REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

*Effet des enzymes exogènes sur l'utilisation
digestives du poulet de chair.*

Présenté par : MENADI SALAH EDDINE
NOUASRI HICHAM
SOLTANI DJAMEL EDDINE

Le jury :

-.	Président :	Melle AIN BAZIZ H.	Professeur (ENSV-Alger)
-.	Promotrice :	Mme TEMIM S.	Professeur (ENSV-Alger)
-.	Examinatrice :	Mme BERRAMA Z.	Maitre assistante A (ENSV-Alger)
-.	Examinatrice :	Mme BENALI N.	Maitre assistante A (ENSV-Alger)

Année universitaire : 2012/2013

REMERCIEMENTS :

Au seuil de ce mémoire de fin d'études, qu'il nous soit permis d'adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce mémoire, particulièrement :

*A notre promotrice **Pr. TEMIM.S**, nous lui exprimons nos vifs remerciements pour toutes les informations qu'elle nous a données, ses efforts, sa disponibilité, ses précieux conseils, ses qualités humaines et surtout sa gentillesse.*

*A **Pr. AIN BAZIZ.H**, professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, de nous faire l'honneur de présider le jury.*

*A **Dr. BERRAMA.Z**, maître assistante A à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger ; d'avoir bien voulu examiner ce mémoire.*

*A **Dr. BENALI. N**, maître assistante B à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger ; d'avoir bien voulu examiner ce mémoire.*

*A tous les personnels de la bibliothèque et de la salle d'informatique
A tous ceux qui nous ont enseigné pendant toute notre vie.*

Dédicace

Disposant d'une seule page, il m'est très difficile de dédier ce modeste travail tant sont nombreux, les proches, amis ou famille, qui mériteraient d'être cités.

Cependant, je tiens à commencer par les êtres qui me sont le plus chères dans ma vie, ma mère qui mériterait « si cela pouvait suffire » la vie éternelle.

Un être aussi cher pour moi, mon père c'est la personne en qui je n'arrête pas de m'identifier mais dont la bonté et l'affection me sont impossibles à égaler

Que dieu me les préserve « inshallah »

A mes très chers frères et sœurs: mohamed et ossama

A toute la famille : menadi, surtout mes tantes maternelles et ma grande-mère « NANA »

A mon copain de chambre : Abouda

à mon trinôme « Hichem et Djamel »

Et tous mes amis Ali, Adel, Walid, Aisa, Sifo, Ahmed, Mostefa, Bouzid, hamza, souri, madi, Youcef, Mohamed, Sofiane, moad, Ismaël, Ibrahim, said, mouloud, bilel, zitou et Atri.

Salah eddine

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A la prunelle de mes yeux, celle qui ma soutenu et qui a pleurée jour et nuit
pour me voir toujours au sommet et comme une étoile filante.*

A toi ma chère mère

*A la personne qui a sacrifié sa vie pour moi, et qui a pris le défi pour mes études,
Et m'a éclairé le chemin de ma réussite.*

A toi mon cher père

A vous mes chers parents, le déluge d'amour interminable et les sacrifices symboliques

A mes frères : Hakim, Latif, Bilel et Mehdi qui sont toujours à mes côtés ces long journées

A mon trinôme ; Salah et Djamel.

A mes amis d'enfances et de jeunesse : Samir, Safir, Hamza, Djamel

A mes amis étudiants : sifou, adel, aissa, ouahabe, ali, tarek, ismail, abouda, walid, zitou, bilel

A tous les amis de Bouraoui Amar et l'ENV.

Hihem

DEDICACES

*Au nom de dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la
grâce duquel j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :*

*A ceux auxquels je dois ma réussite. Aux personnes les plus chères
dans ce monde, à mes parents, pour leur amour, leur dévouement
et leur soutien tout au long de ces longues années d'étude. Qu'ils
trouvent ici l'expression de ma gratitude, je ne les ai jamais assez
remerciés.*

*A ma sœur et mes frères surtout Sifou qui est
toujours à coté de moi et qui m'a chaleureusement aidé.*

A mon oncle Saïd,

A, mes trinômes Hicham et Salah,

A, tous mes amis de Bouraoui (LES BOURAOUISTES)

A tous mes amis et copains d'études,

A tous ceux que j'aime.

Djamel Eddine.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Enzymes sécrétés dans le tractus digestif du poulet.

Tableau 2. Enzymes utilisées en rations de volaille aujourd'hui.

Tableau 3. Comparaison des principaux nutriments dans les matières premières du poulet de chair.

Tableau 4. . Effet d'une supplémentation en enzymes NSP multi-activités sur les performances du poulet de chair avec différents types d'aliments.

Tableau 5. Résultats obtenus par différents auteurs sur la supplémentation de polysaccharidases dans l'aliment chez la volaille.

Tableau 6. Effet des quelques enzymes supplémentées sur les de poulet de chair.

Tableau 7. Caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.

Tableau 8. Paramètres zootechniques cumulés (J1-J56) des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Tableau 9. Paramètres morphométriques de l'intestin, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Tableau 10. Hauteur des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Tableau 11. Largeur des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Tableau 12. Volume des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Le Mode d'action du phytase sur le phytate.

Figure 2. Image microscopique de la membrane cellulaire (endosperme et l'aleurone) avant (a) et après (b) traitement avec xylanase, beta-glucanase.

Figure 3. Effet combiné des complexes multi-enzymes sur la viscosité in vitro des matières primaires.

Figure 4. Effets combinés des phytases et NSP.

Figure 5. Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai.

Figure 6. Mesures des dimensions de la villosité intestinale.

Figure 7. Représentation graphique des paramètres zootechniques cumulés (J1-J56) des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Figure 8. Représentation graphique des poids de l'intestin prélevés à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Figure 9. Représentation graphique des longueurs de l'intestin prélevés à l'âge 56j chez les poulets témoins ou supplémentés on complexe enzymatique.

Figure 10. Représentation graphique des hauteurs des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Figure 11. Représentation graphique des largeurs des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Figure 12. Représentation graphique des volumes des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique.

Liste des abréviations :

AGV : acide gras volatile.

DSV : Direction des services vétérinaires.

E : enzyme.

EMA : énergie métabolisable apparente.

ITELV : Institut technique des élevages de Baba Ali (Alger).

J : jour.

Kcal : kilocalorie.

MS : matière sèche.

NS : non significative.

NSP : non starch polysaccharide.

P : niveau de signification.

pH : potentiel hydrogène.

PNA : polysaccharide non amylacé.

ppm : partie par million.

PV : poids vif.

SE : standard d'erreur.

SD : déviation standard.

T : témoin.

TP : Taux protéique.

°C : degré Celsius.

SOMMAIRE

Introduction	1
Etude Bibliographique	
I. Les enzymes	
I.1. Définition.....	3
I.2. Classification et nomenclature des enzymes.....	3
I.3. Enzymes endogènes du poulet.....	3
I.4. Utilisation des enzymes dans les aliments des volailles.....	4
I.5. Données générales sur les enzymes utilisées dans l'aliment du poulet.....	6
I. 6. Définition et mode d'action des principales enzymes exogènes.....	7
I.6.1. L'alpha – amylase.....	7
I.6.2. La bêta-galactosidase.....	7
I.6.3. La phytase	7
I.6.4. Les enzymes NSP	7
I.7. Effets des enzymes exogènes sur l'utilisation digestive chez le poulet de chair	11
I .7.1. Effet sur l'histomorphométrie du tractus intestinal.....	11
I.7.2. Effet des enzymes exogènes sur La population bactérienne intestinal.....	12
I.7.3. Amélioration de la valeur nutritive de l'aliment par les additifs enzymatiques.....	12

PARTIE EXPERIMENTALE

A. MATERIEL ET METHODES

I. Lieu, durée et période de l'essai.....	16
II. Animaux et condition d'élevage.....	16
III. Traitements expérimentaux	17
IV. Etude de la morphométrie intestinale.....	17
IV.1. Prélèvements.....	17
IV.1.1. Prélèvement des tissus à étudier.....	18
IV.1.2. Préfixation et fixation des tissus.....	18
IV.1.3. Phase de déshydratation et éclaircissement.....	18
IV.1.4. Inclusion et réalisation des coupes.....	18
IV.1.5. Fixation du tissu sur la lame et coloration.....	18
IV.1.6. Mesure des dimensions des villosités.....	19
V. Analyse statistique.....	19

B. RESULTAT

I. Caractéristiques des animaux.....	20
II. Morphométrie de l'intestin	22
III. Dimension des villosités intestinales.....	23

C. DISCUSSION

D. CONCLUSION

Introduction
Générale

Depuis quelques années, l'utilisation des enzymes exogènes en alimentation des volailles est devenue courante pour améliorer la valeur nutritionnelle des aliments et la flore digestive des animaux. Les enzymes, même à petites doses, peuvent en effet initier ou activer les réactions chimiques de transformation des substrats alimentaires en nutriments utiles pour la croissance et la production (Bedford 2000).

En Algérie, les matières premières telles que le maïs et le soja constituent les ingrédients de base de l'alimentation des poulets. Sur ce type d'aliments, les données disponibles sur l'impact des additifs enzymatiques sur la croissance et le fonctionnement du tractus digestif semblent limitées et controversées (Cowieson, 2005).

En effet, à l'exception des phytases, la plupart des enzymes exogènes commercialisées visent à hydrolyser les polysaccharides non amylacés (PNA) présents dans les céréales visqueuses comme le blé, le seigle ou l'orge. De par sa faible teneur en ces PNA, le maïs est généralement considéré comme une céréale ayant une valeur nutritionnelle supérieure à celle des céréales visqueuses.

Néanmoins, des études ont révélé que la qualité du maïs pouvait être presque aussi variable que celle du blé et de l'orge (Leeson et al, 1993). Cette variabilité semble être principalement liée à une digestion incomplète de l'amidon. Noy et Sklan (1995) ont également signalé que différents composés du maïs ne sont pas digérés dans l'intestin grêle et que des quantités non négligeables d'amidon et de protéines échappent à la digestion. En outre, certains facteurs antinutritionnels présents dans le soja (inhibiteurs trypsiques, lectines, ...) sont aussi susceptibles d'influencer négativement la valeur de l'aliment.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de tester l'emploi d'un complexe enzymatique contenant les activités xylanase, -galactosidase, -glucanase, protease, pectinase et amylase, sur l'histomorphométrie intestinale du poulet de chair nourri avec un régime à base de maïs et tourteau de soja.

Le présent mémoire s'articulera autour de deux parties :

- **La première partie** est consacrée à une étude bibliographique, dans laquelle seront abordés les propriétés générales des principales enzymes exogènes et leurs utilisations en alimentation des volailles.

- **La seconde partie** présente notre étude expérimentale, dans laquelle, nous avons examiné l'impact d'un complexe enzymatique sur l'utilisation digestive de l'aliment. Ce travail fait suite à l'essai réalisé dans le cadre du magister de Dr Doumandji Wafa qui elle a étudié l'effet de ces additifs sur les performances zootechniques et la flore digestive du poulet.

Etude
bibliographique

I. Les enzymes

I.1. Définition

Les enzymes sont des substances organiques solubles qui catalysent une réaction biochimique. Ils accélèrent les réactions chimiques d'un facteur de l'ordre du million et sont très spécifiques à un substrat donné (Bedford et Morgan, 1996).

I. 2. Classification et nomenclature des enzymes

Le nom des premiers enzymes rappelait l'organe où elles avaient été découvertes (ex : pepsine, de pepsis "digestion"). Puis, comme un organe recèle plusieurs enzymes et qu'une enzyme se trouve dans plusieurs organes, leur nom a été formé à partir du substrat de la réaction catalysée, suivi de « ase », comme diastase (ex : peptidase). Puis, comme un substrat est commun à plusieurs enzymes, leur nom a alors été formé sur celui du substrat et du type de réaction catalysée, suivi de « ase » (ex : lactate déshydrogénase) (Moussard, 2004). La Commission d'enzymes de l'union internationale de la biochimie et de la biologie moléculaire a classifié des enzymes dans six classes principales : oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérases et ligases, tenant compte de leur spécificité d'action et de leur spécificité de substrat(s) donc à chaque enzyme est attribué un nom systématique qui identifie substrat(s) et réaction catalysée.

Des enzymes utilisées dans la transformation des produits alimentaires sont souvent mentionnées par leurs noms communs ou traditionnels (tels que la protéase, l'amylase, le malt, ou la présure). Pour des enzymes dérivées des micro-organismes, le nom du micro-organisme de source est habituellement indiqué, par exemple, "amylase de *Bacillus subtilis*".

I.3. Les enzymes endogènes du poulet

Les poulets ont un transit digestif très court et une vitesse de croissance élevée. Ils sont de ce fait très sensibles à la composition et aux caractéristiques nutritionnelles de leur aliment. Les matières premières dans le tube digestif subissent diverses actions mécaniques, chimiques et enzymatiques pour donner des composés simples facilement assimilables. La digestion enzymatique est très importante du fait de la diversité des

enzymes endogènes sécrétés par différentes régions du tractus digestif d'où la diversité d'actions enzymatiques sur les différents constituants de l'aliment (lipides, glucides, protéines) et la multitude des produits finaux. D'après le tableau 1, regroupant les enzymes sécrétés dans le tractus digestif du poulet, il ressort que le système enzymatique endogène ne possède pas d'enzymes capables d'hydrolyser les liaisons de certains polymères, d'où le recours aux enzymes exogènes.

Tableau 1. Enzymes sécrétés dans le tractus digestif du poulet (Alloui, 2005).

Régions	Sécrétion	Enzymes	Action des enzymes ou fonction	Produits finaux de la digestion
Cavité buccale	Salive (glandes salivaires)	Amylase -Maltose	Amidon, dextrines Maltose La salive lubrifie les aliments	Maltose et dextrines – Glucose
Jabot	Mucus		Lubrifie et amollie les aliments	
Proventricule	Suc gastrique HCl Mucus	Pepsine	Protéines	Protéases Polypeptides Peptides
Gésier			Broyage des aliments	Aliments réduits en petites particules
Duodénum	Suc pancréatique (pancréas)	Trypsine Chymotrypsine Amylase Lipase Carboxypeptidase	Protéines, peptones protéases + Peptides-Amidon+ dextrines Lipides Peptides	Peptones Acides aminés Maltose +dextrine Acides gras+glycérol.
Intestin grêle	La bile (foie) Suc intestinal	Aminopeptidases Maltase Invertase	Lipides Peptides Maltose Saccharose	Acides gras volatils. Emulsion des lipides (savon-gycérol) Acides aminés et dipeptides. Glucose.
Gros intestin (caecum, colon)		Enzymes à partir des micro-organismes	Composés fibreux Amidon Sucres	Acides gras volatils. Protéines microbiennes Vitamine B

I.4. Utilisation des enzymes dans les aliments des volailles

Certains enzymes absentes du tube digestif du poulet, particulièrement celles qui dégradent le complexe des fibres (cellulases, pectinases, hémicellulases, bêtaglucanases, xylanases) peuvent être ajoutées aux régimes sous forme de

préparation enzymatiques (Alloui, 2005). Ces enzymes sont produites industriellement à partir de champignons ou de bactéries (Grajek et al, 2005). Incorporées dans les aliments secs en farines ou en granulés, elles n'ont pas d'action sur les matières de l'aliment avant son ingestion. Elles agissent donc dans le tube digestif ou leur action s'ajoute à celle des enzymes sécrétées par l'animal lui-même (Ferket, 2002).

Une condition indispensable de leur efficacité est leur persistance dans les aliments auxquels elles sont incorporées et ultérieurement dans le tube digestif. Cette composante de leur efficacité doit être validée avec un maximum de rigueur, étant donné que ces substances sont inactivées par la chaleur et par des pH extrêmes et peuvent aussi à priori être dégradées par les enzymes protéolytiques du tube digestif. (Chafai, 2006).

La raison essentielle de l'utilisation des enzymes en alimentation animale est d'accroître la valeur alimentaire des aliments en augmentant l'efficacité de la digestion (vitesse et/ou ampleur) dans le tube digestif des animaux. En effet, l'efficacité de la digestion affecte grandement les coûts d'alimentation des animaux et réduit les rejets dans l'environnement (Geraert, 1997).

De façon globale, l'usage des enzymes exogènes dans les aliments des animaux est recommandé dans les situations suivantes (Becker et Piron, 2009).

- pour détruire les facteurs antinutritionnels présents dans beaucoup d'aliments et qui ont des effets délétères sur le processus de la digestion et la santé des animaux.
- pour augmenter l'accessibilité des nutriments par les enzymes produites par l'animal. Dans les tissus végétaux, bien des nutriments sont emprisonnés dans des matrices fibreuses non digestibles par les enzymes sécrétées par l'animal ou forment des entités chimiques non digestibles par ces enzymes (Ex : le phosphore phytique).
- pour pallier chez l'animal l'absence d'enzymes capables d'hydrolyser des liaisons chimiques particulières (Ex : les liaisons du type) de manière à fournir davantage de nutriments à l'animal.
- pour aider les jeunes animaux à digérer les aliments ingérés car leur système digestif peut se révéler immature pour produire les enzymes en quantité suffisante pour une digestion efficace.

I.5. Données générales sur les enzymes utilisées dans l'aliment du poulet

Généralement, les enzymes ajoutées aux aliments des volailles doivent être assimilées à une extension du système enzymatique de leur tube digestif. Choies de manière pertinente, elles permettent d'inhiber les facteurs antinutritionnels présents dans les aliments et d'améliorer la disponibilité des nutriments pour l'animal. Ces avantages offrent la possibilité d'employer davantage les aliments induisant classiquement des chutes de performances.

En alimentation animale, l'usage des enzymes est récent et date tout au plus de 20 ans (Beckers et Piron, 2009). Les enzymes étant très spécifiques de leurs substrats, on dénombre en alimentation animale quatre grands groupes d'enzymes hydrolysant, respectivement, les fibres, les protéines, les amidons et les phosphates d'origine végétale (Tableau 2).

Au sein même d'un groupe, les enzymes se distinguent en fonction de leur mode d'action et des conditions de pH et de température propices à leur activité (Beckers et Piron, 2009).

Tableau 2. Enzymes utilisées en rations de volaille aujourd'hui. (Thorpe et Beal, 2001).

Enzymes	Substrats	Aliment de cible	Avantages prévus
- Glucanase	- Glucan	Orge, avoine et régimes basés par seigle	Réduction de la viscosité, amélioration d'utilisations alimentation
Amylase	Amidon	Céréale riche en amidon	Augmentation la disponibilité des céréales
Xylanase	Arabinoxylanes	Seigle, orge et blé	Amélioration de l'utilisation alimentaire
- Galactosidase	Oligosaccharides	Soja et d'autres légumineuses	Amélioration la disponibilité d'énergie
Phytase	Phytates	Beaucoup type des régimes	Réduit le besoin de phosphore inorganique
Protéase	Protéine et ANFs	sous-produits de blé, protéines légumineuse	Augmentation de la digestibilité des protéines, diminution l'excrétion de l'azote
Lipase	Lipide	Lipide animal et végétale	Amélioré la digestibilité des graisses et la conservation en énergies par conséquence.

I. 6. Définition et mode d'action des principales enzymes exogènes

I.6.1. L'*alpha* - amylase

L'*alpha*-amylase est une enzyme digestive classée comme saccharidase sécrétée essentiellement par le pancréas et les glandes salivaires dont le rôle essentiel est d'hydrolyser l'amidon alimentaire en dextrose, maltose et glucose. L'*alpha*-amylase brise les liens *alpha* (1-4) glycosuriques à l'intérieur des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine pour donner des molécules de maltose (disaccharides de - glucose).

I.6.2. La *béta*-galactosidase :

Est une hydrolase capable d'hydrolyser une liaison osidique faisant intervenir un galactose en position . Elle est composée de 4 sous unités semblables deux à deux.

I.6.3. La phytase :

Les phytases, aussi appelées Myo-inositol-hexa-phosphate hydrolases, sont des enzymes spécifiques de type phosphatase à haut poids moléculaire capables d'hydrolyser les phytates (Figure1) (Angel, 2002 ; Parra, 2001). Ces enzymes existent chez les plantes, les micro-organismes (bactéries et champignons) et certains tissus animaux. Cependant, les champignons du genre *Aspergillus* sont ceux qui produisent le plus de phytases (Rudy, 1996).

Il existe deux types de phytases, la 3-phytase et la 6-phytase qui diffèrent selon le site d'initiation de la déphosphorylation de l'acide phytique (Parra, 2001). La 3-phytase débute la déphosphorylation de l'acide phytique sur la position 3 produisant du 1, 2,4, 5,6 pentakisphosphate et du P inorganique. En revanche, la 6-phytase commence l'hydrolyse sur la position 6 produisant du 1,2,3,4,5-pentakisphosphate et du P inorganique (Angel, 2002). Ces Phytases fongiques hydrolysent l'acide phytique qui est la forme principale du phosphore dans les grains. Le phosphore phytique est très peu assimilable par les monogastriques du fait de la quasi absence de phytases bactériennes dans le contenu digestif. L'intérêt de l'utilisation des phytases est principalement écologique. Il permet, en augmentant l'utilisation du phosphore des céréales, de diminuer l'incorporation de phosphate minéral dans les aliments et ainsi de réduire les rejets de phosphore dans les lisiers et les fientes (Doyle, 2001).

Figure 1. Mode d'action du phytase sur le phytate.

I.6.4. Les enzymes NSP :

Les enzymes NSP ("Non Starch Polysaccharides" pour Polysaccharides Non Amylacés ou PNA) sont utilisées depuis plusieurs années pour améliorer la valeur nutritionnelle des aliments chez les volailles. Elles permettent de diminuer les effets négatifs des PNA présents dans la plupart-des matières premières, au niveau de leur membrane cellulaire (Tableau 3). Ces PNA, comprenant la cellulose, hémicellulose, les pectines et les oligosaccharides, correspondent à des monomères liés par des liaisons bêta qui ne sont pas digérés par les enzymes endogènes du poulet (Uzu et Sassi, 2005). La nature et la complexité de ces polysaccharides varient selon les variétés végétales considérées (Uzu et Sassi, 2005). Plusieurs types d'enzymes dégradent les PNA, les principales étant la xylanase et la bêta- glucanase.

Tableau 3. Comparaison des principaux nutriments dans les matières premières du poulet de chair (d'après Uzu et Sassi, 2005).

Nutriment (%MS)	Blé	Maïs	Tourteaux de Soja	Orge	Seigle	Enzymes digestives
Amidon	65-68	68-72	2,5-3,0	54-65	60-63	Amylase
Protéines	11-16	8,5-11,5	45-52	11-12	10,5-14,0	Protéase
Lipides	1,5-2,0	3-4	1,0-1,5	1,5-2,0	1,5-2,0	Lipase
NSP	9-11	7-9	20-22	12-16	10-11	Aucune

L'incorporation d'enzymes NSP dans les aliments à base de blé ou d'orge permet de diminuer les effets négatifs liés à l'activité anti-nutritionnelle des polysaccharides non amylacés hydrosolubles. Les enzymes, en diminuant la viscosité des contenus digestifs, augmentent la digestibilité des nutriments ainsi que l'énergie métabolisable de l'aliment (Géraert *et al.*, 1997). Ces effets positifs des enzymes NSP ont surtout été obtenus avec les espèces poulet de chair, dinde et poule pondeuse (Mathlouthi, 2002).

Les enzymes exogènes NSP apportés par l'aliment sont activés par l'humidité, le pH et la température du tractus digestif et agissent sur leurs substrats cibles dans les céréales et les tourteaux. L'hydrolyse des NSP conduit à la segmentation des mailles glucidiques (Figure 2), ce qui diminue la viscosité intestinale néfaste à l'absorption des nutriments et facilite l'accès des enzymes endogènes (amylases, protéases, lipases....) aux nutriments piégés (Uzu et Sassi, 2005).

Figure 2: Image microscopique de la membrane cellulaire (endosperme et l'aleurone) avant (a) et après (b) traitement avec xylanase, beta-glucanase (Paloheimo *et al.*, 2006).

En outre, ces enzymes exogènes doivent être très stables et actives au pH et à la température du tractus gastro-intestinal. Elles doivent aussi agir assez rapidement dans la zone gastrique et efficacement dans le duodénum et dans le jéjunum où 85% de l'absorption des nutriments a lieu dans sa partie terminale (Wyatt et Queenborough, 1996). Au niveau iléal, la diminution de la viscosité permet une meilleure diffusion des molécules dans la lumière intestinale et donc une meilleure absorption. La réduction de

la viscosité est aussi associée à une accélération du transit digestif, ce qui réduit les proliférations microbiennes au niveau iléal et donc les prélèvements des nutriments par la microflore. D'autres facteurs sont aussi affectés, comme la réduction de l'excrétion d'eau directement liée à la diminution de la consommation d'eau (Uzu et Sassi, 2005).

Les longues chaînes glucidiques des parois cellulaires sont dégradées par une combinaison d'activités enzymatiques. A chaque type de liaison chimique correspond un enzyme spécifique. Dans une étude récente, Mathouthi (2002) a analysé l'effet de différentes activités enzymatiques sur la viscosité d'extraits aqueux de différentes matières premières (maïs, orge, blé, tourteau de soja...). Cette expérience démontre, sur des céréales telles que le blé ou l'orge, qu'une association de xylanase et beta-glucanase est plus efficace que chacune de ces activités individuellement (Figure 3). Cet effet est encore accru, lorsque les 2 activités sont en présence d'autres activités polysaccharidasiques et il s'applique à de nombreuses matières premières incluant le maïs et le tourteau de soja.

Figure 3. Effet combiné des complexes multi-enzymes sur la viscosité in vitro des matières premières (Mathlouthi, 2002).

Par conséquent l'association de ces enzymes NSP avec la phytase induit une amélioration des performances des poulets (Figure 4) (Craig L, 2005).

Figure 4.Effets combinés des phytases et NSP.

I.7. Effet des enzymes exogènes sur l'utilisation digestive chez le poulet de chair

I.7.1 .Effet sur l'histomorphométrie du tractus intestinal

Des modifications morphologiques et structurales importantes chez les rats, en particulier, un poids accru de l'intestin grêle et du caecum, une stimulation de la sécrétion pancréatique et une augmentation de l'activité enzymatiques de cet organe a été signalée lorsque la viscosité de digesta a été élevée (Ikegami *et al.* 1990). D'autres travaux indiquent que des changements similaires peuvent être attendus chez les poulets de chair (Savory, 1992, Van der Klis et Van Voorst, 1993; Viveros *et al.*, 1994, Almirllet *et al.*, 1995,). Dans une autre étude des paramètres histologiques du jéjunum ont été mesurés chez les poulets recevant un régime maïs-soja (faible viscosité) ou des régimes induisant des viscosités élevées (substitution ou inclusion de seigle) (Veldman et Vahl, 1994). Il a été constaté qu'au niveau du jéjunum, dans des conditions de viscosité élevée, les villosités sont plus courtes et plus épaisses, traduisant une réduction de la surface d'absorption par rapport aux animaux témoins (faible viscosité des digestas). Ces résultats indiquent que des modifications morphologiques, histologiques et fonctionnelles du tissu intestinal pourraient également être impliquées dans l'effet global des enzymes hydrolysant les polysaccharides non amylacés, du fait que ces

enzymes induisent une diminution de la viscosité intestinale et par conséquent une baisse du poids de l'intestin et un accroissement de la taille des villosités intestinales (Simon, 2000). Bien que le mécanisme exact par lequel ces changements s'effectuent reste mal connu. (SAKI 2000).

1.7.2. Effet sur la population bactérienne intestinale

Les régimes utilisés pour les volailles sont surtout à base de maïs, de soja, de blé et d'autres ingrédients d'origines végétales qui ont des composantes difficiles à digérer. La paroi cellulaire végétale de ces matières premières est constituée essentiellement de polysaccharides non amylacés et l'hydrolyse de ces derniers par des enzymes exogènes spécifiques induit leur fragmentation en oligosaccharides à chaînes courtes (Xylanases, mannanases et cellulases produites respectivement des xylo-, manno-ou gluco-oligosaccharides). Ces oligosaccharides à chaîne courte passent dans le tube digestif inférieur (iléon et caecum) et deviennent des substrats pour la fermentation bactérienne qui peut être bénéfique à la production des acides gras volatiles. Aussi, Ils peuvent modifier la population bactérienne en réduisant légèrement le nombre d'enterobacteriaceae et de bactéries coliformes dans l'intestin grêle et hausser le rapport bactéries lactiques et *E. coli* dans l'intestin. Il est supposé que les produits de l'hydrolyse enzymatique accroissent l'acidité intestinale et favorisent ainsi la présence de bactéries bénéfiques, entre autres, les lactobacilles, défavoriser les bactéries nuisibles, dont *E. coli*.

Plusieurs travaux ont démontré que l'utilisation d'enzymes modifie de manière significative la production d'AGV et le profil de population de bactéries à la fois dans l'iléon et le caecum (Apajalahti *et al*, 1995, Choctet *al*, 1999, Apajalahti et Bedford 1999, Bedford et Apajalahti, 2000).

1.7.3. Amélioration de la valeur nutritive de l'aliment

De manière globale, les effets bénéfiques liés à la supplémentation enzymatique sont observés chez le poulet de chair avec différents types d'aliments : maïs ou orge ou blé - tourteau de soja (Tableau 4). Ils se traduisent par une amélioration du gain de poids de 1,6 à 3,4% et de l'indice de consommation de 2,5 à 6,8% selon les matières premières utilisées dans les aliments (Uzu et Sassi, 2005). Cette amélioration est à relier à une meilleure digestibilité des aliments. L'ensemble des essais réalisés sur des aliments

complets avec ou sans enzymes ajoutés permettent d'évaluer l'augmentation de l'énergie métabolisable à : 65 Kcal/kg pour les aliments à base de maïs ; 140 Kcal/kg pour les aliments à base d'orge et 85 Kcal/kg pour les aliments à base de blé (Uzu et Sassi, 2005).

Tableau 4. Effet d'une supplémentation en enzymes NSP multi-activités sur les performances du poulet de chair avec différents types d'aliments (Uzu et Sassi, 2005).

Type d'aliment	Blé-soja	Maïs-soja	Orge-soja
Durée de la supplémentation	1 à 36 jours	1 à 49 jours	1 à 41 jours
Variations : Lot Supplémenté en Enzymes /Lot Témoin			
Ingéré (g/sujet)	- 2,5%	-2,6%	-3,4%
Poids vif (g)	+1,6%	+3,2%	+3,4%
Indice de consommation	-2,5%	-5,7%	-6,8%

En plus de ces effets, cette valorisation nutritive de l'aliment au niveau énergétique se traduit par une amélioration des performances des poulets de chairs. Les tableaux 5 et 6 regroupent quelques résultats obtenus après supplémentation de différentes enzymes dans l'aliment du poulet de chair.

Tableau 5. Résultats obtenus par différents auteurs sur la supplémentation de polysaccharidases dans l'aliment chez la volaille.

Enzyme	Type d'aliment	Performances	Auteurs
Xylanase	Régime à base de blé	-Amélioration significative du gain de poids, de l'énergie métabolisable et de l'efficacité de l'aliment. -Réduction de la viscosité du digesta dans le duodénum, jéjunum et l'iléon. - Réduction du poids relatif du pancréas. -Augmentation de la taille des villosités au niveau iléal. -Augmentation de la profondeur des cryptes intestinales.	RAVINDRAN et al. 2004
La phytase 500unités/kg	régime à base de blé et de soja	-Gain de poids amélioré de 17,5%. -Amélioration pas significative de l'énergie métabolisable. -Augmentation d'efficacité de l'aliment de 2,9% -Réduction de la viscosité de digesta.	RAVINDRAN et al. 2004
La phytase et Xylanase	régime à base de blé et de soja	-Amélioration significative de l'énergie métabolisable. - Réduction de la viscosité dans tout le contenu intestinal.	RAVINDRAN et al. 2004
Préparation enzymatique à activité xylanasiq	Régime à base du froment d'hiver.	Amélioration du gain quotidien moyen de 4,5% et 6,5% pour des doses de 100ppm et 50ppm respectivement. -Réduction de l'indice de consommation de 2,5% et 0,5% pour des doses de 100ppm et 50ppm respectivement. -Amélioration du poids final de 4% et 6% pour des doses de 100ppm et 50ppm respectivement. -Augmentation de l'aliment ingéré de 2% et 6% pour des doses de 100ppm et 50ppm respectivement.	BECKERS et THEWIS, 2004
Préparation multienzymatique (xylanase, glucanase, mannanase, pectinase, protéase et cellulase)	Maïs, orge, blé, tourteau de soja	-Amélioration du gain de poids de 1,6 à 3,4%. -réduction de l'indice de consommation de 2,5%. -Réduction d'aliment consommé de moins de 2,5%. -Poids vif amélioré de 1,6%. -Amélioration de la digestibilité. -Animaux plus homogènes à l'abattoir. - Meilleure pigmentation des poulets jaunes. - Litière plus propre. - Augmentation d'énergie métabolisable à 65Kcal/Kg pour aliment à base de maïs.	UZU et SASSI ; 2005

Tableau 6. Effet des quelques enzymes supplémentées sur les de poulet de chair.

Type d'enzyme	Substance	Action	Auteur et d'année
Protéase, glycosylase	Ration	qualité nutritionnelle de la ration et cout de revient	Lim et Tan 2006
Xylanase, Amylase, Protéase, Phytase	Maïs	conservation du nutriment	Olukosi et al 2007
Protéase, Xylanase	Blé cultivé	disponibilité du nutriment et la digestibilité	Rafise et al 2005
-Amylase, - glucanase et Xylanase	Maïs + soja	Apport en lysine	Rutherford et al
Xylanase , -Amylase , - glucanase	Céréale	Digestibilité des acides aminées	Lim et Tan 2006
Xylanase	Blé	Performance de croissance	Pont et al
Phytase	<i>Phytate</i>	Augmentation de l'utilisation de phosphate	Taylor-Pickard 2008
Phytase microbiologique	<i>Phytate</i>	Dégradation de phytate	Selle et Ravindran 2007
Phytase, Xylanase, Traitement + Phytase	Blé, Céréale	digestion de phosphore, réponse physiologique et immunologique	Afsharmanesh et al 2004 Hassan et al 2005
Hémicellulase	Grain	Réduction de viscosité et augmentation de la digestibilité	Taylor-Pickard 2008
Pentosanase	pentosane	Réduction de la viscosité	Taylor-Pickard 2008
- glucanase	-glucane	Réduction de la viscosité et augmentation de la digestibilité	Taylor-Pickard 2008
- glucanase	Orge	Augmentation de l'EM	Eila et al 2006
Péctinase	Péctine	Réduction de la viscosité	Taylor-Pickard 2008
Polygalcturonase et pectine méthyle éstirase	Lupin	Dégrade la pectine et réduit la viscosité	Ali et al 2005
Péctinase et cellulase et Hémicellulase	Maïs et soja	Améliore les performances et la digestion	Tahir et al 2006
-galactosidase	Manane et galactane	Amélioration de la digestibilité	Taylor-Pickard 2008
-galactosidase	Manane et galactane	Utilisation énergitique (calorie)	Waldroup 2006
Glactanase et mannase(Ronozyme)	Maïs + soja	Amélioration de la valeur nutritive	Centéno et al 2006
Cellulase	Maïs + soja	Amélioration de l'énergie métabolisable apparente	Lim et Tan 2006
Cellulase, Xylanase, glucanase, Péctinase , mannase et Péctinase	Canola	Amélioration de l'utilisation énergétique de l'huile de graine	Reng et al 2006
Cellulase et Hémicellulase	Maïs + soja	Effet synergétique	Tahir et al 2006

Matériels & méthodes

L'objectif de notre travail est d'examiner, dans nos conditions locales, l'effet de l'addition d'un complexe enzymatique (6 enzyme : alpha-galactosidase, bêta-glucanase, protéase, xylanase, pectinase et amylase) sur l'histomorphométrie intestinale du poulet de chair nourris avec un aliment complet standard de type maïs-soja.

I. Lieu, durée et période de l'essai

Cet essai a été réalisé au niveau de la station expérimentale des monogastriques de l'Institut Technique des Elevages (ITELV) de Baba-Ali, Alger. Il s'étalait du 04 mars au 28 avril 2009, soit une durée d'un cycle complet d'élevage de 56 jours.

II. Animaux & conditions d'élevage

Pour cette étude, 840 poussins chair d'1 jour (sexes mélangés), de souche ISA F15 Hubbard, provenant d'un même couvoir (Dar El Beida, SIFAAC Sari : Société Industrielle Fabricant d'Aliments et Accoureur), ont été utilisés.

A la mise en place, les poussins ont été triés, pesés et divisés en 2 groupes de 420 sujets de poids moyen homogène de l'ordre de $42,1 \pm 0,2$ g. Chaque groupe a été ensuite réparti dans 7 parquets de $5,72\text{m}^2$, soit une densité d'élevage de $11,38$ sujets/ m^2 (7 répétitions de 60 sujets par groupe).

Durant tout l'essai, les animaux sont élevés dans des conditions standards au sein d'un bâtiment de type obscur à ambiance contrôlée ayant une superficie de $296,1$ m^2 (Figure 5).

Figure 5. Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai

Tous les animaux ont été nourris avec le même aliment de base (maïs-soja) adapté à l'âge, fournis sous forme de farine (Tableau 7).

Tableau 7. Caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.

Aliment	Période de distribution	EM (kcal/kg)	TP (%)
Démarrage	J1 – J10	2700	20
Croissance	J11 – J42	2900	19
Finition	J43 – J49	2930	17

III. Traitements expérimentaux

Dans cet essai, nous comparons 2 traitements expérimentaux :

- un groupe « Témoin » nourris avec un aliment de base sans additifs enzymatiques.
- un groupe « enzymes » nourris avec le même aliment de base supplémenté en enzymes.

La complémentation alimentaire en enzymes a été appliquée du 1er jour d'âge jusqu'à l'abattage à 56 jours. Le complexe enzymatique utilisé est une préparation à base de 6 enzymes (alpha-galactosidase, bêta-glucanase, protéase, xylanase, pectinase et amylase), commercialisée sous l'appellation FRA® ZYME PE DRY, fabriquée par le groupe Perstrop (Pays bas) et distribuée par la société BIOLAB vétérinaire (Algérie). La dose utilisée est celle préconisée par le fabricant soit un taux d'incorporation de 0,1% (c.à.d. 1kg/tonne d'aliment).

Le suivi de l'élevage et les mesures relatives aux performances zootechniques ont été effectuées par Doumandji Wafa (magistère es sciences vétérinaires, 2011).

IV. Etude de la Morphométrie Intestinale

IV.1. Prélèvements

Pour évaluer l'effet la supplémentation alimentaire en enzymes sur la morphométrie intestinale, 7 animaux de chaque lot expérimental (témoin et supplémenté en enzymes) sont sélectionnés à la fin de l'essai, c'est-à-dire à l'âge de 56 jours, soit 1 poulet par parquet. Ces poulets de poids représentatif de leur groupe, sont sacrifiés par saignée après un jeûne de 4 heures. L'intestin est prélevé dans sa totalité, vidé par légères pressions puis pesé de sa jonction avec le gésier jusqu'au colon. Il est étiré puis les deux caeca sont détachés au niveau de la jonction iléocœcale ; l'ensemble est ensuite mesuré.

Afin de réaliser des coupes histologiques, colorées grâce à la technique d'Hemalun-éosine (Martoja et Martoja-Pierson, 1967) les étapes suivantes ont été réalisées:

IV.1.1. Prélèvement des tissus à étudier

Des portions de 1 cm de longueur sont prélevées à partir du duodénum proximal (2 cm après la jonction duodénum-gésier), du duodénum distal (3 cm environ avant la jonction duodénum- jéjunum), du jéjunum proximal, du jéjunum distal, de l'iléon proximal et distal. 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 1 cm de longueur.

IV.1.2. Préfixation et fixation des tissus

La fixation doit être immédiate après le prélèvement aussi bien sur place qu'au laboratoire, pour empêcher une putréfaction du tissu par autolyse (destruction tissulaire par les enzymes qu'il contient en lui-même) et par altération microbienne (putréfaction).

Ainsi, 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 absolu (Le volume du fixateur doit être de 20 à 50 fois celui du prélèvement). 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.

IV.1.3. 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 bout de tissu est plongé pendant 12 heures dans de la paraffine liquide chauffée à 56°C.

IV.1.4. 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 bloc de paraffine est obtenu, puis placé dans un microtome en vue de réaliser des coupes de 5µm d'épaisseur.

IV.1.5. 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 :

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

IV.1.6. Mesures des dimensions des villosités

L'analyse des coupes histologiques est réalisée en deux temps. Tout d'abord, les lames sont photographiées au grossissement x4 grâce à un microscope muni d'un procédé de capture d'image (Motic Co., Ltd). Ensuite, les mesures sont effectuées grâce au logiciel Motic Images Plus 2.0 ML (Motic Co., Ltd) directement sur les images obtenues.

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 6. Mesures des dimensions de la villosité intestinale

V. 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 poulets pour les mesures individuelles). Les moyennes sont comparées par le test T de Student à l'aide du programme StatView (Abacus Concepts, 1996, Inc., Berkeley, CA94704-1014, USA). Le seuil de signification choisi est d'au moins 5%.

Résultats

Dans cet essai, nous évaluons, dans nos conditions locales, l'effet de l'incorporation d'un complexe enzymatique à un aliment standard de type maïs-soja, sur l'utilisation digestive du poulet de chair élevé durant un cycle complet de 56 jours. Plus précisément, nous explorons l'impact de cet additif enzymatique sur la morphométrie intestinale et les dimensions des villosités au niveau des 3 portions de l'intestin. Le suivi des performances zootechniques de cet essai a été effectué par Doumandji (2011).

I. Caractéristiques des animaux

Les résultats relatifs aux performances zootechniques enregistrées à la fin de l'essai sont présentés dans le tableau 8 et la figure 7.

D'après les résultats (Doumandji 2011), la supplémentation alimentaire en complexe enzymatique a permis d'améliorer significativement la consommation alimentaire globale (+5%) et le gain de poids cumulé (+4%) par rapport aux témoins recevant l'aliment de base. Notons que l'augmentation de ces deux paramètres, induite par l'apport d'enzymes, est de même amplitude. Il en résulte un indice de conversion presque similaire entre les deux lots expérimentaux : $2,4 \pm 0,04$ en moyenne. De même, les taux de mortalité relevés durant l'essai ne sont pas significativement modifiés par la supplémentation alimentaire en enzymes : écart non significatif de 10% ($p=0,82$).

Tableau 8. Paramètres zootechniques cumulés (J1-J56) des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 parquets de 60 sujets).

Paramètres	Témoins	Enzymes	Test T (p=)
Ingéré (g)	7054 $\pm$ 106	7381 $\pm$ 80	<0,01
Gain de poids (g)	2902 $\pm$ 34	3026 $\pm$ 50	<0,05
Indice de conversion (g/g)	2,43 $\pm$ 0,04	2,44 $\pm$ 0,04	0,83
Mortalité (%)	2,65 $\pm$ 0,50	2,93 $\pm$ 1,18	0,82

Ingéré et gain de poids cumulés (J1-J56)

Indice de conversion et taux de mortalité cumulés (J1-J56)

Figure 7. Représentation graphique des paramètres zootechniques cumulés (J1-J56) des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 parquets de 60 sujets).

II. Morphométrie de l'intestin

Les poids moyens et les longueurs des intestins prélevés à l'âge de 56 jours chez les poulets témoins et ceux supplémentés en complexe enzymatique sont détaillés dans le tableau 9 et les figures 8 et 9.

Tableau 9. Paramètres morphométriques de l'intestin, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7).

Paramètres	Témoins	Enzymes	Test T (p=)
Poids de l'intestin			
(g)	101,3 $\pm$ 5,09	87,2 $\pm$ 3,0	0,08
(g/100g PV)	3,45 $\pm$ 0,14	3,10 $\pm$ 0,13	0,09
Longueur de l'intestin			
(m)	2,526 $\pm$ 0,055	2,316 $\pm$ 0,06	<0,05
(m/100gPV)	0,086 $\pm$ 0,002	0,076 $\pm$ 0,002	<0,01

Figure 8 :

Figure 8 : Représentation graphique des poids de l'intestin prélevés à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 sujets).

Figure 9 : Représentation graphique des longueurs de l'intestin prélevés à l'âge 56j chez les poulets témoins ou supplémentés on complexe enzymatique.

(Moyenne plus ou moins SE, n=7parquets de 60sujets).

Nos résultats montrent que la supplémentation alimentaire en enzymes semble réduire les poids des intestins, qu'ils soient exprimés en valeur absolue ou rapportés au poids vif de l'animal : -16 (p=0,08) et -11% (p=0,09), respectivement.

Concernant la longueur des intestins, l'apport d'enzymes dans l'aliment induit une diminution significative de ce paramètre, exprimé en valeur absolue (-9% ; p<0,05) ou rapporté au poids vif de l'animal (-13% ; p<0,01).

III. Dimensions des villosités intestinales

Les dimensions des villosités (hauteur, largeur et volumes), mesurées, au niveau proximal et distal des 3 portions intestinales, à l'âge de 56 jours, chez 7 poulets de poids représentatif de chaque lot sont présentées dans les tableaux 10, 11 et 12 et les figures 10, 11 et 12.

Nos résultats montrent que la supplémentation alimentaire en enzymes a significativement augmenté la hauteur des villosités intestinales au niveau du duodénum proximal, du jéjunum et de l'iléon : +26% en moyenne par rapport aux témoins ($p < 0,01$). En revanche, au niveau du duodénum distal, l'augmentation de la hauteur de villosités observée (+11%) n'atteint pas la signification statistique ($p = 0,12$) (Tableau 10).

Concernant la largeur des villosités intestinales (Tableau 11), au niveau du duodénum proximal, nous trouvons une augmentation significative ($p < 0,05$) de ce paramètre chez les poulets supplémentés en enzymes par rapport aux témoins (+22%). Par contre, au niveau des autres portions de l'intestin, les variations de largeur entre les poulets témoins et supplémentés en enzymes ne sont pas significatives : écarts d'environ +4% (NS).

Enfin, la supplémentation en enzymes a significativement ($p < 0,01$) augmenté le volume des villosités intestinales au niveau des parties proximales du duodénum (+74%) et du jéjunum (+48%) et également au niveau de l'iléon distal (+47%) (Tableau 12). En revanche, aucune augmentation significative des volumes des villosités n'a été observée au niveau des parties distales du duodénum et du jéjunum et de l'iléon proximal.

Tableau 10. Hauteur des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7).

	Témoins	Enzymes	Test T (p=)
Hauteur (μm)			
Duodénum			
Proximal	1174 $\pm$ 60	1379 $\pm$ 23	<0,01
Distal	1143 $\pm$ 62	1266 $\pm$ 41	0,12
Jéjunum			
Proximal	1089 $\pm$ 58	1312 $\pm$ 44	<0,01
Distal	933 $\pm$ 63	1244 $\pm$ 32	<0,05
Iléon			
Proximal	1026 $\pm$ 42	1376 $\pm$ 39	<0,001
Distal	910 $\pm$ 10	1225 $\pm$ 84	<0,01

Hauteur des villosités intestinales (μm)

Figure 10. Représentation graphique des hauteurs des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 sujets).

Tableau 11. Largeur des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7).

	Témoins	Enzymes	Test T (p=)
Largeur (μm)			
Duodénum			
Proximal	125 $\pm$ 5	152 $\pm$ 4	<0,01
Distal	167 $\pm$ 4	171 $\pm$ 8	0,61
Jéjunum			
Proximal	138 $\pm$ 3	153 $\pm$ 6	0,42
Distal	136 $\pm$ 14	140 $\pm$ 6	0,81
Iléon			
Proximal	145 $\pm$ 11	145 $\pm$ 6	0,98
Distal	164 $\pm$ 3	172 $\pm$ 4	0,19

Largeur des villosités intestinales (μm)

Figure 11. Représentation graphique des largeurs des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 sujets).

Tableau 12. Volume des villosités intestinales, à l'âge de 56 jours, chez les poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7).

	Témoins	Enzymes	Test T (p=)
Volume (mm³)			
Duodénum			
Proximal	0,014 $\pm$ 0,002	0,025 $\pm$ 0,002	<0,001
Distal	0,025 $\pm$ 0,004	0,029 $\pm$ 0,001	0,27
Jéjunum			
Proximal	0,016 $\pm$ 0,001	0,024 $\pm$ 0,003	<0,01
Distal	0,014 $\pm$ 0,003	0,019 $\pm$ 0,002	0,14
Iléon			
Proximal	0,017 $\pm$ 0,003	0,023 $\pm$ 0,002	0,19
Distal	0,019 $\pm$ 0,001	0,028 $\pm$ 0,01	<0,01

Volume des villosités intestinales (mm³)

Figure 12. Représentation graphique des volumes des villosités intestinales mesurées à l'âge de 56j chez des poulets témoins ou supplémentés en complexe enzymatique (moyennes $\pm$ SE ; n=7 sujets).

Discussion

Le but de cette étude était d'évaluer, dans nos conditions d'élevage, l'intérêt de l'incorporation d'un complexe enzymatique dans l'aliment du poulet de chair en examinant l'impact de cet additif sur la morphométrie intestinale.

Concernant les aspects méthodologiques, le complexe enzymatique utilisé dans cet essai correspond à une préparation commerciale autorisée par la DSV (Direction des Services Vétérinaires, Algérie), composée d'un mélange de 6 enzymes (xylanase, béta-glucanase, béta-galactosidase, amylase, protéase et pectinase) dégradant les PNA mais aussi les facteurs antinutritionnels tryptiques. L'emploi de cet additif enzymatique vise ainsi à valoriser globalement l'aliment distribué aux poulets. Ce complexe a été incorporé durant tout le cycle d'élevage, soit une supplémentation de 56 jours, à la dose de 0,1% de l'aliment standard « Démarrage », « Croissance » et « Finition ». La dose utilisée est celle préconisée par le fournisseur.

En termes de résultats zootechniques, il apparaît que, dans nos conditions, l'addition du complexe enzymatique au régime à base de maïs-tourteau de soja a permis d'augmenter significativement la quantité globale d'aliment consommé. Ceci serait lié, en partie, à l'effet des enzymes exogènes, qui par leur action sur les fibres alimentaires augmente la prise alimentaire (Perttilä *et al.*, 2001 ; Gabriel *et al.*, 2005). D'après ces auteurs, l'ingéré alimentaire est plus élevée avec les régimes supplémentés en enzymes, car l'utilisation de ces dernières diminue le temps de rétention des digesta au niveau du gésier et de l'intestin et augmente la motilité intestinale.

L'accroissement de l'ingéré alimentaire induit par les additifs enzymatiques, relevé dans nos conditions expérimentales, a été associé à une meilleure croissance des poulets. En effet, une augmentation significative des gains de poids cumulés a été observée chez les animaux supplémentés. Cet effet positif des enzymes exogènes a déjà été rapporté chez le poulet de chair nourris avec différents types d'aliments (maïs, orge ou blé -tourteau de soja) (Uzu et Sassi, 2005). Ces auteurs trouvent un accroissement du gain de poids allant de 1,6 à 3,4% selon les matières premières utilisés dans les aliments.

Dans cette étude, les augmentations de l'ingéré alimentaire et de la croissance, induites par l'ajout des additifs enzymatiques, étaient de même amplitude. Ceci s'est traduit par des indices de conversion alimentaires semblables chez les poulets témoins ou supplémentés. Des résultats similaires ont été obtenus sur des régimes comparables supplémentés ou non par des complexes d'enzymes carbohydrases (Meng et Slominsky, 2005 ; Yu *et al.*, 2007) ou lors de supplémentation enzymatique d'aliments à base d'orge (MacLean *et al.*, 1994).

Dans cet essai, les mesures morphométriques opérées au niveau de l'intestin montrent un impact significatif de l'incorporation alimentaire du complexe enzymatique sur la taille de ce segment digestif qui, exprimé en valeur absolue ou en proportion du poids vif, se trouve réduit après 56 jours de supplémentation. Quant au poids de cet organe, la baisse induite par les additifs enzymatiques n'atteint pas le seuil de signification statistique. Selon Petterson et Aman (1989), l'addition d'enzymes exogènes dans des régimes à pouvoir de viscosité élevée améliore généralement le temps de transit des aliments et l'absorption des nutriments, ce qui a pour conséquence une diminution du poids relatif du tube digestif. Dans la présente étude, la proportion de PNA contenue dans l'aliment de type maïs-tourteau de soja utilisé est limitée, ce qui entrainerait un effet moins marqué sur les modifications du poids de ces organes digestifs comme le suggère Gracia *et al.* (2009). Néanmoins, les longueurs relatives des intestins significativement plus élevées chez les animaux témoins, pourrait être liées à une viscosité de leur contenu digestif en absence de supplémentation en enzymes. En effet, une étude récente menée chez le poulet a démontré que la longueur relative de l'intestin grêle est positivement corrélée à l'élévation de la viscosité (Simon, 2000).

Concernant l'étude histologique de l'intestin, lieu privilégié de l'assimilation des nutriments, nos résultats révèlent un effet significatif de la supplémentation en enzymes sur la surface d'absorption. Ainsi, nous trouvons des augmentations hautement significatives des hauteurs et des volumes des villosités intestinales surtout au niveau des portions proximales du duodénum et du jéjunum et également au niveau iléal.

Ces augmentations traduisent une plus grande surface d'absorption des nutriments qui devrait être propices à une meilleure assimilation des nutriments, conjuguées à l'action propres des enzymes exogènes sur la digestion de l'aliment et la viscosité du contenu intestinal. Les mécanismes physiologiques impliqués restent néanmoins à élucider.

Conclusions & perspectives

Cette étude contribue à préciser, dans nos conditions locales, l'impact de l'incorporation d'enzymes exogènes dans l'aliment (de type maïs-soja) sur l'histomorphométrie intestinale du poulet de chair.

Dans nos conditions, la supplémentation alimentaire en enzymes a permis d'augmenter significativement l'ingéré alimentaire et la croissance des poulets de chair sans toutefois modifier significativement l'indice de conversion.

Au niveau digestif, l'ajout d'enzymes exogènes a induit des réductions significatives de la taille et du poids relatifs des intestins ainsi que des accroissements hautement significatifs des hauteurs et volumes des villosités surtout au niveau proximal du duodénum et du jéjunum.

Nos résultats révèlent un impact positif certain des enzymes exogènes sur la surface d'absorption intestinale du poulet de chair qui méritent d'être confirmés par des études ultérieures, utilisant des doses enzymatiques supérieures, sur de plus de grands effectifs et avec d'autres types d'aliments.

Références

A

ALLEN CM., McCracken. K.J., Bedford M.R., (1996) Effect of fat type, rate of wheat inclusion and enzyme supplementation on diet metabolisability and broiler performance. *British Poultry Science* 38: S25S26.

ALLOUI N. (2005) Polycopié de zootechnie aviaire. Département vétérinaire, Université de Batna, page 29-30.

ANGEL R., TAMIM N.M., APPLGATE T.J., DHANDU A.S., ELLESTAD L.E. (2002) Phytic acid chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal of Applied Poultry Research* 11, 471-480.

APAJALAHTI J., MORGAN AJ , IAURANS M. & HEIKKINEN, PP. (1995) : feed enzymes indirectly modify the microbial community of the gastrointestinal tract of broilers. BSAS Winter meeting, Scarborough.

B

BECKERS Y., PIRON F., (2009) Utilisation des enzymes exogènes en alimentation porcine et avicole. In: Proceedings of 9^{ème} Journée de Production porcines et avicoles, 45-53.

BEDFORD MR (2000) Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and benefits. *Animal Feed Science Technology*, 67: 319-338.

BEDEFORD MR & APAJALAHTI J (2001) Implication of diet and enzyme supplementation on the microflora of the intestinal tract. In *ADVANCES IN NUTRITIONAL TECHNOLOGY* Proceeding of the IST World feed conference ,pp.197.200 [AFB van der poel,JL vahld.and RP kwakkel, editors].Utrecht :Wageningen Pers

C

CHAFAI S. (2006) Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaire sur les performances zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister en sciences vétérinaire, université El-hadj lakhdar-Batna, page 9-10.

COWIESON AJ (2005) Factors that affect the nutritional value of maize for broilers *Animal Feed Science Technology*, 119: 293-305

CRAIG L WYATT, TERRI PARR and MIKE BEDEFORD. (2005) Mechanisms of action for supplemental NSP and phytase enzyme in poultry diets. Carolina feed industry association 35th poultry nutrition conference.

D

DOYLE, M.E., (2001) Alternatives to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry. Food research Institute, 1-12.

F

FERKET P R., PARKS CW., AND GRIMES JL. (2002) Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation of poultry. Department of Poultry Science. North Carolina State University.

G

Gabriel I., S Mallet., P Sibille. (2005) La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *Productions animales*, 18 (5), 309-322.

GERAERT PA., FRAPIN D., UZU G. (1997) Mieux valoriser les blés chez le poulet de chair et la poule pondeuse par l'addition de xylanase. In : 2^{ème} journée de la recherche avicole. Tome 1. Centre de Congrès Vinci. Tours. Page 51-54.

Gracia M.I., R. Lázaro, M.A. Latorre, P. Medel, M.J. Aranibar, E. Jiménez-Moreno, G.G. Mateos (2009) Influence of enzyme supplementation of diets and cooking-flaking of maize on digestive traits and growth performance of broilers from 1 to 21 days of age. *Animal Feed Science Technology*, 150, 303-315.

GRAJEK W., OLEJNIK A., SIP A. (2005) Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods . *ACTA Biochimica. Polonica*. Volume 52N° .3 :665-671.

I

IKEGAMI S, TSUCHIHASHI F, HARADA H, TSUCHIHASHI N, NISHIDE E, AND INNAMI S (1990) Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. *Journal of Nutrition* 120, 353-360.

L

LEESON S, YERSIN A, VOLKER L (1993) Nutritive Value of the 1992 Corn Crop. *Journal of applied Poultry Research*, 2:208-213.

M

MacLean J. A. B Webster and D. M Anders. (1994) Effect of 2-row or 6-row barley and a commercial enzyme preparation on growing-finishing broiler chickens from 3 to 6 weeks of age. *Canadian Journal of Animal Science*, 74(3), 1918-1825.

MATHLOUTHI N. (2002) Mécanismes d'action et d'efficacité alimentaire de la xylanase et de la beta-glucanase chez les volailles. Thèse de doctorat Rennes (FRA).

MENG X, SLOMINSKY BA (2005) Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. *Poultry Science* 84:1242-1251.

MOERS K., CELUS I, BRIJS K, COURTIN CM, DELCOUR JA (2005) Endoxylanase substrate selectivity determines degradation of wheat water-extractable and water-unextractable arabinoxylan. *Carbohydrate Research* 340, 1319-1327.

MOUSSARD C. (2004) Biochimie structurale et métabolique. De boeck 2^{ème} édition page 43-51.

N

NOY Y et SKLAN D (1995) Digestion and Absorption in the Young Chick. *Poultry Science* 74 :366-373.

P

PARRA M.A.M., (2001) : Les phytases : structure, caractérisation et applications. 123 bio.net. Biologie et Recherche. Université de Genève Faculté des Sciences- Département de Chimie Organique- Genève Suisse.

PERTTILA S, VALAJA J, PARTANEN K, JALAVA T, KIISKINEN T, PALANDER S (2001). Effects of preservation method and beta-glucanase supplementation on ileal amino acids digestibility and feeding value of barley for poultry. *British Poultry Science* 42, 218-229.

PETTERSON D et AMAN P (1989) Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. *British Journal of Nutrition* 62, 139-149.

R

RUDY J., WODZINSKI R.J., ULLAH A.H., J (1996) Phytase. *Advance in Applied Microbiology*, 42, 263-302.

S

SAKI AA, LJI PP, TIVEY DR (2001) Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides, *Animal Feed Science and Technology* 89: 175-188.

SAVORY, C.J. (1992) Gastrointestinal morphology and absorption of monosaccharides in fowls conditioned to different types and levels of dietary fibre. *British Journal of Nutrition* 67,77-89.

SIMON O (2000) Non starch polysaccharides (NSP) hydrolysing enzymes as feed additives : mode of action in the gastrointestinal tract. *Lohmann Information*, 23, 7-13.

T

THORPE, J., and J. D. BEAL, (2001) Vegetable protein meals and the effect of enzymes. Pages 1-10 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford and G. G. Partridge, ed. UK.

U

UZU G et SASSI T (2005) Intérêt des enzymes NSP dans l'alimentation des volailles. Volaille de Tunisie: Bulletin d'information avicole, n°35, Septembre 2005, 8-10.

W

WYATT C., QUEENBOROUGH R., 1996: (Page consultée le 3 mai 1998). How feed enzymes improve the final product? In: Alberta Agriculture, Food and Rural Development Home Page. [En ligne], Adresse URL: <http://www.agric.gov.ab.ca~research/rese~.html>

Y

YU B, WU S.T., LIU C.C., GAUTHIER R., PETER W.S. CHIOU (2007) Effects of enzyme inclusion in a maize–soybean diet on broiler performance. *Animal Feed Science Technology*, 134, 283-294.

Résumé

Le but de ce travail était d'étudier l'effet d'un complexe enzymatique contenant les activités xylanase, α galactosidase, β glucanase, protease, pectinase et amylase sur l'histomorphométrie intestinale du poulet de chair nourri avec un régime à base de maïs et tourteau de soja.

Au total, 840 poussins d'1 jour de souche ISA F15 ont été divisés en 2 groupes expérimentaux de poids moyens homogènes ($42,1 \pm 0,2$ g): un groupe témoin nourri avec un aliment standard complet adapté à l'âge, et un groupe supplémenté en complexe enzymatique à la dose de 0,1% durant 56 jours d'élevage. Chaque traitement comportait 7 parquets de 60 sujets. A la fin de l'essai (J56), 7 sujets représentatifs de chaque lot ont été sacrifiés. Le poids et la longueur de leurs intestins ont été mesurés ainsi que les dimensions des villosités au niveau des portions proximales et distales duodénales, jéjunales et iléales.

Les résultats de l'étude ont montré que l'addition du complexe enzymatique diminuait la longueur relative des intestins (-13% ; $p < 0,01$) sans affecter significativement leurs poids relatifs (-11% ; $p = 0,09$). En revanche, au niveau histologique, ces enzymes exogènes ont significativement augmenté les hauteurs des villosités au niveau de toutes les portions intestinales étudiées (+28% en moyenne ; $p < 0,01$), à l'exception du duodénum distal (+11% ; $p = 0,12$). De même, ces enzymes ont induit un accroissement significatif des volumes des villosités intestinales au niveau des parties proximales duodénales et jéjunales et de l'iléon distal (+56% en moyenne ; $p < 0,01$). De tels résultats révèlent un impact positif certain du complexe enzymatique sur la surface d'absorption intestinale du poulet de chair qui mérite d'être élucidé.

Mots-clés : poulet de chair, additifs enzymatiques, morphométrie intestinale, villosité.

Abstract

The aim of this work was to investigate the effect of an enzyme complex containing xylanase α -galactosidase, β -glucanase, protease, amylase and pectinase on intestinal histomorphometry of broilers fed a corn/soy-based diet.

A total of 840 one-day-old chicks (ISA strain F15) were divided into 2 experimental groups with homogeneous average body weight (42.1 ± 0.2 g): a control group fed a standard diet adapted to the age, and a supplemented group with enzyme complex at a dose of 0.1% for 56 days of breeding. Each treatment consisted of 7 replicate pens of 60 animals.

At the end of the trial (day 56), 7 representing broilers of each group were sacrificed. The weight and length of their intestines were measured as well as the dimensions of the villi at the proximal and distal portions of duodenum, jejunum and ileum.

Results from this study revealed that the addition of the enzyme complex decreased the relative length of the intestine (-13%, $p < 0.01$) without significantly affecting their relative weight (-11%, $p = .09$).

However, histologically, these exogenous enzymes have significantly increased villus heights at all intestinal studied sections (+28% on average, $p < 0.01$), excepted for the distal duodenum (11%, $p = 0.12$).

Similarly, these enzymes have led to a significant increase in volume of the intestinal villi in the proximal parts of duodenum and jejunum and in the distal ileum (56% on average, $p < 0.01$). Such results reveal a positive impact of the enzyme complex on the intestinal absorption surface of broiler which needs to be further elucidated.

Keywords: Broiler, enzyme additives, intestinal morphometry, villus.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد أثر معقد إنزيمي المتكون من إكزيبلاناز، ألفا غالاكتوزيداز، بيتا غليكناز، بروتياز، أميلاز على قياسات البنية النسيجية لأعضاء دجاج اللحم التجريبية أقيمت على 840 صوص سلالة (ISA F15) ابتداء من اليوم الأول حيث قسمت إلى مجموعتين تجريبيتين ذوات وزن متماثل (0.2 ± 42.1 غ)، المجموعة الشاهدة T تلقت نظاما غذائيا عادي حسب المعيار المناسب لعمر الدجاج أما المجموعة الأخرى E فأضيفت لها 0.1% لنفس النظام الغذائي طيلة فترة التربية 56 يوما، و هذه المعالجة طبقت على 7 فئات بمعدل 60 فرد لكل فئة.

و في نهاية هذه التجربة عند سن 56 يوما تم ذبح 7 عينات مثالية من بمعدل فرد من كل فئة، لغرض قياس طول و وزن الأمعاء وأبعاد الزغبات المعوية في الأجزاء العليا والسفلى من العفج، الصائم و اللفيف.

النتائج المتحصل عليها تظهر بأن إضافة المكملات الإنزيمية تنقص الطول النسبي للأمعاء (13%-، $P > 0.01$) من دون تأثير إيجابي على الوزن النسبي (11%-، $P = 0.09$). ولكن على المستوى الهيستولوجي هذه الإنزيمات المضافة تزيد إيجابيا ارتفاع الزغبات في جميع الأجزاء المعوية (بمعدل 28%، $P > 0.01$) ماعدا العفج السفلي (11%، $P = 0.12$) وأيضا هذه الإنزيمات تسمح بزيادة إيجابية لحجم الزغبات المعوية في الأجزاء العليا للعفج والصائم و الجزء السفلي للفييف (بمعدل 56%، $P > 0.01$).

بحيث هذه النتيجة تكشف عن تأثير إيجابي للمعقد الإنزيمي على مساحة الإمتصاص المعوي لدجاج اللحم التي تستحق التوضيح .

الكلمات المفتاحية: دجاج اللحم، مكملات إنزيمية، قياس شكل الأمعاء، الزغبات المعوية.