

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE –ALGER-

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة –الجزائر-

PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

**Effet de la supplémentation en huiles essentielles dans
l'eau de boisson sur les paramètres zootechniques,
biochimiques et la microflore digestive du poulet de chair**

Présenté par : RIANE ASMA

Soutenu le : 11 juin 2015

Devant le jury :

Présidente :	Mme AISSI Meriem	Professeur	ENSV Alger
Promotrice :	Mme AINBAZIZ Hacina	Professeur	ENSV Alger
Examineurs :	Mme ABED Mouna	Maitre assistante	ENSV Alger
	Mr DJEZZER Redha	Maitre assistant	ENSV Alger

Année universitaire : 2014/2015

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et ne cessent pas de me soutenir et de me faire confiance : ma mère et mon père pour tout l'amour et le soutien que vous m'avez offert, je vous dis merci...

A mes chères sœurs Meriem, Soumya, Lina, Manel et Radia qui ont toujours été là pour moi.

A Soumya et son mari Zaki.

A tous mes amis de l'ENSV (Hadjer, Meriem, Khadidja, Nesrine et surtout Hadjer.A)

A ma promotrice Mlle Ainbaziz H. et Mme Sahraoui pour leurs conseils et leur patience.

A ceux qui m'ont aidé à faire ce travail.

Remerciements

Ce travail expérimental a été réalisé au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. A cet effet je tiens à remercier tout le personnel qui a participé au bon déroulement de l'essai, ainsi que tout le groupe de laboratoire de microbiologie et zootechnie de l'école nationale supérieure vétérinaire.

Mes profonds et vifs remerciements s'adressent à ma promotrice Pr. Ainbaziz .H

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à Pr. Aissi M. d'avoir accepté de présider le jury de ce travail, je remercie également Mme Abed M. et Mr Djezar R. d'avoir accepté d'examiner notre projet.

Mes remerciements à Mme Sahraoui L., Mme Abed M., Mme Djellout B., Mme Benali N. pour leur aide.

Mes remerciements s'adressent également à Mr Mustapha et Mr Adel et Mr Hamza pour le soin apporté aux animaux

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail. Je vous dis merci.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
Chapitre 1: Les huiles essentielles.....	2
I-Definition.....	2
II-Techniques d'extraction des HE.....	2
II-1- Méthodes de distillation-évaporation.....	2
II-2- L'expression à froid.....	3
II-3- Extraction par solvants.....	3
II-4- Extraction par les corps gras.....	3
III. Composition chimique et classification des huiles essentielles.....	3
III-1- Les Terpènes	4
III-2- Constituants aromatiques	4
III- 3- Structure de base et sites fonctionnels.....	4
III-4- Facteurs de variation de la composition chimique des HE.....	5
VI. Propriétés des huiles essentielles.....	5
Chapitre 2: Utilisation des huiles essentielles dans l'alimentation des volailles.....	6
I-Principales actions des huiles essentielles.....	6
I-1- Activité antimicrobienne.....	6
I-2- Activité antiparasitaire et antimycosique.....	9
I-3- Activité antioxydante.....	11
I-4- Activité stimulante de la digestion et de l'absorption.....	12
II - Effet des huiles essentielles chez la volaille.....	13
II-1- Effet sur les performances de la volaille.....	13
II-2- Effet des HE sur la qualité de la carcasse.....	16
II-3- Effets sur l'immunité.....	16
II-4- La toxicité des huiles essentielles.....	17
II-5- le statut réglementaire des huiles essentielles en alimentation animale.....	17
PARTIE EXPERIMENTALE	
I. Objectif de l'étude.....	18
II. Matériels et méthodes.....	18
II-1- Lieu, durée et période d'élevage.....	18
II-2- Animaux.....	18
II-3- Aliments utilisés.....	18

II-4- Les huiles essentielles testées.....	19
II-5- Conduite de l'expérimentation.....	19
II-6- Les paramètres mesurés et calculés.....	21
II-6- 1- Les performances	21
II-6- 2- Rendement de la carcasse, découpe et organes.....	21
II-6- 3- Les paramètres sanguins.....	22
II-6- 4- Etude de la microflore digestive	23
II-7- Analyse statistique	26
III. Résultats et discussion.....	26
III-1- Conditions d'ambiance.....	26
III-2- Performances zootechniques.....	27
III-2-1 Croissance pondérale.....	27
III-2-2- Consommation et efficacité alimentaires.....	29
III-2-3- Consommation d'eau et ratio eau/aliment.....	32
III-2-4- Rendement et découpe de la carcasse.....	33
III-2-5- Les paramètres sanguins.....	34
III-2-6- La flore digestive.....	36
III-2-7- Les organes lymphoïdes et hématocrite.....	38
III-2-8- Mortalité.....	40
Conclusion et perspectives.....	41
LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	42
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Effet de HE d'origan sur la coccidiose (da Silva et *al*, 2009)

Figure 2: Répartition des lots expérimentaux dans les cages (4 poulets dans chaque cage)

Figure 3 : Evolution du poids vif (g) des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Figure 4 : Evolution du gain de poids vif (g) des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Figure 5: Evolution hebdomadaire de l'ingéré alimentaire (g/s) et de l'ingéré total des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Figure 6 : Evolution hebdomadaire de l'indice de conversion (g/g) et de l'ingéré total des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Figure 7 : Evolution hebdomadaire du ratio consommation d'eau (ml/j)/aliment ingéré des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Figure 8: Teneur plasmatique du glucose et en cholestérol

Figure 9: Teneurs plasmatiques en triglycérides et en protéines totales

Figure 10 : Effet des HE d'origan (O) et des extraits des plantes aromatiques sur les poids relatifs des organes lymphoïdes du poulet (n=8)

Figure 11 : Effet des HE d'origan (O) et des extraits des plantes aromatiques sur l'hématocrite du poulet (n=8)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition d'une huile essentielle d'origan (Amir Roofchae et *al.*, 2011)

Tableau 2 : Activité antibactérienne des HE et leur concentration minimale inhibitrice (Gopi et *al.*, 2014)

Tableau3: Effet des HE et des extraits de plantes aromatiques sur la microflore du poulet de chair (Zeng et *al.*, 2015)

Tableau 4: Effet des huiles essentielles sur les performances de la volaille (Brenes et Roura, 2010 adapté de Windisch et *al.*, 2008 ; Zeng et *al.*, 2015).

Tableau 5: Composition des aliments utilisés au cours de l'expérimentation.

Tableau 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

Tableau 7 : Les différents prélèvements de l'analyse de la flore digestive.

Tableau 8: Relevé de la température et de l'hygrométrie ambiante moyenne

Tableau 9: Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et d'un mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée du poids vif et gain de poids moyen (moyenne \pm écartype)

Tableau 10: Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et d'un mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée de l'ingéré alimentaire et l'indice de conversion (g/s ; moyenne \pm écartype)

Tableau 11: Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et du mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée de la consommation d'eau et du ratio eau/aliment du poulet (moyenne \pm écartype)

Tableau 12: Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et du mélange d'extraits de plantes (V) sur le rendement de carcasse et le poids des organes du poulet (moyenne \pm écartype)

Tableau 13 : Effet des HE d'origan et des plantes aromatiques sur les teneurs plasmatiques en glucose, en cholestérol, en triglycérides et en protéines totales (moyenne \pm écartype)

Tableau 14: Recherche et dénombrement des flores bactériennes chez les poussins d'un jour

Tableau 15: Effet des HE et des extraits de plantes sur la flore digestive

Tableau 16: Effet des HE d'origan et des extraits de plantes aromatiques sur les organes lymphoïdes et l'hématocrite du poulet (Moyenne \pm écartype)

Liste des abréviations

ENSV : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

HE : huile essentielle

EPA : extrait de plante aromatique

T : témoin

O: origan (Origo-stim®)

V: volarom®

TG: triglycérider

Glu: glucose

µl: microlitre

ml : millilitre

UFC: unité formant une colonie

Kg/l : kilogramme par litre

mmol/l : milli mole par litre

mg/dl : milli gramme par décilitre

PV : poids vif

% : pourcentage

NS : non significatif

IgG : immunoglobuline G

J : jour

g/s : gramme par sujet

°C : degré Celsius

nm : nanomètre

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

N : nombre d'animaux

En production avicole, l'utilisation des antibiotiques à de faibles doses (non traitantes), dans le but de prévenir la propagation des pathologies (Waldroup et *al.*, 2003) et en tant que promoteur de la croissance (Dibner et Richards, 2005) a été une pratique courante pendant des décennies. Cependant, cette utilisation abusive des antibiotiques a induit une augmentation de l'antibiorésistance, constituant ainsi une menace pour la santé humaine et animale (Van den Bogaard et *al.*, 2001).

Face à cette situation, de nombreux pays ont interdit l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation animale comme un additif, ceci a conduit à la réapparition des agents pathogènes susceptibles de provoquer des maladies et des pertes économiques dans les exploitations. Afin de réduire ces pertes, les industriels de l'alimentation animale se sont alors efforcés de rechercher des alternatives à ces molécules, désormais bannies de la liste des additifs pour les animaux d'élevage. Différents additifs ont fait l'objet d'utilisation en remplacement aux antibiotiques tels que les probiotiques, les prébiotiques (Gaggia et *al.*, 2010), les enzymes, les acides organiques, les composants d'origine minérale... (Langhout, 2000 ; Wenk, 2000).

Par ailleurs, depuis les années 1990, les produits à base de plantes (extraits végétaux et les huiles essentielles) utilisés dans l'alimentation animale ont fait leur apparition et ont vu leur utilisation se développer fortement, de par leurs multiples effets sur les performances zootechniques, notamment chez les volailles (Brenes et Roura, 2010 ; Alleman et *al.*, 2013 ; Gabriel et *al.*, 2013).

De nombreux produits contenant des huiles essentielles sont proposés pour améliorer les performances de croissance des animaux d'élevage, dont les volailles. Le marché algérien n'échappant pas à cette tendance, présente une gamme de ces produits aux éleveurs. L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet de deux de ces huiles essentielles sur les performances du poulet de chair.

Chapitre 1 : Les huiles essentielles

I- Définition :

Bousbia (2011) fait état de différentes définitions des huiles essentielles (HE) selon les époques en citant celles de Durvelle en 1893 et 1930 et de Naves en 1976. Parmi les plus récentes, l'Encyclopédie Funk & Wagnalls (2004) décrit les huiles essentielles comme les « *liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont habituellement non huileuses au contact de la peau* ». Aussi, selon la Pharmacopée Européenne (2011), une HE est un « *produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition* » (Alleman et al., 2013).

Les HE peuvent être obtenues à partir de la plante entière ou bien seulement à partir de certaines parties de la plante telles que les fleurs, bourgeons, grains, feuilles, bois, écorce, fruits, racines, rhizomes, tiges et brindilles, à des fins très diverses (en pharmacie, parfumerie, cosmétique), comme produits phytosanitaires, comme sources d'arômes (arôme alimentaire) et enfin en alimentation humaine et animale (Brenes et Roura, 2010).

II- Techniques d'extraction des HE :

Plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire les HE. Le choix de la méthode se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire.

II-1- Méthodes de distillation-évaporation :

Le principe de la distillation-évaporation se base sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, cela en raison de leur faible point d'ébullition et de leur caractère hydrophobe. Différentes méthodes sont utilisées : l'hydro distillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydro diffusion (Alaoui Boukhris, 2009).

II-2- L'expression à froid :

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son Principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation (Bousbia, 2011).

II-3- Extraction par solvants :

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs et le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant (Alaoui Boukhris, 2009).

II-4- Extraction par les corps gras :

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant et éliminée sous pression réduite (Alaoui Boukhris, 2009).

III- Composition chimique et classification des huiles essentielles :

Du point de vue chimique, les HE sont des mélanges constitués par plusieurs composants dont la complexité rend souvent difficile la compréhension de leur mode d'action (Senatore et *al.*, 1996 ; Russo et *al.*, 1988).

Ils sont caractérisés par deux ou trois composants majeurs (20-70 %) et d'autres composants de quantité infime. Généralement, ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles, par exemple le carvacol (86%) le thymol (3,3%) sont les composants majeurs de l'HE d'origan cité dans le tableau ci-dessous (Roofchae et *al.*, 2011).

Le principal groupe des HE est composé de terpènes et l'autre groupe rassemble les constituants aromatiques et aliphatiques. L'ensemble est caractérisé par un poids moléculaire bas qui leur confère un caractère volatil lié à leurs propriétés olfactives (Croteau et *al.*, 2000).

III-1- Les terpènes :

Les terpènes sont classés en fonction de leur nombre d'unités isoprène (monoterpènes, hemiterpènes, sesquiterpènes, sesterpènes, diterpènes, triterpènes, tetraterpènes et polyterpènes), leur structure peut être de type linéaire ou cyclique et comporter des fonctions chimiques très différentes. Les monoterpènes (C₁₀) constituent la majorité de ces molécules ayant plusieurs fonctions : alcool, aldéhyde, cétone, ester, éther, peroxyde, phénol (tels que le thymol et le carvacrol) etc... (Bakkali et *al.*, 2008).

III-2- Constituants aromatiques :

Les composés aromatiques sont des phénylpropènes moins fréquents que les terpènes. Ils comprennent des aldéhydes, des alcools, des phénols (Bakkali et *al.*, 2008). Généralement, les constituants principaux reflètent les fonctions biophysiques et biologiques de l'HE dont ils ont été isolés. Alleman et *al.* (2013) précisent que les teneurs de plusieurs molécules des HE sont liées entre elles, dans la mesure où si un composé (comme le thymol pour l'huile de thym, Tableau 1) est présent en quantité importante, la teneur d'un autre composé chimique (comme le para-cymène) est réduite et vice et versa.

Tableau 1 : Composition d'une huile essentielle d'origan (Roofchae et *al.*, 2011)

Constituants	(%)	Constituants	(%)	Constituants	(%)
α -Thujene	0.29	Thymol	3.29	Carvacrol	86.06
α -Pinene	0.18	γ -Terpinene	1.27	β -Caryophyllene	0.96
Camphene	0.02	Trans-sabinen-hydrate	0.19	α -Humulene	0.04
Sabinene	0.18	Borneol	0.17	Germacrene D	0.06
β -Pinene	0.45	Terpinen-4-ol	0.76	γ -Cadinene	0.05
Myrcene	0.27	α -Terpineol	0.09	β -Bisabolene	0.38
α -Terpinene	0.82	Methyl thymyl ether	0.22	δ -Cadinene	0.10
<i>p</i>-Cymene	1.28	Limonene	0.55	α -Cadinol	0.03
1,8-Cineole	0.96				

III- 3- Structure de base et sites fonctionnels :

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est

souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène.

Cette structure varie en fonction

- Du nombre d'atomes de carbone qui la constitue
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons
- De leur agencement : linéaire ou cyclique
- De la configuration spatiale
- De la nature des groupes fonctionnels (Pibiri, 2000).

III-4- Facteurs de variation de la composition chimique des HE :

La composition chimique et la qualité des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs, en particulier des facteurs environnementaux et génétiques, l'emplacement géographique, la phase de cycle végétative, le climat, l'espèce de la plante, le temps des récoltes, le degré de maturité du végétal, la durée de stockage et le processus d'extraction (Figueiredo et *al.*, 2008). Lors de la fabrication des aliments, des interactions avec des constituants des pré-mélanges ou de l'aliment, ou l'application de procédés technologiques (chauffage, agglomération...) peuvent conduire à la réduction (voire la disparition) de certains composants ou à leur modification structurale. Pour protéger ces molécules, des procédés d'encapsulation peuvent être effectués (Alleman et *al.*, 2013).

VI- Propriétés des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont soit sous forme liquide ou volatile, et ont des odeurs caractéristiques et spécifiques, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées. Elles sont solubles dans les solvants organiques comme l'éther, le benzène, l'acétone, etc. La plupart des HE sont plus légères que l'eau avec un poids spécifique compris entre 0,8 et 1,17. D'autres HE, à l'exemple de celles des clous de girofle ou de la cannelle, ont un poids spécifique plus élevé (Bruneton, 2008 cité par Chouitah, 2012).

Chapitre 2 : Utilisation des huiles essentielles dans l'alimentation des volailles

I- Principales actions des huiles essentielles :

Les HE agissent en tant qu'antibactérien, antiparasitaire, antimycosique, antiviral anti-oxydant (Botsoglou et *al.*, 2002), hypocholestérolémiant (Craig, 1999), stimulant digestif promoteur de la croissance, immunomodulateur, agent aromatisant (Williams et Losa , 2001) et même insecticide (Aouinty, 2006 ; Alaoui Boukhris, 2009).

I-1- Activité antimicrobienne :

Dans le tableau 2, Gopi et *al.* (2014) ont regroupé plusieurs données d'études *in vitro*, montrant l'activité antimicrobienne des HE ainsi que leur concentration minimale inhibitrice. Cette activité leur accorde l'intérêt de les utiliser comme alternative aux antibiotiques.

Tableau 2 : Activité antibactérienne des HE et leur concentration minimale inhibitrice (Gopi et *al.*, 2014)

Microorganismes	Concentration minimale inhibitrice (ppm)			Références
	Carvacrol	Cinnamadehyde	Thymol	
<i>Escherichia coli</i>	450	396	450	Helander et <i>al.</i> , 1998
<i>Escherichia coli</i>	225	NT	225	Cosentino et <i>al.</i> , 1999
<i>Staphylococcus aureus</i>	450	NT	225	Cosentino et <i>al.</i> , 1999
<i>Candida albicans</i>	150	NT	150	Ali–shtayeh et <i>al.</i> , 1997
<i>Candida albicans</i>	113	NT	113	Cosentino et <i>al.</i> , 1999
<i>Candida albicans</i>	200	200	NT	Ferhout et <i>al.</i> , 1999
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500	NT	500	Ali–shtayeh et <i>al.</i> , 1997
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>900	NT	>900	Cosentino et <i>al.</i> , 1999
<i>Salmonella Typhimurium</i>	150	396	150	Helander et <i>al.</i> , 1998

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i>	225	NT	56	Cosentino et al., 1999
<i>Streptococcus</i> <i>mutans</i>	125	250	250	Didry et al., 1994
<i>Streptococcus mitis</i>	125	125	125	Didry et al., 1994

De nombreuses HE exercent, *in vitro*, des effets négatifs sur la croissance des bactéries de l'appareil digestif, il a été rapporté que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que les Gram négatif. Ceci est dû au fait que ces dernières sont protégées par une membrane externe supplémentaire au niveau de leur paroi à la différence des bactéries Gram positif (Smith et al., 1998).

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des HE dépend de leur structure chimique. Ainsi, les terpènes oxygénés (le carvacrol par exemple) présentent une activité antimicrobienne plus élevée que les terpènes non oxygénés (cas de l' α - et β -pinène, limonène par exemple) (Dorman et al., 2000). De même, Deans et Ritchie (1987) ont montré que les huiles de menthe poivrée ont peu ou pas de propriété antimicrobienne en revanche celles de la cannelle, de l'origan et du thym possèdent une importante activité antimicrobienne. Ces auteurs soulignent que le mécanisme exact de l'activité antimicrobienne des HE est mal connu. La membrane cellulaire étant le principal site d'action, la variation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique de l'hydrogène (H⁺) et du potassium (K⁺) peut en être la cause. La majorité des études sont effectuées sur les effets au niveau des membranes cellulaires. Ces molécules semblent entraîner des modifications de la surface des bactéries similaires à celles observées avec d'autres agents antibactériens (Gopi et al., 2014)

L'inhibition du développement de certaines bactéries pourrait être bénéfique au développement d'autres types de bactéries. Les HE de l'origan et de romarin inhibent le développement de nombreuses bactéries pathogènes comme les streptocoques, les salmonelles, les coliformes ou *Clostridium. perfringens*, mais inhibent peu celui de bactéries bénéfiques comme des bifidobactéries ou des lactobacilles qu'elles peuvent même stimuler (Ouwehand et al., 2010 ; Broudiscou et al., 2007).

Mathlouthi et al (2012) ont montré que l'huile essentielle de romarin avait une activité antibactérienne contre seulement 3 bactéries pathogènes : *Escherichia coli*, *Salmonella indiana* et *Listeria innocua*. En revanche, l'huile essentielle d'origan avait une activité antimicrobienne, en plus des 3 bactéries citées, sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus Subtilis*.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Concernant le mode d'action des huiles essentielles et d'une façon générale, le caractère hydrophile des composants des HE leur permet de pénétrer la bicouche phospholipidique des membranes cellulaires des bactéries, tout en perturbant leur organisation et en augmentant la perméabilité et donc la perte d'ATP (Nguefack et *al.*, 2004). Les HE permettent aussi l'acidification du contenu cellulaires (Turgis et *al.*, 2009), l'arrêt de la production d'énergie et la synthèse des composants de structure ainsi la destruction du matériel génétique, tous ces mécanismes conduisent à la mort des bactéries (Lambert et *al.*, 2001).

Par ailleurs, l'étude de Chouitah et *al.* (2012) portant sur l'étude de l'activité anti microbienne des huiles essentielles des feuilles de réglisse contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC35218 et *Salmonella thyphi*, en utilisant la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme), a montré que toutes les souches bactériennes testées étaient sensibles aux HE sauf pour *Pseudomonas aeruginosa*. Zeng et *al.* (2015), dans une revue récente ont regroupé les effets des HE et les extraits de plantes sur la microflore du poulet de chair qui semble varier selon l'additif et la dose utilisés (Tableau 3).

Tableau3: Effet des HE et des extraits de plantes aromatiques sur la microflore du poulet de chair (Zeng et *al.*, 2015)

Additif	Dose, g/kg	Réponses mesurées	References
Mélange HE	300	Diminution de <i>Clostridium</i> , pas d'effet sur la flore totale ni sur <i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> et les <i>Coliformes</i> au niveau intestinal.	Kirkpinar et <i>al.</i> , 2010
HE (non identifiée)	100	Augmentation du nombre d'espèces de bactéries au niveau iléal	Amerah et <i>al.</i> , 2011
Mélange HE	1000	Pas de changement des <i>Coliformes</i> , de <i>Lactobacillus</i> , de <i>C. perfringens</i> et des anaérobies totaux au niveau caecal et des fécès.	Cross et <i>al.</i> , 2007
Origan HE	300-1200	Diminution de <i>E.Coli</i> caecal mais pas d'effet pour la dose 1200 ppm; pas d'effet sur les lactobacilles au niveau caecal.	Roofchae et <i>al.</i> , 2011
HE (non identifiée)	125	Pas de changement des bactéries totales au niveau	Hong et <i>al.</i> , 2012

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Additif	Dose, g/kg	Réponses mesurées	References
identifiée)		caecal, <i>Lactobaccilli</i> , <i>Enterococci</i> , <i>Coliformes</i> ou <i>Salmonellae</i> .	
Mélange HE	150-500	Diminution de <i>Salmonella</i> dans les fientes mais pas d'effet pour la dose 150 ppm; pas d'effet sur <i>Salmonella</i> au niveau caecal.	Alali et al., 2013
Thymol/HE	30	Augmentation de <i>Lactobaccilli</i> au niveau caecal et diminution des <i>Coliformes</i> , mais pas d'effet au niveau des fientes et l'ileum	Ginnenas et al., 2014
Origan HE	300	Moins de diarrhea sanguinolante, pas d'effet sur la coccidiose (<i>E. tenella</i> challenge)	Ginnenas et al., 2003
Origan	330	Diminution de <i>C. perfringens</i> dans le caecum.	Waldenstedt et al., 2003
Mélange HE	100	Reduction de <i>C. perfringens</i> dans le jejunum Et le colon	Mitsch et al., 2004
Extrait de plantes	100	Reduction de <i>E. coli</i> , <i>C. perfringens</i> et <i>fungi</i> et augmentation de <i>Lactobacillus</i>	Jamroz et al., 2005
Origan HE	0,5-1,25	HE d'origan montre un fort effet bactericide contre <i>Lactobacilli</i> pour l'ensemble des doses	Horošová et al., 2006
Mélange HE	100	Augmentation de <i>Lactobacillus</i> au niveau ileal accompagnée d'une diminution de <i>E.Coli</i>	Rahimi et al., 2011
HE (non identifiée)	500	Diminution de <i>Staphylococci</i> caecal, de <i>Lactobaccilli</i> et <i>Enterobacteriaceae</i>	Placha et al., 2014
Mélange HE	100	Diminution de <i>E. Coli</i> ileo-cecal, pas de changement de <i>Lactobacilli</i>	Jang et al., 2004

I-2- Activité antiparasitaire et antimycosique:

Plusieurs travaux ont révélé un effet bénéfique des huiles essentielles contre la coccidiose aviaire. Chez le poulet infesté expérimentalement avec *E. tenella*, l'HE d'origan a

un effet antioccidial positif en termes d'amélioration des performances (gain de poids et conversion alimentaire) et de réduction des effets pathogènes (mortalité, les scores de lésions, excrétion d'oocystes) (Giannesnas et *al.*, 2003). Toutefois, cet effet reste moindre par rapport à l'anticoccidien (Laslaloicide). En revanche, da Silva et *al.* (2009) obtiennent des effets similaires avec l'HE d'origan et un anticoccidien ionophore.

De même, l'HE de l'origan utilisée contre l'infection expérimentale avec *Eimeria tenella* chez le poulet n'a eu aucun effet significatif sur les excréments d'oocystes à 16 jours d'âge. Cependant, à 28 jours d'âge, les poulets traités à l'origan excrétaient moins d'oocystes. D'autres résultats montrent qu'à 14 jours après l'infection expérimentale, l'HE d'origan induit un effet hautement significatif (da Silva et *al.*, 2009) (Figure 1).

L'HE d'origan mélangée avec d'autres extraits de plantes révèle une activité anticoccidienne plus importante, contre les espèces d'*Eimeria*. L'activité anticoccidienne des HE d'origan est attribuée aux principaux composés le carvacrol et le thymol, qui assurent l'entretien l'intégrité intestinale (Williams, 1997 ; da Silva et al, 2009).

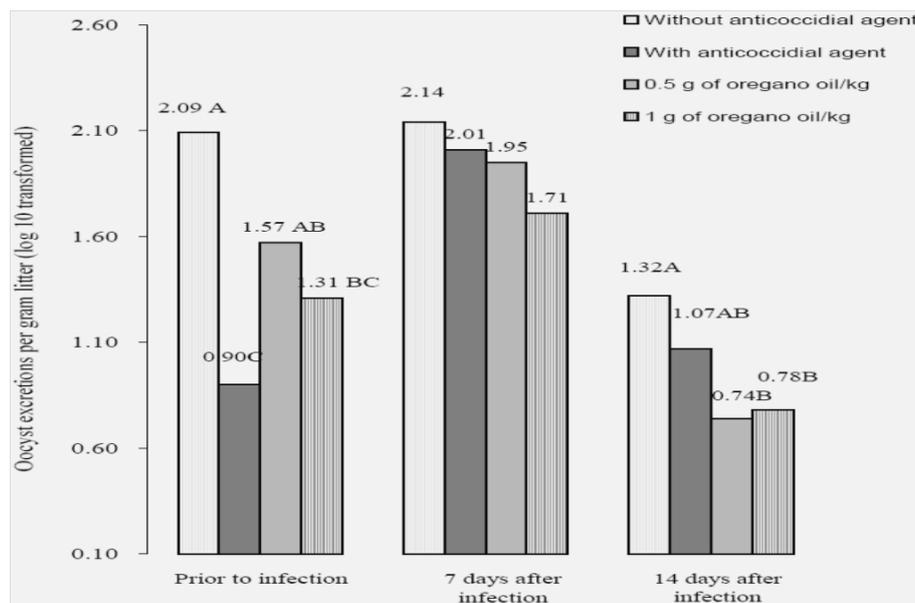


Figure 1: Effet de HE d'origan sur la coccidiose (da Silva et *al.*, 2009)

In vitro, certaines HE exercent aussi un effet délétère sur des parasites digestifs comme les l'*Histomonas meleagridis*, le protozoaire responsable de l'histomonose chez la dinde (Alleman et *al.*, 2013). Par ailleurs, Hauck et Hafez (2006) ont rapporté qu'un mélange d'HE de romarin, de cannelle, d'ail et de citron protège en partie les dindes. Ceci pourrait être lié en partie à l'effet létal de ces HE sur ces parasites, ainsi que sur certaines bactéries

digestives intervenant dans le développement de ce parasite dans les caeca. Thofner *et al* (2007) ont observé un effet négatif sur *H. meleagridis* après l'utilisation d'un mélange d'HE de thym et de romarin ainsi qu'avec du carvacrol.

Alleman *et al.* (2013) rapportent que les HE du thym peuvent inhiber des champignons producteurs de mycotoxines toxiques pour l'animal. Gopi *et al.* (2014) soulignent que l'activité antifongique du cinnamaldéhyde (composant de HE de la cannelle) se caractérise, d'une part par la neutralisation des groupements sulfhydryles, ces derniers favorisent la croissance des champignons et d'autre part par l'inhibition de la paroi cellulaire fongique lieu de synthèse des enzymes. Les HE peuvent enfin avoir des actions cytotoxiques sur certains virus (Bakkali *et al* 2008).

I-3- Activité antioxydante :

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles sont des bonnes sources d'antioxydants naturels (l'eugénol, le thymol et le carvacrol) (Franz *et al.*, 2010). L'activité antioxydante de ces composés est liée à leur structure chimique responsable de la neutralisation des radicaux libres, la chélation des métaux par la délocalisation ou la décomposition des peroxydes (Rice-Evans *et al.*, 1995).

Les huiles essentielles peuvent modifier le métabolisme des lipides dans les tissus d'animaux en agissant sur l'activité des enzymes antioxydatives et par conséquent sur la composition des acide gras polyinsaturés (Hussain *et al.*, 2008).

Botsoglou *et al.* (2002) ont montré que les extraits de romarin et l'huile essentielle d'origan pourrait améliorer la stabilité oxydative de la viande de poulet pendant le stockage en réfrigération ou en congélation et cela pour une durée de neuf mois. De même, Economou *et al.* (1991) ont évalué, *in vitro*, les propriétés antioxydantes de divers extraits d'huiles végétales comme l'origan , le thym , la marjolaine , menthe , lavande et le basilic incorporées au saindoux maintenu à 75 ° C . Ces auteurs ont montré que l'extrait contenant origan induit la meilleure efficacité de la propriété antioxydante dans la stabilisation du saindoux. Par ailleurs, il existe une relation entre l'activité antioxydante de l'huile essentielle et sa composition chimique. En effet, l'activité antioxydante élevée du thymol est due, d'une part, aux groupements OH phénoliques agissant comme donneurs d'hydrogène aux radicaux peroxy qui sont produits au cours de l'oxydation des lipides, et d'autre part à la réduction de la formation de peroxyde d'hydroxyle (Farag *et al.*,1989).

Par ailleurs, Habibi *et al.* (2014) ont montré que la poudre et l'huile essentielle de gingembre induisent une amélioration du statut antioxydant dans le poulet de chair, révélée par une augmentation de la capacité antioxydante totale et une diminution de la concentration de malondialdéhyde (MDA) dans le sang.

Des études, *in vivo*, chez le poulet et la poule pondeuse, soulignent que les huiles essentielles d'origan exercent des propriétés antioxydantes sur la membrane cellulaire de la viande, la graisse abdominale et l'œuf. L'HE agit comme un piègeur de radicaux libres (Botsoglou *et al.* 2002). Chez la dinde, Giannenas *et al.* (2014) montrent un effet améliorateur du statut oxydatif induit par la supplémentation de l'aliment en thymol ou en un mélange d'HE.

Aussi, les HE pourraient remplacer des antioxydants synthétiques utilisés pour la transformation industrielle tels que le butylhydroxytoluène (BHT) et le butylhydroxyanisole (BHA) (Zeng *et al.*, 2015).

I-4- Activité stimulante de la digestion et de l'absorption :

Au niveau bucco-nasal des oiseaux et des mammifères des récepteurs gustatifs peuvent détecter les molécules composant les HE. L'activation de ces mécanismes de détection induit un effet stimulant sur la digestion en augmentant les sécrétions digestives et la motilité intestinale (Brenes et Roura, 2010). Les principes actifs de certaines HE (celles des épices notamment) entraînent une élévation des sécrétions telles que les acides biliaires, les enzymes pancréatiques (lipase, amylase et protéases) chez le rat (Platel et Srinivasan, 2000) et chez le poulet (Jang *et al.* 2007).

Aussi, au niveau de l'épithélium digestif, principalement au niveau de l'intestin grêle, les cellules entérochromaffines possèdent des récepteurs olfactifs dont la stimulation par des molécules odorantes, comme le thymol, entraînent la libération de sérotonine qui exerce différentes actions sur le tractus digestif (Alleman *et al.* 2013).

Avec un mélange d'HE riche en carvacrol, une augmentation de la quantité des enzymes dans le proventricule et le mucus dans le jéjunum a été rapportée chez le poulet, lui conférant une protection de la muqueuse d'une part et modifiant la taille des cryptes du jéjunum en fonction du type de régime (Brenes et Roura 2010).

Gabriel *et al.* (2013) soulignent que l'absorption des HE, chez les oiseaux, se fait dès le jabot dont l'épithélium est perméable aux molécules des HE, et dépend de la composition chimique du bol alimentaire et de leur quantité dans le régime. En revanche, l'absorption des

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

HE peut être différée vers les parties postérieures du tractus digestif par certains procédés d'encapsulation des HE.

Zeng *et al.* (2015) précisent que l'amélioration de l'absorption des nutriments induite par les HE peut être expliqué en partie par l'augmentation des sécrétions de salive, la bile et l'activité enzymatique améliorée, ainsi que la diminution de la flore microbienne pathogène dans l'intestin permettant la régénération des cellules épithéliales et favoriser une augmentation de la longueur des villosités de l'intestin et de la surface.

II - Effet des huiles essentielles chez la volaille :

II-1- Effet sur les performances de la volaille :

Plusieurs revues bibliographiques ont synthétisé les données se rapportant à l'effet des HE et extraits de plantes sur les performances de la volaille (Zeng *et al.*, 2015; Alagawany *et al.*, 2015; Gopi *et al.*, 2014; Gabriel *et al.*, 2013; Alleman *et al.*, 2013; Brenes et Roura, 2010). Un nombre illimité de travaux, en aviculture, sur l'effet HE sur les performances de croissance surtout chez le poulet de chair et, dans une moindre mesure la poule pondeuse, la dinde et la caille. Les HE de thym et de l'origan sont principalement utilisés et pour lesquelles des effets zootechniques sont les plus fréquemment rapportés. Le tableau 4 regroupe quelques-unes de ces données de différentes HE et extraits de plantes utilisées chez la volaille (poulet, dinde, caille). Il est à souligner que la majorité des résultats montrent une amélioration de l'efficacité alimentaire et ce quel que soit l'additif ainsi que la dose utilisée (de 0 à -12%).

Tableau 4: Effet des huiles essentielles sur les performances de la volaille (Brenes et Roura, 2010 adapté de Windisch *et al.*, 2008 ; Zeng *et al.*, 2015*).

Effet du traitement, % par rapport au témoin						
	Dose (g/kg)	Ingéré alimentaire	Poids vif	Gain de poids	Indice de conversion	Reference
Poulet						
<i>Extraits de plantes</i>						
Origan	0.15	-6		-2	-4	Basmacioglu <i>et al.</i> 2004
Origan	0.3	-3		+1	-2	Basmacioglu <i>et al.</i> 2004
Romarin	0.15	0		-1	-1	Basmacioglu <i>et al.</i> 2004
Romarin	0.3	-2		+1	-4	Basmacioglu <i>et al.</i> 2004
Thymol	0.1	+1		+1	-1	Lee <i>et al.</i> 2003

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Cannelle	0.1	-2	-3	0	Lee et al. 2003
Thymol	0.2	-5	-3	-3	Lee et al. 2003
Carvacrol	0.2	+2	+2	-1	Lee et al. 2003
Mélanges HE	0.024	-4	0	-4	Cabuk et al. 2006
Mélanges HE	0.048	-5	0	-6	Cabuk et al. 2006
Extraits de plantes	0.2		-2	0	Hernandez et al. 2004
Extraits de plantes	5.0		+2	+3	Hernandez et al. 2004
Extraits de plantes	0.5	0	-2	-2	Botsoglou et al. 2004
Extraits de plantes	1.0	+2	-1	0	Botsoglou et al. 2004
Mélanges HE	0.075	-7		-3	Basmacioglu et al. 2004
Mélanges HE	0.15	-7		-1	Basmacioglu et al. 2004
Mélanges HE	0.036	+3	-8		Alcicek et al. 2004
Mélanges HE	0.048	+2	-8		Alcicek et al. 2004
Extraits de plantes	0.1	+1		+1	Lee et al. 2003
Mélanges HE	0.024	-2	0		Alcicek et al. 2004
Mélanges HE	0.048	0	+14		Alcicek et al. 2004
Mélanges HE	0.072	-2	+8		Alcicek et al. 2004
Mélanges HE	25	+4		+5	Jang et al. 2007 *
Mélanges HE	50	+5		+3	Jang et al. 2007*
Mélanges HE	100			-1	Isabel and Santos 2009*
Origan	250	+4		+3	Basmacioglu et al. 2010*
Origan	500	-3		+3	Basmacioglu et al. 2010*
Origan	300	-4		-7	Kirkpinar et al. 2011*
Ail	300	-4		-3	Kirkpinar et al. 2011*
Origan + Ail	150/150	-5		-4	Kirkpinar et al. 2011*
Mélanges HE	100	+1		+5	Amerah et al.2011*
Mélanges HE	100	+2		+2	Amerah et al.2011*
Thym	1,000	-3		-4	Cross et al. 2007*
Origan	300	+2		+3	Roofchae et al.2011*
Origan	600	0		+5	Roofchae et al.2011*
Origan	1,200	-2		+3	Roofchae et al.2011*
Mélanges HE	125	-2		+5	Hong et al. 2012*
Mélanges HE	150	-		+7	Alali et al.2013*
Mélanges HE	250	-		+8	Alali et al.2013*
Mélanges HE	500	-		+15	Alali et al.2013*
Mélanges HE	100	0		+7	Khattak et al. 2014*
Mélanges HE	200	0		+7	Khattak et al. 2014*
Mélanges HE	300	-2		+6	Khattak et al. 2014*
Mélanges HE	400	0		+6	Khattak et al. 2014*
Mélanges HE	500	-2		+7	Khattak et al. 2014*
Gingembre HE	75	+6		+7	Habibi et al. 2014*
Gingembre HE	150	+6		+5	Habibi et al. 2014*
Palissandre HE	150	+1		+2	Aguilar et al. 2014*
Palissandre HE	300	+2		+2	Aguilar et al. 2014*
Palissandre HE	450	-1		+1	Aguilar et al. 2014*
Palissandre HE	600	2		+1	Aguilar et al. 2014*
<i>Epices</i>					

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Origan	5.0	+5		+7	-2	Florou-Paneri <i>et al.</i> 2006
Thym	1.0	+1	+2		-1	Sarica <i>et al.</i> 2005
Ail	1.0	-5	-5		0	Sarica <i>et al.</i> 2005
Dinde						
<i>Epices</i>						
Origan	1.25	-5	+2			Bampidis <i>et al.</i> 2005
Origan	2.5	-6	+1			Bampidis <i>et al.</i> 2005
Origan	3.75	-9	+1			Bampidis <i>et al.</i> 2005
Thymol	30	-		0	-1	Ginnenas <i>et al.</i> 2014*
Mélanges HE	30	-		+7	-8	Ginnenas <i>et al.</i> 2014*
Caille						
<i>Huiles essentielles</i>						
Thym	0.06	0		+6		Denli <i>et al.</i> 2004
Nigelle	0.06	+1		+2		Denli <i>et al.</i> 2004
<i>Epices</i>						
Coriandre	5.0	+3		+1	+1	Güler <i>et al.</i> 2005
Coriandre	10.0	+3		+5	-1	Güler <i>et al.</i> 2005
Coriandre	20.0	+4		+8	-4	Güler <i>et al.</i> 2005
Coriandre	40.0	+5		+4	+1	Güler <i>et al.</i> 2005

Les travaux traitant des effets de l'HE de thym sur les performances de croissance du poulet montrent des effets contrastés. Cross *al.* (2007) ont observé une augmentation de la consommation alimentaire et une dégradation de l'IC, en revanche Al Kassie *et al.* (2009) et Tekeli *et al.* (2006) ont noté une amélioration des indices de croissance, malgré une baisse du niveau de consommation.

Chez les poules pondeuses, Bolukbasi *et al.* (2008) ont observé une amélioration de l'IC, expliquée par une diminution de la consommation alimentaire (- 5%) accompagnée d'une augmentation du taux de ponte (+ 2,5%) et de la taille des œufs (+ 10%) suite à l'utilisation des HE de romarin, l'origan et le safran.

Chez la caille, Denli *et al.* (2003) soulignent une diminution de l'IC induit par l'HE de thym, sous tendue d'une diminution de l'ingéré alimentaire. Khaksar *et al.* (2012) expliquent cet effet par une augmentation du nombre de lactobacilles chez la caille âgée de 35 jours.

Giannenas, *et al.* (2014) observent que l'utilisation du thymol dans l'alimentation de la dinde n'entraîne aucune variation du gain de poids, en revanche l'ajout d'un mélange d'HE augmente significativement la croissance.

En période estivale, Habibi *et al.* (2014) montrent que la supplémentation de l'aliment en poudre de gingembre ou en huile essentielle de cette même plante améliore significativement le poids corporel et le gain de poids corporel chez le poulet élevé au chaud

par rapport au poulet non supplémenté. Cet effet peut être lié à l'amélioration du statut oxydatif du poulet soumis aux conditions de stress thermique.

De même, les HE ont été utilisés chez la poule pondeuse élevée en saison estivale. Les résultats obtenus par Liu-Fenglua et *al.* (1998) et par Cabuk et *al.* (2006) montrent un effet antistress thermique de l'addition des HE dans l'aliment en améliorant la production d'œufs, la solidité de l'œuf et la mortalité.

II-2- Effet des HE sur la qualité de la carcasse :

L'emploi de l'HE de thym à 0,7% dans l'aliment entraîne, chez le poulet, des augmentations significatives du poids de carcasse et du rendement en carcasse, mais l'augmentation n'est plus significative à des doses plus faibles de 0,1 et 0,3% (Fotea et *al.* 2004). Cependant, d'autres travaux montrent l'absence d'effet sur le rendement en carcasse de l'emploi des feuilles de thym broyées (10 g/kg) chez le canard (Abou-Sekken et *al.* 2007 cité par Alleman et *al.*, 2013) ou avec 5 et 10 g/kg chez le poulet (Toghyani et *al.* 2010 ; cité par Alleman et *al.*, 2013), ce qui représente l'équivalent de 0,01% d'HE. Cette faible dose pourrait expliquer l'absence d'effet observé.

D'autres auteurs cités par Alleman et *al.* (2013) avaient observé que la composition lipidique de la viande pouvait être modifiée à la dose de 100 ou 200 ppm. Ils décrivent une baisse des teneurs en Acides Gras (AG) saturés et polyinsaturés des lipides de la cuisse et du filet, au profit des AG mono-insaturés, ainsi qu'une modification de la qualité sensorielle et la couleur de la viande.

Chez les poules pondeuses nourries avec des aliments supplémentées en HE de romarin, d'origan et de safran, Bolukbasi et *al.* (2008) ont observé une diminution significative de la fraîcheur des œufs (- 3,4 unités Haugh) ce qui semble en contradiction avec l'effet protecteur de la coquille sur l'oxydation.

II-3- Effets sur l'immunité :

De nombreux travaux rapportent les effets anti-inflammatoires et stimulateurs de l'immunité spécifique des HE. Najafi et Torki (2010) ont observé une baisse du nombre des hétérophiles et une augmentation de celui des lymphocytes sanguins chez le poulet de chair recevant des rations enrichies en HE de thym. Chez le poulet, une modification de l'expression de gènes impliqués dans l'immunité au niveau des lymphocytes intra-épithéliaux

du duodénum a été rapportée avec l'utilisation de carvacrol (Gabriel *et al.*, 2013). Ces mêmes auteurs précisent que les effets biologiques dépendent des doses utilisées en plus de nombreux autres facteurs liés à l'animal ou à ses conditions d'élevage (Alleman *et al.* 2013).

II-4- La toxicité des huiles essentielles :

Jenner *et al.* (1964) rapportent l'absence de toxicité chez les rats ayant reçu par voie orale du carvacrol, du cinnamaldehyde, du bêta-ionone et du thymol aux doses respectives de 810, 2220, 4590 et 980 mg / kg de poids corporel. Il en est de même pour des doses de thymol avoisinant 1000 et 10.000 ppm (Hagan *et al.*, 1967).

Après une analyse dans leur revue, Alleman *et al.* (2013) concluent que les HE sont des produits complexes pour lesquels des interactions entre principes actifs ne sont pas à exclure. Cependant, ils indiquent que les doses d'HE « additif » appliquées en alimentation des volailles sont probablement assez loin des doses pouvant entraîner des troubles chez les animaux. Enfin, ils ajoutent que des tests de tolérance sur espèce cible (au minimum jusqu'à 10 fois la dose recommandée) doivent être mis en œuvre pour compléter la démonstration de l'innocuité du produit.

II-5- Statut réglementaire des huiles essentielles en alimentation animale :

L'utilisation d'additifs alimentaires chez les animaux est généralement soumise à des restrictions réglementaires. En général, ils sont considérés comme des produits utilisés à des fins nutritionnelles, en continu pour la plupart. Les HE n'échappant pas à la procédure réglementaire, doivent présenter la composition en produits actifs, la dose maximale à utiliser et la traçabilité de l'ensemble du produit commercial. Aussi, l'efficacité sur les performances de l'animal, l'absence d'interactions possibles avec d'autres composés, l'absence d'effets nocifs (chez les animaux, les agriculteurs, les travailleurs dans les usines d'aliments, le consommateur et l'environnement) doivent être démontrées (Alloui, 2011)

I-Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet de l'addition des HE d'origan et un mélange d'HE des plantes aromatiques dans l'eau de boisson sur les performances zootechniques, le rendement de la carcasse, les paramètres biochimiques du sang, la microflore intestinale, les organes lymphoïdes et l'hématocrite du poulet de chair.

II-Matériels et méthodes :

II-1- Lieu, durée et période d'élevage :

Notre étude s'est déroulée au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV d'El Harrach). L'essai a été réalisé dans l'atelier de Zootechnie de l'école, de Février 2015 à Avril 2015(durée globale). Cette période englobe la phase pré expérimentale de 2 semaines et la phase expérimentale soit une durée de 4 semaines (28 jours). Les différentes analyses ont été effectuées au niveau des laboratoires de biochimie et de microbiologie l'école.

II-2- Animaux :

Deux cents (200) poussins d'1 jour d'âge de sexe mélangé et de souche Arbor Acres, provenant d'un couvoir privé, ont été utilisés. Les poussins avaient un poids vif moyen de 40,6g.

II-3- Aliments utilisés :

Les aliments utilisés sont commerciaux et produits par un fabricant d'aliments de bétail privé. Lors de la période pré expérimentale, les poussins ont reçu un aliment démarrage sous forme émietée (1j à 16j d'âge). Ce dernier a été remplacé par un aliment croissance granulé (17j à 42 j d'âge). La composition des aliments est consignée dans le tableau 5.

Tableau 5 : Composition des aliments utilisés au cours de l'expérimentation.

<i>Matières premières</i>	Démarrage (%)	Croissance (%)
Mais	60,5	65,4
Tourteau de soja	5	4
Son	31,4	28
Phosphate bicalcique	1	0,7
Calcaire	2	1,8
Sel	0,12	0,1
CMV (Démarrage-Croissance)	1	1

PARTIE EXPERIMENTALE

Total	100	100
<i>Composition chimique théorique</i>		
Energie métabolisable (Kcal/Kg)	2729	2817
Protéines brutes (%)	19,5	18,5
Méthionine (%)	0,48	0,46
Lysine (%)	1,06	0,99
Calcium (%)	1,09	0,9
Phosphore disponible (%)	0,33	0,3
Sodium (%)	0,15	0,15

II-4- Les huiles essentielles testées :

Groupe O (huiles essentielles d'origan) : l'huile essentielle d'origan (solution commercialisée sous l'appellation ORIGO-STIM® du laboratoire Meriden).

Groupe V (plantes aromatiques) : mélange d'extraits de plantes aromatiques de cassis, romarin, curcuma, olivier et citrus... (solution commercialisée sous l'appellation VOLAROM® du laboratoire Biovedas).

II-5- Conduite de l'expérimentation :

Durant toute la période, les conditions d'ambiance (température et hygrométrie) ont été enregistrées quotidiennement, l'éclairage était de 24 heures.

Phase pré expérimentale (1 à 16 jours d'âge):

Une poussinière au sol a été préparée pour le démarrage des poussins (garde, litière à base de copeaux de bois, chauffage, thermo-hygromètre, abreuvoirs et mangeoires premier âge). Dès leur arrivée, les poussins ont été pesés individuellement, identifiés (numéro au niveau de la patte) et mis en place sous l'éleveuse. Ils reçoivent de l'aliment démarrage *ad libitum* et de l'eau claire *ad libitum*. Pendant cette période, les poussins n'ont subi aucune vaccination ni aucun traitement.

Phase expérimentale (17 à 42 jours d'âge):

A 16 jours d'âge, les poulets ont été repesés individuellement. Sur la base du poids moyen et de l'écartype, 96 poulets ont été retenus pour former trois groupes de poids de 32 poulets de moyen identique, répartis chacun en 8 répétitions de 4 sujets et placés dans des cages de manière à avoir une disposition homogène des sujets (voir schéma de la répartition figure 2). Ils reçoivent de l'aliment croissance *ad libitum* et ne subissent aucune vaccination ni aucun traitement.

PARTIE EXPERIMENTALE

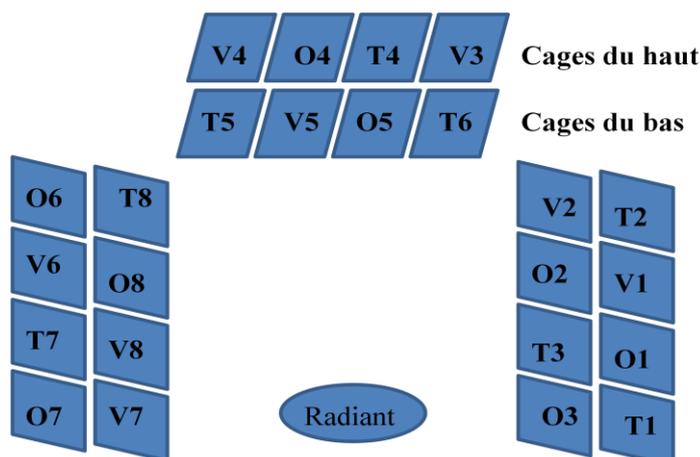


Figure 2: Répartition des lots expérimentaux dans les cages (4 poulets dans chaque cage)

Les trois groupes sont comme suit :

1. **Groupe T** : lot témoin recevant une eau claire non supplémentée.
2. **Groupe O** : lot recevant en continu de l'eau supplémentée en ORIGO-STIM® entre 17 et 42 jours d'âge. La dose utilisée est celle préconisée par le fournisseur, soit 3ml /10 litre d'eau.
3. **Groupe V** : lot recevant en continu de l'eau supplémentée en VOLAROM® entre 17 et 42 jours d'âge. La dose est de 15ml/10 litres d'eau.

Le dispositif expérimental et les mesures effectuées sont récapitulés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

Mesures effectuées	N=	J1	J17	J21	J28	J35	J42	J57
Poids vif	96	+	+	+	+	+	+	
		(N=200)	(N=200)					
Refus d'aliment	24			+	+	+	+	
Refus d'eau	24			+	+	+	+	
Dénombrement de la microflore	6/8/12	+	+					+
Rendement de la carcasse	24						+	
Poids des organes	24						+	
Analyses sanguines	24						+	

(N= nombre d'animaux)

II-6- Les paramètres mesurés et calculés :

II-6- 1- Les performances :

➤ Ingéré alimentaire moyen :

La quantité d'aliment consommé est calculée par la différence entre la quantité d'aliment distribué en début et le refus mesuré à la fin de chaque semaine. L'ingéré alimentaire moyen par sujet est obtenu en divisant la quantité moyenne d'aliment consommé sur le nombre de sujets présents dans chaque cage.

$$\text{Quantité d'aliment ingéré (g)} = \text{quantité distribuée(g)} - \text{refus(g)} / \text{nombre de poussins présents}$$

➤ Poids vif :

Des pesées individuelles sur la totalité des sujets utilisés aux âges suivants : J1-J17 (200 poussins) puis une pesée hebdomadaire de 96 poulets (J21-J28-J35-J42).

➤ Gain de poids :

Le gain de poids est estimé par la différence entre le poids vif moyen final et initial de la période considérée.

$$\text{Gain de poids(g)} = \text{poids vif moyen final(g)} - \text{poids vif moyen initial(g)}$$

Indice de conversion :

L'indice de consommation est le rapport qui permet d'évaluer l'efficacité alimentaire. Il correspond à la quantité d'aliment ingéré par l'animal sur le gain de poids.

$$\text{Indice de consommation} = \text{ingéré alimentaire(g)} / \text{gain de poids(g)}$$

➤ La mortalité :

La mortalité a été enregistrée chaque jour durant toute la période de l'étude.

II-6- 2- Rendement de la carcasse, découpe et organes :

La mesure des caractéristiques de la carcasse a été effectuée à l'âge de 42 jours sur un échantillon de 8 sujets par traitement expérimental (4 males et 4 femelles) soit en total de 24 poulets. Ces poulets, de poids représentatif de leur groupe, ont été pesés individuellement puis abattus par saignée. Les poulets ont été plumés, pesés et conservés durant 24 heures à 4°C. Ils ont été pesés avant et après être vidés pour estimer le poids de la carcasse froide prête à cuire. Le gras abdominal, le foie, le cœur, la rate, le gésier (vidé), le thymus, la bourse de Fabricius, ont été prélevés et pesés. Les cuisses et le bréchet ont été découpés et pesés.

II-6- 3- Les paramètres sanguins :

Le prélèvement du sang était effectué au moment de l'abattage (J42) dans des tubes EDTA pour l'hématocrite et tubes héparinés pour les analyses des paramètres biochimiques sanguins.

➤ **L'hématocrite :**

Immédiatement après le prélèvement du sang, les tubes sont transportés au frais et acheminés pour analyse. L'analyse est faite en utilisant des tubes capillaires de type micro-hématocrite plongés dans le sang afin de permettre à ce dernier de monter par capillarité. Les tubes sont bouchés aux extrémités à l'aide de pâte à modeler et déposés dans une ultra centrifugeuse à hématocrite (10000 tours/min) pendant 3 min. La lecture se fait immédiatement avec le gabarit.

➤ **Les paramètres biochimiques :**

Un volume de 5ml de sang/poulet a été prélevé et recueilli dans des tubes héparinés puis directement centrifugé (3000 tours/min ; 6 min) et réparti dans des tubes d'Ependorf identifiés conservés dans un congélateur (-20°C) jusqu'aux dosages ultérieurs.

*Dosage du cholestérol plasmatique :

Dans un tube est placé 1ml de réactif auquel est ajouté 10 µl de la solution d'étalon et 10µl du sérum. L'ensemble est mélange et mis en incubation pendant 5min dans un bain marie à 37°C. La longueur d'onde est lue avec le spectrophotomètre.

La concentration 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 505nm.

C : concentration du standard=200mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl x 0.0394=mmol/l

***Dosage des triglycérides plasmatiques :**

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

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

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

C : concentration du standard=200 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl x 0.0113=mmol/l

***Dosage du glucose plasmatique :**

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

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Standard}} \times C_{\text{Standard}} = C_{\text{Echantillon}} \text{ (g/l)}$$

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

C : concentration du standard= 100mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl x 0.0555=mmol/l

***Dosage des protéines totales :**

La mesure est effectuée sur 25µl de plasma. La concentration est calculée selon la formule suivante :

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Etalon}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}} \text{ (g/l)}$$

Absorbance à la longueur d'onde de 540nm.

C : concentration du standard=98.75g/l

II-6- 4- Etude de la microflore digestive :

Dans notre essai une partie du travail a porté sur l'évolution de la flore principale du tube digestif afin d'estimer l'effet des additifs testés sur cette flore. Pour cela trois étapes distinctes ont été effectuées :

- En premier, déterminer la charge bactérienne initiale au niveau digestif à J1 (premier jour d'éclosion du poussin) ainsi que la recherche des Salmonelles. Ceci était dans le but d'apprécier la qualité microbiologique du poussin.
- En deuxième lieu, évaluer certains critères microbiologiques du tube digestif chez les poussins âgés de 17 jours pour apprécier l'implantation de la microflore.
- La troisième étape a concernée l'étude de l'effet des huiles essentielles d'origan et les extraits de plantes aromatiques sur cette même microflore digestive des poulets à 57 jours d'âge.

PARTIE EXPERIMENTALE

La recherche et le dénombrement des principales flores du tractus intestinal pendant la période d'élevage ont été réalisées à J1, J17 et J57 (tableau7)

Les animaux ont été sacrifiés par saignée, à l'exception des poussins à J1 qui ont été sacrifiés par contorsion du cou.

Méthodologie :

Préparation des suspensions mères et des dilutions :

La préparation des échantillons a été réalisée selon les directives de la norme internationale ISO6887-1 : 1999(F). Les individus prélevés ont été associés en pool de deux. Un gramme du contenu du caecum a été pesé aseptiquement, puis mis dans des pots stériles contenant 9ml de bouillon Triptone-Sel (TSE). Cette préparation constitue la solution mère pour tout échantillon. A partir de la suspension mère des dilutions successives de 10^{-1} à 10^{-6} en progression géométrique à raison de 1/10 sont réalisées avec le diluant (T.S.E) dans des tubes stériles.

Tableau 7 : Les différents prélèvements de l'analyse de la flore digestive.

Age	J1 (non nourris)	J17	J57
Flore recherchée	-La flore mésophile totale (ISO 4833)		- <i>E. coli</i>
	-Les entérobactéries		- Lactobacilles
	-Les coliformes thermo-tolérants (Norme AFNOR NF V08-060)		- Clostridies
	- <i>Escherichia coli</i>		
	- Salmonella (NF V 08-052)		
	- Clostridies		
	- Lactobacilles		
Portions prélevées	-Foie -Intestin entier		Caeca
Nombre de poussins/poulets	06	08	12
Nombre de pools analysés	03	04	06
Nombres d'échantillon par portion d'intestin	06	12	18

(J : jour)

Toutes les recherches et les analyses retenues pour estimer l'effet de nos produits ont été effectuées selon les normes internationales et françaises (ISO et AFNOR).

PARTIE EXPERIMENTALE

Recherche et dénombrement des *E. coli* :

Cette recherche a été réalisée suivant les directives générales pour le dénombrement *Escherichia coli* selon la norme AFNOR NF V08-060 /V08-17 dont le protocole est le suivant :

- ✓ 1 ml des deux dernières dilutions a été prélevé et ensemencé en double couche et en profondeur dans des boîtes de Pétri avec la gélose VRBL. Les boîtes ont été ensuite incubées à 44 °C pendant 24 heures à 48 heures. Seules les boîtes ayant des colonies bien développées, bien séparées et non contaminées par des levures ou moisissures ont été retenues en vue d'en apprécier l'aspect, la forme, la taille, la couleur (colonies violées entourées d'une zone rougeâtre)
- ✓ A partir d'un nombre déterminé (02) de colonies caractéristiques prélevées pour chaque boîte retenue, un isolement sur milieu gélosé éosine et bleu de méthylène (EMB) coulé en boîte de Pétri a été réalisé et incubé à 37°C pendant 24 heures.
- ✓ Les colonies ayant fait virer l'indicateur coloré du milieu EMB donnant des colonies caractéristiques (colonies à reflets métalliques) ont été repiquées sur milieu (Kligler Hadjina) puis incubé 24 heures à 37°C. A partir de ces cultures pures une suite d'identification biochimique d'*E. coli* a été effectuée par les tests biochimiques (Indole, uréase, Citrate).
- ✓ Le calcul du nombre de bactéries *Escherichia coli* se fait en appliquant la formule suivante :

$$\frac{nE * nd * 10x}{np}$$

Où

10x : est l'inverse du taux de dilution correspondant

nE : est le nombre de colonies d'*E. coli* identifiées

nd : est le nombre de colonies caractéristiques dénombrées

np est le nombre de colonies caractéristiques prélevées

Dans le cas où plusieurs boîtes ont été retenues, la moyenne des résultats est effectuée.

Recherche et dénombrement des clostridies :

Ce dénombrement de la forme de résistance (spore) est réalisé selon Bourgeois et Leveau (1994) sur milieu Tryptone Sulfite Cyclosérine (TSC). L'ensemencement est effectué à partir des premières dilutions (10^{-2} , 10^{-3}) à raison de 1ml en profondeur dans des tubes profonds

(éprouvette) fermés par de l'huile de vaseline stérile pour l'anaérobiose incubés à 46°C pendant 24 à 48h.

Recherche et dénombrement des Lactobacilles :

Cette analyse a été effectuée selon Vignola (2002), De Roissart et Luquet (1994). On ensemence 1 ml des dilutions de 10^{-4} , 10^{-5} en double couche et en profondeur dans deux boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS (Man Rogosa et Sharpe) solide, fondue et refroidie à 47°C. Les boîtes de Pétri sont alors entreposées à l'intérieur d'une jarre d'anaérobiose puis incubées à 45°C pendant 48 heures.

Après 48h les colonies présentes dans chaque boîte sont dénombrées, le calcul est réalisé grâce à la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

- $\sum C$: est la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.
- **d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

II-7- Analyse statistique :

Les différents résultats sont décrits par la moyenne et l'écart type. Les résultats sont soumis à une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) afin de déterminer l'effet de la complémentation en huiles essentielles et en extraits de plantes, sur les paramètres considérés. Le seuil de signification choisi est de 5%. Toutes ces analyses sont effectuées à l'aide du programme StatView (Abacus Concepts 1996, Inc., Berkeley, CA94704-1014, USA).

III-Résultats et discussion

III-1- Conditions d'ambiance :

Le tableau 8 regroupe les valeurs de la température et de l'hygrométrie ambiantes mesurées le long de l'expérimentation. Ces dernières sont conformes aux normes préconisées pour le poulet de chair.

Tableau 8: Relevé de la température et de l'hygrométrie ambiante moyenne

	Température (°C)	Hygrométrie
J1 – J17	30-32	40 à 75%
J17 – J21	26-28	
J21 – J28	23-25	
J28 – J35	20-23	
J35 – J42	18-20	

III-2-Performances zootechniques :

III-2-1 Croissance pondérale :

Les valeurs moyennes de poids vif et de gain de poids mesurés durant l'essai sont reportées dans le tableau 9 et illustrées dans les figures 3 et 4.

Tableau 9 : Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et d'un mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée du poids vif et gain de poids moyen (moyenne \pm écartype)

Age	T (témoin)	O	V	ANOVA (p)
<i>Poids vif (g ; n= 32)</i>				
J17	384.4 \pm 7.14	388.8 \pm 7.52	390.1 \pm 7.82	NS
J21	781.2 \pm 19.5	795.9 \pm 36.5	798.3 \pm 18.4	NS
J28	1311.9 \pm 39.7 ^a	1394.1 \pm 69.6 ^b	1346.2 \pm 56.2 ^{ab}	P<0.05
J35	2045.2 \pm 85.9	2092.9 \pm 154.1	2076.9 \pm 127.1	NS
J42	2870.8 \pm 184.7	2891.8 \pm 226.3	2882.6 \pm 216.5	NS
<i>Gain de poids vif (g ; n= 32)</i>				
J17-21	396.8 \pm 16.9	407.2 \pm 30.3	408.3 \pm 14.5	NS
J21-28	530.7 \pm 25.2 ^a	598.1 \pm 59.6	547.9 \pm 51.9 ^a	P<0.05
J28-35	733.3 \pm 67.7	698.8 \pm 91.7	730.7 \pm 90.4	NS
J35-42	825.6 \pm 119.9	798.9 \pm 120.9	805.7 \pm 119.6	NS
Cumulé J17-42	2486.4 \pm 183.6	2502.9 \pm 224.5	2492.6 \pm 219.4	NS

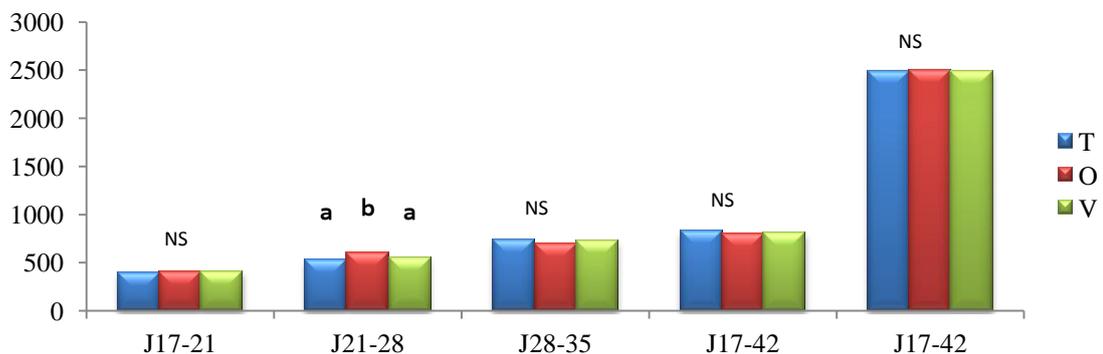


Figure 3 : Evolution du poids vif (g) des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

L'addition des huiles essentielles et des extraits de plantes aromatiques dans l'eau de boisson n'a pas modifié significativement le poids vif à J21, J35 et J42 et en fin d'élevage. En

revanche, à J28 le poids vif des poulets recevant les huiles essentielles d'origan dans leur eau est augmenté significativement par rapport au lot témoin de +5.9% ($p < 0.05$). En fin d'élevage les poulets recevant des HE d'origan présentent un poids vif plus élevé que celui des poulets témoin +3.8%, mais cet écart n'est significatif ($p > 0.05$).

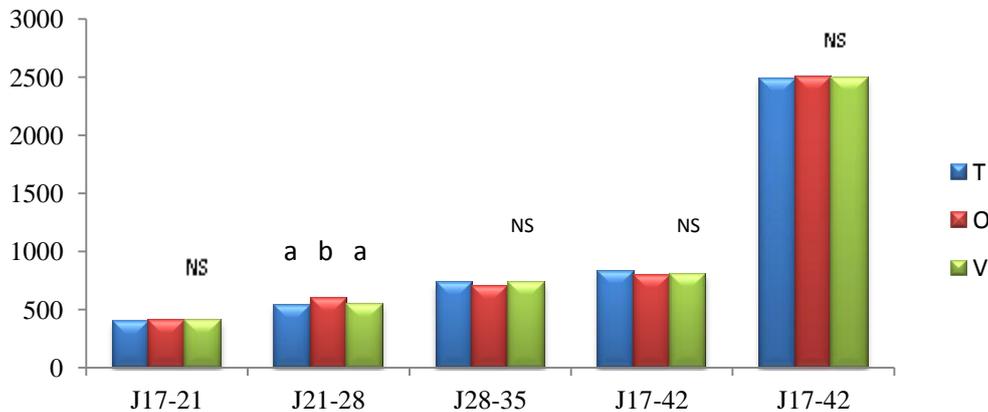


Figure 4 : Evolution du gain de poids vif (g) des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

De la même manière que pour le poids vif, les gains de poids obtenus chez les poulets des lots T, O et V durant la 3^{ème}, la 5^{ème}, et la 6^{ème} semaine d'âge et la période cumulée ne sont pas significativement différents ($p > 0.05$). Toutefois, une importante augmentation du gain de poids, de 11.3% et 8.4% est relevée, durant la période J21-J28 au profit du lot recevant les huiles essentielles par rapport au T et V respectivement. Cet écart de croissance des poulets du lot O s'atténue pour marquer une diminution de -4,7% et -3,2% entre le gain de poids des poulets du lot T et celui du lot recevant les HE d'origan pendant les périodes respectives de J28-J35 et J35-J42.

Plusieurs travaux rapportent l'efficacité controversée, sur la croissance du poulet, des huiles essentielles et des extraits de plantes aromatiques utilisés dans l'aliment, en relation en général avec le type de l'additif et la dose incorporée.

Dans notre étude l'utilisation de l'HE de l'origan induit une amélioration croissance du poulet, en moyenne de 11,3% après deux semaines de supplémentation. Cette augmentation est nettement plus élevée que celle rapportée par la littérature en moyenne de +4% (Basmacioglu et al. 2010, Mathlouthi et al. 2010, Roofchae et al. 2011, cités par Zeng et al, 2015). Toutefois, Basmacioglu et al. (2004) et Kirkpinar et al. (2011) enregistrent respectivement une perte de poids des poulets de -2 et -7%, liée probablement à la dose utilisée.

PARTIE EXPERIMENTALE

Mathlouthi *et al.* (2010) notent, suite à l'utilisation dans l'aliment de l'HE d'origan à la dose de 100mg/kg, une amélioration du gain de poids de 5.7% chez le poulet âgé de 21 jours.

Plus récemment, la tendance s'oriente vers l'utilisation des mélanges d'HE qui permettent globalement une meilleure croissance (Jang *et al.* 2007 ; Hong *et al.* 2012 ; Zeng *et al.*, 2015), bénéficiant éventuellement de l'effet cumulé des propriétés de chacune des HE.

Dans nos conditions expérimentales, l'ajout d'extraits de plantes aromatiques dans l'eau de boisson n'a pas permis d'améliorer, d'une manière significative, la croissance du poulet, corroborant les résultats observés par Botsoglou *et al.* (2004) et Lee *et al.* (2003). Toutefois, Hernandez *et al.* (2004) rapportent une faible amélioration de la croissance de 3% en augmentant fortement la dose utilisée de 0,5 à 5%. Notons toutefois que les données bibliographiques consultées concernent dans leur globalité une complémentation de ces additifs dans l'aliment.

III-2-2- Consommation et efficacité alimentaires :

Le tableau 10 et les figures 5 et 6 regroupent les résultats de l'évolution hebdomadaire de la consommation et de l'indice de conversion ainsi que les valeurs totales.

Tableau 10 : Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et d'un mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée de l'ingéré alimentaire et l'indice de conversion (g/s ; moyenne \pm écartype)

Age	T (témoin)	O	V	ANOVA (p)
<i>Ingéré alimentaire (g/s)</i>				
J17-21	676.6 \pm 44.6	693.1 \pm 31.4	696.5 \pm 13.8	NS
J21-28	1116.5 \pm 11.2	1151.1 \pm 69.8	1129.5 \pm 31.1	NS
J28-35	1383.3 \pm 66.3	1461.4 \pm 155.0	1423.6 \pm 86.9	NS
J35-42	1620.4 \pm 186.9	1545.2 \pm 230.9	1551.8 \pm 244.6	NS
Cumulé J17-42	4796.8 \pm 254.2	4850.8 \pm 410.5	4801.3 \pm 302.6	NS
<i>Indice de conversion (g/g)</i>				
J17-21	1.70 \pm 0.07	1.71 \pm 0.05	1.71 \pm 0.08	NS
J21-28	2.11 \pm 0.09 ^a	1.93 \pm 0.15 ^b	2.08 \pm 0.19 ^{ab}	P=0.065
J28-35	1.89 \pm 0.14 ^a	2.11 \pm 0.20 ^b	1.97 \pm 0.19 ^{ab}	P=0.091
J35-42	1.99 \pm 0.23	1.95 \pm 0.27	1.93 \pm 0.17	NS
Cumulé J17-42	1.94 \pm 0.09	1.94 \pm 0.1	1.93 \pm 0.07	NS

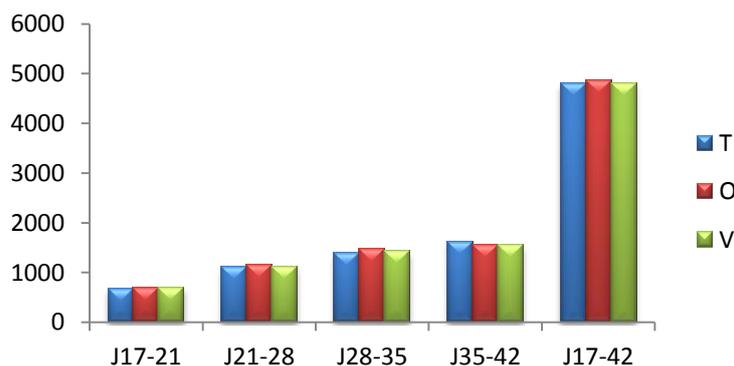


Figure 5 : Evolution hebdomadaire de l'ingéré alimentaire (g/s) et de l'ingéré total des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

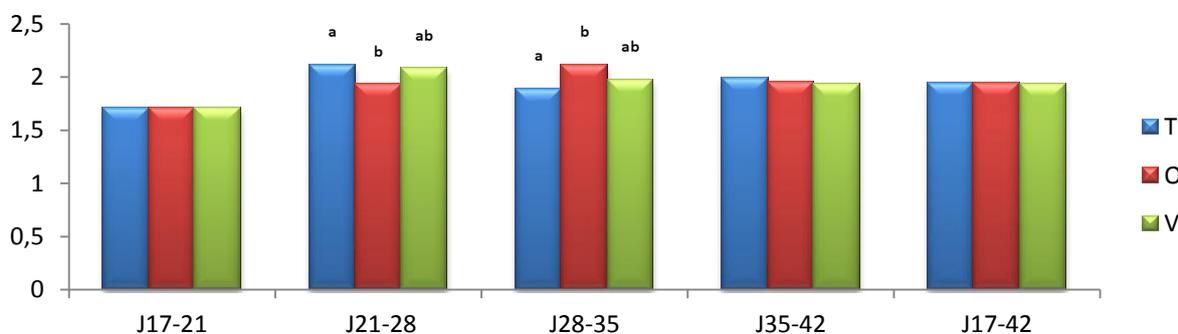


Figure 6 : Evolution hebdomadaire de l'indice de conversion (g/g) et de l'ingéré total des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

Au cours de notre essai, la supplémentation en huiles essentielles et en extraits de plantes aromatiques dans l'eau de boisson n'a entraîné aucune modification significative de l'ingéré alimentaire total entre les différents lots ($p > 0.05$) : 4826 g/sujet en moyenne chez les lots traités contre 4796.8g/sujet chez les témoins (tableau 10). Toutefois, la quantité d'aliment ingéré la plus élevée est enregistrée chez les poulets du lot O par rapport au lot T : + 2.4%, +3% et +5.3% pendant la 3^{ème}, la 4^{ème} et la 5^{ème} semaine d'âge. En revanche, lors de la dernière semaine de l'ajout des additifs (J35-J42), l'apport en HE tend à diminuer l'ingéré alimentaire d'environ -4.9%.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Hong et Aufy (2012) qui ne rapportent aucune différence significative de l'ingéré alimentaire induite par le traitement à base d'huile essentielle. Aussi, nos résultats sont similaires ceux obtenus par Roofchae et *al.* (2011) et à Fotea et *al.* (2009) qui ont utilisé les huiles essentielles d'origan à des niveaux croissant dans

l'alimentation (300mg/kg, 600mg/kg et 1200mg/kg) pour les premiers et à des niveaux de 0.3%, 0.5% et 1% dans l'alimentation pour les seconds.

Selon Najafi et Torki (2010), l'ajout alimentaire des HE de thym (200mg/kg), des HE de cannelle (200 mg/kg⁻¹) et HE de clou de girofle (200 mg/kg) ne modifie pas la consommation alimentaire du poulet durant toute la période d'élevage. L'apport croissant dans le régime alimentaire des HE à base de thym (0.2%, 0.4% et 0.6%) n'affecte la consommation alimentaire (Behzad et al., 2013).

Des résultats tous à fait opposés sont constatés par d'autres auteurs (Alçiçek et al., 2003 ; Lee et al., 2003a ; Erhan et al., 2006) qui notent un effet positif des HE sur l'ingéré alimentaire soit une réduction de -1.5%, -3.1% et -4.8% lorsque les HE sont incorporées à des taux différents 24mg/kg, 48mg/kg et 72mg/kg respectivement.

Dans nos conditions expérimentales, l'indice de conversion des poulets supplémentés en HE d'origan et en extraits de plantes aromatiques, pendant la 3^{ème}, la 6^{ème} semaine d'âge et la phase cumulée est comparable à celui des poulets témoins. Par contre, durant la 2^{ème} semaine de supplémentation l'IC enregistré chez le lot O semble meilleur que celui des témoins : 1.93 contre 2.11 respectivement, soit une baisse de -8.5% qui tend à être statistiquement significative (p=0.065). Notons que cette amélioration de l'IC s'amointrit durant la période de J28-J35.

Nous pouvons supposer que la diminution de l'IC des poulets du lot O durant la période J21-J28 d'élevage est en relation avec une meilleure utilisation digestive de l'aliment qui a augmenté le poids vif et le gain de poids enregistrés antérieurement pendant cette période.

Des études ont montré que l'apport des HE dans l'alimentation à des doses croissantes favorise une importante réduction de l'indice de conversion. Alçiçek et al. (2003) rapportent que l'addition de 72mg/kg de HE diminue significativement l'IC de -11.8% et -9.3% chez le poulet âgé de 21 et 42 jours. Incorporées à des taux plus élevés (600mg/kg) les HE d'origan exercent le même effet sur l'efficacité alimentaire soit 2.07 contre 2.24 (Roofchae et al., 2011).

Najafi et Torki (2010) rapportent une meilleure efficacité alimentaire chez le poulet supplémenté avec de l'HE de thym comme additif alimentaire : une baisse d'environ 8.3%. Des résultats similaires sont mentionnés par Fotea et al. (2009), lors de l'ajout des HE d'origan, et par Hosseini et al. (2013) et Behzad et al. (2013) lorsque l'HE de thym était incorporé dans l'alimentation à des taux différents 5g/kg, 7.5g/kg et 0.2%, 0.4% et 0.6%.

L'amélioration de l'efficacité induite par l'ajout d'HE d'origan à des doses croissantes 1.25g/kg, 2.5g/kg et 3.75g/kg a été démontrée chez la dinde femelle à partir de 84 jours d'âge.

PARTIE EXPERIMENTALE

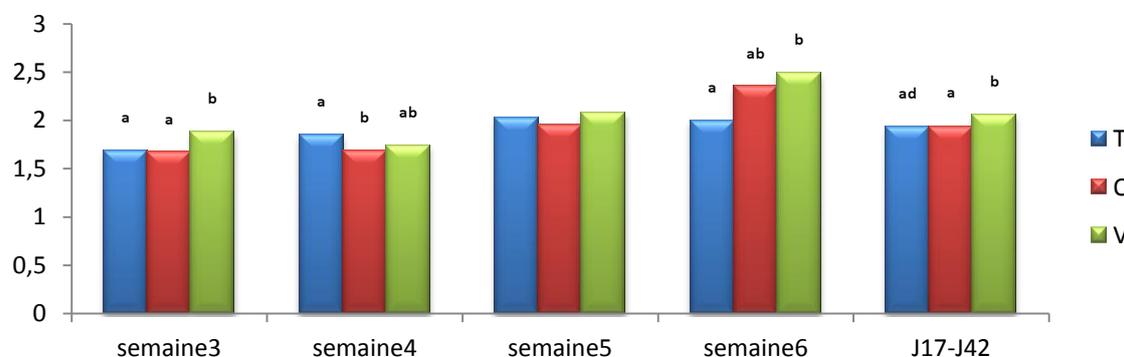
Dans le cas de la complémentation en HE d'origan et en extraits de plantes aromatiques, l'amélioration de l'efficacité alimentaire passerait, probablement, par une meilleure utilisation digestive de l'aliment chez les poulets (Behzad *et al.*, 2013). Zeng *et al.* (2015) précisent que l'amélioration de l'absorption des nutriments induite par les HE peut être expliquée en partie par l'augmentation des sécrétions de salive, la bile et l'activité enzymatique améliorée, ainsi que la diminution de la flore microbienne pathogène dans l'intestin permettant la régénération des cellules épithéliales et favoriser une augmentation de la longueur des villosités de l'intestin et de la surface.

III-2-3- Consommation d'eau et ratio eau/aliment :

Les données de la consommation d'eau et le rapport eau/aliment mesurés durant l'essai sont rapportées dans le tableau 11 et la figure 7.

Tableau 11: Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et du mélange d'extraits de plantes (V) sur l'évolution hebdomadaire et la période cumulée de la consommation d'eau et du ratio eau/aliment du poulet (moyenne \pm écartype)

Age	T (n=8)		O (n=8)		V (n=8)		ANOVA (P)	
	Cons. Eau ml/s/j	Eau/alt ml/g	Cons. Eau ml/s/j	Eau/alt ml/g	Cons. Eau ml/s/j	Eau/alt ml/g	Cons . Eau	Eau/alt
J17-21	191.4 \pm 14.4 ^a	1.69 \pm 0.04 ^A	192.5 \pm 13.8 ^a	1.67 \pm 0.08 ^A	218.2 \pm 11.0 ^b	1.88 \pm 0.10 ^B	P<0.05	P<0.05
J21-28	294.1 \pm 17.6	1.85 \pm 0.12 ^A	278.9 \pm 21.9	1.69 \pm 0.13 ^B	281.5 \pm 5.8	1.74 \pm 0.05 ^{AB}	NS	P<0.05
J28-35	402.3 \pm 44.6	2.03 \pm 0.17	406.9 \pm 32.1	1.96 \pm 0.16	414.9 \pm 39.6	2.08 \pm 0.20	NS	NS
J35-42	487.6 \pm 89.1	2.01 \pm 0.28 ^A	514.1 \pm 65.3	2.35 \pm 0.28 ^{AB}	533.1 \pm 77.7	2.49 \pm 0.30 ^B	NS	P<0.05
J17-42	343.9 \pm 34.1	1.93 \pm 0.12 ^{AB}	348.1 \pm 29.6	1.94 \pm 0.11 ^A	361.9 \pm 29.02	2.06 \pm 0.11 ^B	NS	P<0.05



- Figure 7 : Evolution hebdomadaire du ratio consommation d'eau (ml/g)/aliment ingéré des poulets des trois lots entre 17 et 42 jours d'âge.

En début d'essai, la supplémentation de l'eau de boisson en extraits de plantes aromatiques augmente significativement la consommation d'eau comparativement à celles observées dans les lots T et O : une élévation d'environ 12.3% et 11.8% respectivement. En revanche, durant les autres périodes aucun effet significatif n'a été relevé. Notons, néanmoins, une légère réduction de la consommation d'eau chez les poulets recevant les extraits de plantes comparée à celle mesurée chez les animaux témoins : -4.3% dans la 4^{ème} semaine ; suivie d'une augmentation continue durant la 5^{ème} et la 6^{ème} semaine d'âge d'environ 3% ensuite 8.5%.

La consommation totale d'aliment enregistrée n'est pas affectée par les traitements utilisés dans l'eau de boisson. Cependant, les animaux du lot O ont consommé un peu plus d'aliment comparativement à la consommation des poulets des lots T et V. Ceci a entraîné un effet significatif des traitements sur le rapport eau/aliment durant la 3^{ème}, la 4^{ème}, et la 6^{ème} semaine d'âge. Une augmentation significative du rapport eau/aliment est obtenue chez les animaux recevant les extraits de plantes : +6.3% et +5.8% par rapport aux lots T et O respectivement.

Les plantes aromatiques présentent une odeur très agréable qui peut attirer et stimuler les sens olfactifs des animaux ce qui explique l'augmentation de la consommation d'eau chez le lot recevant ce produit dans nos conditions expérimentales. Selon Cao et *al.* (2010), l'addition alimentaire en HE d'origan (100g/tonne) et en enzymes (350g/tonne) ou leur combinaison chez le poulet de chair mâle n'a pas modifié significativement le rapport eau/aliment durant les trois phases d'élevage. Chez le jeune poulet (J1-J21), les valeurs du rapport eau/aliment étaient proches. Au-delà de J22, une réduction respective de -2.9% et -6.2% du rapport est observée chez les groupes alimentés en HE ou HE+enzymes par rapport au groupe témoin.

Symeon et *al.* (2010), en étudiant le comportement de boire et de manger des poulets de chair femelles supplémentées en HE d'origan (100mg/kg et 250mg/kg) entre J35 et J63, soulignent que la probabilité de manger et de boire par un poulet est réduite significativement chez les animaux supplémentés par rapport au témoin : une baisse de -59.3% du comportement manger et de -80.1% du comportement boire des lots recevant 100mg/kg d'HE par rapport au témoin.

III-2-4- Rendement et découpe de la carcasse :

Le tableau 12 regroupe les résultats du rendement et la carcasse et les organes.

Tableau 12 : Effet de l'huile essentielle d'origan (O) et du mélange d'extraits de plantes (V) sur le rendement de carcasse et le poids des organes du poulet (moyenne \pm écartype)

PARTIE EXPERIMENTALE

Paramètres	T (n=7)	O (n=8)	V (n=8)	ANOVA (P)
Poids vif (g)	3051.1 ± 279.7	3024.6 ± 251.4	3009.4 ± 235.0	NS
Carcasse froide (%)	90.9 ± 1.5	91.0 ± 0.9	91.7 ± 0.7	NS
PAC (%)	71.6 ± 2.4	72.2 ± 1.6	72.2 ± 1.2	NS
Foie (%)	2.39 ± 0.23	2.3 ± 0.18	2.5 ± 0.17	NS
Gras Abdominal (%)	2.21 ± 0.3	2.18 ± 0.4	2.29 ± 0.4	NS
Cuisses(%)	20.01 ± 1.26	19.68 ± 0.43	19.40 ± 0.89	NS
Bréchet(%)	24.31 ± 2.74	25.75 ± 1.44	25.58 ± 0.98	NS
Cœur(%)	0.55 ± 0.04	0.52 ± 0.05	0.55 ± 0.07	NS
Gésier vide(%)	0.89 ± 0.1 ^a	1.02 ± 0.09 ^b	0.92 ± 0.1 ^{ab}	P<0.05

Les résultats obtenus pendant notre essai montrent que les poids relatifs des différents organes, du gras abdominal, des cuisses, du bréchet, et de la carcasse prête à cuir (PAC) ne sont pas affectés par l'ajout des HE et des extraits de plantes ajoutés à l'eau de boisson à l'exception du poids relatif du gésier vide qui augmente d'une façon significative chez les poulets recevant l'HE d'origan : + 12.7% et +9.8% respectivement par rapport à ceux des groupes T et V. Cette augmentation peut probablement justifier les résultats enregistrés sur le poids vif, le gain de poids et l'indice de consommation meilleurs chez le lot O.

Plusieurs travaux sur le poulet de chair montrent des effets controversés des HE sur les caractéristiques de la carcasse. Jang et *al.* (2007), Mahmoud et *al.* (2013) et Kirkpinar et *al.* (2014) ne trouvent pas d'effet significatif d'HE d'origan de thym ou d'ail et de leur mélange.

A l'inverse, Nagafi et Torki 2010 rapportent des effets significatifs des HE de thym et de cannelle sur le poids du pancréas chez le poulet, ainsi qu'une amélioration de la proportion de la cuisse.

III-2-5- Les paramètres sanguins :

Les teneurs plasmatiques en glucose, en cholestérol, en triglycérides et en protéines totales des poulets des trois lots sont consignés dans le tableau 13 et illustrées dans les figures 8 et 9.

PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau 13 : Effet des HE d'origan et des plantes aromatiques sur les teneurs plasmatiques en glucose, en cholestérol, en triglycérides et en protéines totales (moyenne±écartype)

Paramètres	T (n=7)	O (n=8)	V (n=8)	ANOVA (P)
Glucose (mg/dl)	246.8 ± 15.9	256.4 ± 25.3	226.2 ± 16.8	NS
Triglycérides (mmol/l)	0.76 ± 0.11 ^a	0.48 ± 0.05 ^b	0.52 ± 0.09 ^b	P<0.05
Cholestérol (mg/dl)	81.9 ± 10.6 ^a	98.9 ± 9.0 ^b	80.9 ± 10.8 ^a	P<0.05
Protéines totales (g/l)	31.4 ± 6.9	33.1 ± 4.8	35.4 ± 3.7	NS

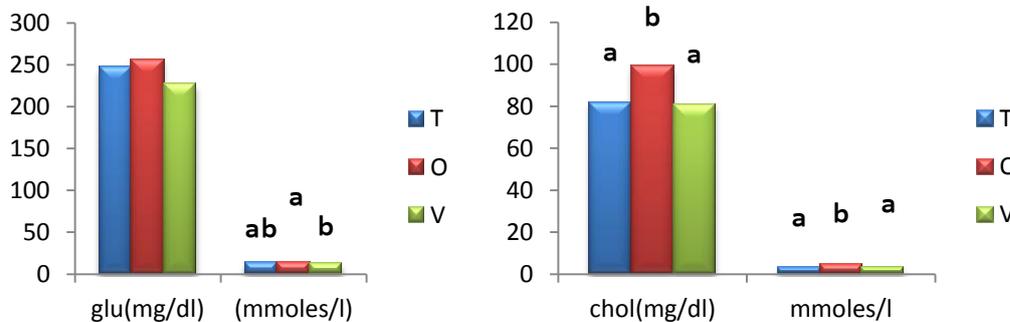


Figure 8: Teneurs plasmatiques du glucose et en cholestérol

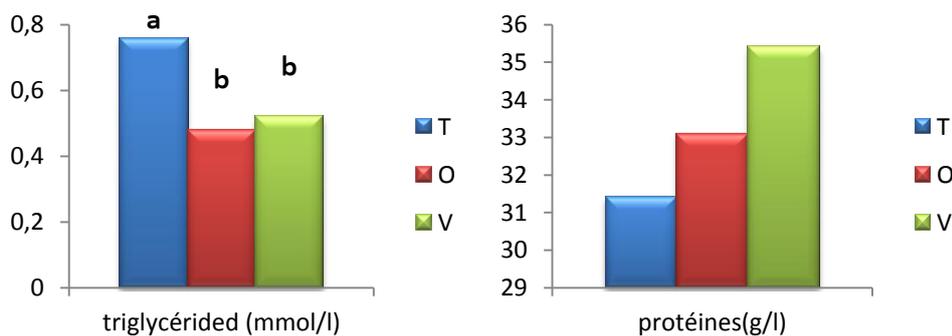


Figure 9: Teneurs plasmatiques en triglycérides et en protéines totales

Nos résultats montrent que les concentrations plasmatiques en triglycérides (TG) sont fortement réduites chez les poulets recevant les traitements. Des baisses très significatives des

taux plasmatiques en TG sont enregistrées chez les lots O et V par rapport à ceux des témoins : -36.8% chez les O et -31.6% chez les V. Les teneurs en cholestérol dans le sang sont significativement augmentées chez les poulets recevant de l'HE d'origan : +17.2% et +18.2% comparées à celles des groupes T et V respectivement. Enfin, la mesure des protéines totales sériques des différents groupes expérimentaux révèle une similitude des résultats avec une moyenne de 33.3g/l.

La diminution de la teneur des triglycérides chez le poulet recevant des doses croissantes d'huile essentielle de thym dans l'aliment (0.2%, 0.4% et 0.6%), estimée en moyenne à -12.5% a été obtenue par Behzad (2013). Aussi, ces derniers auteurs ainsi que Erhan et *al.* (2006) constatent un effet hyper cholestérolémiant des HE. D'autres études rapportent aucun effet significatif de l'addition d'HE sur les paramètres biochimiques (Najafi et *al.*, 2010 ; Hong et *al.*, 2012 ; Figen et *al.*, 2011). Le carvacol et le thymol utilisés chez le poulet entraînent une réduction du taux des TG plasmatiques (Lee et *al.*, 2003b).

D'autres résultats enregistrés par Hosseini et *al.* (2013) indiquent des effets significatifs variables des paramètres biochimiques chez les poulets recevant des HE de thym se résumant en une réduction importante des protéines totales (-30%) et du cholestérol (-17.2%).

Chez le lapin, l'ajout de l'association des plantes médicinales (*Nigella sativa* et *Thymus vulgaris*) n'entraîne aucun effet significatif sur les taux plasmatiques des protéines totales et TG par contre le taux de cholestérol est réduit (Tousson et *al.*, 2011).

III-2-6- La flore digestive :

Les résultats de recherche et de dénombrement des flores bactériennes chez les poussins d'un jour sont résumés dans le Tableau 14. Les Salmonelles ont été recherchées dans le foie, par contre la flore mésophile totale, les entérobactéries, les coliformes thermo-tolérants et *Escherichia coli* sont mesurées dans le contenu digestif.

Tableau 14: Recherche et dénombrement des flores bactériennes chez les poussins d'un jour

Flores bactériennes prélèvements	FMT	E	CT	Salmonella UFC <i>par gr de contenu digestif</i>	<i>E coli</i>	Clostridies	Lactobacilles
P1	0	0	0	Absence	0	0	0
P2	11	10	0	Absence	0	0	0
P3	27	11	0	absence	0	0	0

Les résultats montrent l'absence des germes pathogènes Salmonella ce qui indique la bonne qualité microbiologique du poussin. Les valeurs obtenues pour la flore FMT et les

PARTIE EXPERIMENTALE

entérobactéries peuvent être expliquées par le fait que les animaux ont eu un abreuvement avant la prise de prélèvements. En outre, ceci laisse apparaître des taux dans les normes concernant la qualité microbiologique de l'eau et les surface utilisées.

L'absence des lactobacilles est normale à cet âge du fait que l'implantation de cette flore se fait à partir de la deuxième semaine de vie des sujets.

A 17 et 57 jours d'âge, ce qui correspond à avant et après la supplémentation dans l'eau de boisson des poulets en HE et en extraits de plantes, une recherche et un dénombrement des lactobacilles, de *E. coli* et des Clostridies ont été réalisés afin de déterminer l'effet des additifs étudiés sur la flore digestive du poulet (Tableau 15).

Tableau 15: Effet des HE et des extraits de plantes sur la flore digestive

Le nombre de bactéries (UFC/pool)			
à J17 (caeca)			
Lactobacilles	1.33x10 ⁶		
<i>E. coli</i>	7.25x10 ³		
Clostridies	7.3x10 ³		
à J 57 (caeca)			
	T	O	V
Lactobacilles	4.25x10 ⁶	6.8x10 ⁶	10.8x10 ⁶
<i>E. coli</i>	3.8x10 ⁶	0.02x10 ⁶	25x10 ⁶
Clostridies	1.55x10 ⁴	5.85x10 ³	2.7x10 ³

UFC: unité formant colonie, *E. coli* : *Escherichia coli*, T : lot témoin, O : lot recevant 0.3ml/10 litres d'*Origo-stim*® dans l'eau de boisson, V : lot recevant 15ml/10 litres de *volarom*® dans l'eau de boisson.

Nos résultats montrent que l'incorporation des huiles essentielles à base d'origan dans l'eau de boisson à partir du 17^{ème} jour d'âge a permis d'augmenter la flore lactique et de réduire les flores pathogènes (les *E. coli* et les clostridies) de façon très importante en comparaison avec le lot témoin.

L'ajout du *Volarom*® à la dose de 15ml/10litres d'eau à partir de J17 n'a prouvé aucune action sur les coliformes par contre cet extrait de plantes aromatiques a permis une forte augmentation de la flore bénéfique et une importante réduction des clostridies.

Les résultats obtenus par Roofchae et *al.* (2011) concernant la flore caecale après la supplémentation alimentaire de 300mg/kg, 600mg/kg et 1200mg/kg d'HE d'origan montrent aucune différence significative de la flore lactique entre les différents groupes, mais la flore coliforme est significativement réduite chez les lots recevant 300mg/kg et 600mg/kg d'HE dans leur régime alimentaire (soit une diminution d'environ -11% et -10.8%) en comparaison avec le groupe control. De tels résultats sont notés par Jang et *al.*, 2007 sur la flore iléo-caecale suite à

PARTIE EXPERIMENTALE

l'incorporation alimentaire de 25mg/kg ou 50mg/kg d'HE, une réduction de -28.9% et -26% des *E. coli* chez les groupes supplémentés en les comparant au témoin et la flore lactique ne prouvait aucune différences entre les différents groupes expérimentaux.

D'autres recherches réalisées par Kirkpinar *et al.* (2011) ont montré un effet bénéfique des HE d'origan et d'ail sur les clostridies qui se sont réduit d'environ -13.5%, -13.4% et -6.8% chez les animaux recevant HE d'origan, d'ail et leur association respectivement. En revanche, les lactobacilles, les streptocoques et les coliformes n'étaient pas affectées par ces additifs alimentaires.

III-2-7- Les organes lymphoïdes et hématicrite :

Le Tableau 16 et les figures 10 et 11 regroupent les données relatives aux organes lymphoïdes et à l'hématocrite.

Tableau 16: Effet des HE d'origan et des extraits de plantes aromatiques sur les organes lymphoïdes et l'hématocrite du poulet (Moyenne \pm écartype)

(% PV)	T (n=7)	O (n=8)	V (n=8)	ANOVA (P)
Rate (% PV)	0.08 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	NS
Bourse de Fabricius (%PV)	0.17 \pm 0.03 ^a	0.14 \pm 0.03 ^b	0.12 \pm 0.03 ^b	P<0.05
Thymus (% PV)	0.53 \pm 0.13	0.59 \pm 0.13	0.59 \pm 0.07	NS
Hématocrite (%)	27.8 \pm 2.9	26.4 \pm 2.8	27.3 \pm 2.1	NS

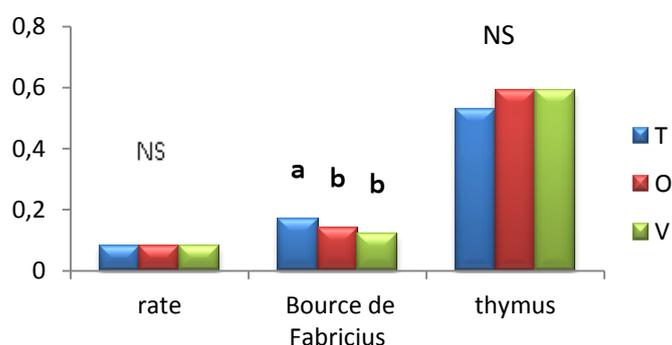


Figure 10 : Effet des HE d'origan (O) et des extraits des plantes aromatiques sur les poids relatifs des organes lymphoïdes du poulet (n=8)

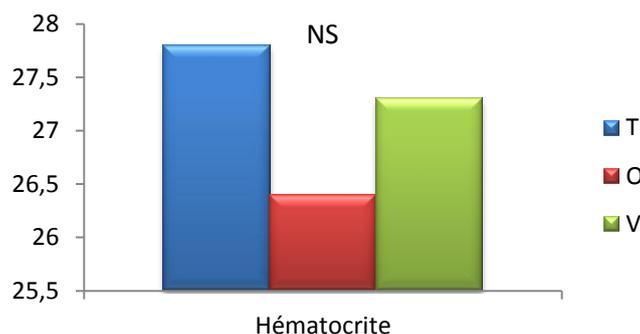


Figure 11 : Effet des HE d'origan (O) et des extraits des plantes aromatiques sur l'hématocrite du poulet (n=8)

Le poids relatif de la rate est identique chez les poulets des trois lots : 0.08% en moyenne.

Chez les poulets recevant les additifs, le poids relatif du thymus est plus élevé : 0.59% en moyenne pour les lots O et V vs 0.53% pour le lot témoin. Bien que l'analyse statistique ne donne aucune différence significative, l'écart représente une augmentation de 10.2%.

Par ailleurs, notons un effet négatif de l'addition des HE et des extraits de plantes sur le poids de la Bourse de Fabricius. Cette dernière est altérée significativement par les traitements : -17.6% et -29.4% respectivement chez les lots O et V en comparaison avec le témoin ($p < 0.05$).

Najafi et Torki (2013) rapportent que la supplémentation alimentaire en huile essentielle de thym (200 mg/kg), de cannelle (200 mg/kg) et de clou de girofle (200 mg/kg) chez les poulets de chair élevé en cage n'a pas modifié les poids de la rate, de la bourse de Fabricius ni du thymus.

Afin d'évaluer l'effet des HE sur l'immunité, certaines études ont utilisé d'autres méthodes. Hong et *al.* (2012) ont injecté 1ml de globules rouges sanguines du mouton (SRBC=sheep red blood cells) en intramusculaire durant la 4^{ème} et la 5^{ème} semaine d'élevage suivie d'une prise de sang à la 6^{ème} semaine. Les anticorps produits par les poulets contre la maladie de Newcastle sont mesurés. Les résultats ne révèlent aucun effet significatif de la supplémentation alimentaire en huiles essentielles d'origan, d'anis et de citrus sur l'immunité. Alp et *al.* (2012) ont souligné l'effet des HE d'origan sur l'immunité du poulet supplémenté à 42 jours d'âge, induisant une augmentation des immunoglobulines sériques (IgG) estimée à 8.9%.

L'analyse statistique ne révèle aucun effet significatif des HE et des extraits des plantes aromatiques sur l'hématocrite : le taux le plus bas est retrouvé chez les poulets du lot O (26.4%

contre 27.6% en moyenne pour les lots T et V). Bien que l'écart entre les valeurs d'hématocrite du lot O et les lots T et V est estimé à 4.2%, il n'existe aucune différence statistique ($p>0.05$).

La supplémentation alimentaire en plantes médicinales (*Nigella sativa* et *Thymus vulgaris*) chez le lapin élevé en cage et âgé de 10 semaines a révélé une augmentation non significative du taux d'hématocrite chez les groupes recevant *Nigella sativa* et *Thymus vulgaris* atteignant +8.4% en moyenne (Tousson et *al.*, 2011).

III-2-8- Mortalité :

Les sujets morts durant l'expérimentation sont au nombre de 3 pour les lots T et V et de 4 pour le lot O. Les causes de mortalité sont liées pour 4 poulets à des accidents de blocage des pattes dans le grillage de la cage. Les poulets sont retrouvés morts avec de fortes contusions et blessures. L'autopsie a révélé, pour les autres cas pour tous les lots une stéatose et une ascite.

Le nombre de poulets morts quasi similaire chez les trois lots ne nous permet pas de conclure sur l'effet de la distribution des HE et des extraits de plantes étudiées sur la survie des poulets.

Notre essai a permis de préciser l'impact de la supplémentation de l'eau de boisson en huiles essentielles et en extraits de plantes aromatiques sur les performances zootechniques, le rendement de la carcasse, quelques paramètres sanguins et l'évolution de la flore digestive du poulet de chair.

D'après les résultats de la présente étude, on peut conclure que l'administration orale des huiles essentielles d'origan au poulet de chair améliore le poids vif de +6%, le gain de poids et l'indice de conversion donc la digestibilité et l'assimilation des nutriments jusqu'à l'âge de 28 jours. Ces résultats nous indiquent qu'il est judicieux d'utiliser les huiles essentielles d'origan (plus précisément l'Origo-stim) chez le jeune poulet ou bien d'une façon discontinue.

Notons aussi 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 la supplémentation en HE et en extraits des plantes aurait eu des effets plus importants dans des conditions d'élevage du terrain.

L'usage des huiles essentielles en production aviaire est encore à ses débuts. Il est nécessaire de poursuivre les études sur leurs mécanismes d'action et approfondir la connaissance sur les modifications de la flore digestive, du dépôt protéique et de l'utilisation digestive et métabolique du poulet de chair.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alagawany M, El-Hack MEA, Farag MR, Tiwari R, Dhama K., (2015). Biological Effects and Modes of Action of Carvacrol in Animal and Poultry Production and Health - A Review. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 3(2s): 73-84.

Alaoui Boukhris M., 2009. Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires. Mémoire de Master « Sciences et techniques ». Faculté des Sciences et techniques. Université de Fès. Maroc.

Alcicek A, Bozkurt M and Cabuk M (2003). The effect an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 33: 89-94.

Al Kassie G.A.M., .. (2009). Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. 29, 169-173.

Alleman F., I. Gabriel, V. Dufourcq, F. Perrin, J.-F. Gabarrou, 2013. Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles.1. Performances de croissance et réglementation. *INRA Prod. Anim.*, 2013, 26 (1), 3-12

Alloui, M. N. (2011). Les phytobiotiques comme alternative aux antibiotiques promoteurs de croissance dans l'aliment des volailles.

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S., 2006. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. Volume 10, numéro 2.

Alp.M, Midilli M., Kocabagl N., YilmazH., Turan N., GargiliA., Acar N., (2012). The effects of dietary oregano essential oil on live performance, carcass yield, serum immunoglobulin G level, and oocyst count in broilers.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol.* 2008 Feb;46(2):446-75.

Basmacioglu H., Tokusoglu O., Ergul M., 2004. The effect of oregano and rosemary essential oils or alpha-tocopherol acetate on performance and lipid oxidation of meat enriched with n-3 PUFA's in broilers. *South Afric. J. Anim. Sci.*, 34, 197-210.

Basmacioglu H., Baysal S., Misirlioglu Z., Polat M., Yilmaz H., Turan N., 2010. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *Br. Poultry Sci.*, 51, 67-80.

Behzad P., Aghazadeh A. M., Maheri S.N., (2013). The effect of thyme extract on growth performance, digestive organ weights and serum lipoproteins of broilers fed wheat-based diets. *Italian Journal of Animal Science*, Vol 12, No 3 .

Bolukbasi S.C., Ebran M.K., Ozkan A., 2006. Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, lipid oxidation, meat fatty acid composition and serum lipoproteins of broilers. *South African journal of animal science*, 36 (3), 189-196.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Botsoglou, N., Christaki, E., Fletouris, D., Florou-Paneri, P., & Spais, A. (2002). The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat sci* , 62, 259-265.
- Botsoglou NA, Christaki E, Florou-Paneri P, Giannenas I, Papageorgiou G and Spais AB (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils or α -tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34: 52–61.
- Bourgeois. C. M et Leveau.J.Y., (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Edition. Technique et documentation Lavoisier. Le contrôle microbiologique. Tome 3.
- Brenes A., Roura. E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. *. Anim. Feed Sci. Technol.*, , 158, 1-14.
- Broudiscou L.P., Cornu A., Rouzeau A. (2007). In vitro degradation of 10 mono- and sesquiterpenes of plant origin by caprine rumen microorganisms.. *J. Sci. Food Agric* , 87, 1653-1658.
- Cabuk M, Bozkurt M, Alcicek A, Akbas Y and Kucukyılmaz K (2006). Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 36: 135–41.
- Chouitah O., 2012. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat es Sciences.130 p. Université d'Oran.
- Cao P.H., Li F.D., Li Y.F., Ru Y.J., Peron,A. Schulze H. and Bento H.. (2010). Effect of Essential Oils and Feed Enzymes on Performance and Nutrient Utilization in Broilers Fed a Corn/Soy-based Diet . *International Journal of Poultry Science* , 9 (8): 749-755
- Craig WJ (1999). Health promoting properties of common herbs. *Am. J. Cli. Nutri.* 70: 491–99.
- Cross D.E., McDevitt RM, Hillman K and Acamovic T (2007). The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *Br. Poult. Sci.* 48: 496–506.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., and Lewis, N. G. (2000) Natural products (secondary metabolites). In B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Joneas, eds., *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, pp. 1250–1268
- da Silva, M. B. (2009). Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. 39: 1471-1477.
- Deans SG and Ritchie G (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 5: 165–80.
- Denli M, Okan F., Uluocak AM (2003). Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*). *South African J. Ani. Sci.* 34:174–79.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- De Roissart.H et Luquet. F.M., (1994). Bactéries Lactiques. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Volume1. Lorica., 25-116.
- Dibner J. J., Richards J. D., (2005). Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. *Poultry Science*, 84:634–643.
- Dorman H.J., Deans S. G., (2000). Anti-microbial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol* , 88, 308-316.
- Durvelle J.-P. (1893). Fabrication des essences et des parfums. Editeur J. FRITSCH, Paris.
- Economou KD, Oreopoulou V and Thomopoulos CD (1991). Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68(2): 109–13.
- Farag RS, Badei Azma, Hewedi FM and El–Baroty GSA (1989). Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *J. Am. Oil Chem. Society*, 66: 792–99.
- Fotea L, Costachescu E, Hoha G, Doina L (2004). The effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare L*) on broiler performance. *Lucrari stiintifice – vol. 53, seria zootehnie.* 491–94.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Salgueiro L, Miguel MG, Faleiro ML. (2008). Portuguese Thymbra and Thymus Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities. *Current Pharmaceutical Design.* 14: 3120-3140.
- Franz, C., Baser, K., & Windisch, W. (2010). . Essential oils and aromatic plants in animal feeding. 25, 237-340.
- Gabriel, F. Alleman, V. Dufourcq, F. Perrin, J.-F. Gabarrou, 2013. Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles.2. Hypothèses sur les modes d’action impliqués dans les effets observés. *INRA Prod. Anim.*,26 (1), 13-24
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B., 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol.*, 141 Suppl 1:S15-28.
- Giannenas C. P. Papaneophytou, E. Tsalie, I. Pappas, E. Triantafillou, D. Tontis, and G. A. Kontopidis (2014). Dietary Supplementation of Benzoic Acid and Essential Oil Compounds Affects Buffering Capacity of the Feeds, Performance of Turkey Poults and Their Antioxidant Status, pH in the Digestive Tract, Intestinal Microbiota and Morphology *Asian Australas. J. Anim. Sci.* Vol. 27, No. 2 : 225-236.
- Gopi M., Karthik K., Haranahalli Vasanthachar Manjunathachar³, Paramasivam Tamilmahan⁴, Manickam Kesavan⁵, Moorthy Dashprakash⁶, Bharemara Lingaraju Balaraju⁷, Manika Ragavan Purushothaman, 2014. Essential Oils as a Feed Additive in Poultry Nutrition *Advances in Animal and Veterinary Sciences.*2 (1): 1 – 7.
- Habibi R, Sadeghi G, Karimi A., 2014. Effect of different concentrations of ginger root powder and its essential oil on growth performance, serum metabolites and antioxidant status in broiler chicks under heat stress. *Brit Poult Sci.*;55:228–37.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hauck R., Hafez H.M., 2006. Efficacy of a herbal product against *Histomonas meleagridis* after experimental infection of turkey poults. *Arch. Anim. Nutr.*, 60, 1-7.
- Hagan, E. H. (1967). Food flavourings and compounds of related structure. *II. Subacute and chronic toxicity*. *Food Cosmetics Toxicol.* , 5, 141–157.
- Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J and Megias M D (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169–74
- Hosseini S., Meimandipour A., Alami F., Mahdavi A., Mohiti-Asli M., Lotfollahian H., Cross D., (2013). Effects of ground thyme and probiotic supplements in diets on broiler performance, blood biochemistry and immunological response to sheep red blood cells . *italian journal of animal science* , Vol 12, No 1,1-4.
- Hussain, A., Anwar, F., Sherazi, S., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, an antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. . *Food Chem.*, , 108, 986–995.
- Jang IS, Ko YH, Kang SY and Lee CY (2007). Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Ani. Feed Sci. Techn.* 134: 304–15.
- Jenner, P. H. (1964.). Food flavouring and compounds of related structure. . *I. Acute oral toxicity*. *Food Cosmetics Toxicol.* , 2, 327–343.
- Hong J.C., Steiner T., Aufy A., Lien T.F., (2012). Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers Lien. *Livestock Science* , 144: 253-262.
- Khaksar V, Krimpen MV, Hashemipour H and Pilevar M (2012). Effects of Thyme Essential Oil on Performance, Some Blood Parameters and Ileal Microflora of Japanese Quail. *J. Poult. Sci.* 25: 201–10.
- Kırkpınar F., Hunlu B. H., Ozdemir G., (2011). Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. *Livestock Science* , 137 219–225.
- Kirkpınar.F, Serdaroglu.M, Hunlu.B.H. (2014). Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat. *Br Poult Sci.* 2014; 55(2):157-66
- Langhout P (2000). New additives for broiler chickens. *World poultry*, 16: 22–27.
- Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Frehner M, Losa R and Beynen AC (2003a). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 44: 450–57.
- Lee KW, Evert H, Kappert HJ, Frehner M, Losa R and Beynen AC (2003b). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 44 (3): 450–57.
- Liu–Fengtlua, Xie–Zhon Quon, Sun–Chao Long, Qian–Zhi Ping and Li–Chun Hua (1998). Study of anti–heat stress effect of some Chinese medicinal herbs. *Chin. J. Ani. Sci.*34: 28–30.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lopez-Bote C J, Gray JG, Gomaa EA and Flegal CJ (1998). Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *Br. Poult. Sci.* 39: 235–40.
- Kohlert, C., Van Rensen, I., März, R., Schindler, G., Graefe, E.U., Veit, M., 2000. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes i. 66: 495-505.
- Mathlouthi N., Bouzaienne T., Oueslati I., Recoquillary F., Hamdi M., Urdaci m., Bergaoui R. T. B. (2011). In vitro antimicrobial activities and effects on growth performance Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: 90: 813-823.
- Najafi P., Torki. M. (2010). Performance, blood metabolites and immune-competence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal herbs. *J. Anim. Vet. Adv* , 9, 1164-1168.
- Nguefack J., Budde B.B , Jakobsen M.(2004). their antibactetial activity and Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Letters in Applied Microbiology* . Volume 39, Issue 5, pages 395–400.
- Ouwehand A.C., Tiihonen K., Kettunen H.,Peuranen S., Schulze H., Rautonen N., 2010.In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Vet. Med. (Praha)*, 55, 71-78.
- Platel K and Srinivasan K (2000). Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Nahrung*, 44: 42–46.
- Platel, K., Srinivasan, K., 2000. Stimulatory influence of select spices on bile secretion in rats. *Nutr. Res.* 20, 1493–1503.
- Pibiri M-C. (2000). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat es sciences. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne. p 177.
- Roofchae A., Irani M., Ebrahimzadeh M.A., Akbari M.R., (2011). Effect of dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens . *African of Biotechnology* , 6177-6183.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Bolwell, P., Bramley, P., & Pridham, J. (1995). The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *free Radic Res* , 22, 375-383.
- Russo M. (1988). Composition chimique de l'huile essentielle de populations sauvages de l'origan italien épices (*Origanum vulgare* ssp): une évaluation préliminaire de leur utilisation dans chimiotaxonomie par l'analyse de cluster. *les influences Agric Food Chem* , 3741-3746.
- Senatore, F. (1996). Influence du temps de la récolte sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de thym (*Thymus* L.) à l'état sauvage en Campanie (sud de l'Italie). . *J. Agric. Food Chem.*, 44), pp , 1327-1332.
- Smith-Palmer, A. J. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. . *Lett Appl Microbiol* , 26, 118-122. .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Symeon G.K., Zintilas C., Ayoutanti A., Bizelis J.A., Deligeorgis S.G., (2010). Effects of Oregano Essential Oil Dietary Supplementation on the Feeding and Drinking Behaviour as Well as the Activity of Broilers . *Can.J.Animal Science*, 89, 331-334.
- Tekeli A., Çelik L., Kutlu H.R. and Gorgul M. C. L., (2006). Effect of dietary supplemental plant extracts on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broiler chicks. 4-8.
- Thøfner I. C. N., D. Liebhart , M. Hess , T. W. Schou , C. Hess , E. Ivarsen , X. C. Fretté , L. P.Christensen , K. Grevsen , R. M. Engberg & J. P. Christensen (2012). Antihistomonal effects of artemisinin and *Artemisia annua* extracts in vitro could not be confirmed by in vivo experiments in turkeys and chickens, *Avian Pathology*, 41:5, 487-496,
- Tousson E., Elmoghazy M., Elatrache E, (2011). The possible effect of diets containing *Nigella sativa* and *Thymus vulgaris* on blood parameters and some organs structure in rabbit. *Toxicology and Industrial Health* , 27(2) 107–116 .
- Turgis M, H. J. (2009). Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi* *Food Contro.* ;20:1073-1079.
- Van den Bogaard A. E., London N., Driessen C, Stobberingh E. E., (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterer. *J. Antimicrobial Chemotherapy*, 47 (6): 763-771.
- Vignola C., (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Fondation de technologie laitière du Québec. Ed. Presses internationales polytechniques. 600 p.
- Waldroup PW, Oviedo–Rondo EO and Fritts CA (2003). Comparison of Bio–MOS and antibiotic feeding programme in broiler diets containing copper sulphate. *J. Poult. Sci.* 2: 28–31.
- Wenk C (2000). Recent advances in animal feed additives such as metabolic modifiers, antimicrobial agents, probiotics, enzymes and highly available minerals. Review. *Asian–Australian J. Ani. Sci.* 13: 86–95.
- Williams P and Losa R (2001). The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *Worlds Poult.* 17: 14–15.
- Williams R.B., 1997. Laboratory tests of phenolic disinfectants as oocysticides against the chicken coccidium *Eimeria tenella*. *Vet. Rec.*, 141, 447-448.
- Zeng Z., Zhang S., Wang H., Piao X., 2015. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. *J Anim Sci Biotechnol.* 6(1): 7.

GESTION DU STRESS OXYDATIF ET STIMULATION DE L'IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE

(TROUBLES DIGESTIFS ET COLIBACILLE)

STIMULANT NATUREL DE CROISSANCE

Volarom

Biodevas

PROBLÈMES CIBLÉS

- TROUBLES DIGESTIFS

LES OBJECTIFS

- MAINTENIR L'INFESTATION À UN NIVEAU COMPATIBLE AVEC LES PERFORMANCES ZOOTECNIQUES
- MAINTENIR LA CONSOMMATION D'EAU À UN NIVEAU NORMAL
- DIMINUER L'INDICE DE CONSOMMATION
- AUGMENTER LE GAIN/M²

DE FAÇON GLOBALE, L'OBJECTIF EST DE MAINTENIR LES PERFORMANCES ZOOTECNIQUES CHEZ LA VOLAILLE PAR UNE RÉGULATION DE LA DIGESTION DANS LE CADRE D'UN ENVIRONNEMENT INFECTIEUX SPÉCIFIQUE. IL A ÉTÉ DÉMONTRÉ UNE ACTIVITÉ DE PROTECTEUR DE FLORE PERMETTANT D'OBTENIR UNE MEILLEURE RÉSISTANCE AUX BIO AGRESSEURS (COLIBACILLES, ENTÉRITES, ETC...)



COMPOSITION : eau, alcool, extraits de plantes aromatiques.





OREGO-STIM[®]

Meriden Animal Health Product
Batch Number : L520912-01C
Manufacture Date : 11/2012
Expiry Date: 11/2014
Est No. G GR249E0007



Utilizar en periodos criticos:
1. Al nacer
2. 10-15 dias post-natales
3. 25kg a natales

Pre-Starters hasta 15 dias post-natales:
500ml por 1000, de agua
15 dias post-natales hasta 25kg:
250ml por 2000, de agua
25kg a natales: 125ml por 2000, de agua



Meriden
ANIMAL HEALTH

Meriden Animal Health
Oxford Road, Oxford, UK
Tel: +44 (0)1865 200000
Fax: +44 (0)1865 200001

HEALTHY ANIMALS - HEALTHY PEOPLE

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

SPINREACT



CHOLESTEROL

Cholesterol

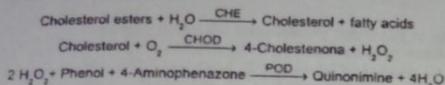
CHOD-POD. Enzymatic colorimetric

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^{1,2}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
Buffer	Phenol	26 mmol/L
R 2	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 lightly 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 lightly 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^{1,2}:

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.
- Meiattini 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





GLUCOSE - TR

Glucose

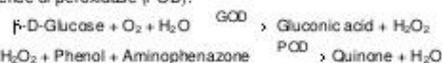
Trinder. GOD-POD

Quantitative determination of glucose IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Glucose oxidase (GOD) catalyses the oxidation of glucose to gluconic acid. The formed hydrogen peroxide (H₂O₂), is detected by a chromogenic oxygen acceptor, phenol-aminophenazone in the presence of peroxidase (POD):



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

CLINICAL SIGNIFICANCE

Glucose is a major source of energy for most cells of the body; insulin facilitates glucose entry into the cells. Diabetes is a disease manifested by hyperglycemia; patients with diabetes demonstrate an inability to produce insulin^{1,5,6}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	TRIS pH 7.4	92 mmol/L
Buffer	Phenol	0.3 mmol/L
R 2	Glucose oxidase (GOD)	15000 U/L
Enzymes	Peroxidase (POD)	1000 U/L
	4 - Aminophenazone (4-AP)	2.6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Glucose aqueous primary standard	100 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. The reagent is stable 1 month after reconstitution in the refrigerator (2-8°C) or 7 days at room temperature (15-25°C).

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.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm > 0.10.

ADDITIONAL EQUIPMENT

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

SAMPLES

Serum or plasma, free of hemolysis¹ and CSF. Serum should be removed from the clot as quickly as possible. Stability: Glucose is stable at 2-8°C for 3 days.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 505 nm (490-550)
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 ¹⁰ (μL)	--	10	--
Sample (μL)	--	--	10

- Mix and incubate for 10 min at 37°C or 15-20 min at room temperature (15-25°C).

- Read the absorbance (A) of the samples and standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)\text{Sample}}{(A)\text{Standard}} \times 100 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dL glucose in the sample}$$

Conversion factor: mg/dL x 0.0555 = 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 VALUES¹

Serum or plasma:

$$60 - 110 \text{ mg/dL} = 3.33 - 6.10 \text{ mmol/L}$$

CSF:

$$60 - 80\% \text{ of the blood value}$$

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0.04 mg/dL to linearity limit of 500 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)	96.8	241	98.4	248
SD	0.81	1.43	1.55	3.73
CV (%)	0.83	0.59	1.58	1.50

Sensitivity: 1 mg/dL = 0.0036 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): 0.99.

Regression equation: y = 1.0x + 0.12.

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

INTERFERENCES

Haemoglobin up to 4 g/L, biliubin up to 20 mg/L, creatinine up to 100 mg/L and galactose up to 1g/L do not interfere.

A list of drugs and other interfering substances with glucose determination has been reported by Young et. al³.

NOTES

- GLUCOSE CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- 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

- Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz NW et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PACKAGING

Ref:1001190	Cont.	4 x 125 mL
Ref:1001191		4 x 250 mL
Ref:1001192		10 x 50 mL



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

SPINREACT

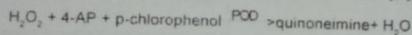
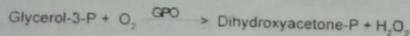
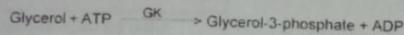
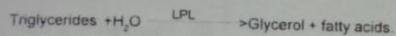
triglycerides

GPO - PAP

Enzymatic-colometric 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 H₂O₂. The H₂O₂ 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

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

$$\text{mg/dL} \times 0.0113 = \text{mmol/L}$$

$$\text{Standard conc.} = 200 \text{ mg/dL}$$

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.

REFERENCEVALUES

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 Biophys 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