure Du Rendement De Carcasse	35
VI.3. Mesure Des Paramètres Biochimiques Sanguins	37
VI.3.1. Prélèvements de sang	37
VI.3.2. Dosage du cholestérol plasmatique.....	37
VI.3.3. Dosage des triglycérides plasmatiques.....	38
VI.3.4. Dosage des lipides totaux plasmatiques.....	38
VI.4. Etude De La Flore Lactobacillaire Intestinale.....	39
VI.5. Etude De La Morphométrie Intestinale.....	40
VI.5.1. Prélèvement des tissus à étudier	41
VI.5.2. Préfixation et fixation des tissus.....	41
VI.5.3. Phase de déshydratation et d'éclaircissement	41
VI.5.4. Inclusion et réalisation des coupes.....	41
VI.5.5. Fixation du tissu sur la lame et coloration.....	42
VII. Analyse Statistique	43

RESULTATS

I. Effet du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur Les Performances De Croissance.....	44
I.1. Effet sur le poids vif et le gain de poids du poulet.....	44
I.2. Effet sur l'ingéré alimentaire du poulet.....	46
I.3. Effet sur l'indice de conversion et de consommation du poulet.....	47
II. Effet Du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur La Mortalité.....	49
III. Effet Du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur Le Rendement De Carcasse.....	50
IV. Effet Du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur Les Paramètres Sanguins.....	52
VI.1. Effet sur la teneur plasmatique en cholestérol.....	52
VI.2. Effet sur la teneur plasmatique en triglycérides (TG)	53
VI.3. Effet sur la teneur plasmatique en lipides totaux.....	54
V. Effet Du Probiotique <i>P. acidilactici</i> Sur La Flore Lactique Intestinale.....	55
VI. Effet du probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la morphométrie intestinale.....	57
VI.1. Effet sur la longueur des intestins.....	57
VI.2. Effet sur la hauteur des villosités intestinales.....	59
VI.3. Effet sur le volume des villosités intestinales.....	62

DISCUSSION GENERALE.....66

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES.....75

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES



L'aviiculture nationale a connu au cours des vingt cinq dernières années un essor considérable grâce à son industrialisation. Néanmoins, cette dernière soumet les poulets à des conditions contraignantes en termes de densité, de microbisme et d'alimentation particulière, obligeant les producteurs à avoir recours à l'emploi d'additifs alimentaires pour assurer une bonne productivité et un état sanitaire optimal.

Dans cette optique, l'usage de substances médicamenteuses, comme les antibiotiques, était effectué, dès les années cinquante, à des doses infra thérapeutiques, dans l'alimentation des animaux en tant que promoteurs de croissance (GOURNIER-CHATEAU, 1994). Toutefois, face au risque potentiel d'antibiorésistance, la législation au niveau de la Commission Européenne a interdit totalement leur utilisation comme facteur de croissance.

En Algérie, une décision ministérielle n° 472 DU 24 Décembre 2006, portant sur l'utilisation des additifs dans l'alimentation animales, interdit l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance.

De ce fait, d'autres voies alternatives de recherche ont été explorées, en l'occurrence, celle des probiotiques. Ces derniers se définissent comme étant des constituants alimentaires microbiens vivants qui exercent une action bénéfique sur la santé de l'homme et de l'animal. Leur finalité chez l'animal, serait de renforcer les performances zootechniques de croissance et d'assurer une prévention des troubles digestifs (tel que la diarrhée) (AUCLAIR, 2001). Cependant, la littérature montre que, chez le poulet de chair, l'efficacité zootechnique des probiotiques reste controversée. En effet, une grande variabilité des réponses de croissance des animaux supplémentés en probiotique est constatée. Elle serait liée au fait que ces produits agissent spécifiquement en modulant la flore de l'hôte, qui elle-même varie selon les conditions d'élevage.

En Algérie, les premiers essais ont été réalisés au niveau de la station expérimentale des Monogastriques de Baba Ali (ITELV) en collaboration avec l'ONAB. Le but recherché de ces derniers était essentiellement de montrer l'intérêt zootechnique de l'usage de ces probiotiques. En effet, à notre connaissance, très peu d'études se sont penchées sur l'aspect métabolique et physiologique de ce type d'additifs chez le poulet. Ainsi, notre objectif est de préciser, dans nos conditions locales, l'intérêt d'une complément alimentaire en ce probiotique chez le poulet de chair, en étudiant son impact aussi bien sur la croissance, que sur l'évolution de la flore digestive et de l'histométrie intestinale et sur des marqueurs métaboliques sanguins.



Ce présent mémoire comporte, en première partie, une **revue bibliographique** articulée en deux chapitres. Le premier fait le point des connaissances sur les caractéristiques et rôles de la microflore digestive du poulet, et le second, présente des données générales sur le probiotique (définition, rôles et modes d'action chez le poulet).

La deuxième partie du mémoire est consacrée à **l'étude expérimentale** portant sur l'effet de la supplémentation en *Pediococcus acidilactici* sur les performances zootechniques, le rendement de carcasses, quelques paramètres sanguins, l'histométrie intestinale et l'évolution de la flore de lactobacilles. La méthodologie et le protocole utilisés dans notre essai seront d'abord, globalement décrits puis les résultats seront présentés et discutés. Dans la conclusion générale, nous ferons le point des idées acquises au cours de cette étude et présenterons les perspectives qui en découlent.



Chapitre 1

La Microflore Digestive Du Poulet

La flore intestinale normale se définit comme étant une collection complexe et en équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal, remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte (ISOLAURI et *al.*, 2002).

Chez les oiseaux, le tube digestif est stérile à l'éclosion. L'inoculation naturelle se fait à partir de la flore des adultes ou de celle des aliments (CHAFAI, 2006). L'implantation de la flore dépend donc de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion qui définit l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux microorganismes, de leur aptitude à coloniser l'intestin (besoin en nutriments, lieu de développement) et des interactions entre microorganismes (GABRIEL et *al.*, 2005). Mais de manière générale, les micro-organismes s'organisent sous la forme de populations en état d'équilibre, créant ainsi des habitats ou niches le long du tractus digestif. Ainsi, chaque compartiment du tube digestif est colonisé par différentes populations microbiennes. La flore digestive des volailles a été très étudiée et s'avère différente de celle des mammifères, probablement du fait de différences anatomiques et physiologiques (Figure 1). Elle a été considérée jusqu'à présent comme jouant un rôle mineur comparativement à celle du côlon des mammifères (GABRIEL et *al.*, 2003).

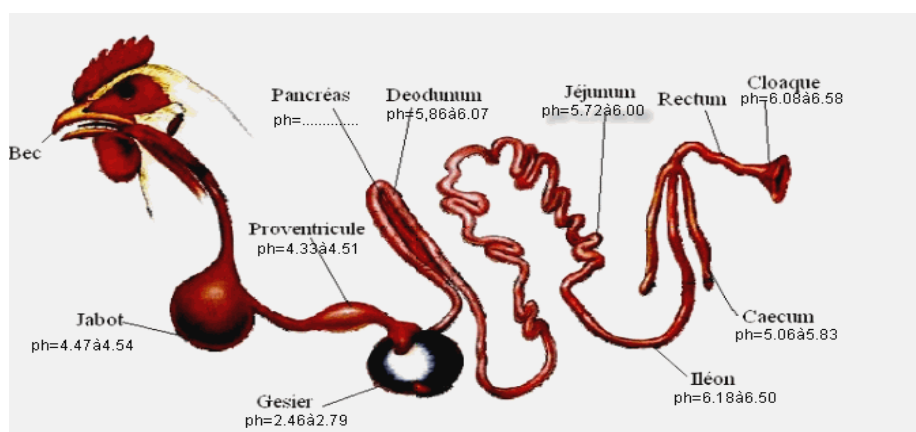


Figure 1: Schéma du tractus digestif des volailles et valeurs de pH du contenu digestif (TOUTAIN & MELOU, 2006).



I. Caractérisation De La Microflore Digestive Du Poulet

I.1. Description et localisation dans le tube digestif

De façon générale, la flore digestive comprend les organismes unicellulaires situés dans le tractus digestif, à savoir les bactéries, les champignons et les protozoaires. Les micro-organismes prédominants sont les populations bactériennes représentant une large gamme de types métaboliques et morphologiques (LU et *al.*, 2003). Celles-ci peuvent être divisées en trois groupes distincts (GABRIEL, 2005):

1. Une **flore dominante** ($> 10^7$ UFC/g contenu)
2. Une **flore sous-dominante** (10^5 à 10^3 UFC/g)
3. Une **flore résiduelle** ($< 10^3$ UFC/g)

La majorité des études décrivant la flore intestinale des oiseaux sont anciennes et sont basées sur des méthodes de culture conventionnelles. Comme ces dernières sont limitées face à l'isolement et à la culture de la flore anaérobie, seules les flores aérobies et anaérobies facultatives sont prises en compte dans ces études. Les techniques de biologie moléculaire, basées sur l'identification de l'ADN des micro-organismes, et permettant de mettre en évidence tous les micro-organismes présents dans le tractus digestifs même s'ils ne sont pas viables dans les conditions de laboratoire, sont encore peu développées chez la volaille (KNARREBORG et *al.*, 2002). De ce fait, la flore du poulet reste actuellement incomplètement décrite (GABRIEL et *al.*, 2003).

D'une manière globale, les données de microbiologie classique (cultures) ou moléculaire (clonage et séquençage) relatives à la composition de la flore le long du tube digestif du poulet (Tableau 1) indiquent, qu'au niveau du jabot, sont retrouvées principalement des Lactobacilles attachées à l'épithélium, des Streptocoques et des levures (GABRIEL et *al.*, 2005).

Dans l'intestin grêle, seules les bactéries anaérobies facultatives prédominent (Lactobacilles, Streptocoques et Coliformes). En revanche, dans les caeca, les anaérobies stricts comme *Eubacterium*, des *Bifidobactéries* et des *Clostridies* deviennent majoritaires, même si des bactéries anaérobies facultatives sont aussi présentes telles que les lactobacilles, les entérocoques et les coliformes (GABRIEL et *al.*, 2003).

Ainsi, chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés par les méthodes de culture conventionnelles. Chaque genre est représenté par 3 à 4 espèces, et chaque espèce par 3 à 4 types



métaboliques différents, ce qui ferait au final plus de 200 types différents (GABRIEL *et al.*, 2005).

Tableau 1. Composition de la microflore du poulet déterminée par dénombrement bactériens (SMITH, 1965) [§]

Groupes majoritaires	Nombre de bactéries viables (log ₁₀ UFC / g de contenu)						
	Jabot	Gésier	Intestin 1 ^{§§}	Intestin 3	Intestin 5	Intestin 7	Caeca
Lactobacilles	8,7	7,3	8,0	8,2	8,2	8,6	8,7
Streptocoques	4,0	3,7	4,0	4,0	3,7	4,2	6,7
<i>Escherichia coli</i>	1,7	nd	2,0	1,7	1,7	2,7	5,6
Levures	2,7	nd	1,7	nd	1,7	nd	2,0
<i>Clostridium welchi</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,7
Bactéroïdes	nd	nd	nd	nd	nd	nd	8,7

UFC : Unité Format Colonie.

nd : organisme non détecté, c'est-à-dire quantité dont le log₁₀ est inférieur à 1,7/g.

[§] Poulets de chair adultes issus d'un élevage (6 individus), consommant un régime composé de céréales et de farine de poisson (10-15%), sans antibiotique.

^{§§} L'intestin a été divisé en 7 parties : différentes portions ont été étudiées (la 1^{re}, la 3^e, la 5^e et la 7^e partie).

Au niveau du tractus digestif, la flore se localise dans la lumière intestinale, enfouie dans la couche de mucus ou bien adhérent à la muqueuse digestive, pouvant y former des couches de cellules très importantes (FULLER, 1989).

La flore luminale dépend des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes. **La flore mucosale** dépend de l'expression par l'hôte de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'anticorps sécrétoires et de l'extrusion de matériel cellulaire de la membrane (GABRIEL *et al.*, 2005).

I.2. Facteurs de variation de la composition de la flore digestive

De manière générale, la composition de la flore bactérienne varie selon l'âge et l'environnement de l'animal, du stress auquel il est soumis et de l'aliment qu'il reçoit (Gabriel *et al.*, 2003).

A l'éclosion, le tube digestif du poulet est stérile mais dès le premier jour, l'intestin est rapidement colonisé par les coliformes, les streptocoques et les clostridies. Les



lactobacilles ne sont retrouvés dans l'intestin du poulet qu'au-delà de trois jours et les bactéroïdes pas avant cinq jours (GABRIEL et *al.*, 2005).

La colonisation par les lactobacilles est en général retardée dans les environnements propres (GABRIEL et *al.*, 2003). Néanmoins, elle peut être plus précoce si le poussin est mis dès l'éclosion en contact avec des lactobacilles (FULLER, 1984).

Globalement, le développement d'une espèce bactérienne par rapport à une autre peut être limité par des antagonismes entre bactéries. Mais, la flore du poulet est considérée comme stable au niveau de l'intestin à partir de l'âge de deux semaines, celle des caeca à partir de 4 à 6 semaines d'âge (GABRIEL et *al.*, 2005).

Par ailleurs, le développement de la flore dépendra également du milieu d'élevage. Ainsi, les poulets élevés au sol sur litière propre ou contaminée par une bande précédente ont un nombre supérieur de population bactérienne comparativement à des animaux élevés en cage (MALLET et *al.*, 2001).

Parmi les facteurs de stress susceptibles de modifier la composition de la flore bactérienne du poulet, seront cités : les fortes densités d'élevage, les conditions de température ambiante et les parasites intestinaux tels les coccidies (KIMURA et *al.*, 1976).

Concernant l'alimentation, le type de céréales distribuées aux poulets et particulièrement, la présence de polysaccharides non amylacés (PNAs) (MATHLOUTI et *al.*, 2002) pour le type d'amidon (WEURDING, 2002) et les matières grasses (KNARREBORG et *al.*, 2002) induisent des modifications de la flore.

II. Effets De La Microflore Sur La Physiologie Digestive

Les interactions entre la microflore et la muqueuse digestive, sont à la fois, symbiotiques et compétitives, entraînant des modifications de la structure et du fonctionnement du tube digestif.

II.1. Variations anatomo-physiologiques du tractus digestif

Les animaux conventionnels ont un intestin grêle plus lourd et plus long mais également une paroi plus épaisse par rapport à des animaux axéniques (DENIS et *al.*, 2004). Cet épaissement est principalement dû aux tissus connectifs en particulier la *lamina propria* et au tissu lymphoïde. Les villosités intestinales sont également plus hautes dans le jéjunum et l'iléon et de forme moins régulière chez les oiseaux conventionnels comparés aux oiseaux axéniques. Les cryptes sont plus profondes tout le long de l'intestin



grêle et le nombre de cellules en division est plus élevé, donnant un renouvellement cellulaire accéléré du duodénum distal à l'iléon. De même, les caeca des animaux conventionnels ont un poids relatif plus élevé et une paroi plus épaisse par rapport à ceux des animaux axéniques (GABRIEL *et al.*, 2005). Le développement plus important des tissus intestinaux serait induit par les différents métabolites produits par les bactéries tels que les acides gras volatils, l'ammoniac et les amines (GABRIEL *et al.*, 2005).

II.2. Production et hydrolyse du mucus

Certains micro-organismes colonisent et augmentent la production des mucines de l'iléon, des caeca et du colon du poulet tout en modifiant les proportions des différents types de glycoprotéines qui les constituent (SAKATA et SETOYAM, 1995) alors que d'autres micro-organismes s'attachent à l'épithélium du tube digestif (GABRIEL *et al.*, 2003). Le gel formé par le mucus pourrait servir à stabiliser la communauté microbienne. Ces modifications pourraient s'effectuer directement par la libération locale de facteurs bioactifs ou indirectement par l'activation des cellules immunitaires de l'hôte. Par ailleurs les mucines pourraient être utilisées comme source de carbone et d'énergie par certaines bactéries grâce à leurs activités glycosidiques (GABRIEL *et al.*, 2005).

II.3. Impact sur le transit et la motricité du tractus digestif

La présence de la flore ne semble pas modifier la vitesse de transit intestinal. Ceci pourrait néanmoins dépendre du type de régime. Ainsi, un effet de la flore est observé dans le cas de régimes incluant des matières premières riches en polysaccharides non amylacés hydrosolubles qui augmentent la viscosité des contenus digestifs (GABRIEL *et al.*, 2005).

III. Effets De La Microflore Sur La Valeur Nutritionnelle De L'aliment

La microflore digestive est en compétition avec l'hôte pour l'utilisation des aliments présents dans le tube digestif. En effet, les micro-organismes sont pourvus d'un très grand nombre d'enzymes comparativement à l'oiseau. De plus, ceux localisés dans la lumière intestinale peuvent utiliser les nutriments avant l'hôte. La flore digestive aurait ainsi un effet positif en libérant des nutriments absorbables par l'hôte au niveau intestinal et caecal. Les aliments non digestibles par l'oiseau sont les plus concernés (GABRIEL *et al.*, 2005).



III.1. Impact sur la digestion des glucides

Dans le cas des glucides utilisables par l'hôte (amidon, dextrine, oligosaccharides et monosaccharides), la microflore ne semble pas intervenir puisqu'elle ne peut modifier l'activité des enzymes impliquées dans leur digestion (amylase pancréatique ou disaccharidases intestinales), ni faire varier l'absorption du glucose. Toutefois, au niveau du jabot, certaines souches de lactobacilles auraient une activité amylolytique secondant l'action des amylases endogènes (CHAFAI, 2006). Par ailleurs, les glucides non digestibles par l'oiseau, à savoir les polysaccharides non amylacés (cellulose, hémicellulose, substances pectiques), sont fermentés par la microflore dans le jabot et principalement au niveau des caeca (MEAD, 1989).

III.2. Impact sur la digestion des lipides

Pour la digestion des lipides, la flore digestive des oiseaux, comme chez tous les animaux, modifie largement les sels biliaires : déconjugaison, désulfatation et déhydroxylation. Ainsi, chez le jeune poulet de 3 semaines, la flore diminue la digestibilité fécale des lipides de 2 points dans un régime contenant des matières grasses végétales à 10 points avec des matières grasses animales (GABRIEL *et al.*, 2003). Ceci est lié à la faible concentration en sels biliaires conjugués consécutive à leur déconjugaison par la microflore. En effet, les sels biliaires conjugués servent la formation des micelles. De ce fait, leur faible concentration réduit la solubilisation des lipides et donc leur absorption, surtout ceux renfermant des acides gras (AG) saturés à longue chaîne (GABRIEL *et al.*, 2003). Ainsi, la digestibilité des AG saturés tels que l'acide palmitique et stéarique est fortement réduite par la présence de microflore alors que celle des AG insaturés comme l'acide oléique et linoléique n'est pas modifiée.

III.3. Impact sur la digestion des protéines

L'impact de la microflore sur la digestibilité des protéines varie selon les études. Ceci est probablement lié aux différences de composition des régimes alimentaires utilisés dans les essais. D'une manière générale, la microflore pourrait avoir un rôle sur la digestibilité dans la mesure où elle augmente la production de protéines endogènes (mucus, débris cellulaire, biomasse microbienne). Elle aurait également un effet positif sur la digestion des protéines de mauvaise qualité qui sont mal hydrolysées par l'hôte et pourraient être digérées par la microflore. En revanche, dans le cas des protéines sévèrement modifiées par la chaleur, même la microflore ne pourrait les hydrolyser. Par ailleurs, la flore digestive



semble jouer un rôle de conservation de l'azote : libération et recyclage de NH_3 (GABRIEL *et al.*, 2005).

III.4. Impact sur les vitamines et minéraux

La microflore agit négativement sur la nutrition minérale (GABRIEL *et al.*, 2005). Elle réduit l'absorption ou le transport du calcium absorbé par les tissus intestinaux. Elle diminue également l'absorption du manganèse. La flore augmente les besoins en magnésium et en phosphore, mais n'a pas d'effet sur les autres oligoéléments tels que le cuivre, le zinc et le fer. En revanche, de par sa production d'AGV, la microflore facilite l'absorption des minéraux comme le sodium au niveau des caeca et du colon (GABRIEL *et al.*, 2005).

La flore bactérienne intestinale assure la synthèse de vitamines (CHAFAI, 2006). Ainsi, les vitamines hydrosolubles, surtout du groupe B, sont synthétisées en quantités appréciables par la flore bactérienne au niveau des cæcums du poulet (SOUILEM et GOGNY, 1994). Par contre, la vitamine K est produite en quantité insuffisante pour répondre aux besoins. En fait, toutes ces vitamines bactériennes seraient utilisées par elles-mêmes, sauf l'acide folique qui pourrait être disponible à l'hôte.

Par ailleurs, en présence de flore, les besoins en vitamines, comme l'acide pantothénique seraient augmentés pour détoxifier les produits bactériens. La flore aurait aussi un impact négatif sur l'absorption des vitamines liposolubles qui nécessitent des acides biliaires (GABRIEL *et al.*, 2005).

IV. Rôles De La Microflore Sur La Santé De L'hôte

IV.1. Stimulation du système immunitaire

La flore intestinale participe au développement et au maintien d'un système immunitaire intestinal efficace en influençant le nombre, la distribution et le degré d'activation des populations cellulaires qui le composent (SALMINEN *et al.*, 1998). Elle est le stimulus antigénique majeur responsable de la migration et de la maturation des cellules lymphoïdes précurseurs présentes dans les plaques de Peyer (GABRIEL *et al.*, 2005). Au niveau de la réponse immunitaire systémique, la flore serait responsable de l'évolution de la production d'IgM en IgG, ces derniers étant les anticorps les plus importants quantitativement. Ainsi, elle agit sur le développement et la maturation des



plasmocytes producteurs d'IgA sécrétoires, ces derniers ayant comme fonction principale d'empêcher la fixation des pathogènes sur la muqueuse intestinale (CHAFAI, 2006).

IV.2. Fourniture de métabolites utiles ou néfastes

De nombreux composés issus de la fermentation des aliments sont produits par la microflore digestive. Certains peuvent être bénéfiques et d'autres néfastes à l'hôte (Tableau 2).

Tableau 2. Métabolites majeurs produits par la microflore
(Gabriel et *al.*, 2005)

Produits bénéfiques	Produits néfastes
Vitamines [§] , acides lactiques, bactériocines, métabolites de l'oxygène, peroxyde d'hydrogène, radicaux libres.	Acide cholique, enzymes déconjugant les sels biliaires, indole et scatole, mercaptan d'éthyl et de méthyl, endotoxines, entérotoxines, substances mutagènes et carcinogènes, oligopeptides potentiellement inflammatoires.
Produits à effets mixtes	
• Acides gras volatils : acétate, propionate, butyrate, isobutyrate, valérate, isovalérate. • Ammoniac • Amines (putrescine, spermidine, spermine, histamine)	

[§] Ne seraient pas disponibles pour l'animal, sauf l'acide folique.

IV.3. Protection contre les micro-organismes nuisibles

La flore autochtone empêche l'implantation de la flore pathogène. Ce phénomène, appelé « effet barrière », se met en place avant la maturité complète du système immunitaire du tube digestif. Les mécanismes impliqués sont variés. Certaines bactéries bénéfiques produisent des métabolites antimicrobiens tels que des acides gras à chaîne courte, des bactériocines ou des métabolites de l'oxygène, créant ainsi un microenvironnement hostile aux autres espèces bactériennes. La flore bénéfique peut aussi modifier les récepteurs utilisés par les bactéries néfastes ou leurs toxines, empêchant ainsi



leur développement dans le tube digestif. Elle intervient également par l'utilisation compétitive de nutriments essentiels (GABRIEL et *al.*, 2005).

En conclusion de ce chapitre...

... Il apparaît clairement que la flore digestive a des effets sur l'hôte à plusieurs niveaux. Certains sont positifs comme l'effet barrière, le développement et la modulation du système immunitaire. D'autres sont négatifs, tel le coût métabolique induit du fait du développement plus important de l'intestin et d'un système immunitaire activé en permanence. Il est possible de modifier et/ou contrôler cette microflore notamment par l'usage de probiotiques.



Chapitre 2

Les bactéries lactiques et leurs actions probiotiques

I. Les Probiotiques : Données Générales

I.1. Définition & historique

Le mot «**probiotique**» dérive de deux de mots grecs « pro et «bios » qui signifient littéralement « pour la vie » (GIBSON et FULLER, 2000 ; COPOLLA et TURNES, 2004). Il s'oppose au terme « antibiotique » qui lui signifie « contre la vie ». En fait, ce terme a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques.

La notion de " probiotique" a été développée grâce aux travaux du chercheur et prix Nobel russe ELIE METCHNIKOFF (1907), qui avait suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou productrices de toxines d'où le concept de la théorie d'auto-intoxication (METCHNIKOF, 1907 cité par GOURNIER-CHATTEAU et *al.*, 1994).

En 1965, LILLY et STILLWELL proposent une des premières définitions des probiotiques comme « facteur promoteurs de croissance produits par des micro-organismes ». Par la suite, PARKER (1947) élargit cette définition à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ». Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques.

Plus tard, FULLER (1989) propose une définition très proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale ». Par opposition aux précédentes, la définition suivante introduit la notion de souche bien caractérisée d'un point de vue taxonomique ainsi que la notion de quantité apportée à l'homme.

Enfin, la FAO (Food and Agriculture Organization) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé ; WHO : World Health Organisation) ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments (FAO/OMS, 2002) et formulent la définition suivante : « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont



consommés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte qui les ingère ».

I.2. Les microorganismes probiotiques

Sont considérés comme probiotiques différentes souches bactériennes ainsi que les levures. Les bactéries probiotiques sont principalement des bactéries lactiques et des bifidobactéries (Tableau 3).

Tableau 3. Les micro-organismes considérés comme probiotiques
(adapté de BOUDJENAH, 2008)

Bactéries probiotiques			
Lactobacillus	Bifidobacterium	Autres bactéries lactiques	Autres bactéries
<i>L. acidophilus</i> <i>L. amylovorus</i> <i>L. brevis</i> <i>L. casei</i> <i>L. cellobius</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. curvatus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. farciminis</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. gallinarum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i> <i>B. thermophilum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Sporolactobacillus inulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Bacillus</i> spp <i>Escherichia coli</i> strain Nissle <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
			Levures probiotiques
			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

I.3. Critères de sélection des souches probiotiques

Les caractéristiques proposées comme critères pour la sélection des micro-organismes potentiellement probiotiques sont récapitulées dans le tableau 4 (MARTEU et SEKSIK, 2005).

I.3.1. Choix des microorganismes

Les microorganismes utilisés comme probiotiques doivent être exempt de toutes pathogénicité (SUVARNA et BOBY, 2005 ; ANURADHA et RAJESHWARI, 2005). Ils sont retrouvés dans de nombreuses applications notamment dans l'industrie agroalimentaire (ces



souches sont incorporées dans les yaourts, les boissons, les fromages, les desserts réfrigérés et même le lait non fermenté) et ne présentent aucun danger pour l'homme, les animaux ou l'environnement (KLEANHAMMER, 2002 ; CHUKEATIROTE, 2003; BOUZIANE *et al.*, 2004 ; NOWROOZI *et al.*, 2004).

Tableau 4. Les caractéristiques proposées comme critères pour la sélection des micro-organismes potentiellement probiotiques (D'après MARTEU et SEKSIK, 2005).

Absence de toxicité ou pathogénie
Possibilité de production en grande échelle
Possibilité de cryoprotection
Propriété organoleptique et technologique
Résistance à l'acide
Résistance à la bile
Adhérence à diverses lignées de cellules intestinales et/ou au mucus
Production de substance d'intérêt (bactériocines...)

I.3.2. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif

Les bactéries probiotiques doivent franchir les obstacles majeurs du transit digestif. Au départ elles doivent résister aux enzymes présents dans la cavité buccale (dont le principal est le lysozyme), à la forte concentration d'acide chlorhydrique présent dans l'estomac, aux sucs pancréatiques et aux concentrations de bile et de mucus présents dans l'intestin grêle. Ainsi, pour être efficaces, elles doivent parvenir vivante au site de leurs action, à savoir l'intestin. Pour cela, elles doivent résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte (PERCIVAL, 1997; MALINEN, 2002).

I.3.3. Colonisation du tractus digestif et adhésion aux cellules intestinales

Il est recommandé que les probiotiques adhèrent aux cellules de la paroi intestinale pour une bonne colonisation du tube digestif. Toutefois, les résultats des tests *in vivo* sur l'adhésion des bactéries aux cellules sont encore controversés par rapport aux tests *in vitro*. Il semblerait que les *lactobacilles* (*L. crispatus* ST1, A33 et 134 ; *L. reuteri* CT7 ; *L. gasseri* CTS) présentent une meilleure affinité aux cellules du jabot (SANNA *et al.*, 2002).



De plus, de nombreux auteurs auraient mis en évidence que l'apport des probiotiques devrait se faire de manière continue et à forte dose pour exercer leurs effets bénéfiques du fait de leur inaptitude à coloniser de façon permanente le tube digestif des animaux (GOURNIER *et al.*, 1994).

GUSIILS *et al.* (2002) ont confirmé l'existence de différents déterminants de surface qui pourraient être impliqués dans les interactions entre des Lactobacilles (*L. animalis*, *L. fermentum*, *L. fermentum spp. Cellobiosus*) et les cellules épithéliales intestinales.

I.3.4. Activités antimicrobiennes

Les probiotiques doivent être capables d'inhiber la croissance des germes pathogène par la production de substances antagonistes de types bactériocines ou autre comme les acides organique et le peroxyde d'hydrogène (GUSIILS *et al.*, 2002 ; LIMA *et al.*, 2005; LAM *et al.*, 2005).

Des tests *in vitro* ont prouvé l'activité anti-microbienne des bactéries : *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633, contre deux pathogènes entériques : *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* (EL-NAGGAR, 2004). De même, HARIHARAN *et al* (2004) ont démontré que l'ingestion de probiotique réduit la colonisation du tractus digestifs par *C. jejuni*.

I.3.5. Viabilité et stabilité des micro-organismes

Il est impératif de conserver les souches probiotiques vivantes durant les traitements technologiques de production soit par enrobage ou par micro-encapsulation (CONWAY, 1996 ; PERCIVAL, 1999 ; CASAS et DOBROGOSZ, 2000 ; KLEANHAMMER, 2000 ; SUSKOVIC *et al.*, 2001).

Des études sont nécessaires pour déterminer la durée de viabilité des souches probiotiques au cours des processus de fabrication afin de déterminer la date limite d'utilisation sans diminuer ou encore perdre leurs propriétés ; d'où la nécessité de mettre encore en place un système de contrôle de qualité tout au long de la fabrication des produits probiotiques. Par contre la stabilité des souches bactériennes dépend des conditions de stockage : température, humidité et autres (SAARELA *et al.*, 2000).



I.3.6. Résistance aux additifs alimentaires et aux antibiotiques

Etant donné que les bactéries probiotiques sont essentiellement administrées par incorporation à l'aliment, il est judicieux d'étudier la tolérance des souches aux additifs alimentaires et aux principaux antibiotiques thérapeutiques utilisés en élevage pour pouvoir déterminer la possibilité d'effectuer une antibiothérapie en même temps que l'administration du probiotique (GOURNIER *et al.*, 1994).

I.4. Réglementation de l'usage des probiotiques

Depuis 1970, l'usage des additifs en alimentation animale est réglementé en Europe par la directive 70/524/CEE modifiée en 1994 (directive 94/40 CE) pour inclure les micro-organismes et les enzymes administrés dans l'aliment pour un but zootechnique et sanitaire chez différentes espèces comme (le poulet de chair, le veau et autres) (ROSEN, 1996).

Les souches doivent être déposées dans une collection internationale de micro-organismes comme l'ATTC (American type culture collection, Etats-Unis), la DMSZ (Deutschesamm-lung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Allemagne), et la CNCM (Collection Nationale de Culture de Micro-organismes, Institut Pasteur, France).

Les principales modifications introduites ont trait aux spécifications requises concernant l'identification (y compris au niveau moléculaire) et la caractérisation du micro-organisme, l'innocuité et l'efficacité pour les espèces cibles et pour l'homme doit être signalée et prouvée. L'étude toxicologique sera limitée à un seul essai de tolérance à forte dose (10 fois la dose commerciale).

En Europe, toute demande d'autorisation de commercialisation d'un micro-organisme probiotique doit depuis 1996 être accompagnée d'un dossier déposé au niveau communautaire (GUILLOT, 1998). Alors qu'aux Etats-Unis, la FDA autorise des allégations sur des produits alimentaires comme « améliore l'équilibre de la flore intestinale », mais il n'y a aucune loi qui régit ce terme.

En Algérie, le règlement du marché des probiotiques est soumis à une loi de libre vente selon la loi n°88-08 DU 8/01/1988 (source Direction des Services Vétérinaires).



II. Propriétés Générales Des Bactéries Lactiques

Dans cette étude bibliographique, nous nous intéresserons essentiellement aux bactéries lactiques à action probiotique, et plus spécifiquement au probiotique *Pediococcus acidilactici*, objet de notre étude expérimentale.

II.1. Les bactéries lactiques

Le plus souvent, les bactéries lactiques se présentent sous la forme de coques ou de bacilles à Gram positif, non sporulés, non mobiles et dépourvus de cytochrome. Elles sont en outre résistantes à l'acide, aérobies facultatives et ne produisent pas de catalase (AITBELGENAOUI, 2006).

Concernant les produits métaboliques, le point commun de ces bactéries lactiques est leur capacité à produire de l'acide lactique suite à la fermentation des glucides. Elles peuvent être homo-fermentaires (70% du produit métabolique est de l'acide lactique) ou hétéro-fermentaires (50 % acide lactique complété par d'autres composés tels que l'acide acétique, le CO₂ ou l'éthanol) (AITBELGENAOUI, 2006).

Depuis très longtemps, les bactéries lactiques sont consommées dans les produits fermentés (produits dérivés du lait, de la viande et du poisson...). Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Recognized As Safe : généralement reconnu comme non dangereux) (AITBELGENAOUI, 2006).

Chez les volailles, les bactéries lactiques sont présentes dans la microflore normale (BARNES, 1972 ; FULLER, 2004). Elles sont capables de survivre dans le tractus digestif puisqu'elles résistent aux pH acides du gésier et du jabot. Elles ont un effet préventif sur les désordres digestifs (GOURNIER *et al.*, 1994). Ceci pourrait expliquer leur large utilisation en tant que probiotiques en aviculture.

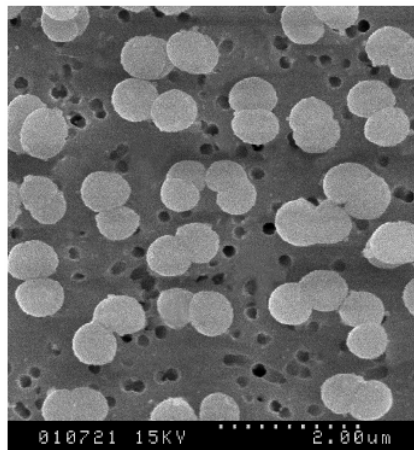
Les bactéries lactiques regroupent 12 genres bactériens dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (DROUAULT et CORTHIER, 2001 ; SALMINEN *et al.*, 1998).

II.2. Caractéristiques de *Pediococcus acidilactici*

Ce micro-organisme est classé parmi les bactéries lactiques appartenant au genre *Pediococcus*. Sa classification est présentée dans le tableau 5. Il s'agit d'une bactérie coque gram⁺, non sporulée (Figure 2), à croissance rapide, homo-fermentaire (production exclusive d'acide lactique) et capable de coloniser et d'acidifier rapidement le milieu.

**Tableau 5.** Classification de *P. acidilactici* (Source Internet n °1)

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Fimicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Lactobacillaceae</i>
Genre	<i>Pediococcus</i>

**Figure 2.** *P. acidilactici* en microscopie électronique (Source Internet n°2).

III. Modes D'action Des Bactéries Lactiques Probiotiques

Le mode d'action des probiotiques reste encore imparfaitement élucidé et beaucoup d'hypothèses et de zones d'ombre subsistent encore. Globalement, le probiotique est un complément alimentaire microbien vivant qui exerce une influence positive sur la santé en général et plus particulièrement sur la digestion en renforçant l'écosystème microbien car il est certain que leur cible est la flore intestinale (GOURNIER et *al.*, 1994). L'efficacité des probiotiques est liée à leur survie dans l'intestin et à la capacité de le coloniser ou s'y développer (NETHERWOOD et *al.*, 1999 ; ROLFE, 2000 ; GUILLOT, 2001 ; SIMON, 2005).

Les mécanismes d'actions, bien qu'imparfaitement quantifiés sont qualitativement de plus en plus connus, vue que l'effet favorable des probiotiques peut résulter soit d'un effet nutritionnel direct soit d'un effet sanitaire :



L'effet nutritionnel résulte de l'amélioration de la valeur énergétique des aliments en augmentant leur digestibilité, de la détoxification par la réduction des réactions métaboliques qui produisent des substances toxiques comme l'ammoniac, les amines ou cytotoxines, de la stimulation des enzymes digestives et de la production de vitamines ou des substances antimicrobiennes.

L'effet sanitaire est lié à l'activation du système immunitaire, à la modification de la structure et des fonctions de l'épithélium intestinal et à la suppression ou l'élimination d'entéro-pathogènes (Source Internet n°3).

Ainsi, les probiotiques peuvent exercer **des effets directs** sur le chyme, la flore (effets luminaux) ou au niveau des entérocytes ou des cellules immunocompétentes du GALT (effets pariétaux). Ils peuvent aussi avoir **des effets indirects** liés aux modifications de l'écosystème ou du système immunitaire local (MARTEAU et RAMB, 1998).

Ces effets bénéfiques induits par l'administration des probiotiques pourraient s'expliquer par plusieurs mécanismes :

III.1. Inhibition des bactéries indésirables

La répression du développement de germes opportunistes ou pathogènes peut se faire de plusieurs façons :

Ø Par modification du pH intestinal

La production d'acides organiques à partir des glucides alimentaires (lactate, acétate, propionate et butyrate) abaisse le pH ce qui limite le développement des germes pathogènes comme les Salmonelles et les Escherichia coli. De plus, l'acidification favoriserait le péristaltisme et la motilité intestinale qui a comme conséquence le raccourcissement du temps de transit des micro-organismes pathogènes dans l'intestin d'où réduction de leur croissance (CHAFAI, 2006).

Ø Par accumulation de métabolites primaires et secondaires

Certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de déconjuguer les sels biliaires. Il est bien connu que les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries pathogènes que les formes conjuguées (BEZKOROVANY, 2001 ; MARTEAU, 2001)

Par ailleurs, la production de peroxyde d'hydrogène et le diacetyl freine la prolifération de certaines bactéries pathogènes par effet bactériostatique (SALMINEN, 1999; KREHBIEL



et *al.*; 2003; AMROUCHE, 2005) comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas spp* et *Salmonella* (GOURNIER et al., 1994) et sur certains champignons comme *Candida albicans*.

Ø Par production des substances antimicrobiennes

Les souches probiotiques ont la réputation de freiner la croissance des bactéries pathogènes fréquemment responsables d'infection en élevage en produisant des peptides antimicrobiens (PERCIVAL, 1997 ; VAN BELKUM et STILES, 2000) de type bactériocine et reuterin (CASAS et DOBROGOSZ, 2000 ; CALLAWAY et *al.*, 2003 ; FILHO et LIMA, 2005). STROMPFOV et *al.* (2003) ont isolé à partir du jabot, une souche d'*Enterococcus faecium* EF55 ayant des propriétés de production de bactériocine et inhibant des bactéries Gram positif comme (*Enterococci*, *Staphylococci*, *Lactococci*, *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Micrococci*)

Ø Par effet barrière ou exclusion compétitive

Les souches probiotiques pourraient aussi agir en inhibant l'implantation des germes pathogènes par l'adhésion aux récepteurs des cellules intestinales ce qui permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif (SOOMRO et al, 2002 ; CHANDRA, 2004 ; ZHANG, 2004 ; MOREIRA et *al.*, 2005). L'exclusion compétitive des souches probiotiques serait aussi liée à la consommation des nutriments à la place des souches pathogènes (SCHREZENMEIR et DEVRESE, 2001 ; FOOKS et GIBSON, 2002). Néanmoins, bien que ce système antagoniste possède un large spectre d'action *in vitro*, il existe peu de preuves sur son efficacité *in vivo*.

III.2. Neutralisation des produits toxiques

Les souches probiotiques interviennent dans la suppression de produits toxiques en provoquant un abaissement du catabolisme intra digestif et une orientation de la microflore intestinale afin de réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indoles), de diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques et produire des métabolites susceptibles de neutraliser *in situ* certaines toxines bactériennes (PERCIVAL, 1997 ; SCHREZENMEIR et DEVRESE, 2001 ; KUNG, 2001).

III.3. Amélioration de la digestibilité de l'aliment

Les probiotiques permettraient une meilleure assimilation des aliments ingérés de manière indirecte en agissant sur la microflore intestinale ou au niveau des cellules épithéliales



du tube digestif. Elles stimuleraient également les activités lactase, invertase et maltase des cellules épithéliales du tractus digestif.

Les probiotiques ont un effet modulateur sur certaines activités enzymatiques intestinales comme la bêta-galactosidase et la bêta-glucuronidase (GHADBAN, 2002 ; LEE et al., 2006). Ceci permet d'améliorer la digestibilité de nombreux nutriments en favorisant la dégradation et l'absorption de certains aliments par la production d'enzymes digestives. Ainsi, *Lactobacillus* excrète une β -galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, facilitant ainsi la digestion du lactose (SALMINEN et al., 1998 ; NETHERWOOD et al., 1999).

Les souches probiotiques pourraient aussi améliorer l'assimilation des acides aminés essentiels par l'hôte soit en les synthétisant soit en inhibant l'action des désaminases et des décarboxylases bactériennes excrétées par la microflore du tube digestif.

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la prédigestion des facteurs antinutritionnels, tel que l'acide phytique et les glucosinates, en substrats assimilables par l'hôte (HERZIG et al., 2003).

En outre, les travaux de MOUNTZOURIS et al. (2007) ont démontré que l'addition de probiotique composé de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, et *Pediococcus acidilactici* module la composition caecale tout en modifiant l'activité métabolique de la flore caecale.

Enfin, de nombreuses bactéries utilisées comme probiotique sont une source de vitamines et de sels minéraux assimilables par l'organisme (CHOCT, 2001).

III.4. Impact sur la muqueuse digestive

Des études récentes ont montré que la consommation de probiotiques stabilise la fonction barrière de l'épithélium du tractus digestif et module la perméabilité intestinale aux protéines, aux macromolécules, aux antigènes et aux bactéries (translocation) (MARTEAU et RAMB, 1998).

Plusieurs probiotiques ont chez l'animal un effet favorable sur la fonction barrière de l'intestin. Ils augmentent la résistance électrique trans-épithéliale de base renforçant ainsi la barrière muqueuse tout en diminuant la perméabilité et le transport des macromolécules. Des travaux sont alors entrepris cherchant une efficacité clinique potentielle à des probiotiques dans des situations caractérisées par une inflammation intestinale ou une perméabilité intestinale



accrue. A titre d'exemple, l'administration de *L. reuteri* R2LC et de *L. plantarum* DSM 9843 à des rats présentant une entérocolite induite par le *méthotrexate* diminue la perméabilité intestinale, la translocation bactérienne et les concentrations plasmatiques d'endotoxines (MARTEAU et RAMB, 1998).

L'effet des probiotiques sur la barrière muqueuse non-immune semble être la conjonction d'effets modulateurs sur la quantité et la répartition des mucines, sur le maintien (structure, localisation, phosphorylation) des protéines du cytosquelette et des jonctions serrées intercellulaires, et donc sur la résistance électrique, la perméabilité et les flux hydro-ioniques trans-épithéliaux et de la probable interface de ces effets avec le versant immun de la barrière muqueuse (adhérence bactérienne et interférence avec les pathogènes, translocation, réponse immune non-spécifique et de type humoral, interférence avec l'inflammation et réponse en cytokines) (LEAHY et al., 2005).

III.5. Stimulation de l'immunité

Selon la littérature les probiotiques ont des effets positifs sur l'homéostasie du système immunitaires tout en le stimulant et cela sans induire des effets négatifs comme les réponses auto-immunes ou les allergies.

D'une manière générale le système immunitaire répond par deux mécanismes : l'immunité non spécifiques (naturelles) et l'immunité spécifiques ou acquise impliquant des mécanismes cellulaires ou humoraux ayant un rôle de régulateur pour la réponse à l'antigène.

Les cellules du système immunitaires non spécifiques permettent l'initiation de la réponse immunitaire de l'hôte et l'orientation du système immunitaire spécifique par la production des facteurs nommées cytokines (ERICKSON et HUBBARD, 2000). En effet, des travaux rapportés dans la littérature suggèrent que certaines souches à fort potentiel probiotiques sont capables de stimuler certaines fonctions immunitaires notamment lors d'infection bactérienne ou virale. Ainsi, grâce à leurs composants intra ou extracellulaires actifs, les probiotiques sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes, en transmettant des signaux qui modifient la réponse immunitaire de l'organisme hôte. Aussi, une amélioration de la protection de l'organisme suite à la consommation de produits fermentés laisse suggérer qu'il existe une relation directe entre les probiotiques et les systèmes immunitaires non spécifique et spécifique qui réagit d'une manière simultanée et coordonnée.



III.5.1. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de défense non spécifiques

L'immunité non spécifique utilise essentiellement des mécanismes visant à éliminer de façon rapide et non spécifique des microorganismes pathogènes par les phagocytes ou à éliminer des molécules du non soi par la stimulation de l'activité des lymphocytes Natural Killer (NK). Les probiotiques stimulent la phagocytose par l'activation des macrophages qui reconnaissent et détruisent les antigènes et selon SALMINEN et al (1998), l'administration orale de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* active les macrophages.

III.5.2. Effets sur les cellules impliquées dans les mécanismes de réponses immunitaires spécifiques

Ce système immunitaire est une réponse spécifique pour des antigènes exogènes donnés, faisant intervenir les lymphocytes B producteurs d'anticorps protecteurs et les lymphocytes T qui participent à la différenciation des lymphocytes B et détruisent les cellules abritant des germes par l'intermédiaire de substances chimiques telles que les interleukines. Cette immunité spécifique peut être locale pour la protection de la muqueuse intestinale (IgA), ou périphérique (IgG, IgM) pour une réponse plus générale de l'organisme.

Un avantage déterminant de l'immunité adaptative est l'établissement d'une mémoire immunitaire, permettant de développer des réponses plus intenses et plus précises vis à vis des agresseurs microbiens lorsque les contacts se répètent, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité.

Les probiotiques permettent l'augmentation de la réponse immunitaire spécifique qui se traduit par une activation des lymphocytes T et B, provoquant une augmentation du taux d'interleukines et des anticorps circulants (IgM et IgG) et augmente les IgA à la surface de la paroi intestinale (COMET, 2000 ; MERCENIER *et al*, 2002; HERICH. et LEVKUT, 2002 ; O'SULLIVAN *et al*, 2005).

Ainsi, les travaux de KABIR *et al* (2005) ont démontré que l'utilisation de probiotique contenant 9 souches : (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Candida pintolepesii* et *Aspergillus oryzae*) induit une augmentation significative du titrage d'anticorps pour la maladie de Gumboro ainsi que du poids de la rate et celui la bourse de Fabricius par rapport au lot témoin.



D'autres travaux ont permis aussi de démontrer que la colonisation bactérienne influence le développement des fonctions immunitaires intestinales et systémique par l'amélioration de la réponse immunitaire chez les oiseaux vaccinés contre la grippe aviaire, en utilisant de bactéries lactiques et tout particulièrement un mélange probiotique qui contient *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Candida parvulus*, *Aspergillus oryzae* (GHAFOOR *et al.*, 2005).

III.5.3. Effet sur le système immunitaire sécrétoire

Il a été suggéré que l'administration de probiotiques pourrait être utilisée pour activer l'immunité sécrétoire. Les IgA peuvent inhiber l'adhésion des bactéries pathogènes à la surface des muqueuses soit en agglutinant les bactéries ou en se fixant sur les adhésines qui sont les facteurs d'adhésion présents à la surface des bactéries ou encore en interférant avec les interactions adhésines/récepteurs cellulaires (SANDERS, 1999 ; ISOLAURI *et al.*, 2001). Cependant, cette augmentation des IgA ne veut pas dire nécessairement un effet bénéfique sur la santé sauf dans les modèles infectieux.

Les approches basées sur l'utilisation des probiotiques pourraient constituer une alternative d'immunothérapie possible et sécuritaire ouvrant de nouveaux horizons dans le domaine de la prévention et le traitement des anomalies ou pathologies immunologiques (FOOKS et GIBSON, 2002 ; KAUR *et al.*, 2002 ; NOVERR *et al.*, 2004).

IV. Efficacité Des Probiotiques En Aviculture

L'utilisation des probiotiques en élevages industriels des volailles est récente. Leur emploi s'est développé à la suite de recherches portées sur le rôle de la microflore du tractus gastro-intestinal et de son importance sur la santé et l'hygiène digestive des animaux.

IV.1. Efficacité zootechnique

En aviculture, l'utilisation des microorganismes probiotiques comme additifs zootechniques dans l'alimentation a fait l'objet de plusieurs études. L'efficacité zootechnique revendiquée des probiotiques passerait par l'amélioration de la croissance, de l'indice de consommation et de l'état sanitaire voire du bien-être des animaux établi par la réduction de la fréquence des diarrhées ou de la mortalité durant certaines phases critiques d'élevage : stress alimentaire (changement de régimes alimentaires...), stress sanitaires (densité des animaux...) (CHAFAI, 2006).



Néanmoins, il convient de signaler que les données publiées en matière de productivité des poulets de chair recevant des bactéries probiotiques font apparaître une variabilité importante de la réponse animale en terme de vitesse de croissance (GMQ) et d'efficacité de transformation alimentaire (IC).

En fait, la réponse relative serait d'autant plus marquée que les conditions nutritionnelles et sanitaires sont médiocres (EDENS, 2003). Une telle variabilité en pratique n'est pas surprenante car l'action supposée passe par la modification de l'écosystème intestinal qui peut largement différer d'un essai à un autre en fonction des micro-organismes utilisés (souches) ainsi que leurs concentrations dans l'aliment, de l'interaction des probiotiques avec certains composants de l'aliment, de l'âge des animaux, (les plus jeunes ayant des flores digestives moins stables que celle des adultes et une immunité moins établie) et de leur état nutritionnel et sanitaire (AHMAD, 2006).

Ainsi, YEO et KIM (1997) rapportent que la supplémentation alimentaire en *Lactobacillus casei* permet d'augmenter le gain de poids des poulets durant les 3 premières semaines d'âge comparativement aux témoins. De la même manière, IVANKOVIC et al. (1999) démontrent que l'addition du probiotique *Enterococcus faecium* M-74 chez le poulet permet d'améliorer de manière significative le poids vif d'environ 11% et de réduire l'IC d'environ 6%. Dans l'étude de KUCUKERSAN et al. (2002), l'emploi du jus de rumen lyophilisé induit une amélioration du gain de poids et de l'indice de consommation des poulets.

L'utilisation du *Pediococcus acidilactici* comme probiotique tend à améliorer significativement le poids vif et l'indice de conversion du poulet de chair (CHAFAI, 2005 ; SIMON et al., 2001). Des essais réalisés chez le poulet de chair (Tableau 6) montrent une augmentation du poids vif final d'environ 4,7% et une amélioration l'indice de conversion (IC) d'environ 5% avec une dose de 10^9 UFC /kg d'aliment (LAN, 2005).

L'effet positif de l'addition de *P. acidilactici* dans la ration des poulets de chair sur la croissance a été aussi rapporté dans d'autres études (JIN et al., 1998a; SIMON et al., 2001 ; VAN EYS et DEN HARTOG, 2003).

Ainsi, dans l'essai de VITTORIO et al (2005), l'administration continue de *P. acidilactici* à des poulets de chair (10^9 UFC/kg d'aliment) a amélioré la croissance des mâles et des femelles : le poids vif des femelles supplémentées, mesuré à 35 jours a augmenté significativement de 6% ($P < 0,01$) par rapport aux témoins recevant un aliment



standard ; celui des mâles, mesuré à l'âge de 55 jours, augmente aussi de 3% ($P < 0,01$) dans ces mêmes conditions. L'indice de consommation a été réduit pour les deux sexes à 35 jours d'âge pour les poulets supplémentés : 1,60 contre 1,63 pour les lots témoins. L'IC des mâles à 55 jours d'âge est également amélioré (1,82 vs 1,88 chez les témoins).

Tableau 6. Effet de la supplémentation en *Pediococcus acidilactici* sur les performances zootechniques de poulets de chair (adapté de LAN, 2005)

Lieu de l'essai	Conditions expérimentales	Amélioration par rapport aux témoins
Institut National de la Recherche Agronomique, France (1997)	20350 poulets d'un jour	+3% du PV à 35 jours -3% de IC J0-J35
Office Nationale des Aliments du Bétail, Algérie (2004)	640 poulets d'un jour	+5% du PV à 42 jours -8% de IC J0-J42
Collège National de l'agriculture, Maroc (2003)	680 poulets d'un jour	+8% du PV à 21 jours +7% du PV à 49 jours
Université vétérinaire du Caire, Egypte (2001)	300 poulets	+7,5% du PV à 49 jours -9% IC de J0-J49
Institut National de la Recherche Agronomique, France (1995)	32 poulets d'un jour(en cage)	+3% du GMQ [§] de J0-J35 -1% de IC J0-J42

[§] Gain moyen quotidien

Dans l'expérimentation de CHAFAI (2006), l'utilisation du *P. acidilactici* comme probiotique a amélioré significativement le poids vif des poulets en fin d'élevage d'environ 8% à 56 jours d'âge en comparaison avec les témoins. Une amélioration comparable du poids (+7,5% à J49) avait été aussi soulignée par AWAAD (2001). En revanche, SAVOINI *et al.* (2004) trouvent une amélioration du poids des poulets supplémentés de plus faible amplitude : +3% à J35.



D'autres paramètres nutritionnels tels que l'activité des enzymes amylases sont améliorés en présence des *Lactobacilles* (JIN *et al*, 2000).

IV.2. L'efficacité sanitaire des probiotiques

Celle-ci est induite par l'activité antimicrobienne ou par l'exclusion compétitive des germes fréquemment responsable d'infection chez les poulets tels que les *Salmonelles*, les *Colibacilles* et les *Campylobacters*.

Les travaux d'ANDREATHI FILLO *et al* (2000) confirment une réduction de *Salmonella Typhimurium* et *S.Enteritidis* chez des poulets recevant un mélange du contenu caecal.

De même, l'utilisation de la souche *Lactobacillus salivarius* A23 chez des poussin dès l'éclosion tend à réduire les coliformes d'une manière significative par rapport au lot témoin (ZACCONI *et al.*, 1999).

Selon MURRY *et al.* (2004), l'ajout de mélanges de différentes souches : *Lactobacillus salivarius* et *Lactobacillus plantarum* permet d'inhiber *in vitro* *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*.

Il a été aussi rapporté que la croissance de *Salmonella enteritidis* était fortement réduite *in vitro* en présence d'un mélange des *Lactobacillus crispatus* et de *Clostridium lactatifermentans* à pH 5,8 (VAN DER WIELDEN *et al*, 2002). L'administration simultanée de *Salmonella enteritidis* et *Lactobacillus salivarius* souche CTC2197 par voie orale à des poussins d'un jour a permis également une élimination complète des *Salmonelles* après 21 jours (PASCUAL *et al.*, 1999).

Les travaux de GIL DE LOS SANTOS *et al* (2005) ont démontré que l'utilisation de *Bacillus cereus var toyoii* et *Sacchromyces boulardi* sur des poulets infectés à J14 par *Salmonella enteritidis* a augmenté le poids vif et diminué l'indice de consommation tout en réduisant le taux de *Salmonella enteritidis*.

L'administration de probiotique *Eubacterium sp* chez des poulets infectés par le *deoxynivalenol*, a permis aussi de voir la réduction des lésions au niveau des villosités intestinales causés par cette mycotoxine (AWAAD *et al.*, 2006).

Concernant *Pediococcus acidilactici*, l'ajout de ce probiotique chez les poulets a permis d'améliorer l'état sanitaire par une augmentation des lactobacilles et une réduction des coliformes (par exclusion compétitive) au niveau des ceaca (VITORIO *et al.*, 2005).



De la même manière, l'addition de *Pediococcus acidilactici* chez des poulets infectés par *Escherichia coli* O142 à la dose de 10^5 UFC/oiseau et de *Salmonella typhimurium* à l'âge de 28 jours, induit une réduction du taux de mortalité. Dans ces mêmes conditions, les lésions histopathologiques du cœur, du foie et de la rate étaient significativement moins importantes (AWAAD *et al.*, 2005).

En conclusion de cette partie bibliographique...

... Il est envisageable de manipuler favorablement la composition de la flore intestinale grâce à certains additifs alimentaires bien choisis. Les probiotiques constituent à cet égard un aliment particulièrement intéressant et des alternatives crédibles aux antibiotiques, sous certaines conditions pratiques qu'il convient encore de préciser : interactions avec les composants de la ration et/ou la microflore du tube digestif, interaction avec d'autres additifs.

Le développement de l'utilisation des probiotiques en alimentation animale nécessite une sélection très rigoureuse des souches les plus performantes ainsi que de nombreux essais *in vivo* pour acquérir une bonne connaissance des effets des probiotiques et maîtriser parfaitement leur emploi.



L'objectif de cet essai est d'évaluer l'impact d'une complémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur les performances zootechniques, les paramètres biochimiques du sang, la flore lactique digestive et la morphométrie intestinale du poulet de chair élevé dans nos conditions locales.

I. Lieu, durée et période de l'étude

Notre essai a été effectué au niveau de la station expérimentale « Monogastrique » de l'Institut Technique des Elevages (ITELV) de Baba –Ali, Alger. Il s'est déroulé du 08 avril 2007 au 26 mai 2007, soit une durée de 49 jours d'élevage.

II. Animaux

Neuf cent soixante (**960**) poussins d'un jour de souche **ISA 15** Hubbard, provenant du même couvoir, sont triés, pesés et répartis en deux groupes de poids homogène (**n=480**),

en excluant les individus trop lourds ou trop chétifs. Chaque groupe est ensuite divisé de manière aléatoire en **8 lots de 60 sujets** (60 poussins par parquet), soit une densité de 11,38 sujets/m².

Les caractéristiques de chaque lot expérimental sont récapitulées dans le tableau 7.

Tableau 7. Principales caractéristiques des lots expérimentaux à la répartition (J0).

Lots	Traitement	Nombre de répétitions (n=)	Poids vif initial à 1jour d'âge (g) ^s
T	Aliment Témoin	8	40,92 ± 0,18
P	Aliment Supplémenté en probiotique	8	41,04 ± 0,27

^s Moyennes ± SE

Au cours des premières 48 heures, les sujets morts sont pesés et remplacés par des sujets de même poids.

III. Traitement Expérimentaux

Pour étudier l'effet de la supplémentation en probiotique chez le poulet, nous comparons deux traitements expérimentaux (Tableau 7):



- 1) Un groupe **Témoin (T)** recevant un aliment classique sans additif (aliment de base)
- 2) Un groupe supplémenté en **Probiotique (P)** nourri avec le même aliment de base que le groupe témoin mais supplémenté avec le probiotique *Pediococcus acidilactici*.

La supplémentation alimentaire en probiotique couvre tout le cycle d'élevage de la bande (c'est-à-dire de J0 à J49). Son impact est évalué sur l'évolution des paramètres de croissance, de mortalité, du rendement de carcasse, des paramètres biochimiques sanguins, l'évolution de la flore lactique digestive et la morphométrie intestinale.

Le dispositif expérimental et les mesures effectuées sont récapitulés dans le schéma suivant (Figure 3).

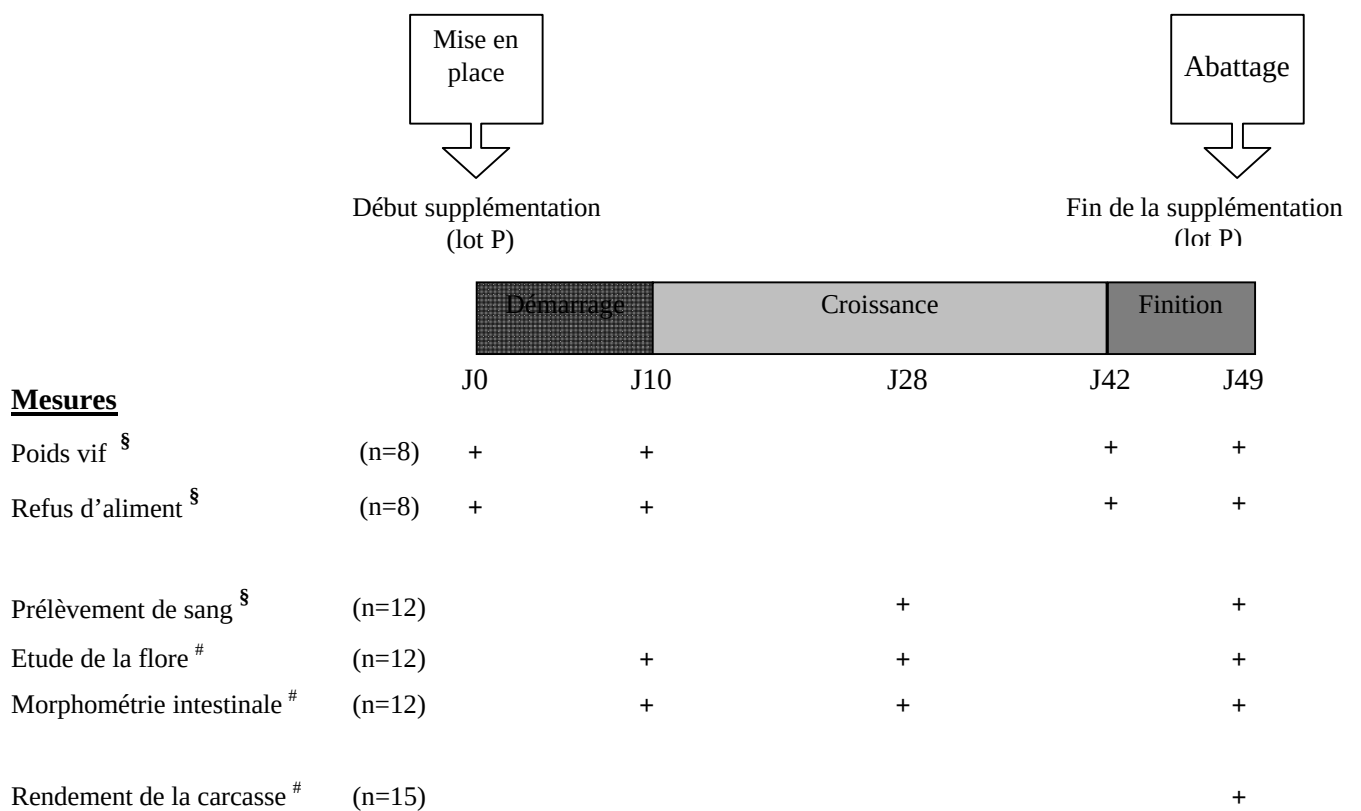


Figure 3. Schéma du protocole expérimental. § Mesures collectives ; # Mesures individuelles (n= nombre de répétitions pour chaque paramètre).



IV. Aliments

IV.1. Les aliments de base

Les poulets des deux lots expérimentaux ont reçu **les mêmes aliments de base**, sous forme de farine et fabriqués par l'ONAB, supplémentés (**lot Probiotique**) ou non (**lot Témoin**) avec le probiotique. Les trois aliments de base utilisés correspondent à chaque période d'élevage, à savoir : un aliment « Démarrage » distribué entre J1 et J10, un aliment « Croissance » distribué de J11 à J42 et un aliment « Finition » distribué entre J43 et J49. La composition et les caractéristiques de chaque aliment sont présentées ci-dessous (Tableau 8). Durant toute la période d'élevage, l'aliment et l'eau de boisson sont est fournis *ad libitum*.

Tableau 8. Composition et caractéristiques des aliments de base utilisés durant l'essai.

	Aliment Démarrage	Aliment Croissance	Aliment Finition
Matières Premières (%)			
Maïs	60,90	64,80	68,80
Son de blé	5,90	5,00	6,00
Tourteau de soja	29,10	27,00	21,80
Calcaire	0,57	1,20	1,30
PBC	1,50	1,00	1,10
Méthionine	0,03	-	-
Antistress	1,00	-	-
CMV D-C	1,00	1,00	-
CMV F	-	-	1,00
Caractéristiques (valeurs calculées)			
Energie Métabolisable (kcal/kg)	2800	2900	2930
Protéines brutes (%)	21	19	17

PBC : Phosphate bicalcique.

CMV D-C : Complément Minéral et Vitaminique pour les phases de Démarrage et de Croissance.

CMV F : Complément Minéral et Vitaminique pour la phase de Finition.



IV.2. Modalités de la supplémentation en probiotique

Le probiotique utilisé dans cette étude est une souche de bactérie lactique spécifique aux Monogastriques « *Pediococcus acidilactici* » MA 18/5M (Collection Nationale de Culture de Microorganismes, Institut Pasteur, Paris) commercialisée sous le nom de BACTOCELL® (Lallemand Nutrition Animale, France, fiche technique en annexe). Il s'agit d'un concentré de ferment lactique développé spécifiquement pour la nutrition et la santé des monogastriques contenant 1.0×10^{10} UFC/g de *P. acidilactici*. La dose utilisée dans cet essai est celle préconisée par le fabricant à savoir, 1.10^9 UFC/kg d'aliment en démarrage, en croissance et en finition, soit des quantités de 100g de probiotique/tonne d'aliment (100 ppm) directement incorporées au cours de la fabrication de l'aliment par l'ONAB.

V. Bâtiment Et Conditions D'ambiance

Dans cet essai, les poulets des deux groupes expérimentaux (Témoins et Supplémentés) sont élevés dans un même bâtiment afin de s'assurer de conditions environnementales similaires.

Ø Le bâtiment d'élevage utilisé est de type obscur à ambiance contrôlée et de superficie égale à $296,1\text{m}^2$ ($32,9\text{m} \times 9\text{m}$). Il est divisé en deux blocs de 36 parquets de $5,27\text{m}^2$ de surface chacun, disposés de part et d'autre d'un couloir central de 2,2m de large et d'un SAS. Ce dernier, sert de lieu de stockage d'aliment et est équipé d'une citerne d'eau et d'une boîte de contrôle des conditions d'ambiance (température et ventilation) et des humidificateurs (Figure 4). La ventilation est dynamique, assurée par des clapets pour l'entrée d'air et l'extraction des gaz est faite par cinq extracteurs (3 petits et 2 grands). Le chauffage du bâtiment se fait par des radiants. L'éclairage est assuré par 8 néons (1 pour 2 parquets) et 1 lampe par parquet.



Figure 4. Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai.



Ø **Les températures d'élevage**, sous radiant et ambiante, sont prélevées chaque jour durant les premières semaines de l'essai. Par la suite, seule la température ambiante est notée (Tableau 9).

Tableau 9. Températures ambiantes (Ta) d'élevage durant l'essai.

	S1 [§]	S2	S3	S4 & S5	S6 & S7
Ta (°C)	32-34	30-32	26-29	24-25	20-22

[§] S : Semaine d'âge.

Ø **L'éclairage** est de 24heures avec une intensité de 3watt/m², durant toute la période de l'essai.

VI. Equipements D'élevage

Ø **Le matériel d'alimentation** employé dans cet essai est adapté à l'âge des animaux, à savoir : des assiettes en plastique pendant les 6 premiers jours, des mangeoires linéaires à partir du 7ème jour jusqu'au 11ème jour et des mangeoires 2ème âge du 11ème jour jusqu'à l'abattage correspondant à des trémies suspendues dont la hauteur est réglable selon la taille des poulets (Figure 5).



Figure 5. Matériel d'alimentation utilisé (mangeoires 1^{er} et 2^{ème} âge).

Ø **Le matériel d'abreuvement** utilisé au premier âge correspond à 2 abreuvoirs siphoniques dont le remplissage se fait manuellement. Un abreuvoir 2ème âge siphonique automatique est installé à partir du 11ème jour (Figure 6). Durant toute la période d'élevage, l'eau est fournie *ad libitum*.



Figure 6. Matériel d'abreuvement utilisé (1^{er} et 2^{ème} âge).

Ø **La litière** est composée de paille d'une épaisseur de 15cm, répartie sur sol cimenté et recouvert d'un peu de chaux. Durant toute la période d'élevage, la litière n'a pas été changée mais des rajouts ont été effectués pour l'ensemble des parquets.

V. Programme Sanitaire D'élevage

Le protocole sanitaire suivi lors de notre essai est présenté dans le tableau 10. Il est à noter qu'un antistress est administré 24 heures avant, pendant et après chaque acte vaccinal. Toutes les vaccinations sont administrées *per os* (dans l'eau de boisson).

Tableau 10. Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.

Age (jours)	Vaccinations & Traitements
J2	Vaccination contre la maladie de Newcastle (souche HB1)
J7	Vitamine AD3E + Vitamine C
J14	Vaccination contre la maladie de Gumboro (souche D78)
J17	Traitement anticoccidien pendant 05jours
J21	Rappel de vaccination contre la maladie de Newcastle (souche la Sota)
J34	Rappel du traitement anticoccidien pendant 5 jours



VI. Mesures Réalisées

VI.1. Mesure des performances zootechniques

VI.1.1. L'ingéré alimentaire

L'ingéré alimentaire est calculé à la fin de chacune des trois phases d'élevage, à savoir, la phase de démarrage (J1-J10), la phase de croissance (J10-J42) et la phase de finition (J42-J49). La quantité d'aliment ingérée est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Quantité d'aliment ingéré (g)} = \text{Quantité distribuée (g)} - \text{Refus (g)}$$

VI.1.2. Le poids vif

En vue d'apprécier l'évolution du poids vif, chaque lot expérimental est pesé à la fin des différentes phases (J10, J42, J49). Le poids moyen individuel est obtenu en divisant le poids total des animaux de chaque parquet sur l'effectif des poulets pesés.

VI.1.3. Indice de conversion et indice de consommation

Le calcul de ces deux paramètres se fait en appliquant les formules suivantes :

$$\text{Indice de Conversion} = \frac{\text{Ingéré alimentaire (g)}}{\text{Gain de poids (g)}}$$

$$\text{Indice de Consommation} = \frac{\text{Ingéré alimentaire (g)}}{\text{Poids vif (g)}}$$

VI.1.4. La mortalité

Le relevé quotidien de la mortalité est effectué au début de chaque journée. Le taux de mortalité par phase d'élevage est calculé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = \frac{\text{Le nombre de poulets morts} \times 100}{\text{Effectif présent en début de phase}}$$

VI.2. Mesure du rendement de carcasse

Les caractéristiques de la carcasse sont déterminées à l'âge de 7 semaines sur un échantillon de 15 poulets par lot expérimental. Les animaux choisis présentaient une croissance similaire à celle du groupe qu'ils représentent.



Après abattage, les carcasses sont plumées mécaniquement, effilées et conservées 24 heures au froid (+4°C) (Figure 7). Le gras abdominal, le foie, la rate, le cœur, le proventricule et le gésier sont ensuite prélevés et pesés. Le poids de la carcasse prête à cuire (PAC), avec seulement les reins dans la cavité abdominale, est également mesuré.



1. Pesée du poulet de chair avant abattage



2. Abattage (saignée) du poulet de chair



3. Plumaison du poulet de chair (après échaudage)



4. Pesée des carcasses (avant éviscération)



5. Accrochage du poulet de chair



6. Carcasses éviscérées (PAC)

Figure 7. Opérations effectuées pour déterminer le rendement de carcasse des poulets.



VI.3. Mesure des paramètres biochimiques sanguins

VI.3.1. Prélèvements de sang

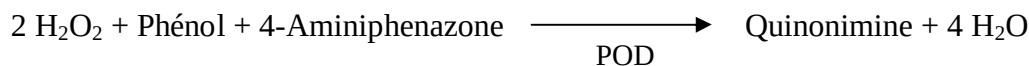
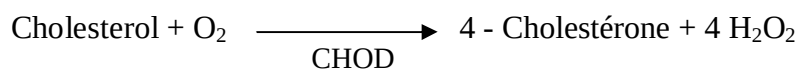
Pour le dosage des paramètres biochimiques sanguins, des prélèvements sanguins sont réalisés à 28 et 49 jours d'âge chez des poulets témoins et supplémentés en probiotiques (n=12), représentatifs du poids moyen de leur groupe (CAMPBEL, 1995).

En pratique, un volume de 5ml de sang/poulet a été prélevé au niveau de la veine alaire et recueilli dans des tubes héparines puis directement centrifugé (3000 tours/min ; 6min). Après centrifugation, un volume de 300µl de plasma obtenu est recueilli au moyen d'une pipette capillaire et réparti en 2 tubes Ependorf étiquetés pour chaque prélèvement et conservé au froid dans un congélateur (-20°C) jusqu'aux dosages ultérieurs des teneurs plasmatiques en cholestérol, en triglycérides et en lipides totaux. Tous ces dosages sont effectués au niveau du Laboratoire de Biochimie de l'Ecole nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

VI.3.2. Dosage du cholestérol plasmatique

La teneur plasmatique du cholestérol est évaluée en utilisant un kit de dosage commercial (Cholesterol/CHOD-PAP, SPINREACT, SA, Espagne) (fiche du protocole en annexes).

Le principe : le cholestérol présent dans l'échantillon donne un complexe coloré selon les réactions décrites ci-dessous :



La mesure est effectuée sur 10 µl de plasma. La concentration en cholestérol est calculée selon la formule suivante:

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}} \text{ (mg/dl)}$$



A : Absorbance à la longueur d'onde de 505 nm

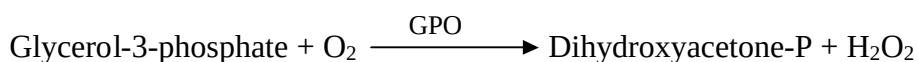
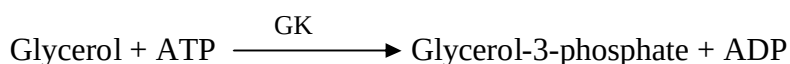
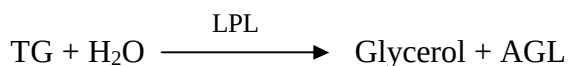
C : Concentration du standard = 200 mg/dl

Facteur de conversion: mg/dl x 0,0258 = mmol/l

VI.3.3. Dosage des triglycérides plasmatiques

Ce dosage est effectué à l'aide d'un kit de dosage commercial (Triglycerides/GPO-PAP, SPINREACT, SA, Espagne) (fiche du protocole en annexes).

Le principe de la réaction : les triglycérides (TG) sont hydrolysés en glycérol et acides gras libres (AGL) par la lipoprotéine lipase (LPL). Le glycérol libéré réagit avec la glycérol kinase (GK) et la glycérol-3-phosphate oxydase (GPO) libérant de H_2O_2 dont la concentration est mesurée.



Le dosage des TG est réalisé sur 10 μ l de plasma. La concentration de l'échantillon est calculée selon la formule :

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = C_{\text{Echantillon}} \text{ (mg/dl)}$$

A : Absorbance à la longueur d'onde de 505 nm

C : Concentration du standard = 200 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl x 0,0113 = mmol/l

VI.3.4. Dosage des lipides totaux plasmatiques

Ce dosage est effectué à l'aide d'un kit de dosage commercial (Total lipids/Sulfo-phospho vainilline. Colorimetric, SPINREACT, SA, Espagne) (fiche du protocole en annexes).



Le principe de la réaction : les lipides insaturés réagissent avec l'acide sulfurique pour former les ions de carbonium. Dans une seconde étape les ions carbonium réagissent avec le phosphovanilline donnant une couleur rose. L'intensité de la couleur est proportionnelle avec la concentration de l'échantillon en lipides.

Ce dosage est effectué sur 100µl de plasma. La concentration de l'échantillon en lipides totaux est calculée selon la formule suivante:

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Calibreur}} \times C \text{ Calibreur} = C \text{ Echantillon (mg/dl)}$$

A : Absorbance à la longueur d'onde de 540 nm

C : Concentration du calibreur = 750 mg/dl

VI.4. Etude de la flore lactobacillaire intestinale

L'étude a porté sur le dénombrement des *Lactobacilles* au niveau de la flore duodénale, iléale et caecale, chez 12 poulets témoins et supplémentés, ayant un poids représentatif de leur groupe expérimental. Ces mesures sont réalisées à trois âges différents : J10, J28 et J49. Elles sont effectuées au Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

En pratique, à partir des poulets sacrifiés à l'âge de 10 et 28 jours, le tube digestif est rapidement prélevé et l'intestin coupé en portions. Par la suite, 1g de portion duodénale, iléale et caecale sont prélevés aseptiquement et mis dans des sachets de type Stomacher contenant 9ml de bouillon TSE. Cette solution constitue la suspension mère. Notons, que pour les poulets sacrifiés à J49, cette dernière est préparée à partir de 5g de chaque portion intestinale dilués dans 45ml de TSE.

Des dilutions successives de la solution mère sont réalisées dans des tubes à essai jusqu'à 10^{-5} . Par la suite, 1ml des deux dernières dilutions sontensemencés en double couches et en profondeur dans deux boîtes de pétri contenant de la gélose MRS solide fondue et refroidie. Les boîtes de pétri sont alors entreposées à l'intérieur d'une jarre d'anaérobiose puis incubées à 45°C pendant 72 heures. Seules, les boîtes ayant des colonies



bien développées, bien séparées et non contaminées par des levures ou moisissures sont retenues en vue d'en apprécier l'aspect, la forme, la taille, la couleur ainsi que leur nombre. Une coloration de Gram est effectuée afin de déterminer la forme et la disposition des cellules bactériennes. Les souches à Gram positif ont été retenues pour la confirmation des *Lactobacilles*.

D'une manière générale, les colonies de bactéries lactiques doivent répondre aux critères suivants:

- ü Diamètre compris entre 0,5 à 1mm
- ü Couleur blanchâtre ou opaque parfois translucide, laiteuse et crémeuse
- ü Forme circulaire et lisse
- ü Aspect arrondi et bombé
- ü Contour régulier

Le dénombrement des *Lactobacilles* se fait en appliquant la formule de calcul suivante:

$$\text{Nombre de bactéries/prélèvement} = \frac{n_{c-1} + n_c}{1.1 \times 10^{-(x-1)}}$$

Où : n_{c-1} est le nombre de colonies obtenues pour une dilution de $10^{-(x-1)}$, ici 10^{-4} .

n_c est le nombre de colonies obtenues pour une dilution de 10^{-x} , ici 10^{-5} .

VI.5. Etude de la morphométrie intestinale

La longueur de l'intestin ainsi que les dimensions des villosités intestinales ont été mesurées sur des poulets témoins et ceux supplémentés en probiotique et ce à trois âges différents : à J10, J28 et J49.

Ces Analyses sont réalisées au laboratoire d'Histologie et d'Anatomo-pathologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Pour ce faire, à chaque âge, 12 animaux ayant des poids représentatifs de leur lot expérimental sont sacrifiés par saignée. L'intestin est prélevé dans sa totalité, de sa jonction avec le gésier jusqu'au côlon et étiré. Les 2 cæca sont détachés au niveau de la



jonction iléo-cæcale. Les 3 portions (intestin et les 2 cæca) sont alors juxtaposées et mesurées. La valeur obtenue représente la longueur totale de l'intestin.

Par la suite, des coupes histologiques colorées grâce à la technique d'Hemalun-éosine (Martoja et Martoja-Pierson, 1967) sont réalisées selon les étapes suivantes :

VI.5.1. Prélèvement des tissus à étudier

Des portions de 1cm de longueur sont prélevées à partir du duodénum proximal (2cm après la jonction duodénum-gésier), du duodénum distal (3cm environ avant la jonction duodénum- jéjunum), de l'iléon proximal (10cm avant la jonction iléocæcale) et de l'iléon distal (3cm avant la jonction iléocæcale). Chaque portion est obtenue après deux sections transversales distantes de 1cm l'une de l'autre, au niveau de la région ciblée de l'intestin, ensuite la portion est incisée à l'aide d'une section longitudinale en vue de constituer un rectangle de 1cm de longueur.

VI.5.2. Préfixation et fixation des tissus

Les portions obtenues sont d'abord, plongées dans une solution de préfixation (liquide de Ceras) comprenant 6 volumes de formol, 2 volumes de méthanol et 1 volume d'acide acétique absolus. Six heures après, ces portions sont transférées dans une solution de fixation à base de formol à 10% où elles sont conservées pendant 48 heures au moins.

VI.5.3. Phase de déshydratation et d'éclaircissement

Chaque tissu prélevé, est d'abord rincé à l'eau claire, puis plongé dans 3 bains d'alcool à 70%, 90% et 100%, puis dans 3 bains de Toluène. Chaque bain d'alcool nécessite 1 heure de temps contre 1h30 pour celui du toluène. Vient ensuite la phase d'éclaircissement où chaque fragment de tissus est plongé pendant 12heures dans de la paraffine liquide chauffée à 56°C.

VI.5.4. Inclusion et réalisation des coupes

Suite aux 12 heures d'éclaircissement, chaque portion de tissu est placée au milieu du creux d'un moule (barres de Leuckhart) puis recouverte avec une cassette à inclusion. De la paraffine liquide est versée sur cette dernière. Après durcissement, un block de



paraffine est obtenu, puis placé dans un microtome en vue de réaliser des coupes de 5• m d'épaisseur.

VI.5.5. Fixation du tissu sur la lame et coloration

Une petite quantité d'eau albumineuse est déposée sur une lame préalablement gravée, le tout est mis sur une plaque chauffante réglée sur la graduation 3. La coupe histologique est ensuite, déposée sur l'eau albumineuse. La lame est ensuite égouttée puis mise à sécher 1 à 2 heures dans une étuve réglée à 46°C. La coloration nécessite le passage de la lame par les étapes suivantes :

- ü Deux bains de Toluène de 5 min chacun en vue de déparaffiner le tissu
- ü Trois bains d'alcool, le premier absolu, le deuxième à 90° et le dernier à 70°, pendant 3min chacun
- ü Un lavage à l'eau du robinet pendant 2min
- ü Une coloration à l'hémalun pendant 45s à 1min
- ü Un rinçage à l'eau du robinet pendant quelques secondes
- ü Une coloration à l'éosine pendant 2min
- ü Trois bains d'éthanol, le premier à 70°, le deuxième à 90° et le dernier à 100°, pendant 3min chacun
- ü Deux bains de Toluène de 5min chacun
- ü Enfin une lamelle avec une goutte de milieu de montage (Eukitt) est déposée sur la portion tissulaire.

L'analyse des coupes histologiques est réalisée en 2 temps. Tout d'abord, les lames sont photographiées au grossissement x10 grâce à un microscope muni d'un procédé de capture d'image (Motic Co., Ltd). Ensuite, les mesures des dimensions des villosités (hauteurs et largeurs à mi-hauteur) sont effectuées directement sur les images obtenues grâce au logiciel Motic Images Plus 2.0 ML (Motic Co., Ltd) (Figure 8).

Pour calculer le volume des villosités (considérées comme des cylindres), la formule suivante a été appliquée :

$$\text{Volume } (\mu\text{m}^3) = 3,14 \times (l/2)^2 \times h$$

l : largeur à mi-hauteur de la villosité

h : hauteur de la villosité



Figure 8. Mesure des dimensions des villosités intestinales.

VII. Analyse Statistique

Les différents résultats sont décrits par la moyenne et l'erreur standard (SE, calculée à partir de la déviation standard SD selon la formule $SE = SD/n^{0,5}$; n étant le nombre de répétitions pour les mesures collectives ou le nombre d'animaux pour les mesures individuelles).

L'homogénéité de la variance entre les deux traitements a été vérifiée par le test de Bartlett. Les résultats sont soumis à une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) afin de déterminer l'effet de la supplémentation en bactérie probiotique sur les paramètres considérés. Le seuil de signification choisi est d'au moins 5%.

Toutes ces analyses sont effectuées à l'aide du programme StatView (Abacus Concepts, 1996, Inc., Berkeley, CA94704-1014, USA).

Nous examinons, dans cet essai, l'effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* (bactérie lactique) sur les performances zootechniques, le rendement de la carcasse, les paramètres métaboliques sanguins, la morphométrie intestinale et l'évolution de la flore lactique digestive, du poulet de chair, au cours d'un cycle complet de croissance (49 jours).

I. Effet Du Probiotique *P. acidilactici* Sur Les Performances De Croissance

I.1. Effet sur le poids vif et le gain de poids du poulet

Les valeurs moyennes de poids vifs et de gain de poids mesurés à la fin de chaque phase d'élevage (démarrage, croissance et finition), chez les poulets nourris avec un aliment témoin et ceux supplémentés en probiotique sont reportées dans le tableau 11 et illustrées dans la figure 9.

Tableau 11. Poids vif moyen (g) et gain de poids moyen (g), par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=8).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Poids vif (g)				
à J0	41,0	40,9	0,2	0,700
à J10	206,5	206,7	2,6	0,960
à J42	2105,6	2090,1	28,5	0,710
à J49	24913	2454,8	30,3	0,420
Gain de poids (g)				
Démarrage (J0-J10)	165,6	165,6	2,7	0,989
Croissance (J10-J42)	1899,1	1883,4	29,2	0,712
Finition (J42-J49)	385,8	364,7	13,7	0,297
Cumulé (J0-J49)	2450,4	2413,8	30,3	0,418

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne.

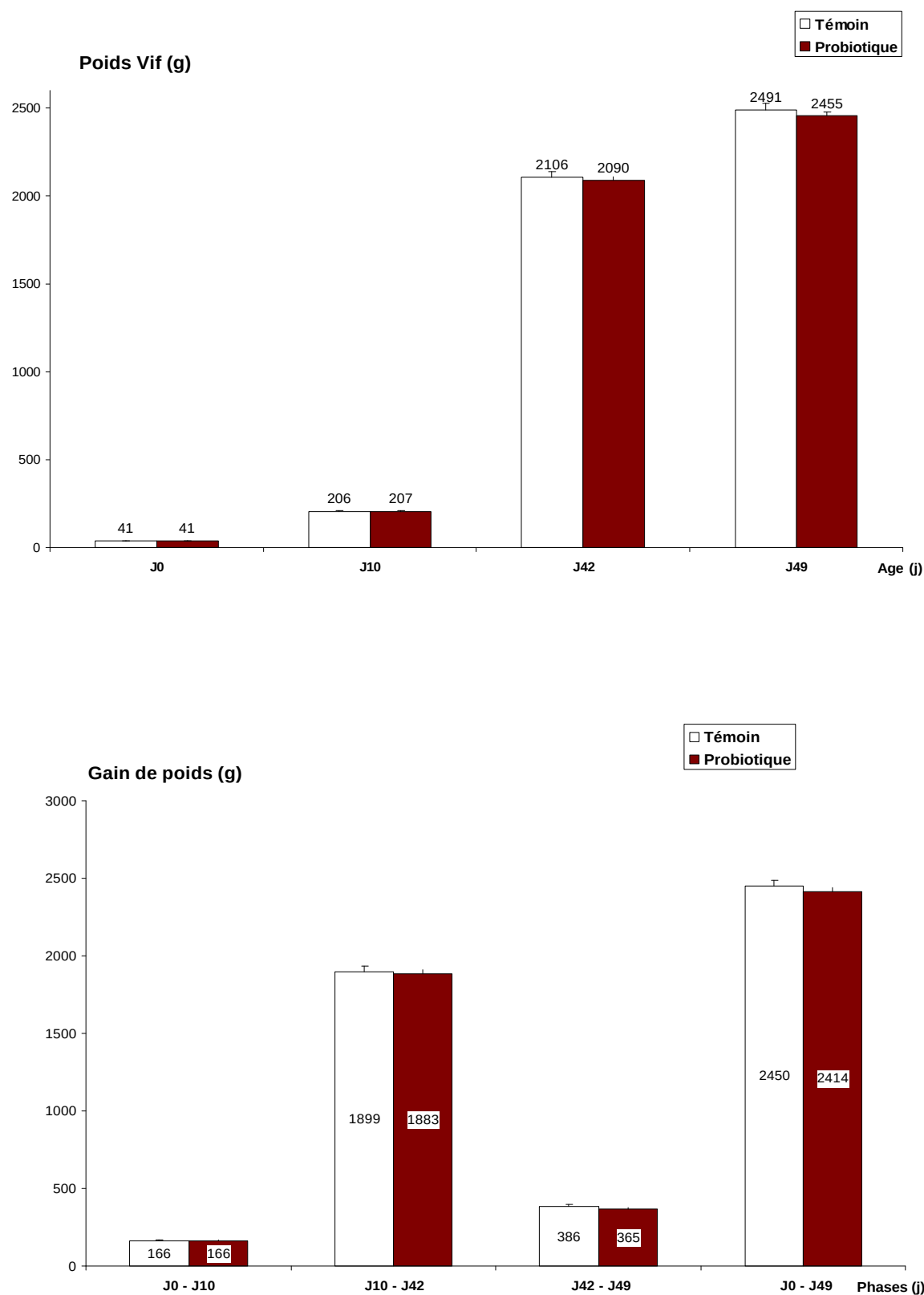


Figure 9. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le poids vif (g) et le gain de poids moyens du poulet de chair (Moyennes $\pm$ SE ; n=8).

Nos résultats révèlent que, quelque soit la phase d'élevage considérée, l'addition de *Pediococcus acidilactici* dans l'aliment n'a pas modifié le poids vifs des animaux : variations non significatives entre les deux lots à J10, J42 et J49. A la fin de l'essai, les poids moyens sont quasi-identiques chez les poulets témoins et ceux recevant le probiotique : $2473\text{g} \pm 30$ en moyenne.

De manière similaire, les écarts des gains de poids enregistrés entre les poulets supplémentés en probiotique et les poulets témoins ne sont pas statistiquement différents : variations non significatives de 1 à 5% entre les deux lots selon la période d'élevage considérée ($P > 0,05$).

I.2. Effet sur l'ingéré alimentaire du poulet

Les quantités d'aliments consommées, durant l'essai et pour chaque phase d'élevage, par les poulets témoins et ceux supplémentés en probiotique *Pediococcus acidilactici* sont présentées dans le tableau 12 et illustrées dans la figure 10.

Tableau 12. Ingéré alimentaire moyen, par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=8).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Ingéré alimentaire (g)				
Démarrage (J0-J10)	300,3	300,3	2,6	0,990
Croissance (J10-J42)	4073,6	3935,5	42,5	*
Finition (J42-J49)	1349,1	1260,8	29,3	0,061
Cumulé (J0-J49)	5723,0	5496,5	47,3	**

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Nous pouvons constater, qu'en phase de démarrage (J0 à J10), l'ingéré alimentaire des poulets supplémentées en *P. acidilactici* est comparable à celui des poulets témoins : $300 \pm 3\text{g}$ en moyenne entre les deux lots ($P = 0,99$).

En revanche, durant la période de croissance (entre J10 et J42), la quantité d'aliment ingéré est significativement plus faible chez le lot supplémenté en probiotique par rapport au lot témoin : baisse d'environ 3% ($P<0,05$).

De même, en période de finition (de J42 à J49), l'apport du probiotique *P. acidilactici* tend à diminué l'ingéré alimentaire d'environ 7% ($P=0,06$).

En définitive, si nous considérons la période globale de l'élevage (phases cumulées), nous constatons que l'addition du probiotique réduit significativement ($P<0,01$) la consommation de l'aliment d'environ 226g soit une baisse de 4% par rapport aux poulets témoins.

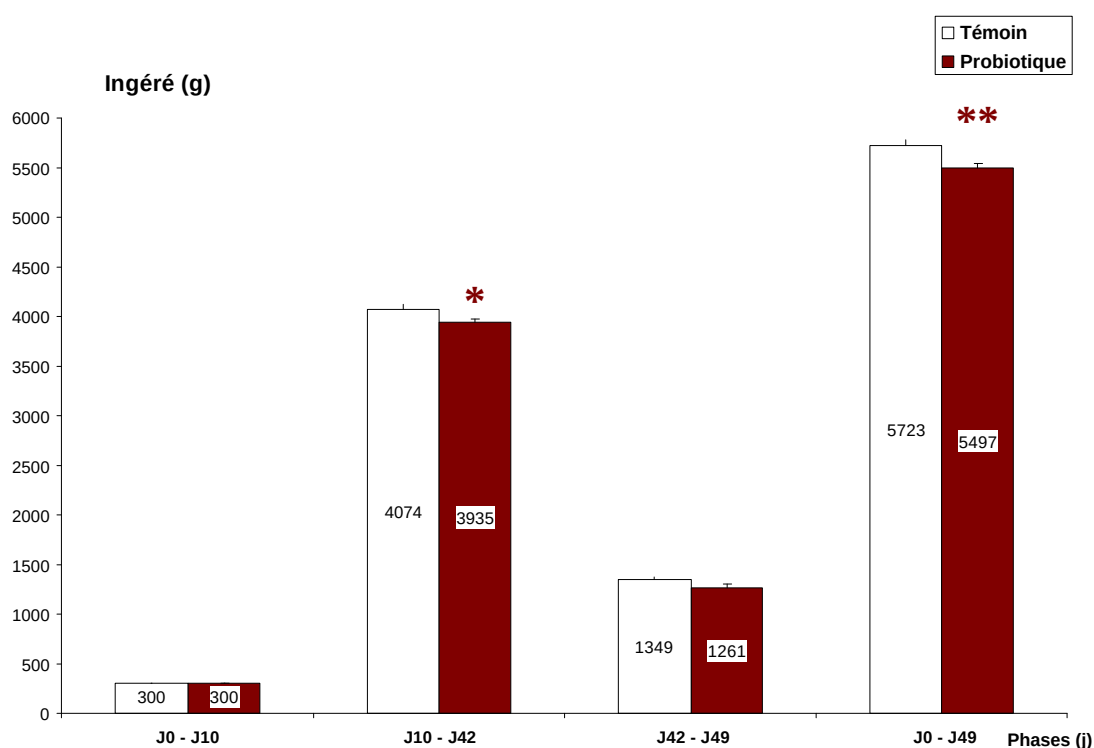


Figure 10. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'ingéré alimentaire du poulet de chair (Moyennes $\pm$ SE ; $n=8$; * $P<0,05$; ** $P<0,01$).

I.3. Effet sur l'indice de conversion et de consommation du poulet

Les indices de conversion relevés durant toutes les phases de l'expérimentation chez les poulets témoins et ceux supplémentés en probiotique sont présentés dans le tableau 13 et la figure 11.

Tableau 13. Indice de conversion, par phase d'élevage et cumulé, et indice de consommation cumulé des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=8).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Indice de conversion				
Démarrage (J0-J10)	1,82	1,82	0,03	0,976
Croissance (J10-J42)	2,15	2,09	0,02	0,121
Finition (J42-J49)	3,52	3,48	0,12	0,810
Cumulé (J0-J49)	2,34	2,28	0,02	*
Indice de consommation				
cumulé (J0-J49)	2,30	2,24	0,02	*

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne, * P<0,05.

Indice de Conversion

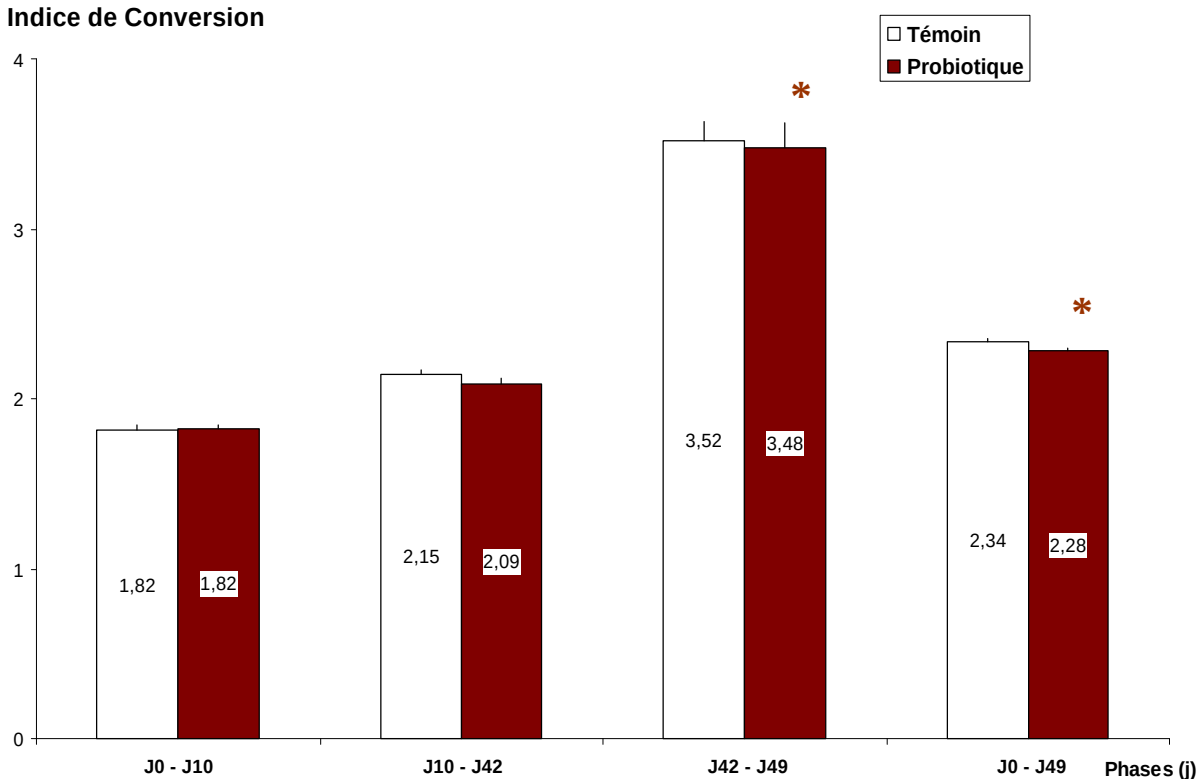


Figure 11. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'indice de conversion du poulet de chair (Moyennes $\pm$ SE ; n=8 ; * P<0,05).

Ainsi, il apparaît qu'en période de démarrage, l'addition du probiotique n'a pas modifié l'indice de conversion par rapport aux témoins. En effet, sa valeur chez les sujets supplémentés est identique à celle des poulets témoins : $1,82 \pm 0,03$ ($P=0,98$).

Par contre, durant la phase de croissance, l'indice de conversion enregistré chez le lot supplémenté en *P. acidilactici* semble meilleur que celui des témoins : $2,09 \pm 0,03$ contre $2,15 \pm 0,02$, respectivement, soit une baisse de 3% qui tend à être statistiquement significative ($P=0,12$). Notons, que cette amélioration de l'indice de conversion s'amointrit en période de finition : $3,48 \pm 0,14$ pour le lot P contre $3,52 \pm 0,11$ pour le lot T (soit -0,04 point entre les deux).

En considérant toute la période de l'essai, nos résultats indiquent une nette amélioration de l'indice de conversion après addition du probiotique dans l'aliment : -3% environ, $P<0,05$.

De la même manière, les poulets supplémentés en probiotiques présentent les meilleurs indices de consommation en fin d'élevage en comparaison aux poulets témoins : 2,24 vs 2,30 (SEM = 0,02), respectivement ; soit une amélioration significative de 3% ($P<0,05$).

II. Effet du probiotique *P. acidilactici* sur la mortalité

Le tableau 14 et la figure 12 présentent les taux de mortalités mesurés à chaque phase d'élevage (démarrage, croissance et finition) et la mortalité globale pendant toute la période de l'essai.

Tableau 14. Taux de mortalité, par phase d'élevage et cumulé, des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=8).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Mortalité (%)				
Démarrage (J0-J10)	2,29	1,25	0,41	0,100
Croissance (J10-J42)	0,65	0,43	0,30	0,611
Finition (J42-J49)	0,22	0,21	0,21	0,981
Cumulé (J0-J49)	3,13	1,88	0,62	0,179

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne.

Nos données indiquent que les taux de mortalités enregistrés chez les poulets nourris avec l'aliment supplémenté en *P. acidilactici* sont plus faibles que ceux relevés chez les poulets témoins. En effet, nous notons des diminutions de près de 45% durant le démarrage et de 34% en phase de croissance, en faveur du lot Probiotique, même si ces écarts n'atteignent pas le seuil de signification statistique choisi ($P > 0,05$).

Par ailleurs, au cours de la phase de finition, le taux de mortalité est quasi nul pour les deux lots : 0,2%. Au final, l'apport du probiotique *Pediococcus acidilactici* a diminué presque de moitié le taux de mortalité cumulé comparativement au lot témoin (-40%, $P = 0,18$).

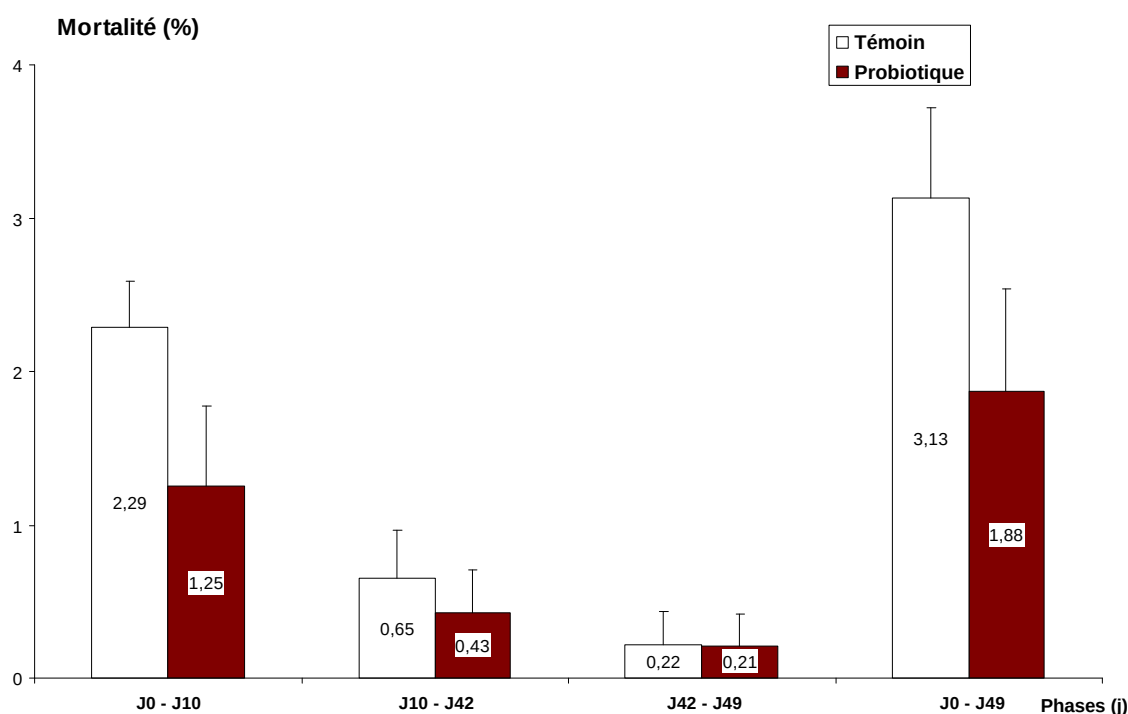


Figure 12. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la mortalité (%) du poulet de chair (Moyennes $\pm$ SE ; $n=8$).

III. Effet du probiotique *P. acidilactici* sur le rendement de carcasse

Les poids de la carcasse prête à cuire, du gras abdominal, du cœur, du foie et du gésier mesurés à la fin de la période expérimentale sur 15 poulets par lot expérimental sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15. Caractéristiques de la carcasse des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (mesures à l'âge de 49 jours, moyennes ; n=15).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Poids Vif (g)	2623	2558	39	0,25
Carcasse PAC [#] (g)	1880	1840	0	0,34
(g/100gPV)	71,85	72,21	0,36	0,47
Gras abdominal (g)	51,2	50,13	3,67	0,83
(g/100gPV)	1,95	1,96	0,14	0,94
Foie (g)	60,53	56,60	1,91	0,10
(g/100gPV)	2,30	2,21	0,05	0,27
Gésier plein (g)	68,13	68,26	2,81	0,97
(g/100gPV)	2,59	2,65	0,09	0,63
Cœur (g)	11,07	10,13	0,46	0,18
(g/100gPV)	0,42	0,39	0,01	0,35

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. [#] PAC : Carcasse prête à cuire ; PV : Poids vif.

Nos résultats montrent que la supplémentation alimentaire en probiotique n'as pas modifié les caractéristiques de la carcasse des poulets : variations non significatives entre les lots supplémentés et témoins, allant de +1 à +2% pour le poids des carcasses PAC, la proportion de gras abdominal et celle du gésier plein.

Notons néanmoins une légère réduction du poids du foie et du cœur chez les poulets recevant le probiotique comparativement à ceux des animaux témoins : -6% (P=0,10) et -8% (P=0,18) respectivement. Rapportés au poids vif de l'animal, les écarts de poids de ces deux organes s'atténuent : -4% (P=0,27) et -5% (P=0,36).

IV. Effet du probiotique *P. acidilactici* sur les paramètres sanguins

VI.1. Effet sur la teneur plasmatique en cholestérol

Les résultats relatifs à la cholestérolémie des poulets témoins et supplémentés en probiotique, mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, sont présentés dans le tableau 16 figure 13. Nous pouvons relever que les teneurs plasmatiques en cholestérol sont significativement plus faibles chez les poulets supplémentés en *P. acidilactici* que celles des témoins et ce quelque soit l'âge de mesure : -32% à J28 ($P < 0,0001$) et -14% à J49 ($P < 0,01$), respectivement.

Tableau 16. Teneurs plasmatiques (g/l) en cholestérol mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Teneurs plasmatiques en Cholestérol (g/l)				
à J28	1,18	0,80	0,03	***
à J49	0,82	0,70	0,02	**

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

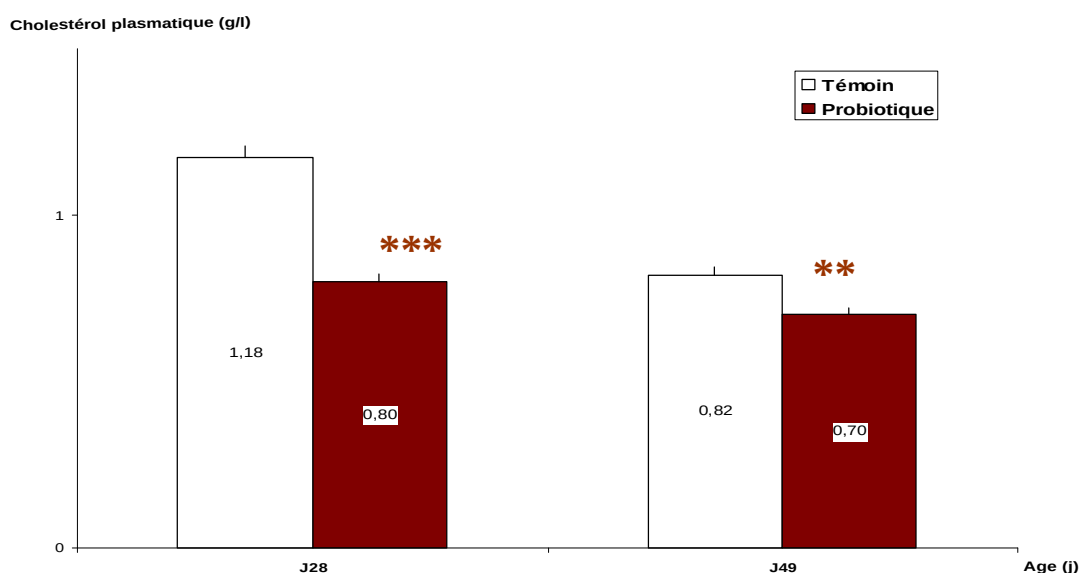


Figure 13. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en cholestérol mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

VI.2. Effet sur la teneur plasmatique en triglycérides (TG)

Comme le montrent nos résultats, présentés dans le tableau 17 et la figure 14, les concentrations plasmatiques en TG sont fortement réduites chez le poulet par la supplémentation alimentaire en *P. acidilactici*. Des baisses très significatives ($P < 0,0001$) des taux plasmatiques en TG sont enregistrées chez les poulets du lot Probiotique par rapport à ceux des témoins : -38% et -48% à l'âge de 28j et de 49 jours, respectivement.

Tableau 17. Teneurs plasmatiques (g/l) en triglycérides mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémente en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Teneurs plasmatiques en Triglycérides (g/l)				
à J28	0,36	0,22	0,01	***
à J49	0,25	0,13	0,01	***

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. *** $P < 0,001$.

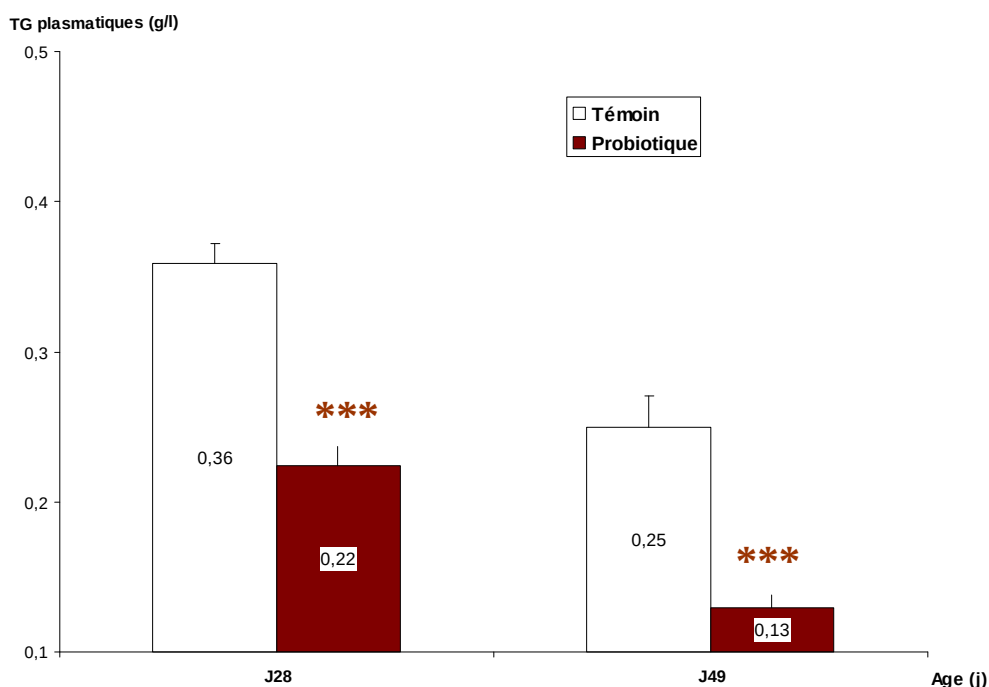


Figure 14. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en triglycérides (TG) mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; *** $P < 0,001$).

VI.3. Effet sur la teneur plasmatique en lipides totaux

Les résultats concernant les teneurs en lipides totaux dans le sang, mesurées chez les poulets des deux lots au cours de cet essai, sont présentés dans le tableau 18 et illustrés par la figure 15.

Tableau 18. Teneurs plasmatiques (g/l) en lipides totaux mesurées à l'âge de 28 et 49 jours, chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Teneurs plasmatiques en lipides totaux (g/l)				
à J28	0,82	0,70	0,02	***
à J49	0,77	0,50	0,03	***

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. *** P<0,001.

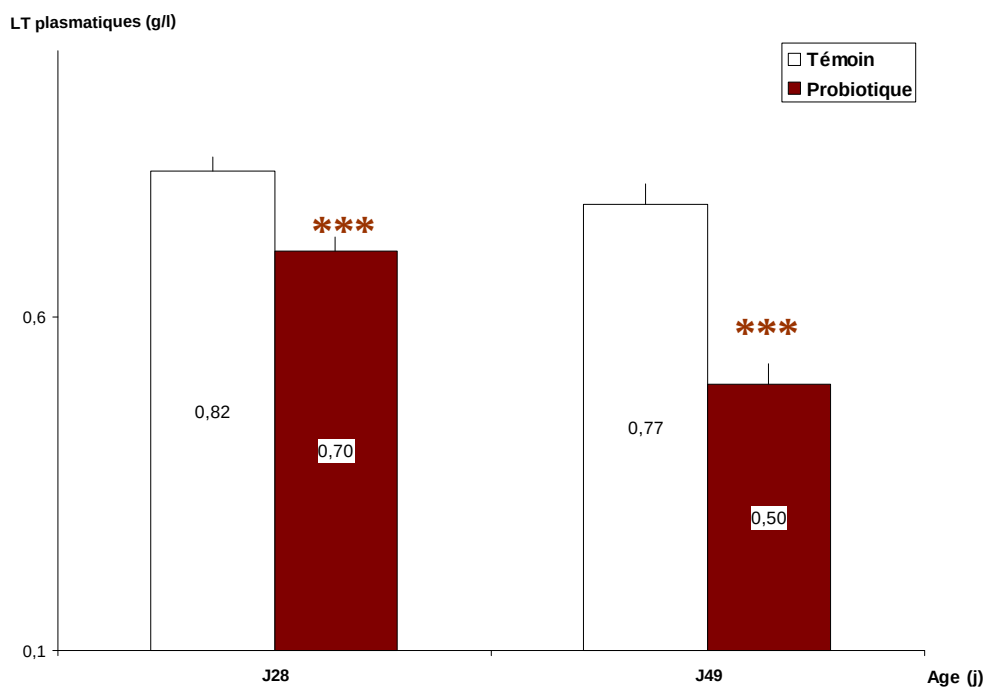


Figure 15. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la teneur plasmatique en lipides totaux (LT) mesurée chez le poulet de chair à l'âge de 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; *** P<0,001).

Ainsi, nos résultats indiquent une réduction très significative des lipides totaux circulants chez les poulets après supplémentation en *Pediococcus acidilactici* comparativement aux poulets contrôles. Cette baisse est d'environ 15% à l'âge de 28j ($P<0,001$) et – 35% en fin d'essai, c-à-d à J49 ($P<0,0001$).

V. Effet du probiotique *P. acidilactici* sur la flore lactique intestinale

Les résultats relatifs aux dénombrements des colonies de lactobacilles chez les poulets témoins et supplémentés en probiotique, évalués à 3 âges différents (J10, J28 et J49), au niveau de 3 portions intestinales (duodénum, iléon et les caeca) sont reportés dans le tableau 19 et les figures 16, 17 et 18.

Tableau 19. Nombre de lactobacilles mesuré au niveau duodénal, iléal et caecal, à l'âge de 10, 28 et 49 jours chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Dénombrement des Lactobacilles (log de 10 UFC/g) [#]				
<i>Dans le duodénum</i>				
à J10	6,35	6,40	0,02	*
à J28	6,45	6,49	0,01	*
à J49	6,49	6,63	0,01	***
<i>Dans l'iléon</i>				
à J10	6,57	6,58	0,01	0,460
à J28	6,61	6,62	0,01	0,485
à J49	6,65	6,66	0,01	0,301
<i>Dans les caeca</i>				
à J10	6,57	6,58	0,01	0,788
à J28	6,61	6,62	0,01	0,705
à J49	6,65	6,65	0,01	0,829

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. [#] UFC : Unité formant colonies. * $P<0,05$, *** $P<0,001$.

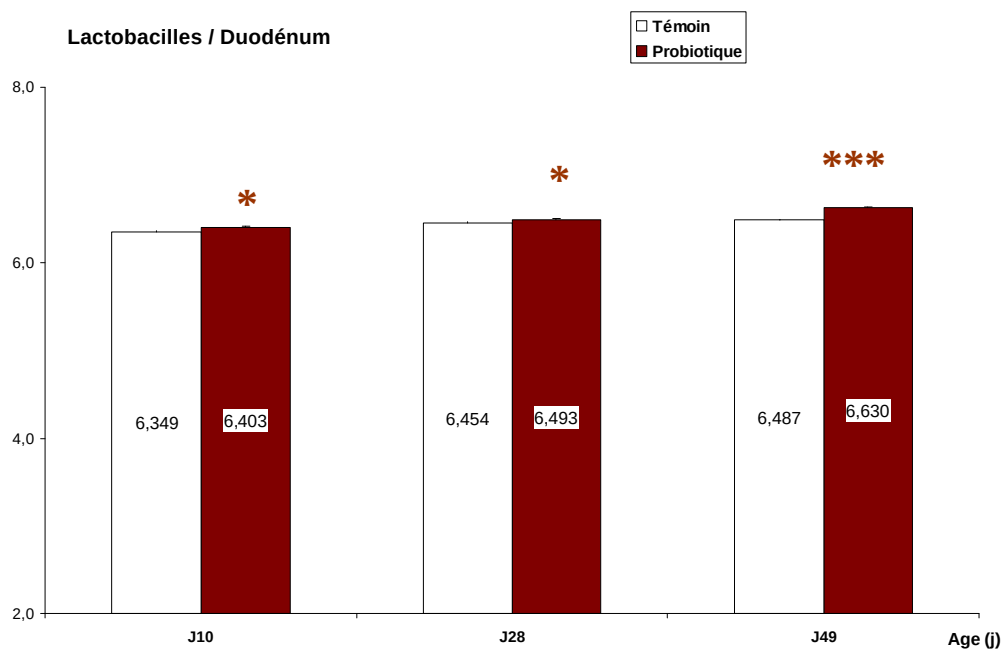


Figure 16. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau duodénal chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; * P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

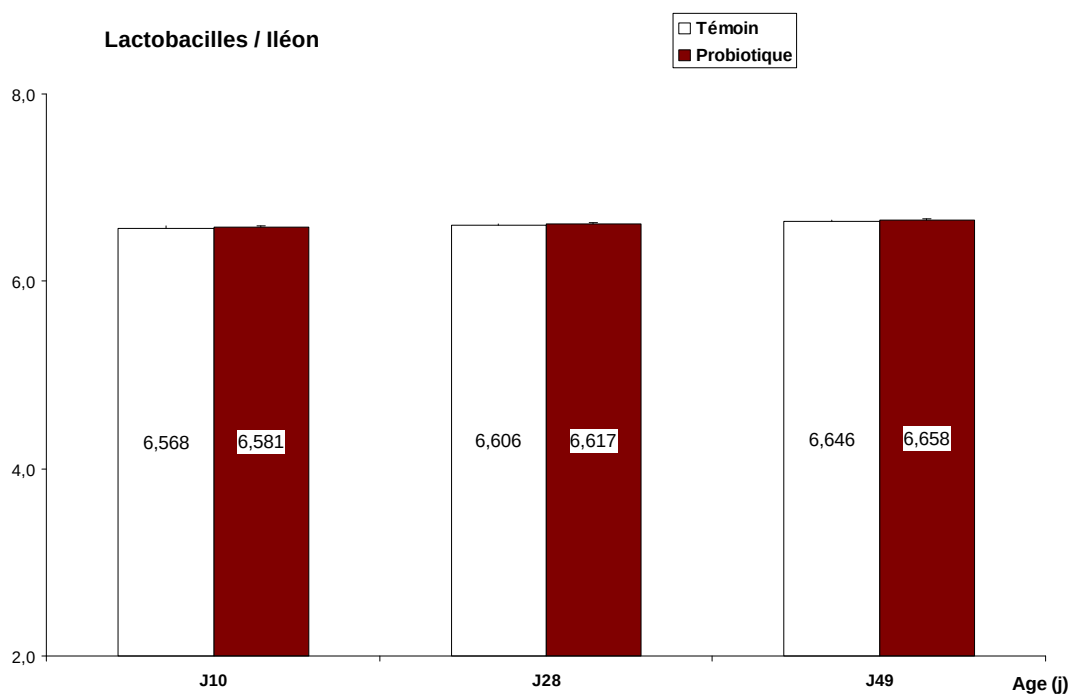


Figure 17. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau iléal chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12).

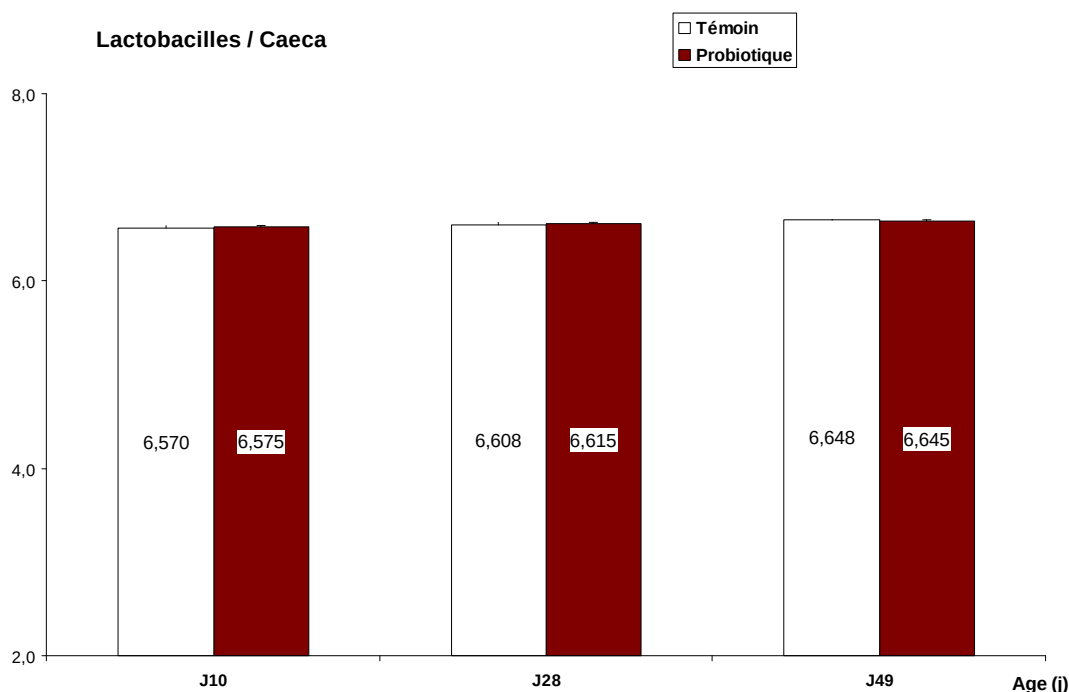


Figure 18. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le nombre de lactobacilles (log de 10 UFC/g) présents au niveau des caeca chez le poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12).

Au niveau duodénal, nos résultats indiquent que les poulets supplémentés en *Pediococcus acidilactici* ont un nombre de lactobacilles significativement plus élevé que celui trouvé chez les animaux témoins et ce quelque soit l'âge de mesure. En effet, nous trouvons des écarts significatifs entre les deux lots d'environ 1% ($P < 0,05$) à J10 et J28 et +2% ($P < 0,0001$) à J49 en faveur du lot probiotique.

En revanche, au niveau des 2 autres portions intestinales (iléon et caeca), le nombre de lactobacilles est comparable entre les deux lots ($P > 0,30$) aussi bien à J10, qu'à J28 ou J49.

VI. Effet du probiotique *P. acidilactici* sur la morphométrie intestinale

VI.1. Effet sur la longueur des intestins

Les longueurs moyennes des intestins mesurées à J10, J28 et J49 sont représentées dans le tableau 20 et la figure 19.

Tableau 20. Longueur totale des intestins mesurée à l'âge de 10, 28 et 49 jours chez des poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Longueur totale de l'intestin (cm)				
à J10	104,1	113,0	1,4	***
à J28	170,3	194,3	2,5	***
à J49	225,5	240,0	3,9	*

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. * P<0,05, *** P<0,001.

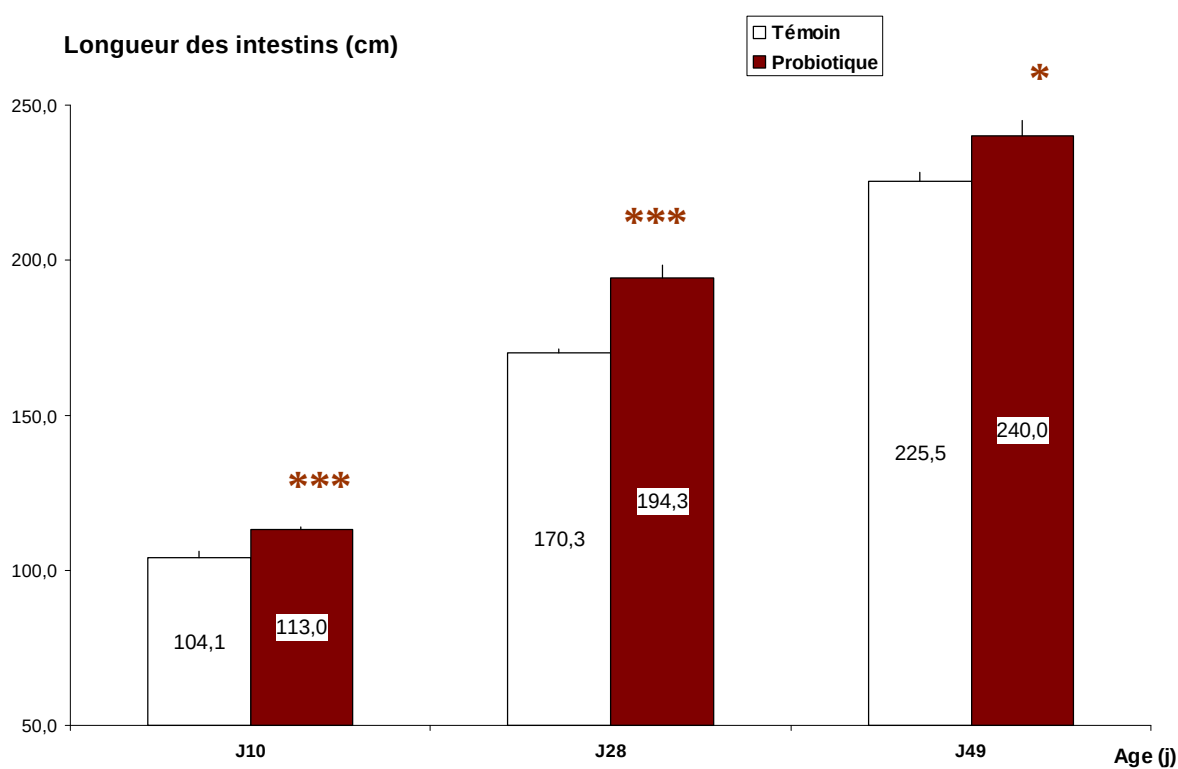


Figure 19. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la longueur de l'intestin (cm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes ± SE ; n=12 ; * P<0,05 ; *** P<0,001).

D'une manière générale, nos résultats montrent que, quel que soit l'âge, la longueur totale des intestins est significativement supérieure chez les poulets supplémentés

en probiotique par rapport à ceux recevant l'aliment standard. Cette augmentation est de 9% ($P<0,001$) à J10, d'environ 14% ($P<0,001$) à J28 et d'environ 6% ($P<0,05$) à J49 par rapport aux témoins.

VI.2. Effet sur la hauteur des villosités intestinales

Les hauteurs moyennes des villosités intestinales, enregistrées au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, à J10, J28 et J49 sont reportées sur le tableau 21.

Tableau 21. Hauteur moyenne des villosités intestinales, mesurée à l'âge de 10, 28 et 49 jours, au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, chez les poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; n=12).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Hauteur des villosités intestinales (µm)				
<i>Au niveau du duodénum proximal</i>				
à J10	704,3	1340,3	72,2	***
à J28	1026,3	1855,4	110,3	***
à J49	1239,4	1648,4	33,2	***
<i>Au niveau du duodénum distal</i>				
à J10	681,9	1085,3	45,9	***
à J28	898,8	2036,2	238,9	**
à J49	1156,2	1752,5	103,9	**
<i>Au niveau de l'iléon proximal</i>				
à J10	542,7	848,3	31,0	***
à J28	792,1	1287,2	90,7	**
à J49	1290,6	1346,2	42,0	0,360
<i>Au niveau de l'iléon distal</i>				
à J10	643,7	815,6	40,4	**
à J28	700,4	1034,9	48,1	***
à J49	1176,6	1546,9	82,7	**

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

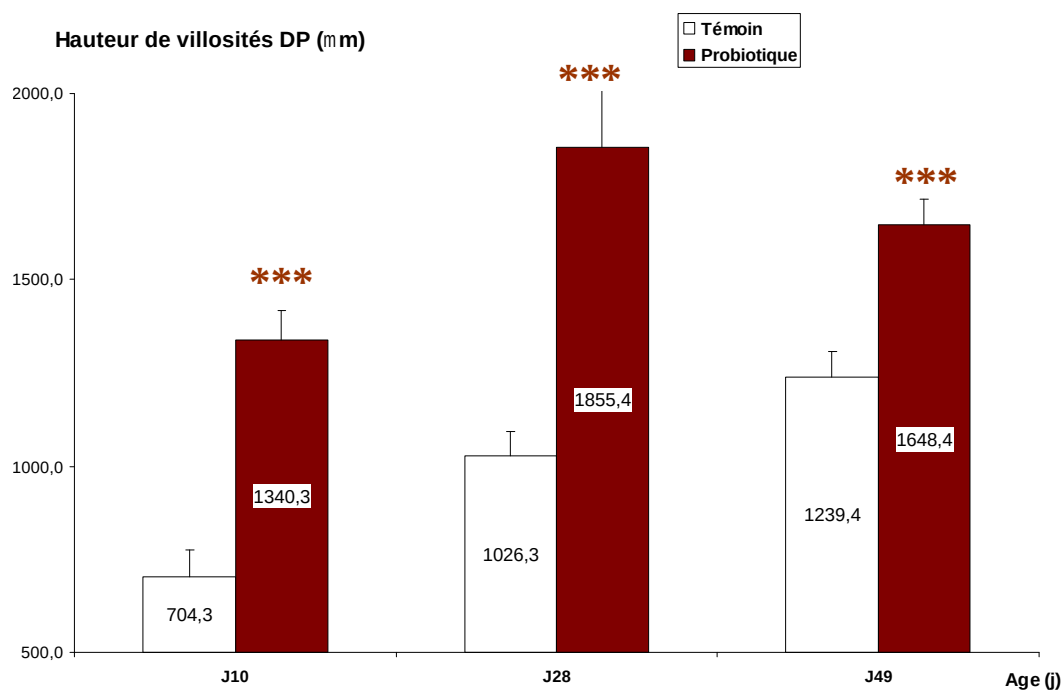


Figure 20. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités du duodénum proximal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; *** P<0,001).

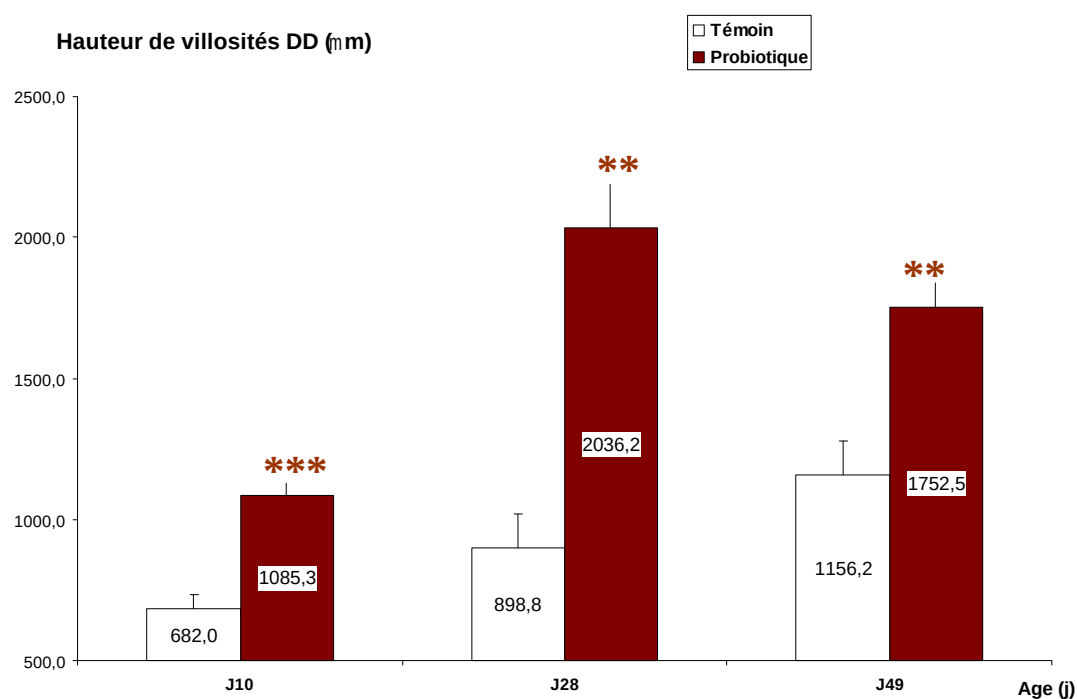


Figure 21. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités du duodénum distal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

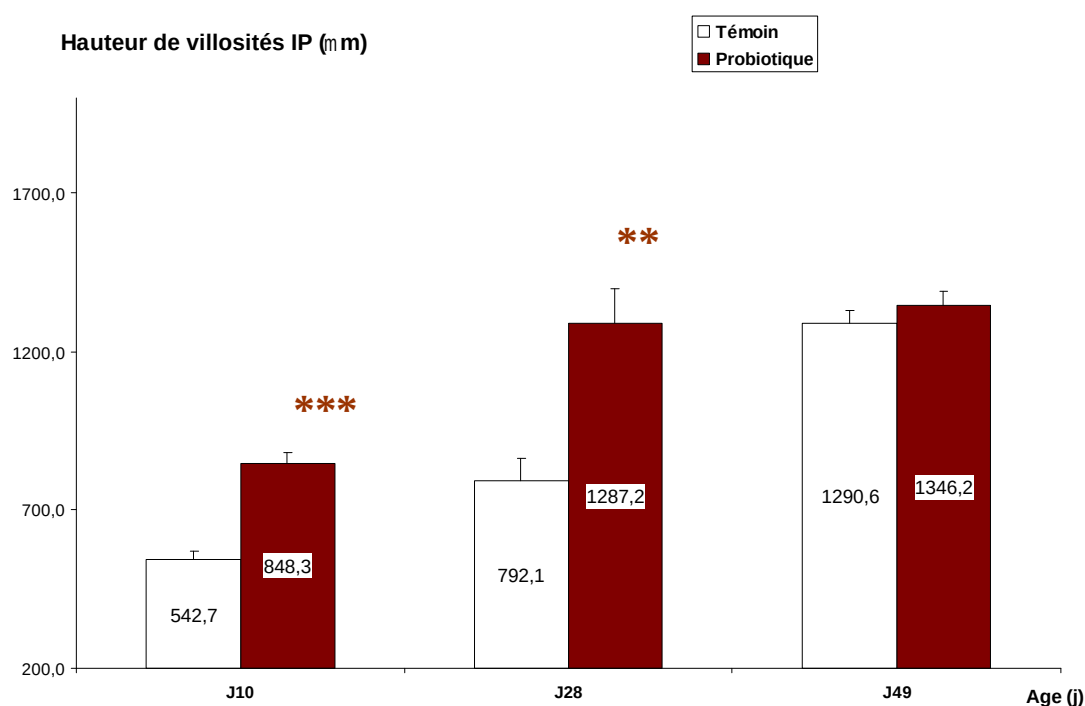


Figure 22. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités de l'iléon proximal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

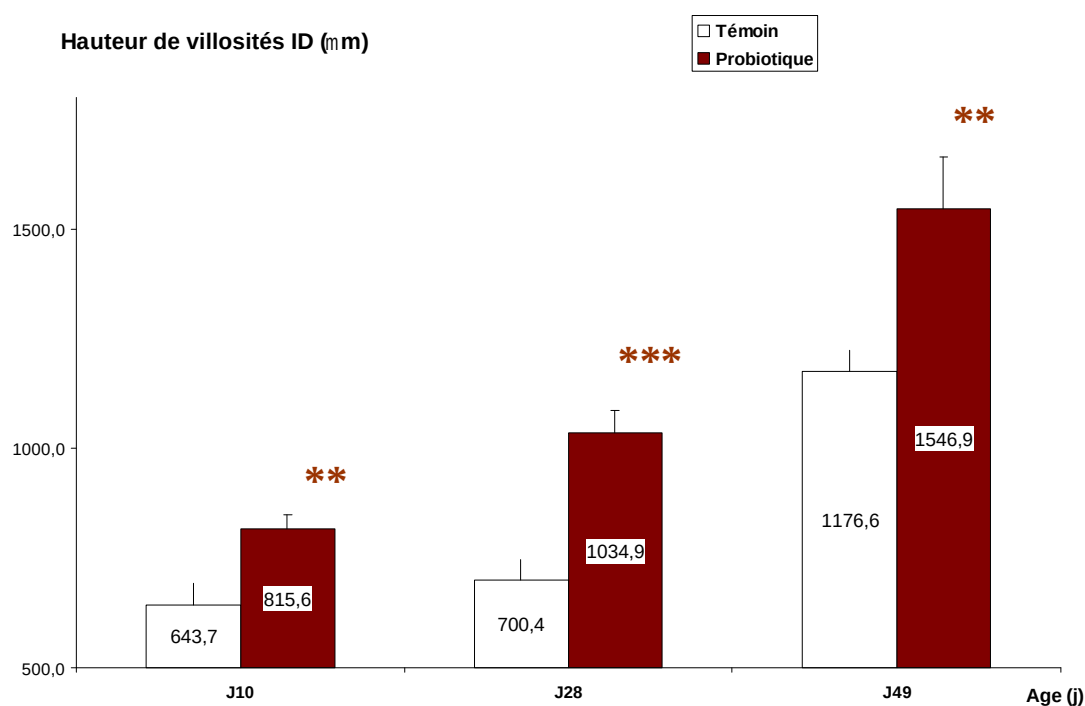


Figure 23. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités de l'iléon distal (μm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

Au niveau du duodénum proximal, la hauteur moyenne des villosités chez les animaux supplémentés est presque deux fois plus grande que celle enregistrée chez les témoins, et ce quelque soit l'âge des poulets : augmentation très significatives à J10 (+90% ; $P<0,001$), J28 (+80% ; $P<0,001$) et à J49 (+33% ; $P<0,01$) (Figure 20).

Au niveau du duodénum distal, les hauteurs des villosités enregistrées sont également nettement augmentées après supplémentation aux trois dates de mesures : +59% à J10 ($P<0,001$), +127% à J28 ($P<0,01$) et +52% à J49 ($P<0,01$) (Figure 21).

Au niveau de l'iléon proximal, la hauteur moyenne des villosités est aussi significativement supérieure chez le lot supplémenté en *P. acidilactici* comparé au témoin et ce à l'âge de 10 jours (+56% ; $P<0,001$) et de 28 jours (+63% ; $P<0,01$). En revanche, l'augmentation de la taille des villosités n'atteint pas le seuil de signification statistique à J49 (+4%, $P=0,36$) (Figure 22).

Enfin, **au niveau de l'iléon distal**, quelque soit l'âge de mesure, les villosités sont nettement plus hautes que celles des poulets témoins : +27% ($P<0,01$) à J10, +48% ($P<0,001$) et + 31% ($P<0,01$) à J49 (Figure 23).

VI.3. Effet sur le volume des villosités intestinales

Les volumes moyens des villosités intestinales, enregistrés au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, mesurés à J10, J28 et J49 chez les poulets témoins et supplémentés en probiotique sont reportés sur le tableau 22.

Au niveau du duodénum proximal, le volume des villosités est 3 à 4 fois plus grand chez les poulets supplémentés en probiotique que ceux mesurés chez les témoins ($P<0,0001$) et ce aussi bien à J10 (+220%), qu'à J28 (+267%) ou J49 (+163%) (Figure 24).

Au niveau du duodénum distal, le volume des villosités est aussi significativement supérieur ($P<0,001$) chez les individus supplémentés par rapport aux témoins : 2 fois plus grands à J10, 6 fois plus à J28 et 3 fois plus à J49 (Figure 25).

Au niveau de l'iléon proximal, les poulets du lot Probiotique ont un volume de villosité 3 fois plus grands que celui mesuré chez les témoins à J10 et à J28 : augmentations très significatives ($P<0,001$) de l'ordre de +183% et de +240% respectivement. De la même manière, à J49, le volume des villosités iléales au niveau

proximal est significativement plus élevé chez les animaux supplémentés comparés aux témoins mais avec une moindre amplitude : +40%($P>0,05$) (Figure 26).

Enfin, **au niveau de l'iléon distal**, le volume moyen des villosités intestinales enregistré au 10^{ème} et au 28^{ème} jour d'âge est significativement plus grand chez les animaux recevant le probiotique comparés aux témoins : +170% à J10 et +225% à J28 ($P<0,0001$). Cette augmentation significative de volume est aussi retrouvée, à l'âge de 49 jours, mais avec une plus faible amplitude : +54% ; $P<0,01$ (Figure 27).

Tableau 22. Volumes (mm^3) des villosités intestinales, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, au niveau des portions proximales et distales du duodénum et de l'iléon, chez les poulets recevant un aliment standard (lot « Témoin ») ou un aliment supplémenté en *Pediococcus acidilactici* (lot « Probiotique ») (Moyennes ; $n=12$).

	Lot Témoin	Lot Probiotique	SEM [§]	ANOVA (p=)
Volume des villosités intestinales (mm^3)				
<i>Au niveau du duodénum proximal</i>				
à J10	0,010	0,032	0,002	***
à J28	0,018	0,066	0,003	***
à J49	0,032	0,084	0,004	***
<i>Au niveau du duodénum distal</i>				
à J10	0,009	0,022	0,002	***
à J28	0,021	0,127	0,014	**
à J49	0,030	0,098	0,006	***
<i>Au niveau de l'iléon proximal</i>				
à J10	0,006	0,017	0,001	***
à J28	0,015	0,051	0,003	***
à J49	0,052	0,073	0,006	**
<i>Au niveau de l'iléon distal</i>				
à J10	0,007	0,019	0,001	***
à J28	0,012	0,039	0,002	***
à J49	0,046	0,071	0,004	**

[§] SEM : Erreur Standard Moyenne. ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

Volume des villosités DP (mm³)

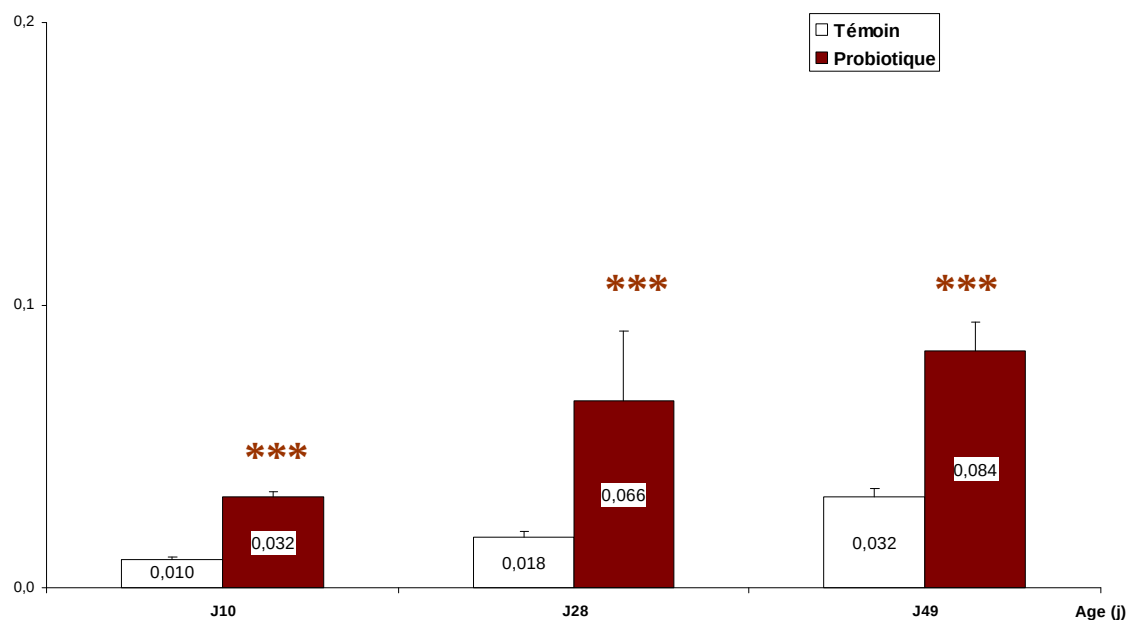


Figure 24. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du duodénum proximal (mm³) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; *** P<0,001).

Volume des villosités DD (mm³)

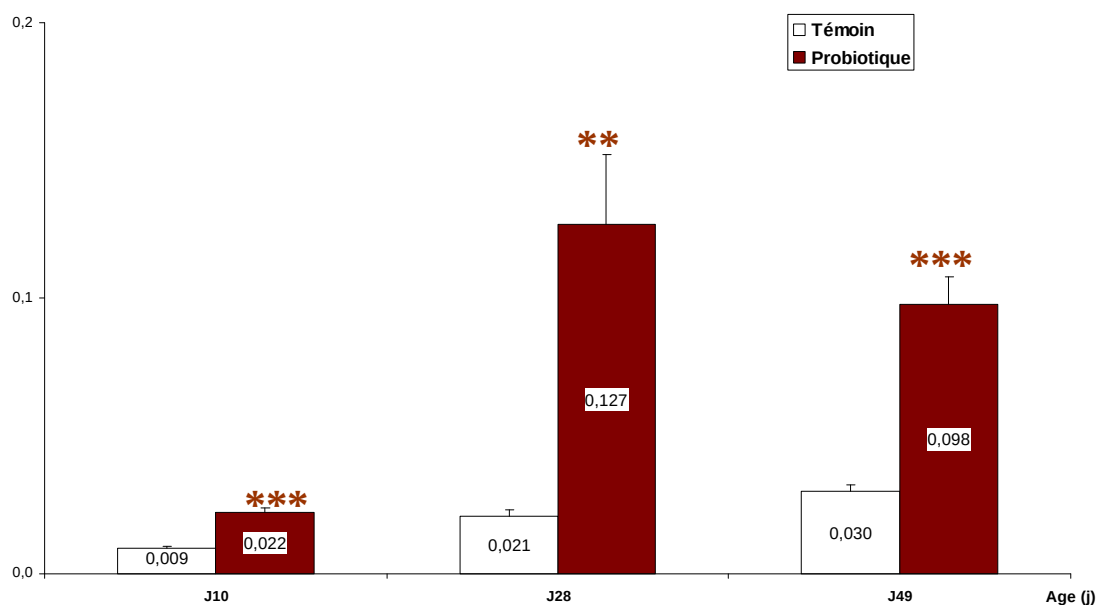


Figure 25. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du duodénum distal (mm³) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

Volume des villosités IP (mm³)

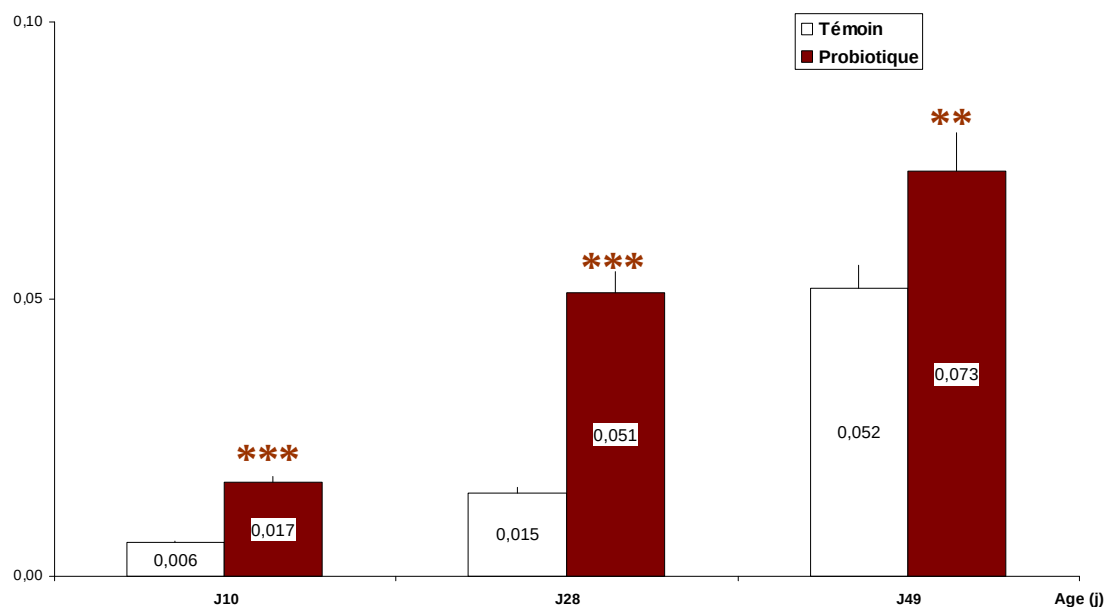


Figure 26. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités de l'iléon proximal (mm³) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

Volume des villosités ID (mm³)

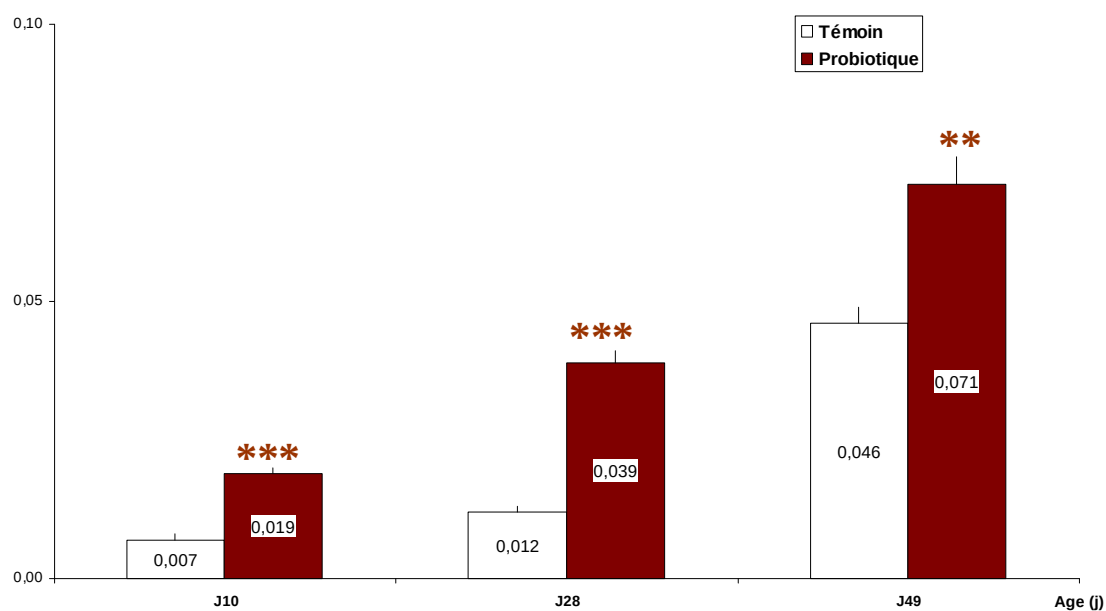


Figure 27. Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités de l'iléon distal (mm³) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes $\pm$ SE ; n=12 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

Notre objectif, dans cet essai, était d'évaluer, dans nos conditions locales d'élevage avicole, l'intérêt de la complémentation alimentaire en probiotique en tant qu'alternative à l'utilisation des antibiotiques, facteurs de croissance désormais interdits. Nous avons mesuré, plus précisément, l'impact de l'addition de *Pediococcus acidilactici* sur les performances de croissance, la mortalité, le rendement de carcasse, certains paramètres sanguins, la morphométrie intestinale et l'accroissement de la flore lactobacillaire digestive du poulet de chair, au cours d'un cycle complet de croissance (49 jours).

Supplémentation alimentaire en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Aspects méthodologiques

Dans notre étude, l'incorporation de *Pediococcus acidilactici* est effectuée chez le poulet de chair, du premier jour d'élevage (J0) jusqu'à l'abattage (J49), à la dose de 10^9 UFC/g d'aliment. Cette dose est celle usuellement testée dans différentes études étrangères (AWAAD et al., 2001, AWAAD et al., 2002, VITTORIO et al., 2005 ; AWAAD et al., 2006) ou locales (SAIS, 2004 ; CHAFAI, 2006) et correspond à la dose recommandée par le fabricant.

Nous avons choisi de démarrer la supplémentation en probiotique dès le premier jour d'âge car à ce moment le tube digestif des poussins est encore stérile. Ceci vise une colonisation dirigée du tube digestif des poussins nouvellement éclos, avec des souches probiotiques à fort pouvoir inhibiteur, plutôt que de laisser s'installer naturellement une flore lactique quelconque apportée par l'environnement, d'autant plus que l'implantation de cette dernière est tardive (à partir du 5^{ème} jour). Par ailleurs, l'installation de la population de lactobacilles permettrait d'orienter la mise en place ultérieure des autres populations microbiennes (par acidification du milieu, effet barrière vis-à-vis des germes indésirables...).

L'effectif de poulet utilisé pour cet essai (8 répétitions par traitement soit 480 sujets/lot) nous semble correct pour estimer l'impact du probiotique sur les performances de croissance et la mortalité. Les études disponibles utilisent soit un nombre comparable de répétitions (BOURENNAE et NAAMANE, 2007) ou bien plus élevé (15 répétitions pour un effectif global de 1800 poulets ; SAIS, 2004). D'autres essais sont effectués en conditions



terrain sans répétitions : deux bâtiments séparés avec des effectifs plus importants (8000 animaux par lot) (CHAFAI, 2006).

Supplémentation alimentaire en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Croissance pondérale similaire

Dans nos conditions expérimentales, l'ajout de *P. acidilactici* à la ration des poulets n'a pas significativement modifié la croissance des animaux, puisque au final, les poids vifs enregistrés à la fin de l'essai étaient quasi identiques entre les deux lots expérimentaux (variation de 1%).

L'absence de l'effet de l'addition du probiotique sur le poids final du poulet a été rapportée par JOHRI et *al.* (2004). L'étude de SAIS (2004) réalisée dans les mêmes conditions expérimentales (ITELV de Baba-Ali) et avec la même souche de probiotique indique aussi une variation du gain de poids cumulé de 12% au profit des sujets supplémentés, sans pour autant être significative.

Par ailleurs, l'analyse de la bibliographie ne révèle pas non plus d'effet améliorateur de la croissance des poulets après emploi de *P. acidilactici* avec d'autres bactéries probiotiques. Ainsi, les associations *P. acidilactici*, *Saccharomyces cerevisiae* (LEE et *al.*, 2006) ainsi que *Lactobacillus reuteri*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus salivarius* (MOUNTZOURIS et *al.*, 2007) n'augmentent pas significativement la croissance des animaux.

D'autres études rapportent pourtant un effet positif des probiotiques sur la croissance des poulets. Ainsi, l'administration d'*Enterococcus faecium* M-74 à des poulets de chair améliore la croissance d'environ 11% à l'âge de 42 jours (KRALIK et *al.*, 2004). De même, BOURENANE et NAMANE (2007) ont constaté une amélioration significative du gain de poids des poulets supplémentés en probiotique associant *Bacillus subtilis* et *B. licheniformis* par rapport aux témoins (essai au niveau de la station expérimentale de l'ITELV de Baba-ali).

Concernant l'addition du probiotique *P. acidilactici* à la ration, plusieurs études révèlent une amélioration significative de la croissance des poulets supplémentés (JIN et *al.*, 1998; SIMON et *al.*, 2001; AWAAD, 2001 ; VITTORIO et *al.*, 2005 ; CHAFAI, 2006).

Ainsi, dans l'expérimentation de CHAFAI (2006), l'utilisation du *P. acidilactici* comme probiotique a augmenté significativement le poids vif en fin d'élevage (+8% environ à 56 jours d'âge en comparaison avec les témoins). Une amélioration comparable du poids (+7,5% à J49) avait été aussi soulignée par AWAAD (2001). En revanche, une moindre amélioration du poids des poulets supplémentés (+3% à J35) est trouvée par SAVOINI et al. (2004).

Finalement, face à la supplémentation en probiotique, l'amplitude des réponses reste variable selon les essais. Ceci pourrait s'expliquer probablement par la variabilité des souches de probiotique testées, par les régimes alimentaires (composition de la ration) ainsi que la forme de présentation de l'aliment (farineuse ou granulée) et les animaux utilisés dans les différentes études.

Supplémentation alimentaire en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Ingéré alimentaire global réduit

Dans nos conditions expérimentales, l'ajout du probiotique *P. acidilactici* a permis de réduire significativement la quantité d'aliment ingérée sur tout le cycle de l'élevage (-4% ; $P < 0,001$). Notons que cette baisse de consommation alimentaire chez les poulets supplémentés semble augmenter avec l'âge et probablement en relation avec le type de l'aliment: pas de variation entre J1 et J10, - 3% ($P < 0,05$) entre J10 et J42 et -7% ($P = 0,06$) entre J42 et J49.

Comme pour la croissance, l'impact de l'addition de *P. acidilactici* sur la consommation d'aliment varie selon les études. Ainsi, une diminution de l'ingéré alimentaire comparable à la nôtre a été rapportée par JIN et al. (1998) et SIMON et al. (2001). En revanche, les études de SAIS (2004) et de CHAFAI (2006), testant le même probiotique, ne rapportent pas de différence significative entre l'ingéré des poulets supplémentés et celui des témoins. Elles indiqueraient même une légère augmentation après supplémentation en probiotique dans ces mêmes conditions. Cette légère élévation de la consommation est aussi signalée par BOURENANE et NAMANE (2007) chez des poulets recevant une préparation à base de *B. subtilis* et *B. licheniformis*.

Nous pouvons supposer que la diminution de l'ingéré des poulets supplémentés en probiotique est en relation avec une meilleure utilisation métabolique de l'aliment. En



effet, LARBIER (1997), rapporte une augmentation de l'énergie métabolisable d'environ 3,5% en faveur le l'aliment complétement en *Pediococcus acidilactici*.

Supplémentation alimentaire en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Meilleure efficacité de transformation de l'aliment

Dans la présente étude, l'apport de probiotique a significativement réduit les indices de conversion et de consommation cumulés des poulets : diminution moyenne de 3% ($P < 0,05$) par rapport aux témoins. De tels résultats sont aussi rapportés par d'autres auteurs (JIN et *al.*, 1998; SIMON et *al.*, 2001 ; SAIS, 2004 ; VITTORIO et *al.*, 2005 ; CHAFAI, 2006 ; BOURENANE et NAMANE, 2007). Par contre, aucun effet positif des bactéries lactiques sur les indices de conversion alimentaire n'a été signalé dans les essais de KAHRAMAN et *al.* (2000), JOHRI (2004) et MOUNTZOURIS et *al.* (2006).

Dans nos conditions, l'amélioration significative de l'indice de consommation est liée à la légère baisse de l'ingéré (-4% environ) puisque la croissance est très peu modifiée dans ces mêmes conditions. Ceci traduit une meilleure efficacité de transformation de l'aliment correspondant à une meilleure utilisation digestive sûrement en rapport avec l'action de ce probiotique sur la flore (VITTORIO et *al.*, 2005).

Supplémentation en *P. acidilactici* & mortalité du poulet ...

... Meilleure survie

Dans notre essai, les taux de mortalité mesurés chez les deux lots sont représentatifs des résultats habituellement obtenus chez la même souche ISA, élevée dans les mêmes conditions à la Station de Baba Ali (ITELV, 2002 ; BENTOUMI, 2004). Ceci traduit des conditions d'élevages optimales. Néanmoins, il est intéressant de signaler, que dans nos conditions, la mortalité recensée chez les poulets supplémentés en probiotique a été réduite de 40% par rapport aux témoins.

Cette meilleure survie des poulets supplémentés en *P. acidilactici* est également rapportée dans d'autres études (JIN et *al.*, 1998; JOHRI, 2004; RAMIREZ et *al.*, 2005). PELICANO et *al.* (2004), mentionnent aussi que l'administration d'une autre souche de lactobacille (*Bacillus subtilis*) réduit le taux de mortalité des poulets durant toute la période d'élevage. De même, SIWIKI et *al.* (2005) ont démontré que la



consommation d'aliment contenant un mélange de probiotiques (*Lactobacillus salivarius* AWH, *L. acidophilus* BS, *L. helveticus* b9, *Bifidobacterium longum* ICUJ et *B. animalis* 30) réduit significativement le taux de mortalité des poulets par comparaison à un lot témoin.

Par contre, VITTORIO et *al.* (2005) trouvent des taux de mortalité comparables entre les poulets témoins et ceux nourris avec un aliment supplémenté en probiotique : 2,7% vs 2,8%. Il en est de même pour les études de SAIS (2004), CHAFAI (2006) et BOURENANE et NAMANE (2007). Le rôle favorable sur l'état sanitaire de l'hôte induit par l'addition des bactéries lactiques dans l'aliment serait du à l'exclusion compétitive, la synthèse d'acide lactique entraînant la baisse du pH ou encore la stimulation de l'immunité locale ou systémique (VITTORIO et *al.*, 2005).

Supplémentation en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Rendement de carcasse identique

Nos résultats ne révèlent aucune variation significative des composantes de la carcasse des poulets supplémentés en probiotique *P. acidilactici* comparativement à ceux recevant un aliment classique. De manière similaire, il n'y a pas d'effet significatif sur la qualité des carcasses des poulets supplémentés avec d'autres probiotiques, à savoir : *Enterococcus faecium* cenelle 68 (ARSLAN et *al.*, 2004) et l'association de *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* (PELICANO et *al.*, 2003).

En revanche, d'autres études mentionnent un effet positif des bactéries lactiques probiotiques sur le rendement de carcasse. Ainsi, selon CHAFAI (2006), les rendements de carcasse des poulets, abattus à 56 jours d'âge, sont nettement supérieurs chez les poulets ayant consommé des régimes avec *P. acidilactici*: +9% ($P < 0,001$) par rapport aux témoins. Mais, dans ces mêmes conditions, les proportions de gras abdominal ainsi que les poids des abats (foie, rate, cœur, proventricule, gésier et intestins) ne sont pas significativement modifiés. KALAVATHY et *al.* (2003), montrent que la supplémentation en probiotique à base de *Lactobacillus* réduit significativement la teneur en graisse abdominale à partir de 28 jours d'âge. De même, selon, PEDROSO et *al.* (2003), l'incorporation d'un mélange constitué d'une souche de *Lactobacillus* associé avec une souche de *Bacillus subtilis* dans l'alimentation du poulet influence positivement et significativement les poids du cœur, du foie, du gésier et de l'intestin des poulets abattus à J21 et à J42.



Cette disparité des résultats entre les études est sûrement liée aux conditions expérimentales spécifiques de chaque essai (souche et doses de probiotique administré, type d'élevage, alimentation et animaux utilisés et âge d'abattage).

Supplémentation en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Marqueurs plasmatiques du métabolisme lipidique différents

Dans la présente étude, nous avons exploré l'impact de la supplémentation en probiotique sur quelques paramètres biochimiques sanguins, à savoir : le cholestérol, les triglycérides et les lipides totaux. Ces mesures sont souvent utilisées avec d'autres paramètres (teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée, créatinine) pour évaluer le statut nutritionnel du poulet. Pour des raisons techniques, seuls les marqueurs du métabolisme lipidique ont pu être évalués dans notre essai.

Ces dosages ont été réalisés sur un effectif représentatif de chaque lot (mesures individuelles sur 12 poulets par lot) et ce à deux âges différents : à J28 qui correspond au milieu de la phase de croissance et à J49 correspondant à l'âge d'abattage.

Globalement, l'ensemble des concentrations plasmatiques mesurées dans nos conditions se trouvent dans des plages de valeurs comparables à celles déjà rapportées dans d'autres essais sur poulet (MOHAN et *al.*, 1996 ; KALAVATHY et *al.*, 2003 ; CHAFAI, 2006).

Tout d'abord, la comparaison des résultats obtenus chez les poulets supplémentés en *Pediococcus acidilactici* avec ceux du lot témoin, laisse apparaître des différences très significatives ($P < 0,001$) de la cholestérolémie à la fois à J28 et à J49 avec une baisse de -32% et de -14% respectivement par rapport aux témoins.

De tels résultats ont été indiqués suite à l'emploi de la même souche bactérienne (*P. acidilactici*) par AWAAD et *al.* (2001) et CHAFAI (2006) ou bien avec d'autres souches de lactobacilles (JIN et *al.*, 1998 ; KALAVATHY et *al.*, 2003). Ainsi, l'usage d'autres probiotiques, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*, a permis d'abaisser le taux du cholestérol sanguin (-27% par rapport aux témoins ; MOHAN et *al.*, 1996). ABDOLLAHI et *al.* (2003) signalent aussi que la supplémentation alimentaire à base de *B. licheniformis* et *B. subtilis* induit un effet dépressif sur la cholestérolémie du poulet de chair.



En revanche, KANASHIRO et al (2001) ont montré dans leur expérience que l'addition d'un probiotique composé d'un mélange de différentes souches (*Lactobacillus Sp*, *bacillus sp*, *Enterococcus faecium M-74* et *Rhodopseudomonas*) n'affectent pas le taux de cholestérol des poulets durant toutes les phases d'élevage. Cette observation fut aussi constatée par DJOUVINOV et al. (2005) en utilisant un mélange composé de *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium* et *Lactobacillus*.

Par ailleurs, dans nos conditions expérimentales, les teneurs plasmatiques en triglycérides obtenues chez les sujets supplémentés en probiotique sont nettement plus faibles que celles mesurées chez les témoins : baisses très significatives ($P < 0,0001$) à J28 (-38%) et à J49 (-48%). Ceci concorde pleinement avec les données obtenues avec la même souche de probiotique (CHAFAI, 2006) ou avec d'autres souches de lactobacilles (KALAVATHY et al., 2003).

Enfin, à notre connaissance, il n'y a pas de données relatives à l'influence de la supplémentation en probiotique sur la concentration plasmatique en lipides totaux. Mais dans notre essai, nous trouvons que ces teneurs sont nettement réduites ($P < 0,001$) après supplémentation en *P. acidilactici*: -15% à l'âge de 28j et -35% à la fin de l'essai, comparativement aux témoins.

Au vu de tous ces résultats, la supplémentation en *P. acidilactici* semble influencer sur les processus d'utilisation métabolique des lipides. Ceci pourrait s'expliquer, entre autres, par la propriété hypocholestérolémiant que posséderaient les bactéries lactiques (CHAFAI, 2006). En effet, celles-ci induisent une inhibition de la synthèse hépatique du cholestérol (SANDERS, 2000 ; MERCENIER et al., 2002 ; PAREIRA et al., 2003 ; PSOMAS et al., 2003 ; LIM et al., 2004 ; HONGBAO, 2004).

Supplémentation en *P. acidilactici* chez le poulet ...

... Enrichissement de la flore lactobacillaire duodénale

La flore lactobacillaire, majoritaire au niveau de l'intestin des poulets, est dotée d'un important pouvoir d'implantation sur l'épithélium de la muqueuse intestinale (CHAFAI, 2006 ; APPAJALATHI, 2005).

Dans nos conditions expérimentales (dilution de la solution mère à 10^{-5}), le dénombrement des lactobacilles a permis de mettre en évidence une augmentation significative de la flore lactobacillaire mesurée au niveau des portions duodénales à J10,



J28, et J49 respectivement chez les poulets recevant le probiotique ($P < 0,05$). Cet enrichissement de la flore de Lactobacilles n'est pas retrouvé au niveau iléal et caecal.

Des résultats similaires ont été rapportés par EDENS et *al.* (1997) et JIN et *al.* (1998) en utilisant des probiotiques à base de *Lactobacillus spp.*

Néanmoins, VITTORIO et *al.* (2005) ont démontré un accroissement des Lactobacilles au niveau de la flore du caecum avec la même souche de probiotique que celle utilisée dans notre essai.

L'addition d'un mélange de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* et *Enterococcus faecium*, a sensiblement augmenté la population des Lactobacillus dans l'iléon à J14 (SMIRNOV et *al.*, 2005).

Par ailleurs, l'addition de *Pediococcus acidilactici* avec d'autres bactéries telles que : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Enterococcus* a augmenté la population des Lactobacilles dans l'iléon et les ceaca d'une manière significative chez ces poulets comparativement aux poulets témoins (MOUNTZOURI et *al.*, 2007).

TEO et TAN (2007) ont remarqué une augmentation de flore *lactobacille* au niveau de l'intestin (duodénum, iléon et ceacum) chez des poulets ayant consommé un probiotique *Bacillus subtilis* à 21 jours d'âge.

L'addition de *Pediococcus acidilactici* dans la ration alimentaire des poulets a créé un milieu favorable en produisant de l'acide lactique (chute de pH) permettant ensuite un accroissement de la population de Lactobacilles, ce qui permet l'enrichissement naturel du milieu qui sera défavorable à la croissance des germes pathogènes et ceci probablement par exclusion compétitive (FULLER 1989 ; GUILLOT, 1994 ; JIN et *al.*, 1998a; PASCUAL et *al.*, 1999 ; VITTORIO et *al.*, 2005 ; AWAAD et *al.*, 2005 ; APPAJALATHI, 2005 ; AHMAD, 2006).

Supplémentation en *P. acidilactici* chez le poulet ...

...Surfaces d'absorption intestinale supérieures

Nos données montrent, qu'en plus d'une augmentation de la longueur totale de l'intestin, l'addition de probiotique dans l'aliment a induit une nette amélioration de la hauteur et du volume des villosités intestinales et ce, au niveau de tous les compartiments de l'intestin et aux trois âges étudiés.



Des résultats similaires sont rapportés également dans plusieurs études réalisées avec le même probiotique que le nôtre (AWAAD et *al.*, 2006) ou bien avec d'autres probiotiques ou mélange de probiotiques, à savoir: *Lactobacillus reutei* (mesures à 21 jours d'âge ; EDENS et *al.* 1997) ; *Bacillus subtilis* ou un mélange de *Lactobacillus acidophilus* et *L.casei* (mesures à 21 jours d'âge, au niveau iléal ; PELICANO et *al.*, 2005) ; *Enterococcus faecium* (SAMLİ et *al.* , 2007). En revanche, PELICANO et *al.* (2003) n'observent aucune différence au niveau des villosités intestinales.

Dans nos conditions expérimentales, l'augmentation de la taille et du volume des villosités intestinales concorde avec l'accroissement de l'efficacité de transformation alimentaire signant une meilleure valorisation digestive de l'aliment. Les mécanismes physiologiques impliqués méritent d'être approfondis.



Notre essai a permis de préciser, dans nos conditions locales, l'impact de la supplémentation alimentaire en probiotique (*Pediococcus acidilactici*) sur les performances zootechniques, le rendement de carcasse, quelques paramètres sanguins, l'évolution de la flore lactobacillaire digestive et l'histométrie intestinale du poulet de chair.

Dans nos conditions expérimentales, la supplémentation en probiotique n'a pas augmenté significativement la croissance des poulets mais a légèrement réduit la consommation alimentaire, induisant ainsi une nette amélioration de l'indice de consommation qui traduit une meilleure efficacité de transformation alimentaire.

Par ailleurs, aucune amélioration des rendements de carcasse des poulets n'a été constatée suite à l'incorporation de *P. acidilactici* dans l'aliment. En revanche, l'apport de probiotique dans l'aliment a permis de réduire de moitié les taux de mortalité recensés durant tout l'élevage.

L'amélioration de l'utilisation digestive des aliments chez les poulets supplémentés est probablement liée à l'augmentation, dans ces mêmes conditions, de la longueur totale des intestins, de la hauteur et du volume des villosités au niveau duodénal et iléal.

Enfin, la supplémentation en probiotique a permis d'enrichir la flore de lactobacilles dénombrée au niveau du duodénum et a réduit en parallèle les taux circulants des principaux marqueurs plasmatiques du métabolisme lipidique (Cholestérol, TG et Lipides totaux).

Les résultats de la présente étude semblent intéressants. Notons tout de même que nos conditions d'élevages étaient optimales d'un point de vue sanitaire, ce qui n'est pas toujours le cas dans les élevages algériens. Nous pouvons alors supposer que cette supplémentation aurait donné des résultats supérieurs dans les conditions d'élevage du terrain.

L'usage des probiotiques en production aviaire est encore à ses débuts. Il est nécessaire de poursuivre les études sur les mécanismes d'action de ces additifs afin de comprendre pourquoi les résultats *in vivo* sont variables.

Des études ultérieures devraient en outre préciser l'impact de l'ajout du probiotique sur l'état sanitaire des poulets et approfondir la connaissance sur le pédiocoque ou d'autre souches probiotique pour en élucider le rôle sur les mécanismes physiologiques et métaboliques du poulet de chair.



A

- ABDOLLAHI M. R., KAMYAB A., BAZZAZZADEKAN A., NIK-KHAH A. and SHAHNEH A Z. (2003). Effect of different levels of bacterial probiotic on broilers performance. University of Teheran.
- AHMMADI. (2006) Effect of probiotics on broiler performance. International Journal of Poultry Science 5(6): 593-597.
- AIT BELGNAOUI A. (2006) Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse de Doctorat de L'Institut National Polytechnique De Toulouse (France), 203 pages.
- AMROUCHE T. (2005) Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués. Thèse de doctorat, Université de Laval, Canada.
- ANDREATTI FILHO R. L., DA SILVA E. N., RIBERIO A R., KENDO N., CURI P. R. (2000). Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with salmonella typhimurium and salmonella enteritidis. Braz. J. Microbiol., 31:107-112.
- ANDRIEU V. (1995). Intérêt des probiotiques dans le gavage du canard. Application a la région des landes. Thèse Docteur vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes.
- ANURADHA S., et RAJESHWARI K. (2005). Probiotics in Health and Disease. JIACM., 6(1): 67-72.
- APAJALATHI J. (2005) comparative gut microflora, metabolic challenges and potential opportunities. J. App. Poult. Res.14:444-453.
- ARSLAN M., OZCAN, M., MATUR E., COTELIOGLU, and ERGUL E. (2004). The effects of probiotic on leptin level, body, liver and abdominal fatty weights during the rapid growth phase of broilers. Indian. Vet. J., 81: 416-420.
- AUCLAIR E. (2001). Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species. Ciheam-Iamz., p. 45-53.
- AWAAD M. H. H, AFIFY M.A., ZOULZAKA S. A., SHALABY B., CHEVAUX E., KHETTOU (2005). effets de l'addition de *Pediococcus acidilactici* sur l'infection à *Echerichia coli* et sur la colonisation par *Clostridium perfringens* et *Salmonella typhimurium* chez le poulet Sixième Journée de la Recherche Avicole, St. Malo.
- AWAAD M. H. H., (2001). Effect of *pediococcus acidilactici* on layer hens zootechnical performance. *Poultry. Science .Res.* 26,78-84



- AWAAD M. H. H., BOHNY A., RAZZAZI-FAZELLI E., CHAREEB K., and ZENTEK J. (2006)
Effects of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with
deoxyvenol on performance and histological alteration of intestinal villi of broiler chicks.
Poult. Scien. Res. 85 ; 974-979

B

- BENTOUMI R. (2004). Effet de la densité et de la souche sur les performances du poulet de chair.
Mémoire de fin d'étude INES, Blida, 58 pages.
- BEZKOROVANY A. (2001) Probiotics determinants of survival and growth in the gut. American J. Clin. Nutr.,
73(2): 399-405.
- BOUDJENAH A. (2008) Effet d'une supplémentation de l'aliment en levure *Saccharomyces cerevisiae* de la
vache laitière en péripartum. Mémoire de magistère. Ecole nationale vétérinaire d'Alger,
161 pages.
- BOURENANE M. L., et NAAMANE R. (2007). L'effet de la substitution d'un antibiotique par un
probiotique (BIOPLUS 2B) sur les paramètres zootechniques du poulet de chair Mémoire
de fin d'étude INES, Blida, 78 pages
- BOUZIANE T., ELMAJDOUB T., THONART PH., HAMDI M. (2004). Sélection de bactéries
lactiques probiotiques d'origine animale. Microb. Hyg. Alim., Vol 16. N° 46.

C

- CALLAWAY T. R., ANDERSON R. C., EDRINGTON T. S., ELDER, R. O., GENOVESE K. J.,
BISCHOFF K. M., POOLE T. L., JUNG Y. S., HARVEY R. B., and NISBET D. J. (2003).
Preslaughter intervention strategies to reduce food-borne pathogens in food animals. J.
Anim. Sci., 81: 17-23.
- CASAS I. A. and DOBROGOSZ W.J. (2000) Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri*
confers broad-spectrum protection disease in humans and animals. Microbial ecology in health and
disease, 12: 247-285.
- CAVAZZONI V., ADAMI, A., CASTRIVILLI C. (1998). Performance of broiler chickens
supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. Br. Poult. Sci., 39(4):526-529.
- CHAFAI S. (2006) Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances
zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar de Batna,
97 pages.
- COMET E. (2000) Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additives
alimentaires. Med. Vét., 151(2):99-104
- COMPBEL F. (1995) Effects the probiotic hypercholesterolemia. J. Nutr., 7(2):225-229.
- CONWAY P. L. (1996). Selection criteria for probiotics. Asia pacific J. Clin. Nutr., 5 :10 14.



COPPOLA M. M., and TURNES C. G. (2004). Probiotics and immune response. *Ciencia. Rural. Santa Maria.*, 34(4): 1297-1303.

D

DENIS O. KRAUSE., JAMES D. HOUSE et NYACHOCT C. M. (2004) Alternatives to antibiotics in swine diets: a molecular approach. Department of Animal Science. University of Manitoba. Canada.

DROUAULT S. et CORTHER G. (2001) Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vêt. Res.*, 32: 101_117.

E

EDENS F. N., PARKURT C. R., CASAS I. A., DOBROGOSZ. (1997). Principals of Ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poult. Sci*; 76:179-196

EDENS F. W. (2003). An alternative for antibiotics use in poultry: Probiotics. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, Vol. 5.Nº.2.

ERICKSON K. L. et HUBBARD N.E. (2000) Probiotic immunomodulation in health and disease. *Journal of Nutrition*, 130, 403-409.

F

FAO/WHO, 2004. Health and Nutritional Properties of Probiotics in food including powder Milk with Live Lactic acid Bacteria.

FILHO A. et LIMA E.T. (2005) Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *J. Food, Agri. Enviro.*, 3 (2): 62-66.

FOOKS L. J. et GIBSON G. R. (2002) Probiotics as modulators of the gut flora. *Brit. J. Nutr*, 88, 39-49.

FOOKS L.J. and GIBSON G. R. (2002). Probiotics as modulators of .the gut flora. *Brit. J. Nutr.*, 88, suppl. I: 39-49.

FULLER L. (1984).The importance of lactobacilli in maintaining normal microflora balance. *Pou.Cien.*18:131-139.

FULLER L. (1989). Probiotics in man and animals. *J. Food, Agri. Enviro.*,7 (3): 96-102.

FULLER L. (2004). Probiotics: their development and use. *J. Poult. Sc.*, 8(10):102-106..

FURSE M. et OKUMURA J. (1994) Influence of a probiotic on microbial colonisation in the tractus intestinal. *Comp Biochem physiology*. 109A, 547-556.

G

GABRIEL I., MALLET S., LESSIRE M. (2003) La microflore digestive une composante oubliée dans la nutrition des volailles. Cinquième Journée de la Recherche Avicole.Tours.



- GABRIEL I., MALLET S., SIBELE P. (2005). La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal. INRA. Prod. Anim., 18 (5) : 309-322.
- GHADBA N G. S. (2002) Probiotics in broiler production. Rev. Arch. Geflügelk., 66 (2): 49 _ 58.
- GHAFOOR A., NASEEM S., YOUNUS M., and NAZIR J. (2005). Immunomodulatory Effects of Multistrain Probiotics (ProtexinTM) on Broiler Chicken Vaccinated Against Avian Influenza Virus (119). Poult. Sc., 4 (10): 777-780.
- GIBSON G. R., and FULLER R. (2000). Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. J. Nutr., 130: 391-395.
- GIBSON G. R., PROBERT M, H., LOO V, J., RASTAALI A, R., and ROBERFROID B, M. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutrition Research Reviews., 17: 259-275.
- GIL DE LOS SANTOS J. R., STONCHO B. G., TURNES C. (2005) Bacillus cerus var toyii and Saccharomyces boulardii increased feed efficiency in broilers infected with Salmonella enteritidis. Br. Poult Scienc, 46(4):494-497.
- GOURNIER-CHATEAU N., LARPENT J. P., CASTELLANOS M.I., LARPENT J. L. (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine. ED. TEC et DOC-Lavoisier. Paris.
- GOURNIER-CHATEAU N., LARPENT J.P., CASTELLANOS M.I. et LARPENT J.L. (1994) les probiotiques en alimentation animale et humaine. ED. TEC et DOC-Lavoisier. Paris. 192 pages.
- GUILLOT J. F. (2001): Consequences of Probiotics Release in the Intestine of Animals
- GUSILS C., CUOZZO S., SESMA F., and GONZALES S. (2002). Examination of adhesive determinants in three species of lactobacillus isolated from chicken. Can. J. Microbial. 48, 34-42.

H

- HAHIRAN H., MURPHY G.A., KEMPH. I. (2004). Campylobacter jejuni: Public health hazards and potential control methods in poultry. Vet. Med., 49(11): 441-446.
- HERICH R., LEVKUT. M. (2002). Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. Vet. Med., 47(6): 169-180.
- HERZIG I., GOPFERT E., PISARIKOVA B. et STRAKOVA E. (2003) Testing of growth promoting maintenance of oral tolerance in vitro. Clinical Diagnostic and Laboratory Immunology, 10, 787-792.

R

- HONGOBAO Ma. (2004). Concept and protocol to isolate cholesterol-reducing bacteria from



carnivores. *Nature and Science*, 2(4).

I

ISAULORI E., SFITAS Y., KANKAAPAA P., ARVILOMMI H., and SALMINNEN S. (2002). Probiotics: effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 73, No. 2, 444-450.

IVANKOVIE S, 'CRANK G., MILAKOVIE Z., BOGUT I., (1999). Effect of the probiotic vebac. *Acta. Agraria. Kaposvariensis.*, Vol 3. No 2: 353-360.

J

JIN L.Z., HO Y. W., ABDOLLAHI N. and JALALUDIN S. (1998)a Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diet containing lactobacillus cultures. *Poult. Sci.*, 77:1259-1265.

JIN L.Z., HO Y.W., ABULLAH N., ALI M.A. et JALALUDIN S. (1998)b *Anim. Feed Sci. Technol.*, 70: 197-209.

JOHRI T.S. (2004) Dietary additives for enhancing nutritional value of feeds. *FAO*.

K

KABIR S.M.L., RAHMAN M.M., RAHMAN M.B., M.M. RAHMAN and. AHMED S.U. (2004). The Dynamics of Probiotics on Growth Performance and Immune Response in Broilers. *Poult. Sc.*, 3 (5): 361-364.

KALAVATHY R., ABDULLAH N., JALALUDIN S., HO Y.W. (2003). Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 44(1):139-144.

KALAVATHY R., ABDULLAH N., JALALUDIN S., WONG M. C. V. L., HO Y.W. (2006). Effects of Lactobacillus feed supplementation on cholesterol, fat content and fatty acid composition of the liver, muscle and carcass of broiler chickens. *Anim. Res.* 55: 77-82.

KANASHIRO A.M.I., BOTTINO J.A., FERREIRA F., De CASTRO A.G.M., FERREIRA A.J. P. (2001). Influence of probiotic continuous administration to broilers on serum enzymes activities and serum cholesterol concentration. *Arq. Inst. Biol., Sao Paulo.*, 68(2):11-17.

KARAOGLU M., and DURDUG H. (2005). The Influence of Dietary Probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementation and Different Slaughter Age on the Performance, Slaughter and Carcass Properties of Broilers. *International Journal of Poult. Sc.*, 4 (5): 309-316.

KAUR I. P., CHOPRA K., et SAINI A. (2002) Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 1-9.

KLEANHAMMER T R. (2000). Probiotic Bacteria: Today and Tomorrow. *J. Nutr.*, 130: 415-416



KLEANHAMMER T., ALTERMAN E., ARIGONI, F., BOLOTIN A., BREIDT F., BROADBENT J., CANO R., CHAILLOU S., DEUTSHER J., GASSON M., VAN DE GUCHTE M., GUZZO J., HARTKE A., HAWKINS T., HOLS P., HUTHKINS R., KLEERBEZEM M., KOK J., KUIPERS O., LUBBERS M., MAGUIN E., MCKAY L., MILLS D., NAUTA A., OVERBEEK R., PEL H., PRIDMORE D., SAIER M., SWINDER D., SOROKIN A., STEELE J., O'SULLIVAN D., DE VOS W., WEIMER B., ZAGOREC M., et SIEZEN R. (2002). Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Antonie. Van. Leeuwenhoek.*, 82: 29-58.

KRALIK G., MILAKOVIC Z., IVANKOVITC S. (2004) Effect of probiotic supplementation on the performance and the composition of the intestinal microflora in broilers. *Acta. Agraria Kaposvariensis.*, 8(2):23-31.

KUCKURSAN K., TUNCER S., SANLL Y., and TAN H. (2002). The effectsof dietary supplementationin probiotic and virginomy on performance and carcass yield of broiler. *Med. Vet.* 153(11): 723-726.

KUNG L. JR. (2001) Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows. Department of Animal & Food Sciences. University of Delaware.

L

LAM E. K. Y., WOO P. C. Y., and CHO. C.H., 2005. Probiotics and Gastrointestinal Disorders. *Pharmacologyonline.*, 1: 88-147.

LAN. (2005) Bactocell lactic ferment for ferment roe poultry. *Pediococcus acidilactici* MA 18/5M. Document interne Lallemand Animal Nutrition (LAN). 29 pages.

LARBIER et LECLERCQ. (1994) Nutrition et alimentation des volailles. Edition. INRA. 349.

LEAHY S.C., HIGGINS D.G., FITZGERALD G.F., and VAN SINDEREN D. (2005) Getting better with bifidobacteria. *J. App. Microbiol.*, 98: 1303-1315.

LEE K.W., LEE S. K. and LEE B. D. (2006) *Aspergillus oryzae* as Probiotic in Poultry. *Poult. Sci.*, 5 (1).

LILLY D.M. and STILLWELL R.H. (1965) Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science*; 147:747-8.

LIM H.J., KIM S.Y., LEE W.K. (2004). Isolation of cholesterol-lowering lactic acid bacteria from human intestine for probiotic use. *J. Vet. Sci.*, 5(4): 391-39

LIMA E. T., and ANDREATTI-FILHO R. L. (2005). Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *J. Food, Agri. Enviro.*, 3 (2): 62-66.



LU J., IDRIS U., HARMON B., HOFACRE C., MAURER J. et LEE M.D. (2003) Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 6816-6824.



M

- MALINEN, E. (2002). Molecular methods for detection of probiotics and intestinal microbiota and evaluation of lactobacillus breve's as a potentiel probiotic dietary adjunct. University of Helsinki.
- MALLET S., ELIE A. M., LESSIRE M., BOUVAREL I., URDACI M. C. (2003). Influence des différentes compositions alimentaires sur la microflore intestinale du poulet de chair. Cinquiemes journées de la recherche avicole. Tours
- MARTEAU P. (2001) Safety aspects of probiotic products. Scand. J. Nutr., 45:8-12.
- MARTEAU P. et RAMB J.C. (1998) Probiotiques en gastroentérologie n° 4, vol. 5.
- MARTEAU P. et SEKSIK T.(2005). Basic aspects and pharmacology of probiotics International Jour Poul. Scie., 9(2): 703-707.
- MARTOJA R., et MARTOJA-PIERSON M. (1967) Initiation aux techniques e l'histologie animale 345.pages
- MATHLOUTI S. N., NAKAVE H. S., ARAFE D. (2002) Les probiotiques bactériens. Ali scope, Janvier –Fevrier. 68pages .
- MEAD G.C. (1989) Microbes of the avian cecum. Types present and substrates utilized. J. Exp. Zool., 3, Suppl, 48-54.
- MERCENIER A., GASKINS R., BERG R., CORETESY B., DELESPEESE G., GILL H., GRANGETTE C., and POWELS, P. H. (2002) a. Probiotics and the Immune System. Immunol Today., 18: 335-343.
- MERCENIER A., PAVAN S., and POT B. (2002) b. Probiotics as Biotherapeutic Agents: Present Knowledge and Future Prospects. Cun-. Pharm. Design., 8: 99-110.
- METCHNIKOFF E. (1907). The prolongation of life. Dans: Optimistic studies. Butterworth-Heinemann, London.
- MIKULEC Z., SERMAN V., MAS N., and LUKAC Z. 1(999). Effect of probiotic on production results of fattened chickens fed different quantities of protein. Veterinarski arhiv 69 (4), 199-209.
- MOHAN B., KADIRVEL R., NATARAJAN A., BHASKARAN M. (1996). Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. Br. Poult. Sci., 37(2):395-401.
- MORAN E. T. (2005). Accommodating the omission of antimicrobials from Intensive Animal Production. Poultry Science Department, Auburn University.
- MOREIRA J. L. S., MOTA R. M., HORTA M. F., TEIXEIRA S. MR., NEUMANN E., NICOLI J. R. and NUNES A. C. (2005) Identification to the species level of Lactobacillus isolated probiotic



prospecting studies of human, animal or food origin 16S-23S rRNA restriction profiling. BMC. Microbiol., 5:15.

MORENO J. E. G., De ESCOVARL. B., MARTINEZ M. G. R. (2002) Adicion de nos tipos de probiotico en el agua de bebida de pollos de engorde y su efecto en el comportamiento productivo, metabolico, anatomopathologico Immunologico. Expedici. On Cientifica y Cultural., v. 8.

MOUNTZOURIS K C., TSIRTIKOS P., KALAMARA E., NITCH S., SCHATZMARY G., and FEGEROS K.(2007) Evaluation of the efficacy of a probiotic containing Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, and Pediococcus strains in promoting broiler performances and modulating cecal microflora composition and metabolic activities.(2007) Poultry. Sciens.86:309-317.

MOUNTZOURIS K., BENEAS H., TSIRTSIKOS P., KALAMARA E., and FEGEROS K. (2006) Evaluation of the effect of a new probiotic product on broiler performance and cecal microflora composition and metabolic activities. International Poultry Scientific Forum.

MURRY A.C., A HINTONJR J. R and MORRISON H. (2004). Inhibition of growth of escherichia coli, salmonella typhimurium and clostridia on chicken fee media by lactobacillus salivarius and lactobacillus plantarum perfringens. International journal of poultry science., 3 (9): 603-607.

N

NETHEWOOD T., GILBERT H. J., PARKER D. S., and 0 DONNELL, A. G. 1999. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol., 65(11) : 5134-5138.

NOVERR M. C., et HUFFNAGLE1 G. B. (2004) Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? Trends in Microbiology, 12, 562-568.

NOWROOZIL J., MIRZAIL M., NOROUZI M. (2004). Study of Lactobacillus as Probiotic Bacteria. Iranian. J .Publ. Health., 33(2):1-7.

O

O'SULLIVAN G.C., KELLY P., O'HALLORAN S., COLLINS C., COLLINS J.K., DUNNE C., and SHANAHAN F. (2005). Probiotics: An Emerging Therapy. Curr. Pharm. Design., 11: 3-10.

OZSCAN M., ARSLAN M., MATUR E., COTELIOGLU U., AKYAZI I., ERASLAN, E. (2003). The effect of enterococcus faecium cernell 68 (SF68) on output properties and some heamatological parameters in broilers. Medycyna Vet., 59 (6): 496-5.

P



- PARKER R. (1974). Probiotics, the other half of antibiotic story. *Anim Nutr Health*
- PASCUAL M., HUGAS M., BADIOLA J. I., MONFORT J. M., and GARRIGA M. (1999). *Lactobacillus salivarius* CTC2197 Prevents *Salmonella enteritidis* Colonization in Chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(11) : 4981-4986.
- PEDROSO A. A., M ENTEN J. F. M., RACANICCI A.M .C., LONGO F. A., SORBARA J. O. B., GAITTO J.B. (2003) Performance and organ morphology of broilers fed microbial or Antimicrobial additives and raised in batteries or floors pens. *Rev. Bras. Cienc.*, Vol.05 (03).
- PELICANO E. R. L., DE SOUZAA P. A., DE SOUZAA H. B. A., LEONEL F.R., ZEOLA N.M. B. L., BOIAGO M. M. (2004) Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. *Rev. Bras. Cienc*, 6 (03): 177-182.
- PELICANO E. R. L., SOUZAA P. A., SOUZAA H. B. A. (2002) Prebioticos, probioticos na nutricao de aves. *Cienc agrarias e da Saude*, 2(01): 59-64
- PELICANO E. R. L., SOUZAA P. A., SOUZAA H. B. A., FIGUEIRIDO D. F.,BOIGO M. M., CARVALHO S. R., BORDON.(2005) Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Rev. Bras. Cienc.*, 7(04) : 221-229
- PELICANO E. R. L., SOUZAA P. A., SOUZAA H. B. A., OBA A., NORKUSC E. A., KODAWARAC et LIMA T. M. A. (2003) Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. *Rev. Bras. Cienc.*, 5(03) : 207-214
- PERCIVAL M. (1999) Choosing a Probiotic Supplement. *Clinical. Nutrition. Insights*. Vol. 6, No.1.
- PRIOULT G., FLISS I., et PECQUET S. (2003) Effect of probiotic bacteria on induction and maintenance of oral tolerance to α -lactoglobulin in gnotobiotic mice. *Clinical Diagnostic and Laboratory Immunology*, 10, 787-792.
- PSOMAS E. I., FLETOURIS D. J., LITOPOULOU-TZANTAKI E., and TZANTAKIS N. (2003). Assimilation of Cholesterol by Yeast Strains Isolated from Infant Feces and Feta Cheese. *J. Dairy. Sci.*, 86: 3416-3422.

R

- RAMIREZ REYES, B., ZAMBRANO SANTISTEBAN, O., RAMIREZ PEREZ, Y., RODRIGUEZ VALERA, Y. et MORALES MEDINA Y. (2005) Evaluacin del efecto probintico del *Lactobacillus* spp origen aviar en pollitas de inicio reemplazo de la ponedora comercial en los primeros 42 dias de edad .*Redvet* .Vol. VI, N°09.
- ROLFE R. D., 2000: The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *J. Nutr.*, 130: 396_402.
- ROSEN B. (1996) Développement de l'utilisation des probiotiques en alimentation animale. EPA (Europeen Probiotic Association)



ROWGHANI E., ARAB M.D., and AKBARIAN A. (2007) Effects of probiotics and other feed additives on performances and immune response of broiler chicks. *Poult. Scien*; 6(4): 261-265.

S

SAIS M., (2004) Essai d'évaluation de l'utilisation d'un additif microbien « Bactocell » comme facteur de croissance du poulet de chair Mémoire de fin d'étude INES, Blida, 78 pages

SAKATA T. et SETOYAM H. (1995) Local stimulatory effect of short chain acids on the mucus release from the hindgut mucosa of rats (*Rattus norvegicus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 111, 429-432

SALMINEN S. (1999) Probiotics: Scientific Support for Use. *Food Technology*, Vol. 53, N°. 11.

SALMINEN S., WRIGHT A., MORELLI L., MARTEAU P., BRASSART D; DEVOS W.M., FONDÉN R., SAXELIN M., COLLINS K., MOGENSEN G. and BIRKELAND S.E., MATTILA-SANDHOLM T. (1998) Demonstration of safety of probiotics -- a review, 44(1- 2): 93-106.

SAMLI H. E., SENKOYLU N., KOÇM-KAUTERS M., AGNA A. (2007). Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey broiler performance, gut histomorphology intestinal microbiota. *Arch. Ani. Nutr.* 61: 42-49

SANDERS M. E. (1999). Probiotics. *Food. Technol.* vol. 53, no. 11

SAREELA M., MOGENSEN G, FONDEN R. (2000) Probiotics bacteria safety , functional and technological proprieties .*J. Biotech.*; 84: 197-215

SCHREZENMEIR J. and DEVRESE M. (2001) Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73(2): 361-364.

SERVIN A, et COCONIER L. (2003) Inhibition of adhesion of enterovirus pathogen to intestinal by *Lactobacillus acidophilus* strain decrease bacterial invasion. *Microbiology*; 110; (299-300)

SIMON O. (2005) Micro-Organisms as Feed Additives _Probiotics. *Advances in Pork Production Volume 16*, pg. 161.

SIMON O., JADAMUS A., et VAHJEN W. (2001) *Anim. Feed Sci.*, 10: 51-67

SMIRNOV A., PEREZ R., AMIT-ROMACH E., SKLAN D., and UNI Z. (2005) Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoters supplementation. *J. Nut.* 135; 187-192

SMITH H.W. (1965) Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathol. Bacteriol.*, 89, 95-122.

SOOMRO A.H., MASUD T. and ANWAAR K. (2002) Role of lactic acid bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health. *Rev. Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1) : 20-24.



SOUILEM O. et GOGNY M. (1994) Particularité de la physiologie digestive des volailles. *Med. Vet.*, 145(7):525- 537.

STROMPFOV A V., LAUKOVA A., M UDRONOVA D. (2003) Effect of Bacteriocin-Like Substance Produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the composition of Avian Gastrointestinal Microflora. *Acta. Vet. Brno.*, 72: 559-564.

SUVARNA B et BOBY T. (2005) probiotics changed in gastro intestinal tract. *Poult. Science.* 75(2):74-80.

SWICKI A.K., BEILCEKA M., WJCIK R., BIEDRZYCKA, E., SMORAGEWICZ W., ORLOWSKI A., MALACZEWSKA J., KASK S. (2005). Effect of selected probiotics on non-specific cellular and humoral defense mechanisms and protection against salmonellosis - experimental study in broiler chicken. Roadshow 3. Guthealth. Support.

T

TANAKA K et ISHIKAWA H (2004) Role of intestinal bacterial flora in oral induction. *Histology and Histopathology*, 19,907-914.

TEO A Y., et TAN H. M. (2007) evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broiler fed on corn-soy deits supplemented with *Bacillus subillis* PB6 (cloSTAT)

TOUTAIN T., et MILOU H. (2005). *Physiologie de digestion*, Ecole Nationale d'Alfort, Unité Pédagogiques De physiologie et Thérapeutiques.69 pages.

V

VAN BELKUM M. J., and STILES M E. (2000) Nonlantibiotic antibacterial peptides from lactic acid bacteria. *Nat Prod. Rep.*, 17, 323-335.

VAN EYE et DEN HARTOG. (2003). *Nutrition et alimentation : Métabolismes des lipides* Université de Canada 70 pages.

VITTORIO S. A., MAURO F., CARLA B., GIOVANNA D. D., GIOVANNI S. et CHEVAUX E. (2005) Effets de l'addition de *pediococcus acidilactici* dans la ration de poulets de chair sur les performances zootechniques et la microflore intestinale. Sixième journée de la recherche avicole. S.Malo.

W

WEURDING L. (2002) Role of intestinal bacterial flora in oral tolerance induction. *Histology and Histopathology*, 19, 907-914.



Y

YEO J., and KIM K.I (1997)) Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult. Sci., 76: 381-385.

W

WEIURDING L. (2002).

Z

ZACCONI C. SVOLARI FRAIOLI G. D., SARRA P.G. (1999) a. Colonization of chicken intestinal tract by lactobacillus salivarius A23 strain. Annali di Microbiologia Ed Enzimologia. 49: 103-115.

ZACCONI C., SVOLARI FRAIOLI G. D., SARRA, P. G. (1999)b. Effect of administration of Lactobacillus salivarius and lactic microflora in chick digestive tract. Annali di Microbiologia ed Enzimologia. 49: 117-123.

ZHANG A W., LEE B D., LEE S K., LEE K W., AM G H., SONG K B., and LEE C H. (2005) Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performances, meat quality and ileal mucosal development of broiler chicks. Poult. Science, 84: 1015-1021

SOURCES INTERNET

Source Internet n° 1: <http://species.wikimedia.org/wiki/Lactobacillaceae>

(Consulté le 18/06/2008 à 19:30)

Source Internet n° 2: <http://www.anathenature.com>

(Consulté le 25/05/2008 à 22:00)

Source Internet n° 3 : www.inapg.inra.fr/dsa/afz/pdf/afz_contact_16.pdf

(Consulté le 09/10/2007 à 04:05)

Fiche technique de la bactérie probiotique *Pediococcus acidilactici* utilisée dans l'essai

Fiche de spécification



BACTOCELL®

LE RENFORCEMENT DE L'ECOSYSTEME
DES VOLAILLES €

BACTOCELL® est un concentré de ferment lactique développé spécifiquement pour la nutrition et la santé des monogastriques.

La souche de ferment lactique (*Pediococcus acidilactici* MA18/5M) a été sélectionnée pour ses propriétés spécifiques:

- Production d'acide lactique L+,
- Régulation des écosystèmes microbiens (flore intestinale, aliment liquide, déjections),
- Robustesse et stabilité.

GARANTIES

SOUCHE DE BACTERIE LACTIQUE :

- Espèce *Pediococcus acidilactici* enregistrée à la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM, Institut Pasteur, Paris) sous le numéro MA 18/5 M. (N° Union Européenne : 9)

	BACTOCELL	BACTOCELL ME
CONCENTRATION MA 18/5M (ufc*/g)	1.0×10^{10}	1.0×10^{10}
CONSERVATION**	12 mois	12 mois

* unité formant colonie. ** conservé en emballage fermé, stocké dans un endroit frais et sec.

DOSES D'UTILISATION (dans l'aliment)

VOLAILLE	BACTOCELL		BACTOCELL ME	
	g/tonne	ufc*/kg	g/tonne	ufc*/kg
• POULET (démarrage/croissance/finition)€	de 100 g à 500 g	$1-5 \times 10^9$	de 100 g à 500 g	$1-5 \times 10^9$
• PONDEUSE***	100 g	1×10^9	100 g	1×10^9
• DINDE***	100 g	1×10^9	100 g	1×10^9
• AUTRES VOLAILLES***	100 g	1×10^9	100 g	1×10^9

***Autorisé dans de nombreux pays (USA...) mais pas sous la législation additif européen

MÉTHODES D'ANALYSE

Comptage de cellules vivantes par dilution décimale dans milieu M.R.S. agar incubées à 37°C.

Normes NF V 08-010 et NF V 08-100. Identification génétique : électrophorèse en champ pulsé.

SÉCURITE D'EMPLOI

De part ses composants, BACTOCELL® est sans toxicité. Il ne laisse aucun résidu et ne nécessite aucune période de retrait.

PRÉSENTATION

Pour le Bactocell et Bactocell ME: Caisse outre de 20 kg avec sachet aluminisé. Bactocell est aussi disponible en carton de 5kg contenant 10 boîtes PE de 500 g.

€ Autorisation Européenne pour l'aliment des poulets.



www.lallemand.com
animal@lallemand.com

LALLEMAND ANIMAL NUTRITION
19, rue des Briquetiers - BP 59
31702 Blagnac Cedex - FRANCE
Tel.: +(33) 5-62-74-55-55
Fax: +(33) 5-62-74-55-00

BCTSLFR0604
CP BCT - 426740
CP BCT ME - 426741

Animal Nutrition

Fiche technique du Kit de dosage des triglycérides plasmatiques utilisé dans l'essai

SPINREACT

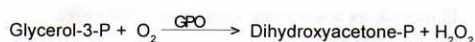
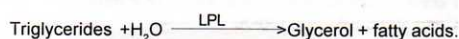
triglycerides

GPO - PAP

Enzymatic-colorimetric test (GPO-PAP).
Store at 2-8°C. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE

The triglycerides are enzymatically hidrolized to glycerol and free fatty acids. The glycerol liberated reacts with Glycerol Kinase and Glycerol-3-Phosphate Oxidase yielding H_2O_2 . The H_2O_2 concentration is determined throught the Trinder's reaction.



REAGENTS

Reagent 1	GOOD Buffer pH 7.5	50 mmol/L
	p-chlorophenol	2 mmol/L
Reagent 2	Lipoproteinlipase	150000 U/L
	Glycerol Kinase	500 U/L
	Glycerol-P-oxidase	2500 U/L
	Peroxidase	440 U/L
	4-Aminophenazone	0.1 mmol/L
	ATP	0.1 mmol/L
Standard	Triglycerides	200 mg/dL

PREPARATION AND STABILITY

Ref: 1001310 Dissolve one vial of R.2 with 10 mL of the Buffer R.1.

Ref: 1001311, 1001312, 1001313 and 1001314. Dissolve the contents of one bottle R.2 to the contents of one bottle Buffer reagent R.1.

This working reagent is stable 6 weeks at 2-8°C or 1 week at room temperature.

SAMPLE

Serum, heparin and EDTA-plasma

The Triglycerides in serum are stable 3 days at 2-8°C.

PROCEDURE

	Blank	Standard	Sample
Standard	--	10 µL	--
Sample	--	--	10 µL
Working reagent	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

Mix, incubate 5 min at 37°C or 10 min at room temperature.
Measure the extinction at 505 nm (490-550) against Blank.
The colour is stable for 30 min.

Calculation

$$\frac{E. \text{ sample}}{E. \text{ standard}} \times \text{standard conc} = \text{sample conc}$$

$$\text{mg/dL} \times 0.0113 = \text{mmol/L}$$
$$\text{Standard conc.} = 200 \text{ mg/dL}$$

Linearity

This method is linear up to 1000 mg/dL (11.3 mmol/L)
If the triglycerides concentration is greater than 1000 mg/dL dilute the sample 1:2 with saline solution and repeat the determination and multiply the result by 2.

REFERENCE VALUES

Suspected above :	150 mg/dL	(1.7 mmol/L)
Increased above :	200 mg/dL	(2.26 mmol/L)

Bibliography

Young, D. Pestaner, L. Clin. Chem. 21, 5 (1975)
Printer, J. Hayashi, J. Arch. Biochem Biophy 121, 404 (1966)

QUALITY CONTROL

SPINTROL. Normal and pathological.

PRESENTATION

Ref: 1001310	5 x 10 mL
Ref: 1001311	10 x 20 mL
Ref: 1001312	10 x 50 mL
Ref: 1001313	4 x 125 mL
Ref: 1001314	4 x 250 mL

BSDTT31



SPINREACT,S.A. Ctra. Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (Gi) España Tel. +34 972.690800 Fax. +34 972.690099

Ed. 2002

Annexe 3

Fiche technique du Kit de dosage du cholestérol plasmatique utilisé dans l'essai

SPINREACT

CE

CHOLESTEROL

Cholesterol

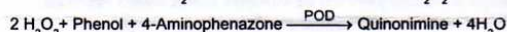
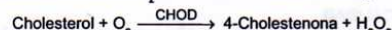
CHOD-POD. Enzymatic colorimetric

Quantitative determination of cholesterol IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The cholesterol present in the sample originates a coloured complex, according to the following reaction:



The intensity of the color formed is proportional to the cholesterol concentration in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Cholesterol is a fat-like substance that is found in all body cells. The liver makes all of the cholesterol the body needs to form cell membranes and to make certain hormones.

The determination of serum cholesterol is one of the important tools in the diagnosis and classification of lipemia. High blood cholesterol is one of the major risk factors for heart disease^{3,8}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Phenol	26 mmol/L
R 2 Enzymes	Cholesterol esterase (CHE)	300 U/L
	Cholesterol oxidase (CHOD)	300 U/L
	Peroxidase (POD)	1250 U/L
	4 - Aminophenazone (4-AP)	0.4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL		Cholesterol aqueous primary standard 200 mg/dL

PREPARATION

Working reagent (WR): Dissolve (→) the contents of one vial R 2 Enzymes in one bottle of R 1 Buffer.

Cap and mix gently to dissolve contents.

(WR) is stable: 4 months at 2-8°C or 40 days at 15-25°C.

Avoid direct sunlight.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

CHOLESTEROL CAL Once open is stable up to 1 month when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0.1.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm (500-550).
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma^{1,2}: Stability of the sample for 7 days at 2-8°C or freezing at -20°C will keep samples stable for a few months.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 505 nm (500-550)
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard ^(Note 1-2) (μL)	--	10	--
Sample (μL)	--	--	10

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C or 10 min. at room temperature.
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 60 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 200 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dL cholesterol in the sample}$$

Conversion factor: mg/dL x 0.0258 = mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Risk evaluation^{5,6}:

Less than 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Borderline
240 mg/dL and above	High

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,6 mg/dL to linearity limit of 600 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	90.1	305	90.4	301
SD	0.64	3.30	1.12	2.30
CV (%)	0.71	1.08	1.24	0.76

Sensitivity: 1 mg/dL = 0.002 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.995.

Regression equation: y = 1.004x - 0.931

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemoglobin up to 5 g/L and bilirubin up to 10 mg/dL, do not interfere^{1,2}.

A list of drugs and other interfering substances with cholesterol determination has been reported by Young et al.^{3,4}.

NOTES

- Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
- Meatiini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001090	10 x 50 mL
Ref: 1001091	10 x 20 mL
Ref: 1001092	4 x 125 mL
Ref: 1001093	4 x 250 mL

BSDT11 Ed.2003



SPINREACT S.A. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99. e-mail: spinreact@spinreact.com

Annexe 2

Schéma expérimental du bâtiment

Schéma expérimental (Bt Testage).

